



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

RAMON DIEGO CUNHA ARAUJO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO SAZONAL (PLUVIOMÉTRICO) SOBRE
A COMPOSIÇÃO FENÓLICA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE
PLANTAS MEDICINAIS DA FLORESTA AMAZÔNICA**

Macapá
2019

RAMON DIEGO CUNHA ARAUJO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO SAZONAL (PLUVIOMÉTRICO) SOBRE
A COMPOSIÇÃO FENÓLICA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE
PLANTAS MEDICINAIS DA FLORESTA AMAZÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Araujo da Silva.

**Macapá
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá
Elaborado por Cristina Fernandes – CRB-2/1569

Araujo, Ramon Diego Cunha

Avaliação do efeito sazonal (pluviométrico) sobre a composição fenólica e potencial antioxidante de plantas medicinais da floresta amazônica / Ramon Diego Cunha Araujo ; Orientador, Gabriel Araujo da Silva. – Macapá, 2019.

95 f.

Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Plantas medicinais – Amazônia. 2. Antioxidantes. 3. *Croton cajucara*. 4. *Dalbergia monetária*. 5. *Licania macrophylla*. I. Silva, Gabriel Araújo, orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

615.321 A663a
CDD. 22 ed.

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
da Universidade Federal do Amapá**

BANCA EXAMINADORA

Aluno(a): Ramon Diego Cunha Araujo

Orientador(a): Gabriel Araujo da Silva



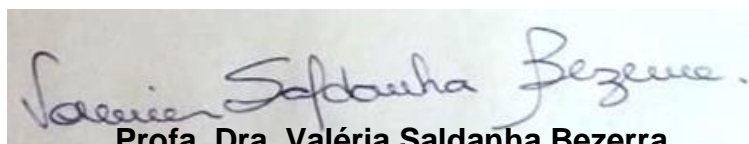
**Prof. Dr. Gabriel Araujo da Silva
Presidente**

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas-PPGCF



**Profa. Dra. Silvia Maria Mathes Faustino
Membro Titular**

Professor Titular do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, UNIFAP.



**Profa. Dra. Valéria Saldanha Bezerra
Membro Titular**

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA/AP

Data: 31/07/2019

Dedico esta dissertação a DEUS Todo Poderoso, JESUS CRISTO, Nosso Salvador e a Minha Família (Loussiana Araujo e Ramon Araujo Filho), Amo Muito Todos Vocês.

AGRADECIMENTOS

Neste espaço quero aproveitar para agradecer a DEUS, Jesus Cristo e todas as pessoas que ajudaram, contribuíram e fizeram parte deste trabalho:

A DEUS, criador de tudo e todos e Jesus Cristo nosso salvador, Amém, Graças a DEUS;

Ao meu Filho querido e amado, Ramon Filho, por ter suportado o meu estresse (que não foi pouco) Deus sabe disso. A minha esposa, parceira, amiga e amada Loussiana Araujo, que cuida de mim e do meu filho com muito zelo e amor e ambos se fizeram presentes em todos os dias desse trabalho, amo vocês, sem vocês eu não tinha conseguido, tudo que faço é por nós, sempre será, Amém;

Ao meu orientador Prof. Gabriel, por disponibilizar tempo e recursos para a realização desta pesquisa;

Ao amigo Anderson Costa, pelo apoio em muitos momentos cruciais;

A colega de experimentos Cecília Gomes;

Ao amigo Edmilson Moraes pelas conversas; e Everton Vale.

Ao funcionário do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Amapá – IEPA, o senhor FRANCISCO, pelo apoio nas coletas realizadas no município de Porto Grande – AP;

Ao senhor Idalino e sua esposa pelo apoio e ajuda nas coletas realizadas em uma área de floresta com acesso por sua residência no município de Porto Grande – AP;

Ao técnico da Unifap, Franquin, pelo apoio prestado em muitos momentos da realização da dissertação;

A Unifap (pelos serviços prestados de alimentação e acesso a internet);

A UEAP (representada pelo funcionário Gabriel Araujo da Silva);

A Rosa (Lora), por todo apoio e carinho envolvido, comigo, meu filho e loussiana, obrigado mesmo minha irmã;

Aos meus pais (CELESTE e REGINALDO), meus irmãos (Rennan e Rummel), a minha avó (Dona ESTER), todas as minhas tias e tios e em especial a CARMEM, todos meus primos e primas em especial o Victor Hugo, amo todos;

A família da Loussiana, em especial aos pais (Gringo e Augusta do mará) e sua irmã (Júlia);

Aos professores da banca por aceitarem o convite para participarem da avaliação da dissertação.

A todo o apoio Humano que não foi mencionado aqui e que de alguma forma ou jeito colaboraram ou fizeram parte deste trabalho, obrigado.

1	INTRODUÇÃO.....	19
1.1	SAZONALIDADE.....	21
1.2	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	23
1.2.1	Oxidação em sistemas biológicos.....	23
1.2.2	Antioxidantes.....	24
1.2.2.1	Compostos fenólicos.....	24
1.2.2.2	Flavonoides.....	26
1.3	GÊNERO <i>Croton</i> e <i>Croton cajucara</i> Benth.....	28
1.4	GÊNERO <i>Dalbergia</i> e <i>Dalbergia monetaria</i> L.f.....	31
1.5	GÊNERO <i>Licania</i> e <i>Licania macrophylla</i> Benth.....	35
2	OBJETIVOS.....	41
2.1	OBJETIVO GERAL.....	41
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1	PRODUTOS QUÍMICOS.....	42
3.2	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL.....	42
3.3	PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS.....	43
3.4	RENDIMENTO DOS EXTRATOS.....	43
3.5	MÉTODOS QUANTITATIVOS (Espectrofotométricos).....	44
3.5.1	Determinação de fenólicos totais.....	44
3.5.2	Determinação de flavonoide totais.....	45
3.6	ENSAIOS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	46
3.6.1	DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidroxil).....	46
3.6.2	Poder redutor (FRAP).....	48
3.6.3	Atividade Antioxidante Total (Redução do complexo fosfomolibdênio).....	49
3.7	DADOS PLUVIOMÉTRICOS.....	50
3.8	TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	50
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1	RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES DAS TRÊS ESPÉCIES.....	52
4.1.1	<i>Croton cajucara</i> Benth.....	52

4.1.2	<i>Dalbergia monetaria</i> L. f.....	53
4.1.3	<i>Licania macrophylla</i> Benth.....	54
4.2	DOSEAMENTO DE FENOIS E FLAVONOIDES TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CORRELAÇÃO LINEAR DE PEARSON.....	54
4.2.1	<i>Croton cajucara</i> Benth.....	55
4.2.2	<i>Dalbergia monetaria</i> L. f.....	63
4.2.3	<i>Licania macrophylla</i> Benth.....	72
4.3	ABORDAGENS SAZONAIS.....	80
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
	REFERÊNCIAS.....	84
	ANEXO 1-Artigo submetido no Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.....	95

Tabela 1 -	Principais ERO, com suas respectivas equações de reações.....	23
Tabela 2 -	Valores da precipitação do período avaliado.....	50
Tabela 3 -	Rendimento das extrações hidroalcólicas durante o período de um ano para as folhas de <i>Croton cajucara</i> em relação ao índice pluviométrico.....	53
Tabela 4 -	Rendimento das extrações hidroalcólicas durante o período de um ano para as cascas do caule de <i>Dalbergia monetaria</i> em relação ao índice pluviométrico.....	53
Tabela 5 -	Rendimento das extrações hidroalcólicas durante o período de um ano para as cascas dos caules de <i>Licania macrophylla</i> em relação ao índice pluviométrico.....	54
Tabela 6 -	Valores dos compostos fenólicos analisados dos extratos das folhas de <i>Croton cajucara</i> coletadas em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.....	55
Tabela 7 -	Valores da atividade antioxidante analisados dos extratos da casca de <i>Croton cajucara</i> coletada em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.....	58
Tabela 8 -	Avaliação sazonal da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH, das diferentes concentrações dos extratos de <i>Croton cajucara</i> , ao longo dos meses de coleta.....	60
Tabela 9 -	Coeficientes da correlação de Pearson de todo o período avaliado para <i>Croton cajucara</i>	63
Tabela 10 -	Valores dos compostos fenólicos analisados dos extratos da casca de <i>Dalbergia monetaria</i> coletada em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.....	64
Tabela 11 -	Valores da atividade antioxidante analisados dos extratos da casca de <i>Dalbergia monetaria</i> coletada em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.....	66
Tabela 12 -	Avaliação sazonal da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH, das diferentes concentrações dos extratos de <i>Dalbergia monetaria</i> , ao longo dos meses de coleta.....	68

Tabela 13 -	Coeficientes da correlação de Pearson de todo o período avaliado para <i>Dalbergia monetaria</i>	72
Tabela 14 -	Valores dos compostos fenólicos analisados dos extratos da casca de <i>Licania macrophylla</i> coletada em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.....	72
Tabela 15 -	Valores da atividade antioxidante analisados dos extratos da casca de <i>Licania macrophylla</i> coletada em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.....	75
Tabela 16 -	Avaliação sazonal da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH, das diferentes concentrações dos extratos de <i>Licania macrophylla</i> , ao longo dos meses de coleta.....	77
Tabela 17 -	Coeficientes da correlação de pearson de todo o período avaliado para <i>Licania macrophylla</i>	79

Figura 1 -	Fatores ambientais que podem influenciar o acúmulo de metabólitos secundários em plantas.....	21
Figura 2 -	Derivados hidroxilados de resveratrol.....	25
Figura 3 -	Estrutura geral dos flavonoides.....	26
Figura 4 -	Estrutura básica geral das diferentes classes de flavonoides.....	26
Figura 5 -	Folhas e frutos de <i>Croton cajucara</i>	29
Figura 6 -	Teste do DPPH para as folhas de <i>Croton cajucara</i> , coletadas em diferentes épocas, (AJ: novembro/1993 e junho/1995), (AD: junho/1993 e abril/1994) e idades distintas.....	30
Figura 7 -	Amostra coletada da casca do caule de <i>Dalbergia monetaria</i> no município de Porto Grande.....	32
Figura 8 -	Amostras de casca do caule e folhas de <i>Dalbergia monetaria</i>	32
Figura 9 -	Casca do caule de <i>Licania macrophylla</i>	36
Figura 10 -	Amostra coletada da casca do caule de <i>Licania macrophylla</i>	36
Figura 11 -	Capacidade de redução do ferro (Fe^{3+}) pelos extratos aquoso, etanólico e hidroetanólico de <i>Licania tomentosa</i>	38
Figura 12 -	Potência de sequestro do radical DPPH pelos extratos aquosos, etanólico e hidroetanólico de <i>Licania rigida</i>	38
Figura 13 -	Potência de sequestro do radical DPPH pelos extratos aquosos, etanólico e hidroetanólico de <i>Licania tomentosa</i>	39
Figura 14 -	Pontos de coleta em uma área de floresta do município de Porto Grande – AP, das espécies <i>C. cajucara</i> (verde) e <i>D. monetaria</i> , <i>L. macrophylla</i> (vermelho).....	43
Figura 15 -	Espectrofotômetro utilizado para análise das amostras.....	44
Figura 16 -	Curva de Calibração do ácido gálico.....	45
Figura 17 -	Curva de calibração da rutina.....	46
Figura 18 -	Representação do DPPH reduzido pela capacidade de captura de uma molécula antioxidante.....	46

Figura 19 -	Exemplo de regressão linear para a obtenção dos valores do cálculo da CE ₅₀ . % de Sequestro de Radical Livre (SRL) pelos extratos das flores e folhas de <i>C. chelidonioides</i>	48
Figura 20 -	Curva de calibração do ácido ascórbico.....	49
Figura 21 -	Variação sazonal dos teores de fenois totais de <i>Croton cajucara</i> em resposta as chuvas (mm).....	56
Figura 22 -	Diferentes aspectos foliares de <i>Croton cajucara</i> ao longo do ano.....	57
Figura 23 -	Variação sazonal dos teores de flavonoides totais de <i>C. cajucara</i> em resposta as chuvas (mm).....	58
Figura 24 -	Variação sazonal do valor da CE ₅₀ (µg/mL) de <i>Croton cajucara</i> e a comparação com chuva (mm).....	59
Figura 25 -	Porcentagem de sequestro de radical livre pelos meses que apresentaram maior e menor consumo do radical DPPH em comparação de <i>Croton cajucara</i> . Cada ponto no gráfico representa a média de três repetições ± desvio padrão.....	61
Figura 26 -	Variação sazonal do poder redutor do ferro por <i>Croton cajucara</i> em resposta as chuvas (mm).....	61
Figura 27 -	Variação sazonal da % de redução do complexo fosfomolibdênio correlacionado com a precipitação (mm) de <i>Croton cajucara</i>	62
Figura 28 -	Variação sazonal dos teores de fenois totais de <i>Dalbergia monetaria</i> em resposta as chuvas (mm).....	65
Figura 29 -	Variação sazonal dos teores de flavonoides totais de <i>Dalbergia monetaria</i> em resposta as chuvas (mm).....	65
Figura 30 -	Variação sazonal do valor da CE ₅₀ (µg/mL) de <i>Dalbergia monetaria</i> e a comparação com a chuva (mm).....	67
Figura 31 -	Porcentagem de sequestro de radical livre pelos meses que apresentaram maior e menor consumo do DPPH em comparação de <i>Dalbergia monetaria</i> . Cada ponto no gráfico representa a média de três repetições ± desvio padrão.....	68
Figura 32 -	Variação sazonal do poder redutor do ferro por <i>Dalbergia monetaria</i> em resposta as chuvas (mm).....	70
Figura 33 -	Variação sazonal da % de redução do complexo fosfomolibdênio correlacionado com a precipitação (mm) de <i>Dalbergia monetaria</i>	71
Figura 34 -	Variação sazonal dos teores de fenois totais de <i>Licania macrophylla</i> em resposta as chuvas (mm).....	73
Figura 35 -	Variação sazonal dos teores de flavonoides totais de <i>Licania</i>	

	<i>macrophylla</i> em resposta as chuvas (mm).....	74
Figura 36 -	Variação sazonal do valor da CE ₅₀ (µg/mL) de <i>Licania macrophylla</i> e a comparação com a chuva (mm).....	76
Figura 37 -	Porcentagem de sequestro de radical livre pelos meses que apresentaram maior e menor consumo do DPPH em comparação de <i>Licania macrophylla</i> . Cada ponto no gráfico representa a média de três repetições ± desvio padrão.....	77
Figura 38 -	Variação sazonal do poder redutor do ferro por <i>Licania macrophylla</i> em resposta as chuvas (mm).....	78
Figura 39 -	Variação sazonal da % de redução do complexo fosfomolibdênio correlacionado com a precipitação (mm) de <i>Licania macrophylla</i>	79

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
Ug	Micrograma
uL	Microlitro
G	Grama
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
°C	Graus celsius
r.p.m.	Rotação por minuto
CE₅₀	Concentração efetiva
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidroxil
Frap	Poder Redutor do Ferro
D.P.	Desvio padrão
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DNA	Desoxyribonucleic acid
CG	Cromatografia Gasosa
ERRO	Espécie Reativa de Oxigênio
ERN	Espécie Reativa de Nitrogênio
GSH	Glutathiona reduzida
BHT	Butylated hidroxytoluene
A.A	Atividade antioxidante
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
mg/g	miligrama/grama
SRL	Sequestro de Radical Livre
DO	Densidade Óptica
R	Coeficiente de Pearson
Mm	Milímetros
HDL	High Density Lipoprotein
LDL	Low Density Lipoprotein
TCA	Ácido Tricloro Acético

AAT % Atividade Antioxidante Total (porcentagem)

Avaliação do efeito sazonal (pluviométrico) sobre a composição fenólica e potencial antioxidante de plantas medicinais da floresta amazônica

Introdução: Plantas medicinais são frequentemente utilizadas pela população para o tratamento das mais diversas patologias, e esta melhora geralmente está associada aos metabólitos secundários, que podem ser farmacologicamente ativos. No entanto é importante entender que estes organismos podem apresentar variação de sua composição química em detrimento a fatores ambientais, como sazonalidade e precipitação, que consequentemente influenciam de forma positiva ou negativa a atividade biológica. **Objetivo:** Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a variação sazonal da composição química e atividade antioxidante de extratos das folhas de *Croton cajucara* (Sacaca), casca do caule de *Dalbergia monetaria* (Verônica) e *Licania macrophylla* (Anauerá), além de agregar valor a estes vegetais que são muito utilizados na Amazônia. **Metodologia:** Utilizando metodologias como quantificação de compostos fenólicos (fenois e flavonoides totais) através de espectrofotometria, e avaliar a atividade antioxidante através dos métodos DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidroxil), FRAP e Fosfomolibdênio. Para isso foram realizadas coletas mensais em um período de doze meses, do mesmo indivíduo de cada espécie estudada e os dados foram representados em gráficos e tabelas e tratados pelos métodos ANOVA seguido de Tukey e correlação de Pearson. **Resultados e discussões:** *C. cajucara* apresentou elevadas taxas de fenois e flavonoides totais no mês de junho com forte correlação entre si ($r = 0,89$), no entanto, ambos mostraram correlação fraca e negativa com a precipitação; a chuva correlacionou-se de modo moderado apenas com FRAP e Fosfomolibdênio, mas negativamente. *D. monetaria* demonstrou os melhores (mais elevados) resultados para a composição química e atividade antioxidante do que as outras espécies analisadas, com destaque para o período menos chuvoso que mostraram as maiores concentrações; fenois e flavonoides correlacionaram-se moderadamente entre si ($r = 0,38$) e fraco e moderado, respectivamente com a precipitação; a chuva apresentou forte correlação negativa com Fosfomolibdênio ($r = -0,65$). Para *L. macrophylla*, ocorreu ausência de correlação entre fenois e flavonoides ($r = 0,09$) e a chuva correlacionou-se moderadamente apenas com DPPH ($r = 0,36$). **Conclusões:** Ocorreu variação sazonal durante a temporada analisada para as três espécies estudadas, umas mais acentuadas e outras menos. A precipitação influenciou pouco e mais de modo negativo.

Palavras-chave: Amazônia; Antioxidantes; Compostos fenólicos; *Croton cajucara*; *Dalbergia monetaria*; *Licania macrophylla*.

Agradecimentos: UEAP e UNIFAP.

Evaluation of the seasonal (rainfall) effect on phenolic composition and antioxidant potential of medicinal plants of the Amazon rainforest

Introduction: Medicinal plants are often used by the population to treat a variety of conditions, and this improvement is usually associated with secondary metabolites, which may be pharmacologically active. However, it is important to understand that these organisms may vary in their chemical composition to the detriment of environmental factors such as seasonality and precipitation, which consequently positively or negatively influence biological activity. **Objective:** In this sense, the present work aimed to evaluate the seasonal variation of chemical composition and antioxidant activity of extracts of leaves of *Croton cajucara* (Sacaca), stem bark of *Dalbergia monetaria* (Verônica) and *Licania macrophylla* (Anauerá). add value to these vegetables that are widely used in the Amazon. **Methodology:** Using methodologies such as quantification of phenolic compounds (phenols and total flavonoids) by spectrophotometry, and to evaluate the antioxidant activity through DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydroxyl), FRAP and Phosphomolibdenum methods. For this, monthly collections were performed over a period of twelve months, from the same individual of each species studied and the data were represented in graphs and tables and treated by ANOVA methods followed by Tukey and pearson correlation. **Results and discussions:** *C. cajucara* presented high rates of phenols and total flavonoids in June with strong correlation ($r = 0.89$), however, both showed weak and negative correlation with precipitation; Rain correlated moderately only with FRAP and Phosphomolibdenum, but negatively. *D. monetaria* showed better (higher) results for chemical composition and antioxidant activity than the other species analyzed, with emphasis on the less rainy period which showed the highest concentrations; phenols and flavonoids correlated moderately with each other ($r = 0.38$) and weak and moderate correlated with precipitation; Rain presented a strong negative correlation with Phosphomolibdenum ($r = -0.65$). For *L. macrophylla*, there was no correlation between phenols and flavonoids ($r = 0.09$) and rainfall moderately correlated only with DPPH ($r = 0.36$). **Conclusions:** Seasonal variation occurred during the analyzed season for the three studied species, some more accentuated and others less. Precipitation influenced little more and more negatively.

Keywords: Amazon; Antioxidants; Phenolic compounds; *Croton cajucara*; *Dalbergia monetaria*; *Licania macrophylla*.

Acknowledgments: UEAP and UNIFAP.

Plantas medicinais são amplamente utilizadas pela população mundial, principalmente por comunidades tradicionais e indivíduos que não tem acesso a quimioterápicos. Sua utilização é resultado do uso milenar de conhecimentos tradicionais (SIMÕES et al., 1986). Estes saberes populares contribuem para a escolha de espécies a serem estudadas cientificamente, podendo resultar em benefícios a saúde das pessoas (PIO et al., 2019). No entanto, vale ressaltar, que em muitos países, como o Brasil, o uso das plantas medicinais é muito intenso e na maioria das vezes é realizado de forma descontrolada (exagerada), e sem qualquer tipo de prescrição médica. Mesmo sendo naturais, estes produtos oriundos das florestas podem acarretar em intoxicações e até mesmo a morte em detrimento do uso incorreto.

Nessa perspectiva, o elevado crescimento e interesse por terapêuticas diferenciadas (naturais) contribuem para a maciça busca por produtos derivados de vegetais, em especial aqueles com propriedades medicinais já conhecidas e utilizadas pela população (TABASSUM; HAMDANI, 2014; LALL; KISHORE, 2014).

Todavia, essas atividades farmacológicas possuem uma alta variabilidade devido a fatores bióticos e abióticos, que devem ser levados em consideração durante a coleta do material vegetal, como sanidade, sazonalidade, precipitação, temperatura, entre outros. Pois existe uma correlação muito importante entre a época que uma espécie é coletada e sua produção e/ou máxima produção de metabólitos secundários ocorre, pois, seus constituintes químicos podem não ter uma natureza ativa durante todo o ano (GOBBONETO; LOPES, 2007).

Neste contexto, o comportamento da atividade antioxidante das plantas pode sofrer influência (aumento ou diminuição), de acordo com sua composição química. Merecendo destaque, para esta atividade, os ácidos fenólicos e flavonoides (SIMÕES et al., 2010).

Dalbergia monetaria (Verônica) é uma planta que apresenta muitos constituintes fenólicos e é bastante usada na amazônia e no Amapá na forma de chá (CARVALHO, 1997), além disso, o Instituto de Pesquisas Científicas do Estado do Amapá (IEPA), comercializa tinturas advindas da casca do caule deste vegetal com a finalidade de tratar a inflamação. Segundo o IEPA, as tinturas são bastante procuradas pelos moradores de todas as partes da cidade de Macapá.

Assim como *D. monetaria*, a *Croton cajucara* (Sacaca) também é comercializada pelo IEPA através das tinturas, mas neste caso as suas folhas são utilizadas. A literatura relata muitos efeitos farmacológicos da *C. cajucara*, como gastroprotetor, anti-inflamatório e redução dos níveis de colesterol (MACIEL et al., 2009).

Licania macrophylla (Anauerá), assim como as outras plantas citadas, também é comercializada através de tinturas pelo IEPA, usando as cascas do caule, com a finalidade de tratar transtornos intestinais como a diarreia, por exemplo.

Nesta perspectiva a busca por novos compostos antioxidantes, principalmente os naturais, é importante para o combate a danos oxidativos em várias partes do organismo, principalmente na molécula de DNA, podendo prevenir carcinogênese, mutagênese (MARÍN-MARTINEZ et al., 2009), doenças cardiovasculares e muitas formas de câncer (HUANG et al., 2005). Neste contexto, as espécies medicinais citadas anteriormente, podem ser fortes candidatas a apresentar potencial antioxidante e consequentemente prevenir certas doenças relacionadas a oxidação dos componentes biológicos do organismo.

Então, este trabalho tem como problemática: A influência da sazonalidade e pluviometria afetam a composição química (Ácidos fenólicos e flavonoides) e atividade antioxidante (A.A.) de extratos brutos hidroetanólicos das espécies *Croton cajucara* B., *Dalbergia monetaria* L.f. e *Licania macrophylla* B. no período de um ano?

E como hipóteses:

H1: As composições químicas das três espécies estudadas variam de acordo com o período de coleta (Fevereiro de 2018 a Janeiro de 2019) e influenciam de maneira proporcional direta a atividade antioxidante durante o ano.

H2: As composições químicas das três espécies estudadas variam de acordo com o período de coleta e não influenciam de maneira proporcional direta A.A. durante o ano.

H3: A chuva pode influenciar positivamente, a composição química e/ou a atividade antioxidante.

H4: A chuva em alguns meses pode influenciar a composição química e/ou a A.A. negativamente.

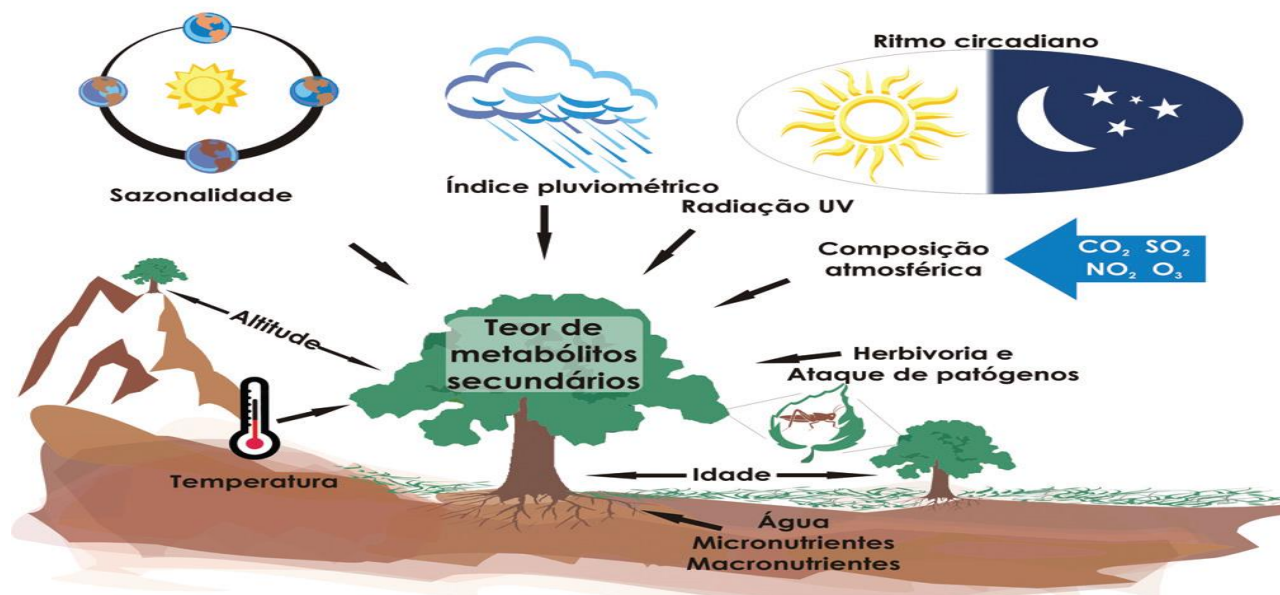
H0: Tanto a chuva quanto a sazonalidade não influenciam de nenhum modo a composição química e atividade antioxidante.

Desse modo, avaliar o efeito sazonal sobre a composição química e atividades biológicas/farmacológicas de espécies vegetais, é um importante método para favorecer uma coleta consciente da planta e “impacto positivo no uso farmacológico” (CHAVES, 2012), com o intuito de preservar a biodiversidade e garantir o uso sustentável das espécies da flora brasileira e amazônica.

1.1 SAZONALIDADE

Ao investigar o comportamento do metabolismo secundário de uma espécie, é importante avaliar o efeito que o meio ambiente exerce sobre a mesma (Figura 1). Entre muitos aspectos, a sazonalidade é um fator determinante na composição química da planta, pois variáveis como precipitação pluviométrica que oscilam muito em um ano inteiro, podem influenciar na atividade biológica que um vegetal pode apresentar. Principalmente plantas medicinais que são bastante utilizadas por muitas comunidades (SIMÕES et al., 1986).

Figura 1 – Fatores ambientais que podem influenciar o acúmulo de metabólitos secundários em plantas.



Fonte: GOBBO-NETO; LOPES (2007).

Os vegetais além de produzirem os metabólitos secundários, que são moléculas bioativas capazes de interagir com animais, protegendo as plantas de ataques de predadores ou atraindo insetos para a polinização, estes podem ser farmacologicamente ativos contra uma determinada doença e ainda proteger as plantas da ação de raios ultravioletas (UV), podendo atuar como antioxidantes (HARTMANN, 2007; WINK, 2008).

Estudos da variabilidade sazonal a partir de folhas de *Maytenus aquifolium* Mart. (Espinheira santa), constataram clara influência da sazonalidade na produção de metabólitos secundários (flavonoides e compostos fenólicos), indicando máxima produção na primavera para flavonoides e fenóis (YARIWAKE et al., 2005). Este estudo também identificou a presença de *triterpenos*, com maior teor no inverno. Os métodos utilizados na elucidação destes constituintes químicos foram: Espectrofotometria; Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Cromatografia Gasosa (CG), para fenóis totais, flavonoides e triterpenos, respectivamente, a partir de extratos hidrometanólicos submetidos a partição de clorofórmio-metanol (YARIWAKE et al., 2005).

Em outro caso, o conteúdo total de compostos fenólicos pode ser encontrado em maiores quantidades em uma parte da planta do que em outra, de acordo com a capacidade antioxidante de um órgão em função do outro. Um estudo verificou a presença majoritária de fenóis nas folhas para *Vaccinium myrtillus*. Em outra pesquisa, foi analisado a variação sazonal desta mesma espécie corroborando o elevado nível fenólico e atividade antioxidante nas folhas nos meses de julho e setembro, enquanto que a haste apresentou altas atividades apenas em julho (TELESZKO; WOJDYŁO, 2015).

Chaves et al. (2013) realizaram estudos com *Guapira graciliflora* (Maria – mole) e *Pseudobombax marginatum* (Embiratanha), ambas descritas como medicinais no semiárido brasileiro, mostrando efeitos sazonais na concentração de compostos fenólicos. Estes compostos, revelam-se elevados durante o inverno para *P. marginatum* e no verão para *G. graciliflora*. Esta relação é inversa quando foi analisado a concentração de flavonoides. Assim, a variação sazonal pode ocorrer com a maioria dos constituintes químicos e ações biofarmacológicas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Vale ressaltar que em alguns casos a sazonalidade pode ser confundida, com outras mudanças metabólicas, principalmente quando a planta está em processo de crescimento ou desenvolvimento, estas alterações são de caráter hormonal e devem ser avaliadas paralelamente (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Favorecendo um resultado mais próximo do verdadeiro.

Pesquisas com *Vaccinium macrocarpon* (Cramberry), corroboram para essa variável, pois no estudo em questão constatou-se que vegetais em fase de crescimento, apresentaram elevada taxa de compostos fenólicos, mas sem variação sazonal (bem evidenciada) ao contrário das plantas em idade reprodutiva (BEREZINA et al., 2017).

1.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

1.2.1 Oxidação em sistemas biológicos

Este mecanismo está associado a processos bioquímicos que ocorrem em todos os organismos e relacionado a ocorrência de radicais livres que podem ter ocorrência exógena (fatores ambientais) e endógenas (metabolismo) (SASTRE et al., 2003). De forma, a oxidação é a perda de um ou vários elétrons de uma determinada molécula para outro composto ou substância (LARSON, 1997). O inverso deste processo é considerado redução, que também está bioquimicamente envolvido na atividade antioxidante.

Apesar do oxigênio desempenhar extrema importância nos processos de geração de energia e eventos celulares, ele também contribui para o surgimento de radicais livres durante a cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias (SASTRE et al., 2003). Contudo, o efeito contrário destes fenômenos pode proporcionar o surgimento de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), culminando em estresse oxidativo. Este processo é o que caracteriza o envelhecimento dos organismos, considerado irreversível e progressivo, potencializando o risco de óbito (ROMERO et al., 2005).

Devido à reatividade, tanto as ERO (Tabela 1) quanto as Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN), podem atuar sobre macromoléculas, como DNA, hidratos de carbono, proteínas e lipídeos de membrana, resultando em danos muitas das vezes irreversíveis (BIRBEN et al., 2012). Muitos estudos atestam que os radicais livres podem alterar processos fisiológicos, tais como morte celular, proporcionando o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e câncer, por exemplo (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2010; ROSSO, 2013). A reação de fenton também é mostrada na Tabela 1, sendo considerada um importante mecanismo na produção de radical hidroxila. Neste contexto, testes que envolvam a redução do ferro são necessários para averiguar a atividade antioxidante contra este metal.

Tabela - 1: Principais Espécies Reativas de Oxigênio, com suas respectivas equações de reações.

Agente oxidante	Fórmula	Equação da reação
Ânion superóxido	O_2^-	$NADPH + 2O_2^- \leftrightarrow NADP^+ + 2O_2 + H^+$ $2O_2^- + H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$
Peróxido de hidrogênio	H_2O_2	$HIPOXANTINA + H_2O + O_2 \leftrightarrow XANTINA + H_2O$ $XANTINA + H_2O + O_2 \leftrightarrow \text{ÁCIDO ÚRICO} + H_2O_2$

Radical hidroxila	OH	$\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{+3} + \text{OH}^- + \cdot\text{OH}$
Ácido hipocloroso	HOCL	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl}^- \rightarrow \text{HOCl} + \text{H}_2\text{O}$
Radical peroxil	ROO	$\text{R}\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROO}\cdot$
Radical hidroperoxil	HOO	$\text{O}_2^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HOO}\cdot + \text{OH}^-$

Fonte: Birben et al. (2012).

O radical $\text{HO}\cdot$ é considerado um dos radicais livres mais danosos, pois este possui um período de meia vida muito curto e é altamente reativo, pode causar inativação enzimática e os mecanismos de defesa para este radical pelo organismo podem ser rapidamente vencidos (BAYNES; DOMINICZAK, 2015). Por esse motivo, o peróxido de hidrogênio é considerado muito perigoso, pois é ele que origina o radical hidroxila.

1.2.2 Antioxidantes

É neste contexto que aparecem os “antioxidantes”, que são moléculas que reagem com os radicais impedindo o “ataque” e destruição dos substratos orgânicos, como membrana celular e DNA (SALMON et al., 2010). Podem ser de ocorrência endógena (enzimática) como glutathione reduzida (GSH), ou exógenos como o butil-hidróxi-tolueno (BHT), que são aditivos alimentares sintéticos, atuando como antioxidantes.

Muitas moléculas com caráter antioxidante demonstram o potencial de reduzir espécies radicalares (radicais livres). Oliveira et al. (2011), constataram que algumas dessas estruturas podem doar elétrons para radicais como o tocoferol, permitindo o mesmo voltar a sua forma original, contribuindo para a manutenção da integridade da membrana em células de eucariotos.

Mesmo sendo largamente utilizados pelas indústrias alimentícias, os antioxidantes sintéticos apresentam alguns perigos provocados pelo o seu consumo excessivo e contínuo, comprovado por pesquisas em animais (HIROSE et al., 1981; ROSSING et al., 1985).

1.2.2.1 Compostos fenólicos

Os antioxidantes de origem natural atuam como importantes fontes para os organismos, principalmente aqueles encontrados nas plantas. Neste contexto, merecem destaque os compostos fenólicos, pois são estruturas que apresentam pelo menos um

anel aromático em que um átomo de hidrogênio é trocado por uma hidroxila. Correspondem a diversas classes de compostos fenólicos, como, fenóis simples, benzoquinonas, ácidos fenólicos, acetofenonas, fenilpropanóides, ácidos cinâmicos, benzoicos, cumarinas, cromonas, xantonas, antraquinonas, flavonóides, lignanas, melaninas, ligninas e taninos. Podem ser biossintetizados através da rota do ácido chiquímico ou pela via do acetato-polimalato (SIMÕES et al., 2010).

Os ácidos fenólicos apresentam elevada atividade antioxidante principalmente por demonstrarem características redox, atuando como moléculas redutoras de EROs (STANKOVIC et al., 2011). São muito utilizados em indústrias alimentícias por evitarem a peroxidação lipídica o que caracteriza ranço e odores desagradáveis, além da formação de outras substâncias não desejáveis (CANADANOVIC-BRUNET et al., 2006).

Algumas pesquisas de caráter epidemiológico evidenciam que uma dieta contínua de frutas e outros vegetais estão fortemente ligadas a redução de algumas moléstias, tais como, câncer e envelhecimento precoce, sendo a maioria atrelado a compostos fenólicos e atividade antioxidante (GIAMPIERI et al., 2014).

Alguns polifenois são descritos como potentes substâncias no combate do câncer, como resveratrol e seus derivados (Figura 2) e também curcumina, que atuam como agentes quimio-preventivos em casos de leucemia (NEHA et al., 2019). Também são descritas propriedades antienvhecimento, anticatarata, antidiabético, anti-inflamatório, antimicrobiano, hepatoprotetor, nefroprotetor e neuroprotetor para os polifenois, todos com alguma relação a atividade antioxidante destes compostos químicos.

Figura 2 – Derivados hidroxilados de resveratrol.

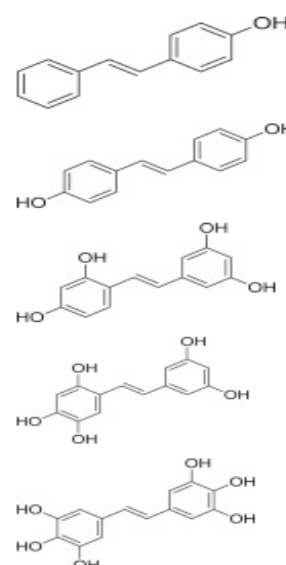
Hidroxiestilbeno

Diidroxiestilbeno

Tetrahidroxiestilbeno

Penta-hidroxiestilbeno

Hexahydroxystilbene

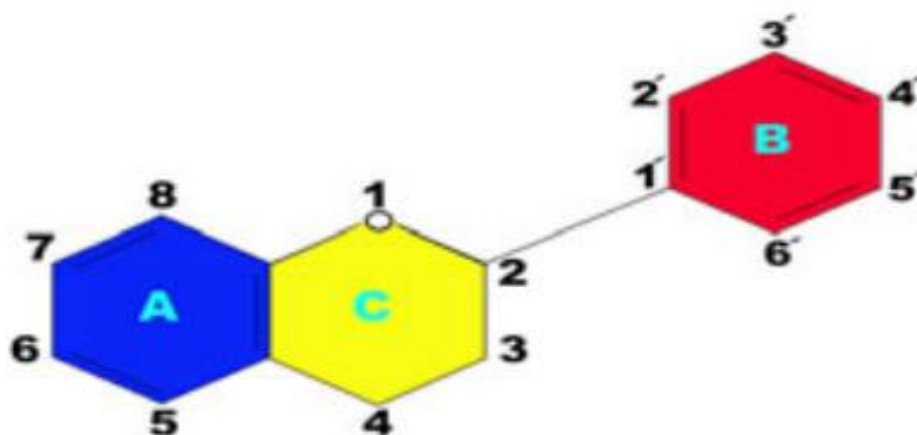


Fonte: NAHA et al., 2019.

1.2.2.2 Flavonoides

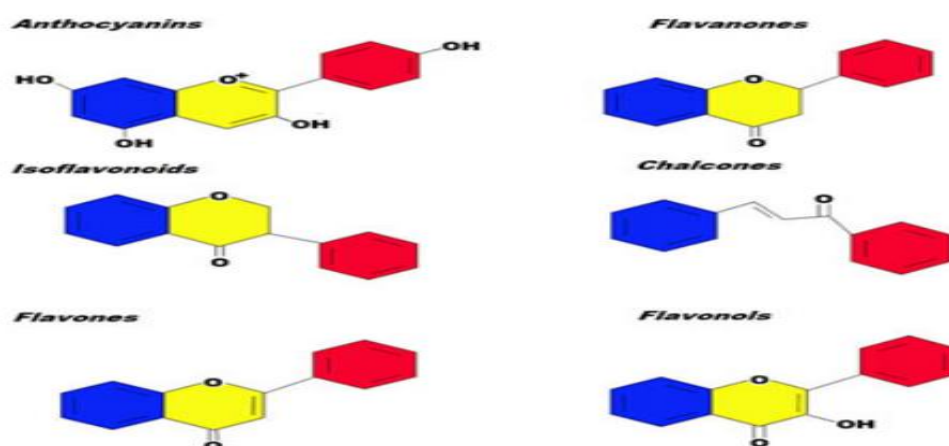
Flavonoides são substâncias sintetizadas pelos vegetais e tem como estrutura básica um esqueleto carbônico (C6-C3-C6), conforme Figura 3. Podem estar na forma livre (agliconas), ou conjugados ligados à açúcares (heterosídeos). Já foram descritos mais de 4.000 compostos e são classificados de diversas formas (Figura 4), tais como, flavonas, flavonóis, chalconas, auronas, flavanonas, isoflavonóides, neoflavonóides, entre outras. Abundante entre as plantas superiores, poucos relatos em briófitas, escasso em algas e apenas uma descrição em fungos (SIMÕES et al., 2010). Atualmente, são relatados mais de 10.000 tipos divididos em suas variadas classes (SARAEI et al., 2018).

Figura 3: Estrutura geral dos flavonoides.



Fonte: SARAEI et al. (2018).

Figura 4: Estrutura básica geral das diferentes classes de flavonoides.



Fonte: SARAEI et al. (2018).

Como metabólitos secundários, os flavonoides são essenciais para a sobrevivência das plantas em um contexto ecológico (químico), pois protegem as mesmas contra a radiação solar, insetos (herbivoria), bactérias, fungos e vírus, sem falar a habilidade de atrair polinizadores. E consequentemente apresentam as seguintes propriedades biológicas/farmacológicas: antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, antitumoral e antimicrobiana (SANTOS; RODRIGUES, 2017).

Os flavonoides são importantes antioxidantes naturais em função da sua natureza biológica. Pois podem atuar em diversas funções, como na melhora da perda da visão e modificações visuais. Minimiza sinais e sintomas nos ductos linfáticos e transtornos hemorrágicos, além de influenciarem na normalização da hipertensão arterial. Tendo em vista que estas doenças podem estar diretamente relacionadas ao estresse oxidativo e com esta atividade biológica (FRESCURA et al., 2013).

Apresentam diversas propriedades farmacológicas (SIMÕES et al., 2010), entre elas, destaca-se a atividade antioxidante, por capturarem e neutralizarem algumas ERO como ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido, podendo atuar em conjunto com vitaminas C e E, também antioxidantes naturais.

Muitos flavonóides tem potente ação antioxidante ao inibirem a peroxidação microssomal em gorduras, como quercetina, ramnozina, luteolina, eriodictiol, morina, canferol e miricetina (HARAGUCHI, 2001). Pesquisas mostram que além do seu potencial antioxidante os flavonoides podem ser esperançosos no campo da terapia anti-câncer (leucemia), ao suprimirem a sinalização de proteínas envolvidas na morte celular de células cancerosas (SARAEI et al., 2018).

Chalconas, são estruturas que permitem a biossíntese dos flavonóides, estabelecem diversas cores nos vegetais, principalmente nas flores (ecologia química) (SIMÕES et al., 2010). Podem exercer ação antioxidante devido uma possível facilidade de sua estrutura sofrer oxidação e apresentar uma nova composição (radical orto-semiquinona estável); ficando claro que a presença de grupos orto-diidróxi nas posições 3' e 4' de uma flavona é fundamental para uma consistente propriedade antioxidante (HARAGUCHI et al., 1998).

Além das chalconas, os flavonoides também são considerados pigmentos, responsáveis por diversas colorações nos vegetais (principalmente flores e frutos) e sua principal atuação é a proteção das plantas contra moléculas ou átomos oxidantes. Vale ressaltar que o organismo humano não produz essas substâncias (LOPES et al., 2014). Sendo necessário sua ingestão diária com o intuito de proteger o corpo de danos e estresse oxidativo.

Alguns flavonoides como a daidzeína tem a potencialidade de restaurar (regenerar) antioxidantes primários como vitamina E e C (BREWER et al., 2014). Estas estruturas podem atuar de forma positiva em processos inflamatórios, induzindo a modificando da produção de substâncias que atuam na resposta antiinflamatória.

Tendem a proteger contra a oxidação do mal colesterol, impedindo a formação de placa aterosclerótica; evitam agregação plaquetária; exercem atividade anticâncer; atenuam efeitos da menopausa; corroboram com o aumento da lipólise, diminuem o dano causado nas bainhas de mielina (SILVA et al., 2015).

No entanto, mesmo com o elevado número de potencialidades, é importante citar, que dependendo da forma de uso dessas substâncias, como dose e/ou tempo de exposição, os flavonoides podem apresentar encadeamentos alérgicos e muitos processos degenerativos em humanos, como modificação das membranas de hepatócitos, funcionamento da tireóide e inibição de citocromos P450 o que resulta em prejuízos ao fígado. Todos esses problemas foram diagnosticados em testes *in vivo* (SILVA et al., 2015).

Compostos fenólicos (flavonoides), geralmente, estão associados a atividade anti-inflamatória e conseqüentemente à antioxidante, sem falar na associação e prevenção com doenças cardíacas e câncer (NIJVELDT et al., 2001), associada a ingestão destas moléculas (HERTOG et al., 1995; KNEKT et al., 1996).

Nesse contexto, pesquisa realizada com a população que reside na área do mediterrâneo, apresentam uma baixa prevalência de doenças cardíacas, devido ao baixo consumo de gorduras saturadas (moléculas que apresentam apenas ligações simples ou do tipo sigma entre os seus átomos de carbono) e alto consumo de vinho vermelho (NIJVELDT et al., 2001). Estes relatos ajudam na intensificação de estudos com estas moléculas.

1.3 GÊNERO *Croton* e *Croton cajucara* Benth

Croton cajucara pertence à família das Euphorbiaceae é conhecida na Amazônia como “sacaca”, que significa feitiço na língua indígena. É uma árvore lenhosa podendo chegar até 6 metros de altura (VAN DEN BERG, 1982).

Já foram isolados e caracterizados dois tipos de flavonóides das folhas (figura 5) de *Croton cajucara* (3,7,4'-tri-o-metilcanferol e 3,7, -di-o-metilcanferol) (MACIEL et al., 2009). Além de diterpenos clerodanos, que são estruturas bioativas isoladas da casca do caule. O diterpeno clerodano trans-desidro-crotonina, possivelmente está associado a todos os

tratamentos com o objetivo de cura para a espécie *Croton cajucara* (MACIEL et al.,2000). Essa informação não está acompanhada de estudos que corroborem ou comprovem a afirmação dos autores, necessitando mais estudos para sua comprovação.

Figura 5 – Folhas e frutos de *Croton cajucara*.



Fonte: Autor (2019).

Segundo dados etnofarmacológicos a casca do caule pode ser utilizada de diversas formas, principalmente através de chá e pílulas, podendo combater algumas doenças, tais como, “diabetes, problemas estomacais, inflamações do fígado, controle de colesterol alto”, entre outras funções. E as folhas, são recomendadas como hepato e gastroprotetoras, além das funções descritas a cima (MACIEL et al, 2002a; 2002b).

Tieppo et al. (2006), através de testes *in vitro* (DPPH) e *in vivo* (sangue venoso de ratos wistar) utilizando extratos aquosos de *C. cajucara*, sugerem a possibilidade do mesmo em eliminar ERO's como anion superóxido, pois os extratos foram capazes de proteger danos ao fígado contra o efeito citotóxico de um herbicida (paraquat), além do positivo resultado para sequestro de radicais.

Contudo, a literatura apresenta algumas controvérsias relacionadas a utilização das folhas e da casca do caule de *C. cajucara*, pois em muitos casos houve a troca de indicação das cascas pelas folhas, proporcionando dúvida ao leitor quanto as suas atribuições farmacológicas e de formulações (uso). E o consumo terapêutico indevido (excessivo/abusivo) desta planta pode acarretar sérios problemas de saúde aos seus usuários (VEIGA JUNIOR et al., 2005). Principalmente por ter sido comprovado a hepatotoxicidade de *Sacaca* em detrimento de uso exacerbado (MACIEL et al., 2002a, 2002b; SOARES, 2004; VEIGA JUNIOR et al., 2005; MACIEL et al., 2009).

Maciel et al. (2009), apresenta resultados do teste do DPPH (CE₅₀), utilizando extratos metanólicos (EM), hexânicos (EH) e clorofórmicos (EC), como mostra a Figura 6,

evidenciando que existe variação sazonal da atividade antioxidante das folhas desta espécie.

Figura 6 – Teste do DPPH para as folhas de *Croton cajucara*, coletadas em diferentes épocas, (AJ: novembro/1993 e junho/1995), (AD: junho/1993 e abril/1994) e idades distintas.

Árvores jovens	CE ₅₀ (mg/mL)
EH-AJ-SME-4	446,07 ± 52,22
EH-AJ-SME-3	413,00 ± 11,07
EC-AJ-SME-3	279,96 ± 38,26
EC-AJ-SME-4	362,63 ± 15,27
EM-AJ-SME-1	275,11 ± 25,84
EM-AJ-SME-4	232 ± 60 ± 22,60
Árvore adultas	CE ₅₀ (mg/mL)
EM-AD-SME-1	348,05 ± 3,70
EM-AD-SME-4	321,83 ± 22,1

AJ: Árvores jovens (1 ½ ano de idade); AD: árvores adultas (4-6 anos de idade); EH: extrato exânico; EC: extrato clorofórmico; EM: extrato metanólico.

Fonte: Maciel et al. (2009).

Triagem fitoquímica realizada com folhas de *C. cajucara* apresentaram resultados positivos para açúcares redutores, taninos, carotenoides, esteroides, triterpenoides, saponinas e alcaloides (NETO et al., 2010).

Ahmad et al. (2010), avaliaram diferentes solventes em extratos de *Croton sparsiflorus*, coletados no mês de setembro de 2007, mensurando compostos fenólicos totais, captura de DPPH e redução do complexo fosfomolibdênio. O extrato etanólico apresentou melhores resultados que o aquoso para todos os testes mencionados a cima. Para esta espécie, o extrato alcólico foi mais eficiente que o controle (BHT), na atividade antioxidante total e mostrou correlação positiva moderada com os compostos fenólicos ($r = 0,49$). E correlação forte com DPPH ($r = 0,84$).

Extratos aquosos da casca do caule de *C. cajucara*, foram capazes de diminuir o efeito do estresse oxidativo no tecido hepático de ratos wistar que foram submetidos a indução de diabetes por estreptozotocina, além de apresentar bons resultados para o consumo do radical DPPH, com porcentagem de consumo de 57,32% do radical em uma concentração de 100 µg/mL (RODRIGUES et al., 2012).

Folhas de sacaca foram coletadas nos meses de julho/2009, janeiro de 2010 e julho/2010 e preparados infusões a partir destas amostras; apresentando conteúdo de fenois totais de 26,80, 27,20 e 24,08 mg EAG/g de extrato respectivamente ao período de coleta. Este estudo mostrou que não ocorreu diferença significativa entre as diferentes

coletas. E a infusão (na concentração de 20 µg/mL) não apresentou resultados satisfatórios para o consumo de radical DPPH, sugerindo o autor dois motivos possíveis: baixa concentração de substâncias antioxidantes no preparo ou fraca reatividade dos metabólitos envolvidos no extrativo (PORT'S et al., 2013).

Extratos metanólicos de nove espécies de *Croton* apresentaram valor de % de consumo do radical DPPH inferior a 50 % na concentração de 500 µg/mL (FURLAN et al., 2015), demonstrando baixo potencial antioxidante, quando comparados aos extratos hidroetanólicos de *C. cajucara* que chegou a apresentar valores de 66,87 % (300 µg/mL) em específico mês de coleta.

Estudos com óleos essenciais de *C. piauiensis* não demonstraram forte potencial antioxidante para o DPPH, obtendo valores máximos de consumo do mesmo de 30% em todas as concentrações testadas (7,61 a 500 µg/) (VALE, 2015).

Uma fração polissacarídica isolada a partir de extratos aquosos das folhas (coletadas em fevereiro de 2014) de *Sacaca* foram capazes de diminuir o efeito danoso causado ao estômago com gastrite induzida por álcool (NASCIMENTO et al., 2016). Estes resultados fortalecem o uso medicinal como gastroprotetor.

Estudo recente com as folhas de *Croton cajucara*, coletadas em fevereiro de 2014, puderam caracterizar compostos fenólicos como catequinas, proantocianidinas, flavonóis, além de flavonoides glicosilados, através de CLAE-MS e confirmando propriedades desta planta como anti-inflamatória (NASCIMENTO et al., 2017).

Dados da literatura mostram que extratos do gênero *Croton* podem ser influenciados pela sazonalidade e ter sua composição química e atividades biológicas alteradas. Assim como de seus óleos essenciais (RIBEIRO et al., 2018).

1.4 GÊNERO *Dalbergia* e *Dalbergia monetaria* L.f.

O gênero *Dalbergia* pertence à divisão das Angiospermas, classe Dicotyledonae, ordem Fabales e família das Fabaceae (Leguminosae: Papilionoideae), com mais de 274 espécies conhecidas, sendo 39 brasileiras (CARVALHO, 1997). O nome deste gênero foi criado em referência ao médico sueco N. Dalberg (MARCHIORI, 1995).

Estas espécies representam vegetais de médio e pequeno porte, representadas por ervas e trepadeiras, largamente difundida por regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre, muitos destes organismos são aplicados na terapêutica tradicional, inclusive na medicina chinesa (CARVALHO, 2004).

E *Dalbergia monetaria* é um vegetal da família das Fabaceae, gênero *Dalbergia*, é uma planta nativa da região amazônica, vivendo necessariamente em floresta de terra firme e não sofre influência direta de águas (fluviais) sazonais durante seu crescimento, entretanto, seus frutos são constantemente dispersos nas águas, devido à proximidade de seu habitat aos rios e igarapés (CARVALHO, 1997). Vários flavonoides são relatados para o gênero (NUNES et al., 1989).

D. monetária (Figuras 7 e 8), é comumente utilizada na medicina popular (CARVALHO, 1997). Sendo relatados isoflavonóides (ABE et al., 1985) e pró-antocianinas (NUNES et al., 1989) para este vegetal. Verônica, como é conhecida pela população tradicional no estado do Amapá é comumente empregada para o combate da anemia (SHANLEY; ROSA, 2005).

Figura 7 – Amostra coletada da casca do caule de *Dalbergia monetaria* no município de Porto Grande.



Fonte: Autor (2018).

Figura 8 – Amostras de casca do caule e folhas de *Dalbergia monetaria*.



Fonte: Autor (2019).

Dentre as atividades farmacológicas atribuídas as suas espécies, há uma relação íntima com a presença de flavonoides, assim as atividades anti-inflamatória, antinociceptiva, antimicrobiana, antiparasitária e antioxidante já foram confirmadas em alguns exemplares pertencentes ao gênero *Dalbergia* (MENDES et al., 2012; SAHA et al., 2013; MELO et al., 2016).

Experimento realizado a partir de extratos aquosos com esta espécie, verificaram alta concentração de ferro solúvel (4,15 ppm), utilizando metodologia de Standard Methods (1995) e espectrofotômetro como instrumento identificador. Evidências como estas corroboram para comprovar a eficácia do uso etnofarmacológico da biodiversidade amazônica (SILVA et al., 2007).

Para *Dalbergia monetaria* não foram encontrados estudos que avaliam sazonalidade para sua composição química e A.A. a partir de extratos. No entanto, ao analisar os efeitos das condições ambientais na concentração de óleos essenciais de *D. frutescens*, outra espécie do gênero *Dalbergia*, pode-se perceber que algumas variáveis foram diretamente proporcionais na produção de metabólitos, como por exemplo, temperatura, outras inversamente, como precipitação (MENDES et al., 2012).

Extratos etanólicos de *D. monetaria* são considerados não tóxicos, através de testes com larvas de *A. salina*, com valor de DL₅₀ de 4034,23 µg/mL (MELO et al., 2016), um resultado muito promissor, pois os extratos desta planta são bastante utilizados por populações locais no Amapá e potenciais antioxidantes naturais.

Experimentos conduzidos com ratas wistar submetidas a decocção de *D. subcymosa*, confirmaram a utilização segura deste preparo durante a gestação, não ocasionando distúrbios na formação embrionária. O estudo também sugere a utilização do chá de verônica como anti-inflamatório (PETERS; GUERRA, 1995).

Dados etnofarmacológicos no estado do Amapá, indicam *D. subcymosa* como uma potente anti-inflamatória uterina, ovariana, boa para “corrimentos” e para o sistema urinário, além de ser indicada para cicatrizações. No município de Macapá, verônica é preparada junto do barbatimão (*Ouatea hexasperma*), em farmácias de manipulação, para curar inflamações no útero (ALVES et al., 2006).

Tanto *Dalbergia monetaria* quanto *Dalbergia subcymosa*, são conhecidas na Amazônia como “verônicas”, o que pode confundir seu uso etnomedicinal (ALVES et al., 2006). A presença de um botânico em coletas de campo durante pesquisas científicas, podem facilitar a preservação das espécies, pois sua presença direciona coletas mais assertivas, em detrimento do amplo conhecimento botânico que este profissional detém. Muitas espécies podem ser destruídas por equívocos durante a colheita e de certa forma

corroboram com a possível extinção de algumas espécies nativas, não só da floresta amazônica, como qualquer outra floresta do Brasil e do mundo.

Estudo realizado com diversas plantas medicinais da Amazônia, indicaram concentração média de flavonoides e Compostos fenólicos totais, respectivamente, em *D. subcymosa* de 1.43 mgGAE / gFW e 35.8 mgGAE / gFW, a partir de cascas de seu caule. Apresentando atividade antioxidante, utilizando testes ORAC (Capacidade de Absorção de Radiação de Oxigênio) e TEAC (Capacidade Antioxidante Equivalente Trolox) (SILVA et al., 2007). Neste mesmo estudo, foi necessário a utilização de vários reagentes para a obtenção dos extratos de *Dalbergia subcymosa*, sendo utilizado quatro solventes distintos (água, etanol, metanol e ácido clorídrico) e macerados a frio por 24 horas.

D. subcymosa apresenta valores elevados de compostos fenólicos e atividade antioxidante a partir de testes ORAC e TEAC, em relação a outras espécies vegetais, podendo ser considerada uma fonte importante em processos oxidativos (SILVA et al., 2007). Além disso, Correia et al (2008) utilizando extratos etanólicos da casca do caule de *D. subcymosa*, apresentaram resultados positivos contra a bactéria *Staphylococcus aureus*, no ensaio de disco (MIC), outras espécies também foram avaliadas neste trabalho. Estes resultados fortalecem as atividades biológicas para o gênero *Dalbergia*, ao qual pertence *D. monetaria*.

Uma análise do perfil antioxidante de *D. sissoo* mostrou bons resultados para extratos aquosos e metanólicos para diferentes metodologias. No ensaio que visava mensurar a habilidade em consumo de radical, os extratos aquosos foram os melhores, apresentando quase 80% de consumo na concentração de 40µg/mL.

Os extratos aquosos apresentaram os melhores resultados para o poder de redução do ferro, além de quase 40% de poder de quelação do ferro, pelos extratos aquosos. A água foi o melhor solvente no processo de extração, com 153,35 mg de equivalente a ácido gálico por g de extrato, enquanto que o etanólico obteve apenas, 4,42 mg/g. Já para flavonoides, foi obtido 189,79 contra 4,27 mg de quercetina / g de extrato, nos extratos aquosos e etanólicos, respectivamente (ROY et al., 2011).

Muitos apioglucosídeos de origem rara já foram descritos na literatura. E nesse sentido, isoflavonoides apioglucosídicos podem estar atrelados quimiotaxonomicamente ao gênero *Dalbergia*, caracterizando um marcador para as espécies (INNOCENT, 2012; RAMESH e YUVARAJAN, 1995; UMEHARA et al., 2009; DIXIT et al., 2012).

D. odorífera, em estudos realizados com partes de seu caule, foi isolada a molécula bioativa buteína, uma chalcona, estrutura precursora de flavonoides (CHAN et al., 1998; CHENG et al., 1998). Experimentos utilizando a casca do caule de *D. odorífera*, foram

capazes de isolar um composto (9-hidroxi-6,7-dimetoxidalbergiquinol) com potencial de apresentar efeito terapêutico contra doenças neurodegenerativas associadas a neuroinflamação (LEE et al., 2013). Corroborando a ideia de que flavonoides estão associados a inflamação, de modo a evita-la.

As concentrações destes óleos podem variar de acordo com a temporada (sazonalidade), pois os norisoprenóides demonstraram baixa da sua síntese no inverno, após alta produção na primavera, verão e outono. Enquanto que sesquiterpenos oxigenados tiveram máxima metabolização na primavera e inverno, para *D. frutescens* (MENDES et al., 2014).

Uma pesquisa, relacionada a tingimentos de tecidos utilizando extratos de plantas, mostrou que o extrato alcólico de *D. subcymosa*, foi a melhor extração para produzir corantes naturais, quando comparado com o solvente água (RODRIGUES; ARAUJO, 2014).

Através de testes realizados com *D. saxatilis*, foi comprovado, por meio de testes com ratos, atividades anti-inflamatórias, antipiréticas e analgésicas. Este estudo sugere a influência de saponinas, taninos e fenóis, como os responsáveis por estas ações farmacológicas (YEMITAN; ADEYEMI, 2017).

1.5 GÊNERO *Licania* e *Licania macrophylla* Benth

L. macrophylla pertence à família das Chrysobalanaceae, que compõe aproximadamente 18 gêneros e em torno de 531 espécies, amplamente distribuída pelo planeta, podendo ser representadas por árvores e arbustos (PRANCE, 2007). A maioria das espécies são utilizada como remédio para tratar epilepsia, doenças sexualmente transmissíveis (DSTs), disenteria, dor de dente e até mesmo malária (LEE et al., 1996). Sendo conhecida pelas comunidades tradicionais da Amazônia como “anauerá” e muito utilizada para o tratamento da diarreia e amebíase, sendo a casca do caule (Figura 9) a parte mais utilizada da planta (GRENAND et al., 1987).

Anauerá pode ser localizada perto de igarapés ou áreas de várzeas, na região do baixo Amazonas (RODRIGUES, 1989). A Figura 10 mostra a casca do caule de *Licania macrophylla* in situ. Vale ressaltar que a coleta em períodos apropriados da planta, pode contribuir para a sua conservação.

Figura 9 - Casca do caule de *Licania macrophylla*.



Fonte: Autor (2018).

Figura 10 - Amostra coletada da casca do caule de *Licania macrophylla*.



Fonte: Autor (2018).

Extratos etanólicos da casca do caule de *L. macrophylla* demonstraram resultados positivos contra a bactéria *Staphylococcus aureus*, no ensaio de disco (CORREIA et al., 2008). Estes resultados fortalecem a sugestão de incorporar estes extratos como conservantes de alimentos por apresentar ação antibacteriana.

De um total de 22 plantas medicinais analisadas e oriundas do México, *Licania arborea* apresentou altas taxas de compostos fenólicos totais (270 mg/g de extrato) pelo método de Folin-Ciocalteu, a partir de extratos metanólicos da casca do caule, além de apresentar porcentagem de inibição do DPPH próximo aos 50 %, demonstrando bom

potencial antioxidante (RUIZ-TERÁN et al. 2008). Agregando valor antioxidante ao gênero *Licania*.

A partir de uma pesquisa utilizando a casca do caule de *Licania macrophylla* foi isolado um flavonoide, descrito como 4'-O-metil-epigallocatequina-3'-O- α -L-raminosídeo, além de relatarem a presença de outro conhecido 4'-O-metil-epigallocatequina (MEDEIROS; MEDEIROS, 2012).

Essas informações descritas acima inferem possível atividade antioxidante para esta espécie em resposta a presença de compostos aromáticos. O gênero descreve alguns flavonoides extraídos de diferentes extratos (BRACA et al., 2002).

Estudo realizado com extrato etanólico da casca do caule de Anauerá, mostraram que a mesma apresenta toxicidade extremamente baixa em testes realizados com larvas de *Artemia salina*, demonstrando que a DI_{50} foi 1253 μ g/mL. Além disso, triagem fitoquímica realizado com esse mesmo extrato apresentou resultados positivos para taninos, ácidos orgânicos, açúcares redutores, saponinas, antraquinonas (RAMOS et al., 2014).

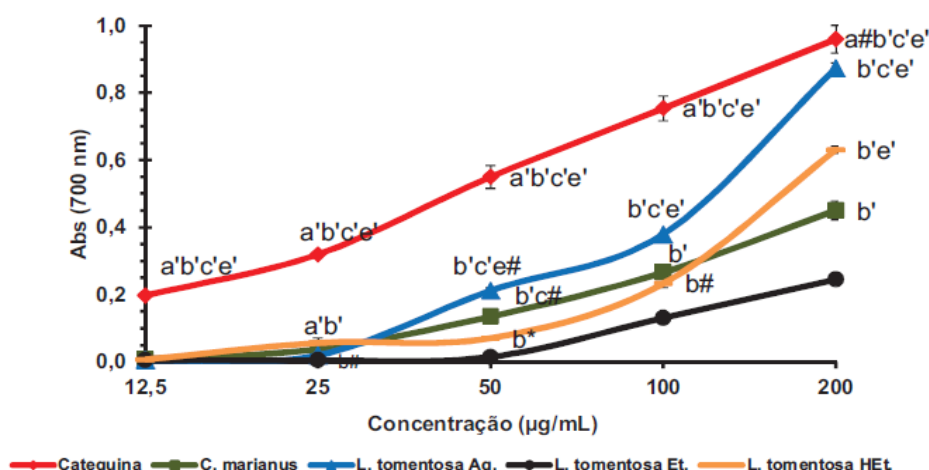
Macedo (2011) investigou três extratos (aquoso, etanólico e hidroetanólico (1:1)), das folhas de *Licania rigida* e *Licania tomentosa*. As maiores taxas de fenólicos totais, pelo método de Folin, foram encontradas para o extrato etanólico (149,68 mg/g de extrato) de *L. rigida* e (70,95) para *L. tomentosa*, enquanto que os extratos hidroetanólicos apresentaram os conteúdos mais baixos e os aquosos valores intermediários.

Quanto a investigação de flavonoides totais (método de complexação com o cloreto de alumínio), os extratos etanólicos, também das folhas, apresentaram os maiores valores em *L. rigida* (96, 71 mg/ g de extrato) e *tomentosa* (38,97), no entanto, os extratos hidroetanólicos de *L. rigida* (11,52) e *tomentosa* (21,54), superaram os valores dos aquosos *L. rigida* (7,85) e *tomentosa* (10,75), diferente do que foi evidenciado com polifenóis totais (MACEDO et al., 2011).

De acordo com os resultados de Macedo (2011), o álcool (etanol), foi o solvente mais eficaz para a extração de flavonoides e polifenóis totais. Estes dados corroboram com as inúmeras substâncias ou moléculas de natureza hidrofílica que fazem parte da família das Chrysobalanaceae, família do gênero *Licania* (CASTILHO et al., 2005).

Apesar do extrato etanólico de *L. tomentosa* ter apresentado maiores taxas de compostos fenólicos que as demais frações, o mesmo não foi capaz de reduzir o ferro com a mesma potência que os outros extratos e frações, como mostra a Figura 11 (MACEDO, 2011).

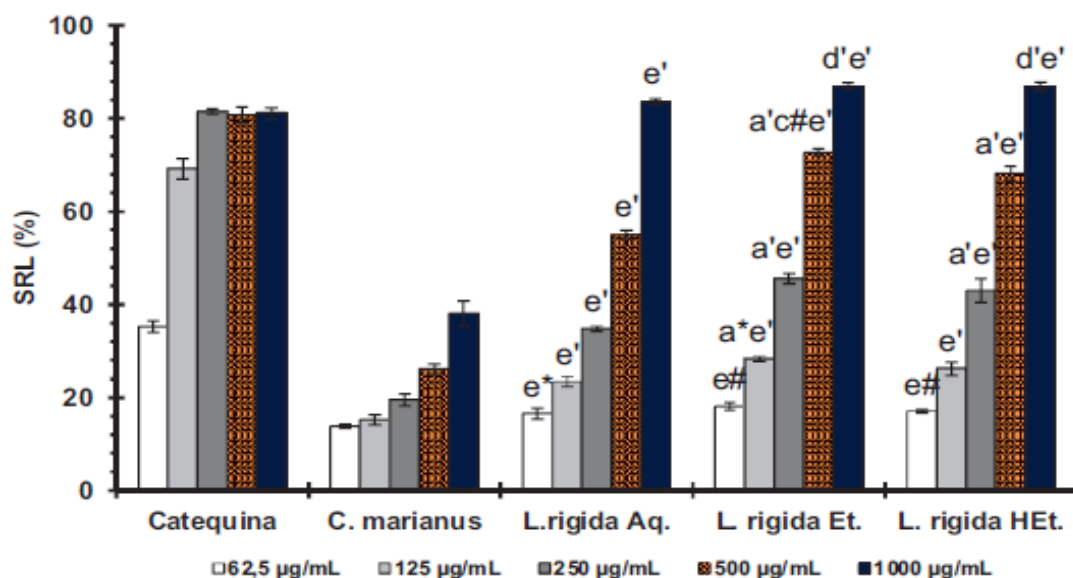
Figura 11 – Capacidade de redução do ferro (Fe^{3+}) pelos extratos aquoso, etanólico e hidroetanólico de *Licania tomentosa*.



Fonte: Macedo (2011).

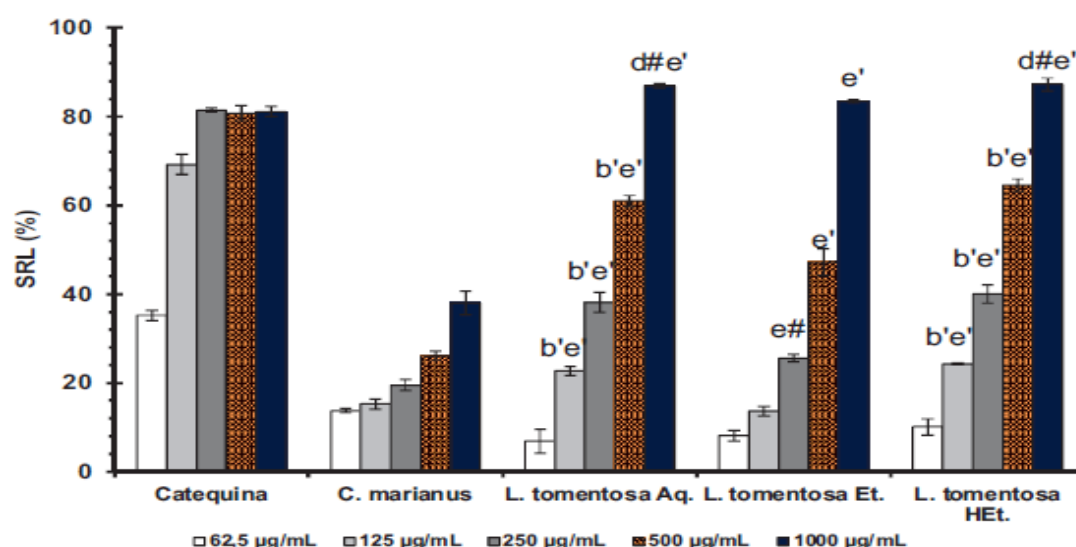
Tanto *L. rigida* quanto *L. tomentosa* apresentaram baixos valores de consumo de radical livre na concentração de 120 µg/mL, conforme as Figuras 12 e 13, não ultrapassando 35%. A partir destes resultados, foi evidenciado que os extratos só apresentaram elevada capacidade de sequestro de DPPH em 1.000 µg/mL, no entanto, esta concentração é muito elevada, tendo em vista que quanto menor a concentração melhor, no sentido de potencialidade da amostra, quanto a uma possível toxicidade em doses altas e outros parâmetros, tais como, farmacocinética, por exemplo.

Figura 12 – Potência de sequestro do radical DPPH pelos extratos aquosos, etanólicos e hidroetanólicos de *Licania rigida*.



Fonte: Macedo (2011).

Figura 13 - Potência de sequestro do radical DPPH pelos extratos aquosos, etanólico e hidroetanólico de *Licania tomentosa*.



Fonte: Macedo (2011).

Silva et al. (2012), utilizou extratos hidroetanólico das folhas de *L. tomentosa*; o mesmo foi macerado por 3 dias e o álcool usado foi etanol (95%). A amostra consumiu 69,91% de DPPH a 125 µg/mL, diferindo dos resultados de Macedo (2011), que utilizou a mesma planta. Esses resultados fortalecem a ideia de que o tempo de maceração pode influenciar no teor da composição química e atividade biológica das espécies, neste caso de *Licania tomentosa* e seu potencial antioxidante.

Utilizando extratos etanólicos (etanol absoluto) das sementes de *L. tomentosa* e *L. rigida*, coletados em janeiro de 2008 e dezembro de 2007, respectivamente; Farias et al. (2013), obteve valores de CE_{50} de 216,72 µg/mL e 487,51 µg/mL para atividade antioxidante (DPPH), de modo respectivo, sendo que neste estudo os controles utilizados, quercetina e vitamina C, apresentaram valores de 55,52 e 260,27 µg/mL; a diluição das amostras e controles foi de 5 a 1000 µg/mL.

Sementes de *L. rigida* e *tomentosa* foram colhidos em janeiro de 2013 e foram confeccionados extratos etanólicos (95%) e aquosos (fração). Apresentando alguns resultados para compostos fenólicos totais, flavonoides e DPPH. *L. rigida* apresentou maior taxa de polifenóis do que *L. tomentosa* quando comparado tanto os extratos etanólicos quanto os aquosos. Já para flavonoides, *L. rigida* apresentou melhores taxas do que *L. tomentosa*, avaliando o extrato etanólico e aquoso (PESSOA et al., 2016).

Na avaliação da atividade antioxidante, *L. tomentosa* diferenciou-se muito de *L. rigida*, demonstrando potencial antioxidante superior, de acordo com os valores de CE_{50} de 27,14 e 174,63 µg/mL para os extratos etanólicos, quantos aos aquosos de *L. rigida* foi

melhor do que *L. tomentosa*, entretanto, com pouca variação, 42,68 e 38 µg/mL para os aquosos (PESSOA et al., 2016). Estes resultados atribuíram fraca correlação positiva para a A.A. com o teor de fenois (PESSOA et al., 2016). Nesta pesquisa foi utilizada valores de diluição de 0,5 a 512 µg/mL para o consumo de radical livre.

Pode-se perceber que ocorre variação sazonal entre *Licania tomentosa*, coletada em diferentes épocas. Mas é preciso verificar o método utilizado na obtenção dos resultados para uma comparação acertiva e fidedigna; percebe-se que as concentrações utilizadas no teste de DPPH foi distinta.

O extrato etanólico (50% álcool e 50% água) das folhas de *L. rigida* apresentaram maiores valores de polifenois totais que suas frações e menos teor de flavonoides que a fração acetato de etila, equanto que valores de CE₅₀ para o DPPH, a fração acetato de etila (16,93 µg/mL) apresentou melhores resultados que o extrato bruto (35,81 µg/mL), entretanto, ambos foram superiores que *Carduus marianus*, padrão utilizado (MORAIS, 2015).

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a variação sazonal da composição química e atividade antioxidante de extratos hidroetanólicos brutos das folhas de *Croton cajucara* e casca do caule de *Dalbergia monetaria* e *Licania macrophylla*, no período de doze meses, tendo como principal variável a precipitação pluviométrica; além de agregar valor antioxidante às espécies estudadas e tentar prever uma época de colheita sustentável.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Quantificar os compostos fenólicos e flavonoides totais das três espécies estudadas a partir de métodos espectrofotométricos;
- b) Mensurar a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos brutos;
- c) Analisar e correlacionar o índice pluviométrico e a sazonalidade da composição química das plantas utilizadas e seu potencial antioxidante;

3.1 PRODUTOS QUÍMICOS

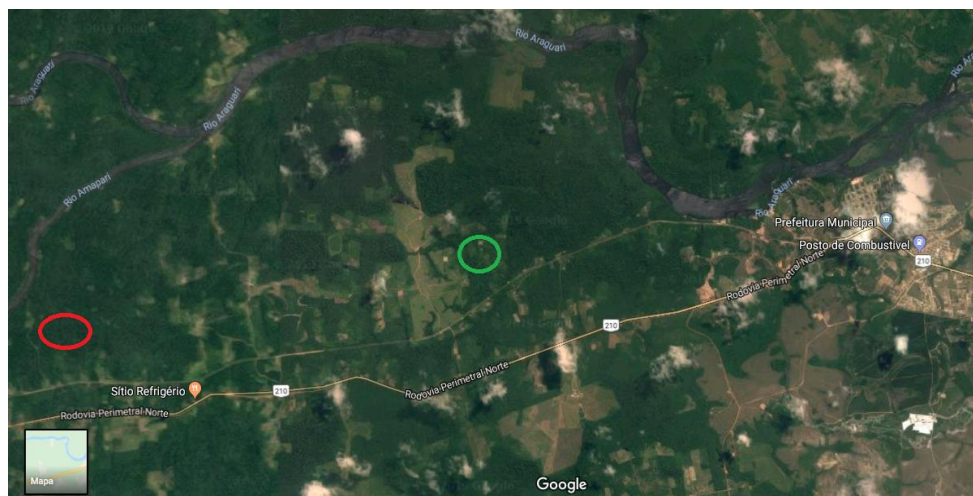
Foram utilizados os seguintes reagentes com suas respectivas marcas: ferricianeto de potássio (Biotec®), cloreto férrico (Biotec®), ácido tricloroacético–TCA (Impex), fosfato de sódio mono e bibásico (Impex), álcool etílico hidratado, álcool 70 - 70% álcool etílico e 30% água (Sol®), 2,2 difenil1-pricril-hidrazil (ALDRich Chemistry), ácido sulfúrico (Impex), molibdato de amônio (Impex), carbonato de sódio (Isofar), Folin-ciocalteau (Merck KgaA) e cloreto de alumínio (Biotec®), Ácido ascórbico (Biotec®), Quercetina (Biotec®), Rutina (Biotec®) e Água destilada obtida de aparelho destilador da marca SP Labor.

3.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL

Foram coletadas mensalmente em um período de um ano (fevereiro/2018 a janeiro/2019) amostras de casca do caule (*Dalbergia monetaria* e *Licania macrophylla*) e das folhas de (*Croton cajucara*), sempre do mesmo indivíduo, em uma área de floresta do município de Porto Grande, Amapá, Brasil (Figura 14), com as coordenadas (06°-99'28"N / 51°-47'09"O) para *C. cajucara*, (06°-80'84" N / 51°50'68"O) para *L. macrophylla* e (06°-78'78"N / 51°50'74"O) para *D. monetaria*. Foram confeccionadas exsicatas, de cada exemplar para posterior identificação pelo botânico Professor Dr. Tony David Santiago Medeiros do Instituto de Pesquisas Científicas do Amapá (IEPA); confirmando as espécies como: Verônica (*Dalbergia monetaria* L.f. **Material examinado:** Brasil, Amapá, Porto grande, 02. II. 2018, R.D.C. Araujo, 3 HAMAB); Sacaca (*Croton cajucara* Benth. **Material examinado:** Brasil, Amapá, Porto grande, 02. II. 2018, R.D.C. ARAUJO, 2 HAMAB) e Anauerá (*Licania macrophylla* Benth. **Material examinado:** Brasil, Amapá, Porto grande, 2. II. 2018, R.D.C. Araujo, 4 HAMAB).

Após a primeira coleta e posterior confirmação das espécies escolhidas para esta pesquisa, os demais testes prosseguiram, bem como a revisão da literatura pôde ser confirmada, para não ocorrer equívocos, como estudar e analisar outra espécie e garantindo assim, o estudo correto e a divulgação de resultados fidedignos em relação a sistemática botânica dos vegetais medicinais utilizados.

Figura 14 – Pontos de coleta em uma área de floresta do município de Porto Grande – AP, das espécies *Croton cajucara* (verde) e *Dalbergia monetaria*, *Licania macrophylla* (vermelho).



Fonte: Google Maps (2019).

3.3 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

Após cada coleta e identificação do material vegetal, os mesmos foram higienizados e submetidos a secagem em estufa (marca Cienlab) do tipo de circulação forçada de ar à 40°C por três dias para as cascas e dois dias para as folhas. Posteriormente foram triturados em moinho de facas na UNIFAP, no laboratório de Bioprospecção e absorção atômica.

O material triturado, correspondente a 5 gramas, foi embebido em uma mistura hidroalcolica (álcool 70 – 70% de álcool etílico e 30% água) na proporção 1:10 (m/v) (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). Passando por maceração durante 5 dias consecutivos ao abrigo da luz, em frascos fechados e com agitação periódica; após esta etapa o extrato foi filtrado (com papel filtro, porosidade 40µm) e posteriormente secado em estufa a 40°C durante 48 horas, obtendo-se o extrato bruto.

Os extratos brutos foram solubilizados a 10mg/ml, com álcool 70 e estocados em frascos âmbar com tampa em uma geladeira à 10 °C ao abrigo da luz, para realização de testes subsequentes.

3.4 RENDIMENTO DOS EXTRATOS

Para mensurar o rendimento final dos extratos de cada planta, foi realizado um cálculo com a seguinte equação:

$$Tea (\%) = \left(\frac{Mf}{Mi} \right) * 100$$

Onde Tea = teor do extrato total (%); Mi = massa inicial da amostra (g), Mf = massa final do extrato seco (g).

Este procedimento foi realizado mensalmente com as três espécies avaliadas, para a relação com a influência do aspecto sazonal (período muito chuvoso e pouco chuvoso) no rendimento dos extratos brutos obtidos.

3.5 MÉTODOS QUANTITATIVOS (Espectrofotométricos)

Esta metodologia destinou-se a quantificação dos metabólitos secundários (Fenólicos totais e Flavonoides totais) de interesse nesta pesquisa, utilizando aparelho espectrofotômetro da marca Bioespectro modelo SP-22 (Figura 15), manual, com capacidade para quatro cubetas.

Figura 15 – Espectrofotômetro utilizado para análise das amostras.



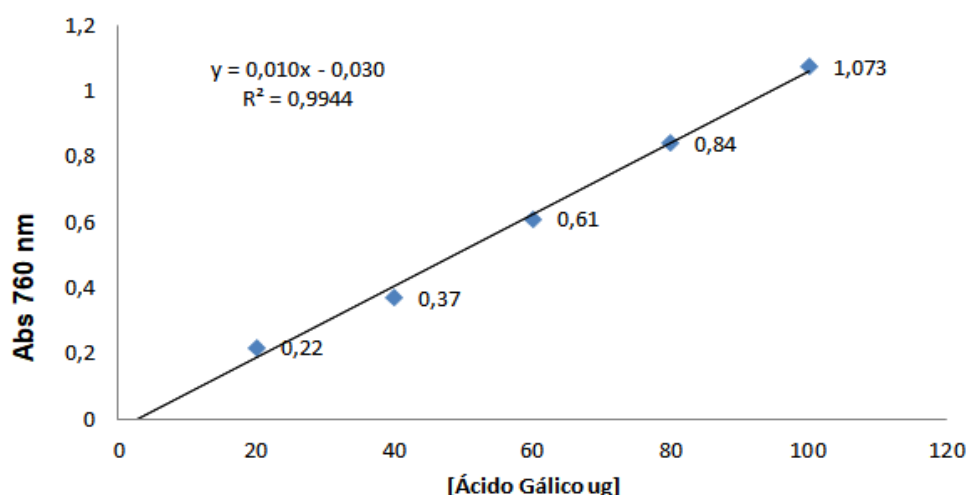
Fonte: Autor (2018).

3.5.1 Determinação de fenólicos totais

Foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu para determinação de fenólicos totais dos extratos hidroetanólicos (Singleton et al., 1999). Alíquotas de 0,250 mL de cada extrato solubilizado a 100 ug/mL foram misturadas com 1,25 mL de reagente Folin (1:10 v/v) e após 3 minutos 1,0 mL de carbonato de sódio a (7,5%). A mistura foi incubada ao abrigo da luz por 90 minutos e em seguida mensurada sua absorbância no espectrofotômetro

(Bioespectro SP-22) em comprimento de onda ajustado em 760 nm. Como padrão foi utilizado o ácido gálico e seus resultados são representados em mg de ácido gálico equivalente por g de extrato (mg EAG / g extrato), em concentrações que variaram de 20 à 100 µg/mL, como curva de calibração, e equação da reta: $y = 0,0109x - 0,0302$, com $r^2 = 0,9944$ (conforme Figura 16). Todas as análises foram realizadas em triplicatas. Como branco utilizou-se álcool 70°, Folin e carbonato de sódio, como descrito acima.

Figura 16 –Curva de Calibração do ácido gálico, para padronização dos compostos Fenólicos totais, pelo método de Folin ciocalteu.

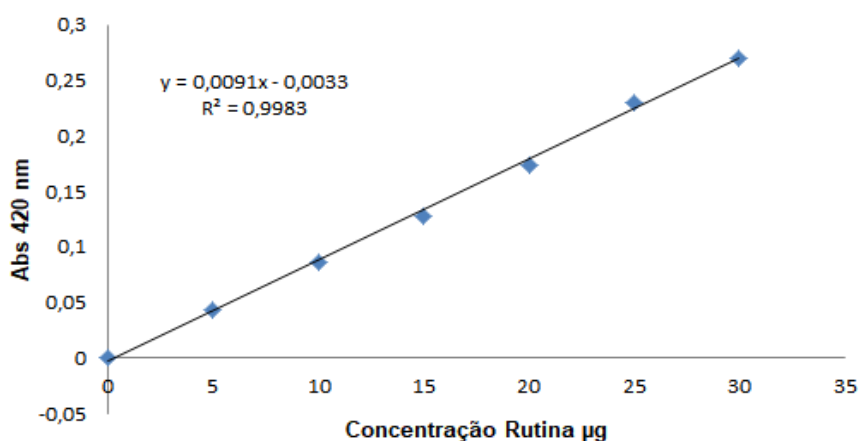


Fonte: Autor (2018).

3.5.2 Determinação de flavonoides totais

Para determinar o conteúdo total de flavonoides foram utilizadas Alíquotas de 2,5 mL de cada extrato solubilizado a 500µg/mL e adicionados 2,5 mL de cloreto de alumínio a 5%. As amostras ficaram incubadas por 30 minutos em um local protegido da luz e em seguida medida sua absorbância em espectrofotômetro em uma faixa de 420 nm. Também foram lidos os interferentes (extrato + etanol) e subtraídos pelo primeiro valor obtido. Como branco foi utilizado etanol + cloreto de alumínio. O padrão utilizado foi a rutina, para isto uma curva de calibração foi obtida com equação da reta: $y = 0,0091x - 0,0033$ e $r^2 = 0,9983$, conforme Figura 17. E o resultado foi expresso em mg de rutina equivalente por g de extrato (mg equiv. rutina / g extrato) (Woisky, Salantino, 1998).

Figura 17 – Curva de calibração da rutina, para padronização dos Flavonoides totais, pelo método de complexação com o Cloreto de alumínio.



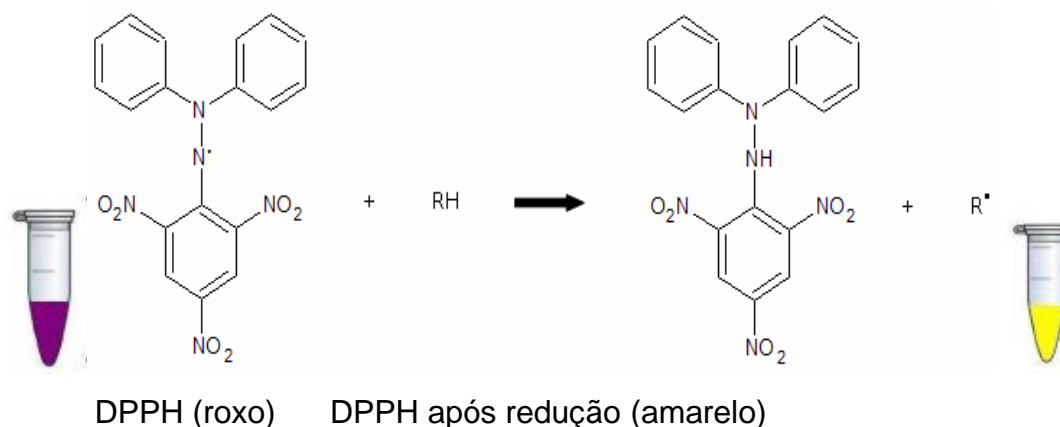
Fonte: Autor (2018).

3.6 ENSAIOS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.6.1 DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidroxil)

DPPH é conhecido por ser um radical livre estável que apresenta um elétron desemparelhado em sua estrutura. Este elétron confere a molécula uma coloração violeta ou roxa e apresenta banda de absorção na presença de álcool etílico em torno de 520 nm (MOLYNEUX; SONGKLANAKARIN, 2004). Quando uma determinada substância com potencial antioxidante sequestra o radical DPPH, este sofre redução e transforma-se em hidrazina e muda para um tom amarelado, conforme a Figura 18.

Figura 18 - Representação do DPPH reduzido pela capacidade de captura de uma molécula antioxidante.



Fonte: Adaptado de Molyneux et al. (2004).

As atividades de consumo do radical livre pelos extratos brutos das espécies foram avaliadas conforme (SOUSA et al., 2007; LOPES-LUTZ et al., 2008), com pequenas adaptações de acordo com as estruturas e condições do laboratório de pesquisa. Para iniciar os testes foi preparado uma mistura etanólica de DPPH (na concentração de 40 µg/mL monitorada em 517 nm e foi considerada como controle); sendo mantida ao abrigo da luz até a realização do experimento. Os extratos (amostras) foram diluídos em álcool 70 em diferentes concentrações (*C. cajucara*: 12, 50, 100, 200 e 300 µg/mL) e (*D. monetaria* e *L. macrophylla*): 12, 25, 50, 75 e 100 µg/mL). Subsequente foram pipetados da solução de DPPH 2,7 mL e 0,3 mL de cada extrato com cada concentração. Seguido do preparo de um branco que correspondeu apenas em 3 mL de solvente.

Decorridos 30 minutos, os preparos foram lidos em espectrofotômetro na faixa de absorvância de 517 nm. Todo o ensaio foi realizado em triplicata e os resultados foram calculados afim de determinar a porcentagem de Atividade Antioxidante (A.A.), que é correspondida pelo consumo de DPPH pelos extratos, utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ SRL} = \left[1 - \left(\frac{\text{Abs amostra}}{\text{Abs controle}} \right) \right] * 100$$

Abs controle = (DPPH + Etanol 70);

Abs amostra = (extratos em diferentes concentrações).

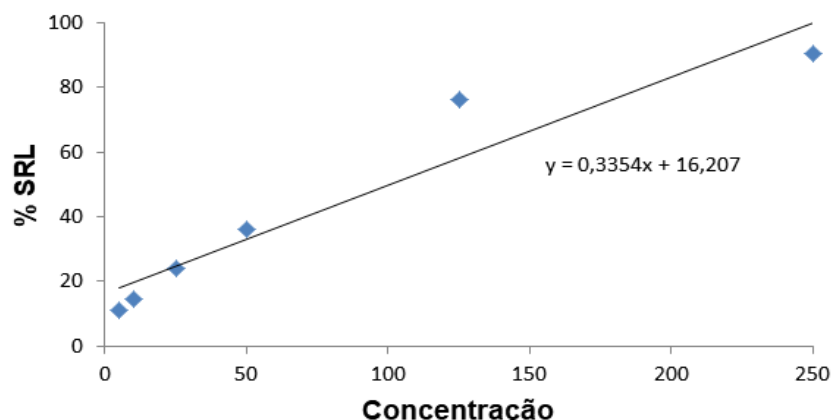
% SRL = Porcentagem de Sequestro de Radical Livre.

Também foi calculado o CE₅₀ (Concentração Eficiente), onde foi construído um gráfico para o cálculo de regressão linear, sendo o eixo y representado pelas % de consumo do radical livre, pelas diferentes concentrações plotados no eixo x. Obtendo-se a equação da reta:

$$Y = a + bx.$$

Nesta equação o valor de y é substituído por 50 e (a e b) pelos valores do (intercepto a) e (coeficiente de regressão b), sendo x o valor da CE₅₀; como visto na equação da Figura 19. Este cálculo permite encontrar o valor da concentração capaz de diminuir a quantidade de DPPH em 50%. Quanto menor o valor da CE₅₀, maior será o consumo do radical e maior seu potencial antioxidante.

Figura 19 – Exemplo de regressão linear para a obtenção dos valores do cálculo da CE_{50} . % de Sequestro de Radical Livre (SRL) pelos extratos das flores e folhas de *C. chelidonioides*. A concentração está expressa em microgramas (μg).



Fonte: Adaptado de Falcão et al. (2006).

3.6.2 Poder redutor (FRAP)

Para determinar a redução do ferro, metal de transição da tabela periódica, foi desenvolvido o método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power ou em português Poder antioxidante de Redução do Ferro), como uma solução para avaliar a redução do ferro em extratos, fluidos biológicos ou soluções aquosas. Esta técnica também permite o conhecimento da atividade antioxidante em bebidas e alimentos (frutas) (PULIDO et al., 2000). Em experimentos realizados com o extrato do fruto da goiaba, foi verificado que a metodologia FRAP foi a técnica mais adequada e reprodutível para teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos em comparação com os métodos DPPH, ORAC e ABTS (THAIPONG et al, 2006).

Nesta dissertação a mensuração da redução do ferro consistiu na análise da mudança de cor de uma solução verde (ferricianeto/ Fe^{3+}) para o azul (forma ferrosa / Fe^{2+}) na presença de antioxidantes (extratos). Neste teste, alíquotas de 2,5 mL dos extratos em uma única concentração (2000 $\mu\text{g/mL}$), foram misturados em tampão fosfato de sódio 0,2 M em pH 6,6 e adicionados com uma mistura de ferricianeto de potássio a 1%. Após esse procedimento a solução foi incubada por 20 minutos a 50°C, feito isso, foram pipetados 2,5 mL de Ácido Tricloro Acético (TCA) a 10% para parar a reação. A mistura também foi submetida à centrifugação por 10 minutos em 1000 rpm; o sobrenadante (2,5mL) foi misturado com 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de cloreto férrico a 0,1% e absorvância determinada em 700 nm. Como padrão foi utilizado o ácido ascórbico na mesma concentração (2000 $\mu\text{g/mL}$) dos extratos para a comparação e correlação do poder redutor do ferro, de cada planta e mês avaliado (Oyaizu, 1986;

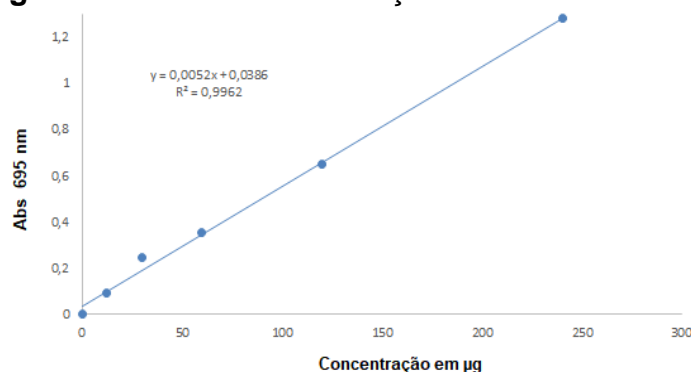
Dorman *et al.*, 2003). Os resultados foram representados em gráficos (Absorbância Vs. Mês analisado).

3.6.3 Atividade Antioxidante Total (Redução do complexo fosfomolibdênio)

Este método é muito utilizado para avaliar a atividade antioxidante e consiste na redução do complexo fosfomolibdênio na presença de antioxidantes. A metodologia é baseada na redução do molibdênio (VI) para (V), devido a propriedade antioxidante de um determinado extrato ou outra mistura e finalmente a produção de um molibdênio (V) e fosfato. Após estas etapas o complexo adquire coloração verde e pode ser identificada pelo espectrofotômetro (PIETRO *et al.*, 1999). Para esta pesquisa a atividade antioxidante foi demonstrada em porcentagem de inibição da Atividade Antioxidante Total - (% A.A.T.).

Para o início deste teste foi preparada uma solução com fosfato de sódio a 0,1 mol/L (28 mL), ácido sulfúrico 3 mol/L (20 mL) e molibdato de amônio 0,03 mol/L (12 mL), e volume final ajustado com água para 100mL. Em tubos de ensaio foram pipetadas alíquotas de 0,3mL de cada extrato e 2,7 mL da solução do complexo fosfomolibdênio. Após estes procedimentos os frascos (tubos falcon) foram tampados e incubados em banho maria (95°C) por 90 minutos. Depois de resfriadas, foi realizada leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 695 nm. O branco das amostras foi constituído de 0,3 mL de etanol 70 e 2,7 mL da solução de fosfomolibdênio e todos os ensaios foram realizados em triplicata de cada planta e mês analisado (PRIETO *et al.*, 1999). Os extratos foram avaliados em uma concentração fixa de 120 µg/mL, comparados com a mesma concentração e absorbância do padrão (ácido ascórbico), também em 120 µg/mL; ácido ascórbico representa 100% de atividade antioxidante total. Os resultados foram expressos em % de redução do complexo fosfomolibdênio (eixo y) Vs. mês analiado (eixo x) e representados em gráfico.

Figura 20 – Curva de calibração do ácido ascórbico.



Fonte: Autor (2018).

A capacidade antioxidante dos extratos foi descrita como A.A.Total (%), comparadas com o padrão Ácido ascórbico (vitamina C), pela seguinte fórmula:

$$AAT (\%) = \left[1 - \left(\frac{Abs amostra}{Abs padrão} \right) \right] * 100$$

3.7 DADOS PLUVIOMÉTRICOS

Para avaliar e correlacionar de modo sazonal o índice pluviométrico, foram coletados mensalmente, dados sobre precipitação em (mm), na plataforma (site) do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia) das estações automáticas situadas nas cidades de Macapá e Itauba, por se tratarem das mais próximas ao local de coleta.

Para esta pesquisa, os períodos sazonais foram divididos em dois: Período mais chuvoso (pmac) - fevereiro/2018 a julho/2018. E período menos chuvoso (pmec) - agosto/2018 a janeiro/2019, conforme visto na Tabela 2. A literatura descreve que o período de maio a agosto representa a transição entre o mais chuvoso e o menos chuvoso (Amanajas, Braga, 2012).

Tabela 2 – Valores da precipitação do período avaliado.

Meses	Precipitação	Meses	Precipitação
Pmac	mm	Pmec	mm
Fevereiro	220	Agosto	75
Março	280	Setembro	195
Abril	615	Outubro	50
Mai	500	Novembro	180
Junho	220	Dezembro	200
Julho	110	Janeiro	210
Total	1945	Total	910

Os valores estão expressos em mm (milímetros).

Fonte: Inmet, 2019.

3.8 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Para análise estatística foi utilizado o programa Bioestat 5.3, permitindo o cálculo da média, desvio padrão, regressão linear, análise de variância pelo teste ANOVA – uma via, a cada mês (e por período) e entre as médias dos resultados pelo teste de Tukey,

acrescido de CE_{50} para o DPPH e correlação de Pearson com todas as variáveis e resultados, padronizando o nível de significância de ($p < 0,05$). Os resultados foram organizados em figuras e tabelas com auxílio do programa GraphPad Prism, versão 5.01.

Para a análise de correlação de Pearson, foi necessário a utilização de uma escala de comparação:

- Correlação fraca: (r) $< 0,30$.
- Correlação moderada: $0,3 > (r) < 0,6$.
- Correlação forte: (r) $> 0,6$.

A qualidade e a quantidade de compostos bioativos produzidos pelas plantas medicinais é dependente de alguns fatores, tanto ambientais, como no momento da extração e armazenamento, quanto aos fatores externos. É preciso entender que os vegetais podem sofrer influência do clima e época de coleta. Além disso, Souza et al. (2009), descreve que é preciso uma boa padronização e cuidado no controle de qualidade das plantas, além das variáveis ambientais, para garantir a segurança no seu uso.

Os compostos fenólicos são amplamente difundidos no reino vegetal, presentes em todas as partes da planta, exibem propriedades redox atuando como neutralizadores de espécies reativas (radicais livres). E estes são influenciados por diversos aspectos, alguns relativos a natureza de sua origem (como família, gênero e espécie) ou extrínsecos, como condições ambientais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; GOBBO-NETO et al., 2017).

4.1 RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES DAS TRÊS ESPÉCIES

A partir da metodologia proposta, foram mensurados os rendimentos totais dos extratos hidroalcolólicos dos exemplares usados nessa dissertação, descrito nas Tabelas 3, 4 e 5, representados em porcentagem de rendimento.

4.1.1 *Croton cajucara* Benth

Os meses com maiores valores para a precipitação demonstraram as menores médias de porcentagem de rendimento, com aumento a partir do mês de junho e baixa a partir de janeiro. Quando avaliado os períodos (pmac e pmec), estes não diferiram significativamente ($p = 0,146$), conforme visto na Tabela 3.

Estudo sazonal com a utilização de extratos etanólicos das folhas de *Pereskia aculeata* demonstraram maior rendimento no verão ou período menos chuvoso (VARGAS, 2017), corroborando com os resultados de *C. cajucara* que também apresentaram as maiores taxas de rendimento entre os meses de agosto e dezembro (PMEC).

Tabela 3 - Rendimento das extrações hidroalcólicas durante o período de um ano para as folhas de *Croton cajucara* em relação ao índice pluviométrico.

<i>Croton cajucara</i>		<i>Croton cajucara</i>	
PMAC	Rendimento – mg de extrato /g de matéria prima (%)	PMEC	Rendimento – mg de extrato /g de matéria prima (%)
Fevereiro.2018	7,62 ± 0,12	Agosto.2018	11,12 ± 0,050
Março.2018	7,50 ± 0,01	Setembro.2018	11,42 ± 0,014
Abril.2018	9,92 ± 0,21	Outubro.2018	9,92 ± 0,16
Maio.2018	9,64 ± 0,015	Novembro.2018	11,30 ± 0,07
Junho.2018	10,02 ± 0,1	Dezembro.2018	11,58 ± 0,2
Julho.2018	10,22 ± 0,03	Janeiro.2019	7,42 ± 0,25

Os resultados foram representados através de fórmula de porcentagem de rendimento e os valores foram tratados com teste de ANOVA seguido de tukey ($p < 0,05$), entre pmac e pmec, apenas.

4.1.2 *Dalbergia monetaria* L.f.

A Tabela 4 apresenta os rendimentos obtidos a partir dos extratos hidroalcólicos de *Dalbergia monetaria*, com variações ao longo do ano, entre os meses. Os maiores valores são vistos entre os meses de junho a agosto, mas quando comparado o pmac com o pmec, não ocorreu diferença entre eles ($p = 0,117$).

Tabela 4 - Rendimento das extrações hidroalcólicas durante o período de um ano para as cascas do caule de *Dalbergia monetaria* em relação ao índice pluviométrico.

<i>Dalbergia monetaria</i>		<i>Dalbergia monetaria</i>	
PMAC	Rendimento – mg de extrato /g de matéria prima (%)	PMEC	Rendimento – mg de extrato /g de matéria prima (%)
Fevereiro.2018	13,82 ± 0,018	Agosto.2018	15,10 ± 0,055
Março.2018	12,58 ± 0,075	Setembro.2018	12,34 ± 0,099
Abril.2018	13,20 ± 0,45	Outubro.2018	13,86 ± 0,12
Maio.2018	13,54 ± 0,036	Novembro.2018	10,10 ± 0,014
Junho.2018	15,48 ± 0,1	Dezembro.2018	11,82 ± 0,047
Julho.2018	15,72 ± 0,012	Janeiro.2019	12,10 ± 0,074

Os resultados foram representados através de fórmula de porcentagem de rendimento e os valores foram tratados com teste de ANOVA seguido de tukey ($p < 0,05$), entre pmac e pmec, apenas.

4.1.3 *Licania macrophylla* Benth

A Tabela 5 mostra a eficácia do rendimento dos extratos, onde os mesmos revelaram pouca variação durante a temporada, sem significância entre os dois períodos ($p = 0,947$).

Tabela 5 - Rendimento das extrações hidroalcolicas durante o período de um ano para as cascas dos caules de *Licania macrophylla* em relação ao índice pluviométrico.

<i>Licania macrophylla</i>		<i>Licania macrophylla</i>	
PMAC	Rendimento – mg de extrato /g de matéria prima (%)	PMEC	Rendimento – mg de extrato /g de matéria prima (%)
Fevereiro.2018	8.98 ± 0,025	Agosto.2018	9.38 ± 0,085
Março.2018	9.24 ± 0,14	Setembro.2018	9.28 ± 0,19
Abril.2018	9.16 ± 0,018	Outubro.2018	9.42 ± 0,16
Maior.2018	9.38 ± 0,052	Novembro.2018	10.02 ± 0,065
Junho.2018	10.21 ± 0,21	Dezembro.2018	8.92 ± 0,45
Julho.2018	9.54 ± 0,099	Janeiro.2019	9.30 ± 0,52

Os resultados foram representados através de fórmula de porcentagem de rendimento e os valores foram tratados com teste de ANOVA seguido de tukey ($p < 0,05$), entre pmac e pmec, apenas.

4.2 DOSEAMENTO DE FENOIS E FLAVONOIDES TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CORRELAÇÃO LINEAR DE PEARSON

Os resultados propostos neste trabalho foram representados tanto na forma de tabela quanto de gráfico, com o intuito de facilitar a compreensão e a consulta dos dados. Os fenois e flavonoides foram quantificados (Tabelas 6, 10 e 14).

E para mensurar o potencial antioxidante das três espécies ao longo dos meses no período de um ano, foram utilizados os métodos de sequestro de radical, redução de complexo e poder redutor, conforme descrito nas tabelas (Tabelas 7, 11 e 15). Foi empregado o teste ANOVA seguido de tukey, entre os meses e entre os períodos.

O método do fosfomolibdênio permite avaliar extratos (misturas complexas) ou substâncias isoladas, tanto de caráter lipo quanto hidrofílico, com baixo custo e de modo descomplicado (PRIETO et al., 1999).

Quanto a metodologia de sequestro do radical DPPH, esta permite avaliar a capacidade do extrato em doar hidrogênio ou elétron ao radical, no sentido de estabiliza-

lo por redução. Este método permite diferentes interpretações, devido as variadas formas de realiza-lo (OLIVEIRA, 2015).

4.2.1 *Croton cajucara* Benth

Estudos a partir das folhas de *Croton cajucara*, foram capazes de identificar a presença de muitos compostos fenólicos, tais como, flavonoides (quercetina, kaempferol, entre outros), além de taninos e ácidos fenólicos, a partir de extratos aquosos, incluindo frações etanólicas (NASCIMENTO et al., 2017).

Nesse sentido, a identificação de um período em que a planta exiba suas maiores taxas destas substâncias, podem auxiliar e otimizar processos extrativos; o que contribui para a preservação da espécie explorada além de proporcionar benefícios para seus usuários. Em conjunto, a atividade antioxidante pode atuar em paralelo com as vantagens anti-inflamatórias que os extratos e as frações exibiram (NASCIMENTO et al., 2017).

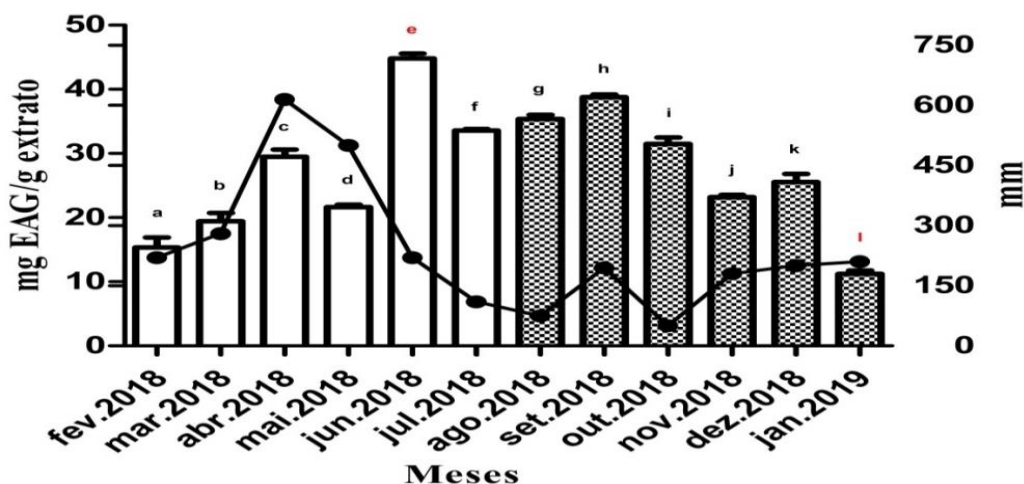
Tabela 6 – Valores dos compostos fenólicos analisados dos extratos das folhas de *Croton cajucara* coletadas em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.

Meses	Fenois	Meses	Flavonoides
PMAC	mg/g	PMAC	mg/g
Fevereiro	15,37 ± 0,60 ^a	Fevereiro	8,23 ± 0,64 ^d
Março	19,43 ± 0,51 ^b	Março	24,46 ± 0,49 ^a
Abril	29,47 ± 0,45 ^c	Abril	32,76 ± 0,32 ^b
Mai	21,63 ± 0,15 ^d	Mai	31,09 ± 0,39 ^b
Junho	44,80 ± 0,30 ^e	Junho	45,41 ± 0,78 ^e
Julho	33,57 ± 0,10 ^f	Julho	35,81 ± 0,82 ^c
Meses	Fenois	Meses	Flavonoides
PMEC	mg/g	PMEC	mg/g
Agosto	35,37 ± 0,26 ^g	Agosto	34,68 ± 0,38 ^c
Setembro	38,77 ± 0,17 ^h	Setembro	33,62 ± 0,61 ^b
Outubro	31,47 ± 0,40 ⁱ	Outubro	36,64 ± 0,88 ^c
Novembro	23,20 ± 0,15 ^j	Novembro	24,5 ± 0,19 ^a
Dezembro	25,57 ± 0,50 ^k	Dezembro	24,97 ± 0,22 ^a
Janeiro	11,23 ± 0,21 ^l	Janeiro	17,61 ± 0,72 ^f

Esses valores representam a média e desvio padrão, tratados pelo teste ANOVA seguido de Tukey (n=3). Letras minúsculas diferentes nas mesmas colunas retratam diferenças significativas. mg/g (miligrama de ácido gálico/rutina equivalente a g de extrato), para fenois e flavonoides, respectivamente.

A Figura 21 apresenta graficamente a dispersão ao longo dos meses dos teores de fenois totais de *C. cajucara*, mostrando que os meses de fevereiro ($15,37 \pm 0,60$ mg/g) e janeiro ($11,23 \pm 0,21$ mg/g) apresentaram as menores concentrações destes metabólitos. Percebe-se que a maior taxa registrada foi no mês de junho ($44,83$ mg/g), seguida de redução, com leves oscilações até o mês de janeiro.

Figura 21 – Variação sazonal dos teores de fenois totais de *Croton cajucara* em resposta as chuvas (mm).



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão e representa a taxa de fenois totais. Letras minúsculas diferentes em cada coluna correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações; as colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam P MEC. O gráfico de linhas retrata a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação linear de Pearson.

Estudo sazonal envolvendo as folhas de *Sacaca*, entretanto, com o uso de solvente aquoso para a confecção dos extratos, demonstraram resultados similares para o presente trabalho, no entanto, os extratos hidroetanólicos apresentaram valores maiores para compostos fenólicos para o mesmo mês avaliado, mas em anos diferentes (PORT'S et al., 2013). Corroborando a hipótese de que há variação sazonal para o composto analisado desta espécie.

Fazendo a comparação entre o período mais chuvoso e o menos chuvoso para os fenois totais, constatou-se que não ocorre diferença estatística entre os períodos ($p = 0,946$). No entanto, há uma clara evidência a partir dos resultados que as maiores concentrações ocorrem entre os meses de junho a setembro.

De acordo com os resultados obtidos para fenois totais de *C. cajucara*, todos os meses apresentaram diferenças significativas, demonstrando que ocorreu variação sazonal preponderante para este marcador químico. Vale ressaltar, que durante as coletas, foi observado a mudança na coloração das folhas (Figura 22) e que flavonoides são os principais responsáveis pelas cores (SIMÕES et al., 2010) nos vegetais.

Nesta perspectiva, tanto os flavonoides quanto outros compostos fenólicos, são influenciados por mudanças sazonais, influência da temperatura e composição atmosférica (GOBBO-NETO e LOPES, 2007), principalmente as folhas, pois realizam fotossíntese, respiração e outros fenômenos (RAVEN et al., 2014), recebendo mais intervenção ambiental do que outros órgãos da planta; corroborando com os achados deste estudo.

Figura 22 – Diferentes aspectos foliares de *Croton cajucara* ao longo do ano.

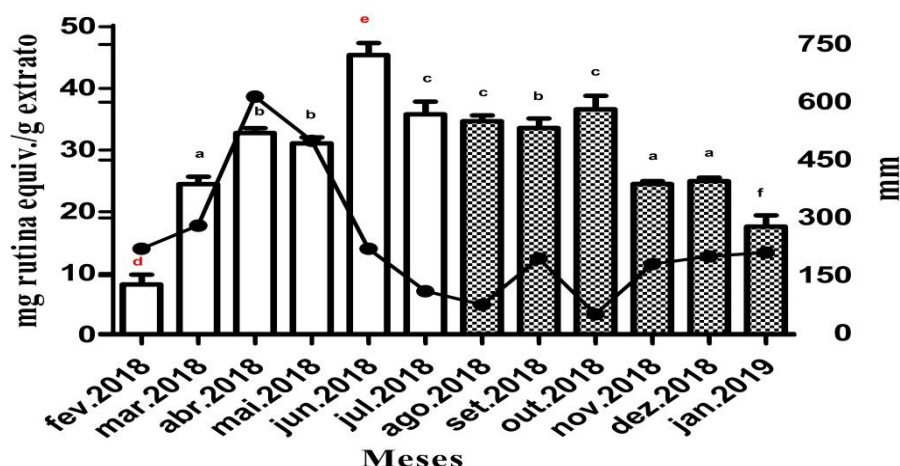


Fonte: Autor (2019).

As folhas são órgãos das plantas que podem sofrer mais ataques do que outras partes, como caule, por exemplo, pois geralmente são alvos de predadores (animais como mamíferos e insetos herbívoros), neste contexto químico, onde ocorre a síntese de várias moléculas, o vegetal pode sintetizar substâncias que apresentam efeito negativo para estes animais, na tentativa de se proteger. Essas produções de variados compostos, podem mascarar o conteúdo de outros metabólitos; contribuindo dessa forma para oscilações da composição química de determinados metabólitos secundários (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

O mês de fevereiro ($8,23 \pm 0,64$ mg/g) apresentou o menor valor de concentração de flavonoides, seguido de aumento até sua máxima produção registrada no mês de junho ($45,41 \pm 0,78$ mg/g), seguido de baixa dos valores nos meses subsequentes com pouca ou nenhuma diferença estatística. Quando comparado pmac com pmec não foi detectado diferença entre as temporadas ($p = 0,768$); estes resultados corroboram com os fenois, pois percebe-se que a melhor ou maior produção destas substâncias foi muito paracido (mesma data) com os compostos fenólicos totais (Figuras 21 e 23).

Figura 23 – Variação sazonal dos teores de flavonoides totais de *C. cajucara* em resposta as chuvas (mm).



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão e representa a taxa de flavonoides totais. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam PMEC. O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Tabela 7 - Valores da atividade antioxidante analisados dos extratos da casca de *Croton cajucara* coletada em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.

PMAC	DPPH (CE ₅₀)	Fosfomolibdênio	FRAP
Meses	µg/mL	%	DO
Fevereiro	536.27 \pm 11.81c	16,99 \pm 0,61 ^a	0,088 \pm 0,0005b
Março	484.96 \pm 3.30d	29,48 \pm 0,33b	0,110 \pm 0,004 ^a
Abril	222,19 \pm 5,01 ^a	16,84 \pm 0,15 ^a	0,105 \pm 0,0005 ^a
Mai	188,09 \pm 2,69b	20,82 \pm 0,43c	0,099 \pm 0,003 ^a
Junho	207,26 \pm 5,64 ^a	17,55 \pm 0,17 ^a	0,202 \pm 0,001c
Julho	205,40 \pm 4,93 ^a	27,04 \pm 0,14d	0,160 \pm 0,002d
PMEC	µg/mL	%	DO
Agosto	180,27 \pm 0,73b	29,34 \pm 0,35b	0,109 \pm 0,003 ^a
Setembro	185,43 \pm 3,78b	26,15 \pm 0,32d	0,097 \pm 0,001 ^a
Outubro	281,37 \pm 4,11e	21,64 \pm 0,43c	0,137 \pm 0,003e
Novembro	214,71 \pm 4,42 ^a	27,82 \pm 0,29d	0,115 \pm 0,004 ^a
Dezembro	200,3 \pm 3,81b	17,29 \pm 0,17 ^a	0,109 \pm 0,001 ^a
Janeiro	357,36 \pm 10,13f	16,59 \pm 0,16a	0,058 \pm 0,0005f
Quercetina	5,57 \pm 0,41	-	-
Ácido ascórbico	-	100	0,521 \pm 10,25

Esses valores representam a média e desvio padrão, tratados pelo teste ANOVA seguido de tukey ($n=3$). Letras minúsculas nas mesmas colunas retratam diferenças significativas. µg/mL (concentração); % (porcentagem de redução do fosfomolibdênio); DO (densidade óptica ou absorbância).

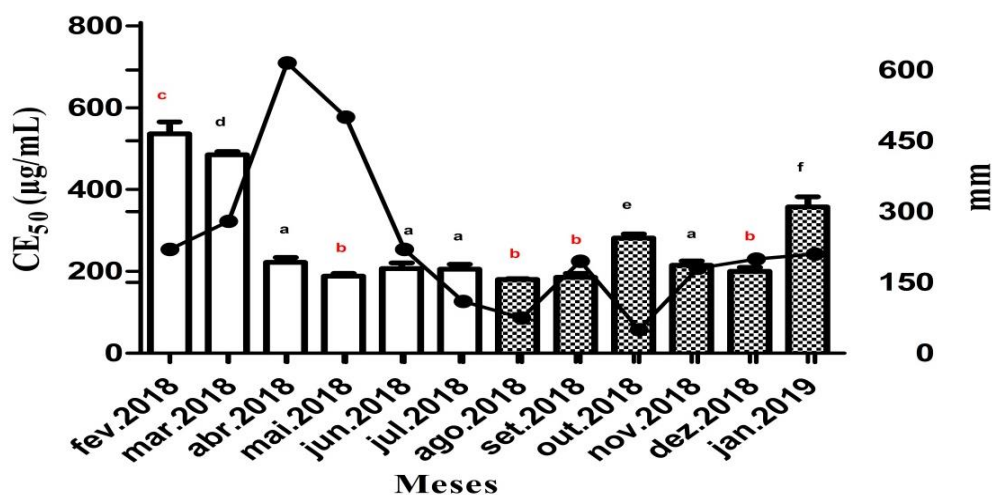
Para a realização dos testes de atividade antioxidante (DPPH) foi necessário aumentar a concentração (12 a 300 µg/mL) dos preparos hidroalcolicos de *Croton cajucara*, diferentemente, dos extratos de verônica e anauerá. Pois a sacaca demonstrou resultados bastante elevados para a concentração efetiva, ultrapassando valores de 1.000 µg/mL, o que retrata fraca capacidade antioxidante para esta metodologia.

Dessa forma, corroborando com os achados de Port's et al. (2013), que sugerem em seu estudo a baixa de compostos com potencial antioxidante ou inexpressiva reatividade dos fitoconstituintes, em pequenas concentrações.

Ainda que os extratos de *C. cajucara* apresetem fraca força antioxidante, em comparação com as plantas deste estudo, a literatura descreve muitas outras atividades biológicas de forma promissora e efetiva. Vale ressaltar que A.A. atua em conjunto com outras propriedades biológicas, não necessariamente isolada.

O menor valor da CE₅₀ de *C. cajucara* foi registrada no mês de agosto (180,27 ± 0,73 µg/mL), entretanto, nao diferiu significativamente dos meses de maio, setembro e dezembro. O mês de fevereiro (536,27 ± 11,81 µg/mL) obteve o maior valor de CE₅₀ e consequentemente menor atividade antioxidante. Quando comparado os períodos, não ocorreu diferença entre os mesmos (p = 0,074); mas os valores mais baixos se destacam no período menos chuvoso, conforme a Figura 24.

Figura 24 – Variação sazonal do valor da CE₅₀ (µg/mL) de *Croton cajucara* e a comparação com chuva (mm).



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições ± desvio padrão e representa a concentração efetiva (CE₅₀). Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey (p < 0,05) entre os valores de CE₅₀. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam PMEC. Como controle, foi utilizado o ácido ascórbico (CE₅₀ = 16,26 µg/mL). O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Os meses que exibiram os resultados mais relevantes para concentração efetiva, foram melhores que extratos de plantas jovens e adultas de *C. cajucara*, principalmente

que os extratos hexânicos e clorofórmicos, avaliados também em distintas épocas de coleta (MACIEL et al., 2009). Estes resultados corroboram com o que foi evidenciado nesta pesquisa, mostrando que o efeito sazonal afeta a atividade antioxidante de sequestro de DPPH para as folhas de sacaca.

Nenhuma das diferentes concentrações de *C. cajucara* foi capaz de consumir o radical mais do que o controle utilizado. Mas foi evidente a moderada e forte atuação dos extratos em 200 e 300 µ/mL (Tabela 8).

Tabela 8 – Avaliação sazonal da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH, das diferentes concentrações dos extratos de *Croton cajucara*, ao longo dos meses de coleta.

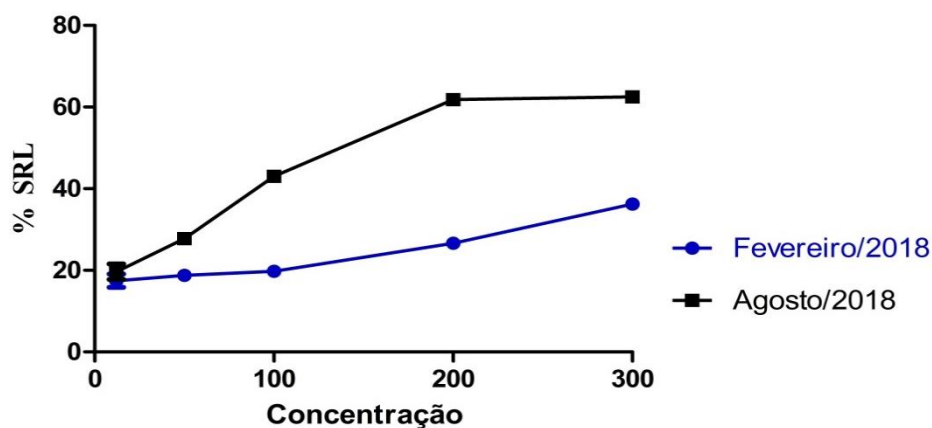
µg/mL	controle	fev./2018	mar./2018	abr./2018	mai./2018	jun./2018	jul./2018
12	26,86±0,28	17.43±0.62	16.13±0.31	15,48±0,10	21,29±1,56	20,30±0,54	19,41±0,92
50	68,4±0,43	19.17±0.62	18.62±0.75	20,67±0,82	28,37±0,71	24,24±0,75	27,01±2,02
100	79,63±0,07	19.75±0.23	20.30±0.54	22,66±2,63	41,67±1,52	28,60±0,34	34,63±3,21
200	90,09±0,21	23.34±1.03	29.67±0.58	50,56±1,52	60,40±0,57	58,16±1,24	53,31±0,65
300	92,97±0,07	24.40±0.20	36.64±0.31	62,42±0,86	60,85±1,02	60,70±1,15	62,20±1,50
µg/mL	controle	ago./2018	set./2018	out./2018	nov./2018	dez./2018	jan./2019
12	26,86±0,28	19,65±0,76	20,23±0,62	17,13±0,10	18,55±0,44	16,20±0,54	16,88±0,51
50	68,4±0,43	27,78±0,59	27,44±0,60	21,84±0,31	24,40±0,31	23,27±0,53	20,10±0,35
100	79,63±0,07	43±0,31	39,96±2,07	28,16±3,07	35,61±0,65	31,58±0,54	26,12±0,22
200	90,09±0,21	61,84±0,37	57,5±0,71	41,29±1,13	48,92±0,46	52,61±0,72	37,48±0,25
300	92,97±0,07	62,49±0,31	65,12±0,27	52,23±0,51	62,76±0,94	66,91±1,23	43,28±0,78

Cada valor é a média de três repetições ± desvio padrão e equivale a % de Sequestro de Radical Livre (% SRL). Ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo, nas mesmas condições que os extratos.

Foi explícito a diferença entre os extratos dos meses de fevereiro e agosto (Figura 25) na limpeza dos radicais, salientando de diferente forma a performance dos preparos hidroalcolicos, no entanto, não foram melhores que os controle em qualquer

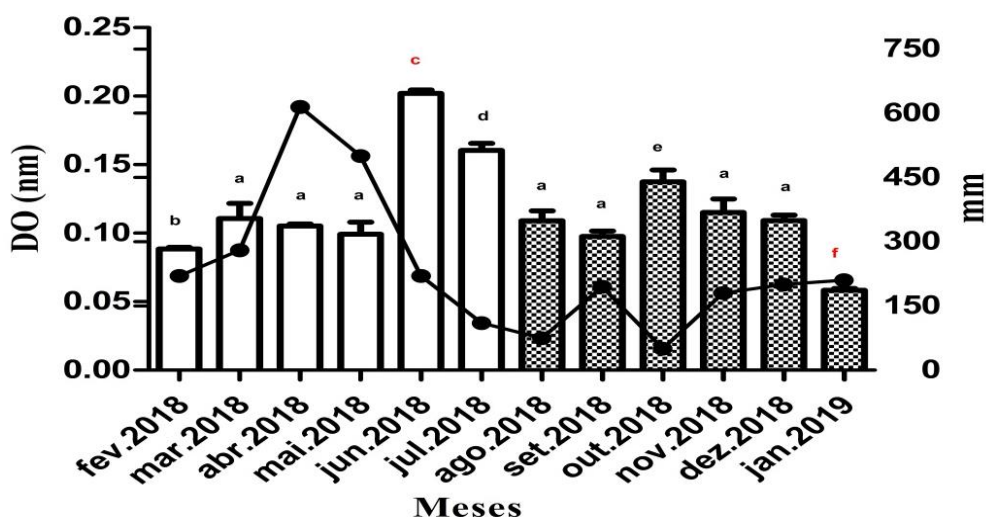
concentração. Na menor concentração (12 µg/mL), os extratos apresentaram o mesmo potencial de consumo.

Figura 25 -Porcentagem de sequestro de radical livre pelos meses que apresentaram maior e menor consumo do radical DPPH em comparação de *Croton cajucara*. Cada ponto no gráfico representa a média de três repetições ± desvio padrão.



A análise das médias do poder redutor do ferro (Figura 26) indicam que o mês de janeiro apresenta seu menor valor, enquanto que o mês de junho registra o melhor resultado para esta atividade antioxidante. A comparação entre pmac e pmec revelou que há diferença entre os períodos ($p = 0,049$), com predominância do primeiro semestre entre os meses de junho e julho.

Figura 26 – Variação sazonal do poder redutor do ferro por *Croton cajucara* em resposta as chuvas (mm).



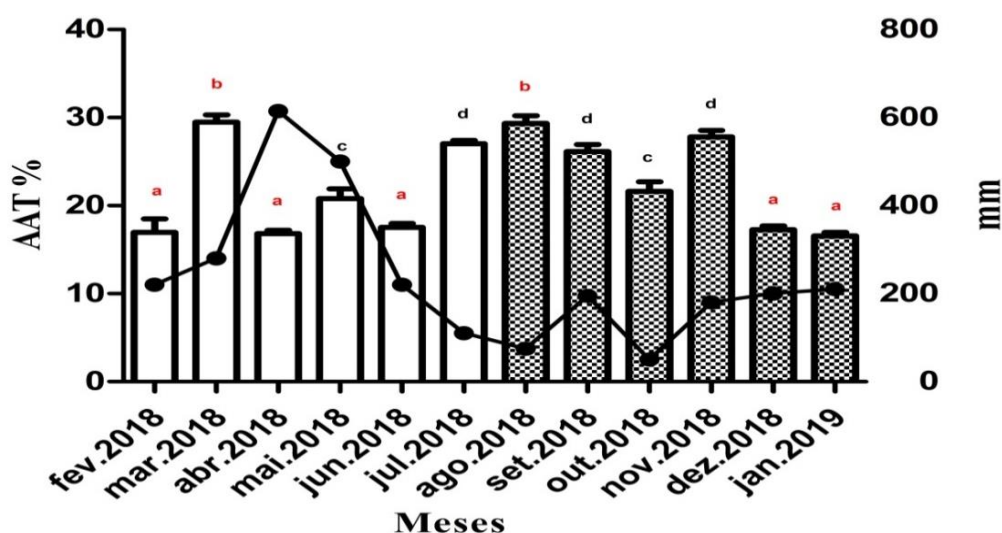
Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as densidades ópticas. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam PMEC. Os extratos foram padronizados em uma única concentração (2.000 µg/mL); Ácido ascórbico foi utilizado como padrão (0,521 nm). O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Ao reagir com proteínas, lipídeos e outras moléculas, os radicais hidroxilas podem desencadear a peroxidação lipídica. Neste contexto, a quelação e a redução destes íons metálicos podem reduzir sua ação afim de diminuir a produção de radicais e equilibrar o estresse oxidativo (Lobo *et al.*, 2010).

Metais de transição como o ferro, são átomos de relevante importância para o organismo humano, mas dependendo do seu estado oxidativo podem proporcionar danos as células e impulsionar patologias ao organismo; ao estabelecerem estresse oxidativo devido as reações com peróxido de hidrogênio e outras substâncias, produzindo radicais como a hidroxila, considerado um dos mais reativos e perigosos (Mahomoodally *et al.* 2019).

Os meses de fevereiro, abril ($16,84 \pm 0,15$ %), junho, dezembro e janeiro apresentaram as menores porcentagens de redução do complexo fosfomolibdênio, sem apresentar diferença. Os maiores resultados foram registrados nos meses de março ($29,48 \pm 0,33$ %) e agosto, sem diferença estatística entre ambos. De acordo com os resultados não há uniformidade entre os aumentos e reduções dos valores durante a temporada analisada, sem diferença entre os períodos ($p = 0,334$), como observado na Figura 27.

Figura 27 – Variação sazonal da porcentagem de redução do complexo fosfomolibdênio correlacionado com a precipitação (mm) para *Croton cajucara*.



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as porcentagens. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam PMEC. Ácido ascórbico foi utilizado como padrão e representa 100% de atividade antioxidante total (AAT%). O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Tabela 9 – Coeficientes da correlação de Pearson de todo o período avaliado para *Croton cajucara*.

	Fenois	Flavonoides	DPPH	FRAP	Fosfomol.	Precipitação
Fenois	1					
Flavonoides	0.89*	1				
DPPH	0.65*	0.72*	1			
FRAP	0.75*	0.75*	0.34*	1		
Fosfomol.	0.22	0.21	-0.13	0.10	1	
Precipitação	-0.21	-0.05	-0.03	-0.39	-0.39*	1

*Valores com $p < 0.05$.

A chuva correlacionou-se moderadamente com FRAP e Fosfomolibdênio (significativamente), inversamente, ou seja, o aumento de um resulta na diminuição do outro. Enquanto que a precipitação não apresentou relações significativas com os demais testes utilizados.

Quando analisados fenois e flavonoides, estes se correlacionaram de modo forte e positivo, indicando que possivelmente a maioria dos compostos fenólicos dos extratos de sacaca se tratam de flavonoides. Além de sua correlação forte e significativa com DPPH e FRAP, tanto dos fenois quanto flavonoides.

4.2.2 *Dalbergia monetaria* L.f.

Já foram isolados e descritos na literatura diversos constituintes químicos do metabolismo secundário do gênero *Dalbergia*, tais como, isoflavonóides glicosídeos, agliconas, quinonas, neoflavonóides, esteroides, furanos, entre outros. A parte mais utilizada das amostras vegetais são as cascas do caule, enquanto que os compostos químicos mais descritos foram compostos fenólicos (SAHA et al., 2013).

Estes dados forneceram embasamento teórico para a escolha do órgão da planta a ser estudado, bem como os compostos estudados; além dos dados etnofarmacológicos para a espécie e o gênero, bem como o emprego de tinturas pelo Instituto de Pesquisas Científicas do Amapá, que são comercializados através da farmácia, o que inspira e direciona mais pesquisas sobre *Dalbergia monetaria*.

Tabela 10 – Valores dos compostos fenólicos analisados dos extratos da casca de *Dalbergia monetaria* coletada em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.

Meses	Fenois	Meses	Flavonoides
PMAC	mg/g	PMAC	mg/g
Fevereiro	66,37 ± 0,36 ^a	Fevereiro	33,84± 0,33d
Março	73,77 ± 0,26b	Março	38,85 ± 0,83 ^a
Abril	82,53 ± 0,57c	Abril	46,44± 0,45e
Mai	45,87± 0,78d	Mai	38,26 ± 0,33 ^a
Junho	82,37 ± 0,60c	Junho	58,56± 0,72f
Julho	73,60 ± 0,47b	Julho	43,18 ± 0,22b
Meses	Fenois	Meses	Flavonoides
PMEC	mg/g	PMEC	mg/g
Agosto	66,77 ± 0,72 ^a	Agosto	31,49 ± 0,56g
Setembro	87,27 ± 1,56e	Setembro	43,25 ± 0,70b
Outubro	75,50 ± 1,27b	Outubro	24,83 ± 0,29c
Novembro	75,13 ± 0,57b	Novembro	23,65 ± 0,38c
Dezembro	72,73 ± 0,72b	Dezembro	22,96 ± 0,22c
Janeiro	59,60 ± 0,25f	Janeiro	22,52 ± 0,44c

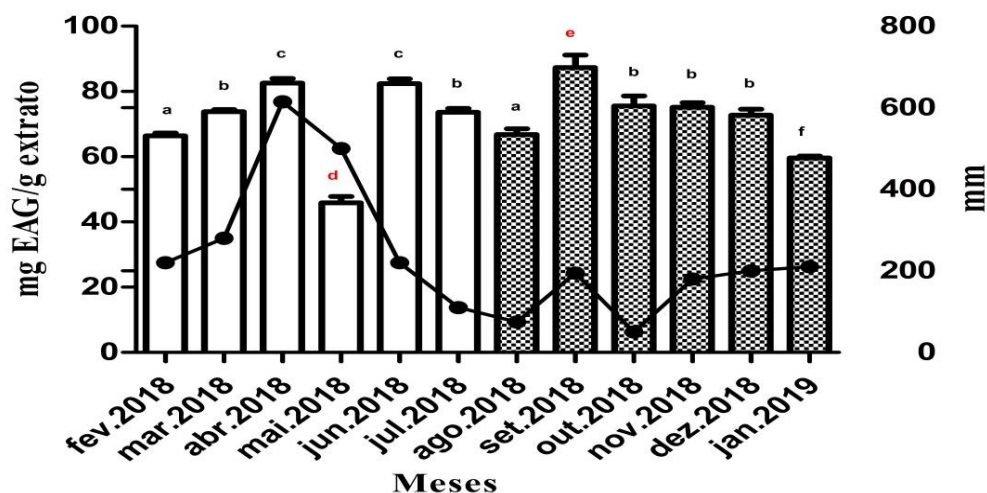
Esses valores representam a média e desvio padrão, tratados pelo teste ANOVA seguido de tukey (n=3). Letras minúsculas nas mesmas colunas retratam diferenças significativas. mm (milímetros); mg/g (miligrama de ácido gálico/rutina equivalente a g de extrato), para fenois e flavonoides, respetivamente.

Processo extrativo com *Dalbergia sissoo* identificou a presença de muitos polifenois e flavonoides, além de confirmar a generosa capacidade antioxidante dos extratos hidroetanólicos, onde sua potência antioxidante foi bem próxima da vitamina C, porém inferior (DENG et al., 2018). Corroborando os resultados desta dissertação, para *D. monetaria*.

A partir dos resultados da quantificação de fenois totais é possível identificar que o mês de setembro (87,27 ± 1,56 mg/g) tem a maior taxa de polifenois, antecedida por algumas oscilações e seguida de declínio. Já o mês de maio (45,87 ± 0,78 mg/g) demonstrou o menor valor destas substâncias, seguidas e precedidas por taxas consideravelmente altas.

Vale ressaltar que a diferença entre os meses de maior e menor valor é quase o dobro. E não ocorreu diferença estatística significativa entre os períodos (p = 0,573). Apartir dos resultados do mês de maio, nota-se uma sutil constância das concentrações de fenois para *Dalbergia monetaria* ao longo do ano estudado.

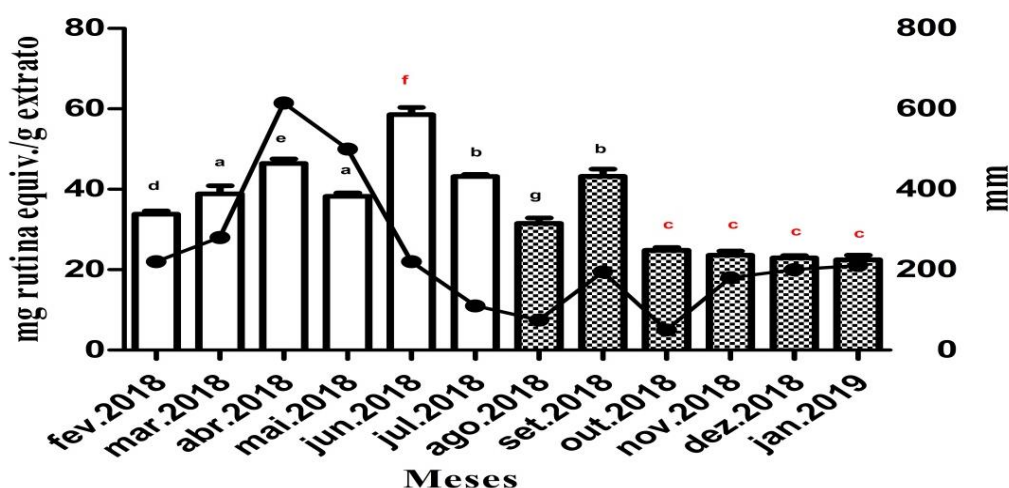
Figura 28 – Variação sazonal dos teores de fenois totais de *Dalbergia monetaria* em resposta as chuvas (mm).



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão e representa a taxa de fenois totais. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam P MEC. O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

O mês de junho ($58,56 \pm 0,72$ mg/g) apresenta a maior taxa de flavonoides, seguida de declínio e estagnação dos resultados entre os meses de outubro a janeiro ($22,52 \pm 0,44$ mg/g), que apresentaram as menores taxas sem diferenças significativas. Quando comparado por período, ocorreu relevante diferença ($p = 0,0001$), onde o pmac se destacou (Figura 29).

Figura 29 – Variação sazonal dos teores de flavonoides totais de *Dalbergia monetaria* em resposta as chuvas (mm).



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam P MEC. O gráfico de linhas representa a precipitação e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Uma ampla diversidade de classes de flavonoides (isoflavonoides) foram isoladas da casca de *Dalbergia parviflora*, tendo sido avaliada sua atividade antioxidante e demonstrado que dependendo da estrutura e conformação (posição) de grupos funcionais como hidroxilas nestes compostos fenólicos, estes podem diminuir ou aumentar a capacidade antioxidante para diferentes metodologias; pois sua forma química influencia sua solubilidade e intervém nos resultados dos métodos (PROMDEN et al., 2014). Visto que ocorreram oscilações na composição química de flavonoides ao longo do ano, esta pode ser uma justificativa para a influência ou correlação com as atividades antioxidantes *in vitro* propostas neste estudo.

Tabela 11 - Valores da atividade antioxidante analisados dos extratos da casca de *Dalbergia monetaria* coletada em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.

PMAC	DPPH (CE ₅₀)	Fosfomolibdênio	Frap
Meses	µg/mL	%	DO
Fevereiro	50,89 ± 0,87 ^a	51,8 ± 1,42 ^a	0,070 ± 0,001 ^a
Março	41,53 ± 1,85 ^b	57,01 ± 1,08 ^a	0,066 ± 0,001 ^a
Abril	49,06 ± 1,17 ^a	41,29 ± 3,49 ^c	0,075 ± 0,0005 ^a
Mai	60,37 ± 1,70 ^c	48,59 ± 2,78 ^a	0,090 ± 0,001 ^c
Junho	64,92 ± 1,06 ^d	47,92 ± 2,77 ^a	0,071 ± 0,0005 ^a
Julho	57,90 ± 0,78 ^c	53,85 ± 3,36 ^a	0,073 ± 0,001 ^a
PMEC	µg/mL	%	DO
Agosto	65,72 ± 0,93 ^d	59,33 ± 2,92 ^a	0,070 ± 0,001 ^a
Setembro	58,80 ± 0,44 ^c	66,36 ± 2,34 ^d	0,076 ± 0,001 ^a
Outubro	42,09 ± 1,44 ^b	75,25 ± 0,20 ^e	0,104 ± 0,002 ^d
Novembro	61,58 ± 0,67 ^c	76,87 ± 3,10 ^f	0,079 ± 0,001 ^a
Dezembro	69,61 ± 2,12 ^d	67,50 ± 1,81 ^g	0,071 ± 0,002 ^a
Janeiro	67,77 ± 0,64 ^d	57,05 ± 0,68 ^a	0,085 ± 0,003 ^e
Quercetina	5,57 ± 0,41	-	-
Ácido ascórbico	-	100	0,521 ± 10,25

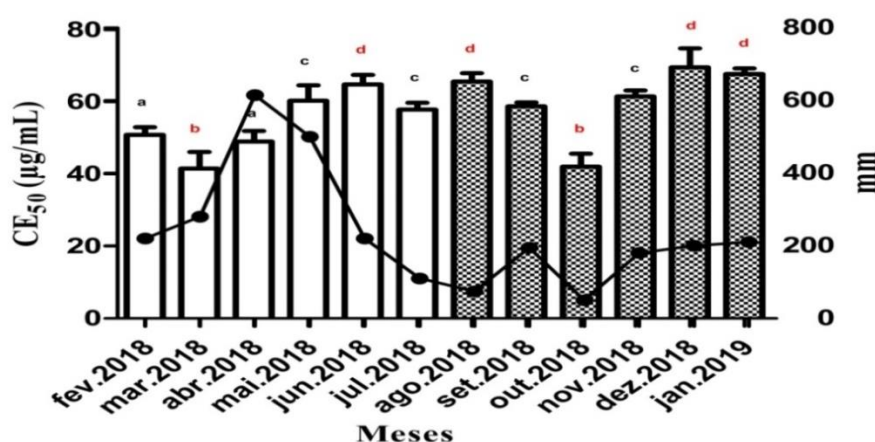
Esses valores representam a média e desvio padrão, tratados pelo teste ANOVA seguido de tukey (n=3). Letras minúsculas nas mesmas colunas retratam diferenças significativas. µg/mL (concentração); % (porcentagem de redução do fosfomolibdênio); DO (densidade óptica ou absorbância).

As plantas podem manter constante seus conteúdos de compostos químicos, resultado em estagnação ou manutenção de taxas constantes (sem alterações ou leves mudanças) dos metabólitos secundários. E a depender de quais metabólitos estão envolvidos nas atividades biológicas, estas podem também apresentar-se de modo

constante, ou com poucas variações ao longo do ano ou das temporadas. A seguir observa-se o perfil sazonal da CE_{50} de *D. monetaria*.

Para a análise sazonal da concentração efetiva, *D. monetaria* mostrou que os meses de março e outubro ($41,53 \pm 1,85$; $42,09 \pm 1,44$; respectivamente), apresentaram os melhores resultados (Figura 30), enquanto que dezembro e janeiro ($69,61 \pm 2,12$; $67,77 \pm 0,64$; respectivamente), mostraram altos valores de CE_{50} , o que significa menor capacidade antioxidante nestes meses. De modo comparativo ocorreu diferença ($p=0,026$) entre os períodos.

Figura 30 – Variação sazonal do valor da CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$) de *Dalbergia monetaria* e a comparação com a chuva (mm).



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre os valores de CE_{50} . As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam P MEC. Como controle foi utilizado a quercetina ($CE_{50} = 5,57 \mu\text{g/mL}$). O gráfico de linhas representa a precipitação e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Em outro estudo, extratos hidroalcolicos de *D. monetaria* exibiram os melhores resultados de CE_{50} em comparação com outras plantas da região amazônica (MARTINS et al., 2016). Evidenciando a importância do estudo sazonal, para identificar o melhor mês ou período de coleta em que a planta exiba seu melhor perfil farmacológico.

A Tabela 12 mostra a atividade antioxidante dos extratos hidroetanólicos de Verônica, testados em diferentes concentrações ao longo do período de um ano. Todas as amostras apresentaram forte capacidade de consumir o radical DPPH, principalmente na concentração de $100 \mu\text{g/mL}$; ao comparar todos os períodos avaliados pode-se perceber que nenhum mês apresentou melhor CE_{50} (Figura 26) que o controle utilizado, mas é importante notar que em algumas concentrações e em determinados meses os extratos apresentaram maior poder de sequestro do radical que o controle, como observado nos meses de fevereiro a maio e setembro a novembro a $100 \mu\text{g/mL}$. Em outro estudo foi verificado maior poder de consumo do radical pelos extratos em baixas

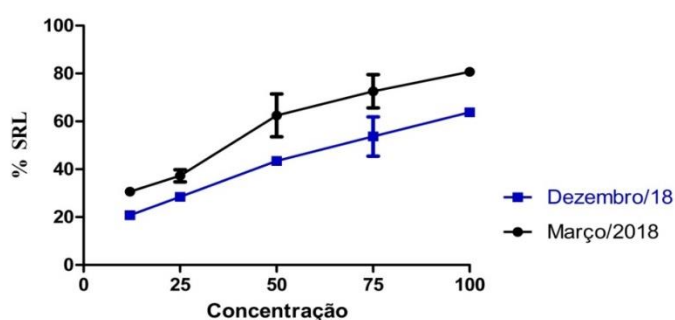
concentrações em comparação com o padrão utilizado, entretanto, nenhum resultado apresentou melhores valores de CE_{50} , quando comparado com controle (FALCÃO et al., 2006).

Tabela 12 – Avaliação sazonal da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH, das diferentes concentrações dos extratos de *Dalbergia monetaria*, ao longo dos meses de coleta.

$\mu\text{g/mL}$	Controle	fev./2018	mar./2018	abr./2018	mai./2018	jun./2018	jul./2018
12	39.21 \pm 0.79	23,82 \pm 1,12	30,66 \pm 0,51	27,06 \pm 0,41	26,97 \pm 2,11	22,84 \pm 0,14	23,48 \pm 0,76
25	64.78 \pm 0.68	32,23 \pm 0,75	37,25 \pm 1,03	34,21 \pm 0,56	30,29 \pm 0,42	30,28 \pm 0,40	29,63 \pm 1,00
50	65.46 \pm 0.21	51,27 \pm 1,28	62,49 \pm 3,60	52,55 \pm 2	46,28 \pm 1,09	46,11 \pm 1,66	52,78 \pm 0,51
75	66.04 \pm 0.10	71,61 \pm 2,32	72,57 \pm 2,81	70,76 \pm 1,28	60,33 \pm 0,39	59,38 \pm 0,79	65,56 \pm 0,46
100	66.82 \pm 0.21	78,80 \pm 0,68	80,74 \pm 0,32	78,42 \pm 1,12	68,64 \pm 1,28	63,45 \pm 1,13	65,77 \pm 0,65
$\mu\text{g/mL}$	Controle	ago./2018	set./2018	out./2018	nov./2018	dez./2018	jan./2019
12	39.21 \pm 0.79	23,51 \pm 1,13	23 \pm 0,15	28,85 \pm 0,38	23,68 \pm 1,49	20,81 \pm 0,36	27,93 \pm 0,21
25	64.78 \pm 0.68	30,59 \pm 0,60	32,19 \pm 2,31	37,87 \pm 0,62	26,52 \pm 0,62	28,44 \pm 0,15	39,07 \pm 0,27
50	65.46 \pm 0.21	43,48 \pm 0,54	51,07 \pm 0,74	68,20 \pm 1,04	50,35 \pm 1,44	43,48 \pm 0,35	47,89 \pm 0,10
75	66.04 \pm 0.10	57,36 \pm 1,74	62,42 \pm 0,31	71,31 \pm 1,95	58,76 \pm 0,53	56,67 \pm 3,29	56,10 \pm 0,31
100	66.82 \pm 0.21	64,75 \pm 0,96	67,10 \pm 0,56	71,92 \pm 0,65	67,99 \pm 0,10	63,82 \pm 0,33	56,92 \pm 0,10

Cada valor é a média de três repetições \pm desvio padrão e equivale a % de Sequestro de Radical Livre (% SRL). Quercetina foi utilizada como controle, nas mesmas condições dos extratos.

Figura 31 -Porcentagem de sequestro de radical livre pelos meses que apresentaram maior e menor consumo do DPPH em comparação de *Dalbergia monetaria*. Cada ponto no gráfico representa a média de três repetições \pm desvio padrão.



Extratos aquosos de *D. monetaria* não apresentam toxicidade na mucosa gástrica de camundongos e citotoxicidade em fibroblastos da linhagem V79 de pulmão de hamster chinês, além da capacidade de induzir a produção de prostaglandinas, que são sinalizadores químicos, na mucosa estomacal, proporcionando proteção ao estômago e atuando como substância protetora (COTA et al., 1999). E aliado a baixa toxicidade dos extratos de verônica, em modelo de *A. salina* conforme estudo de Melo et al. (2016), esta planta pode servir como candidata na utilização para fins alimentícios como corantes ou preservantes naturais; pois em detrimento do melhor mês de coleta, estes preparos podem ser utilizados na indústria alimentícia, devido também a toxicidade baixa do solvente utilizado e custo reduzido na obtenção dos mesmos (GÓMEZ-PLAZA et al., 2006). Além da excelente A.A. constatada.

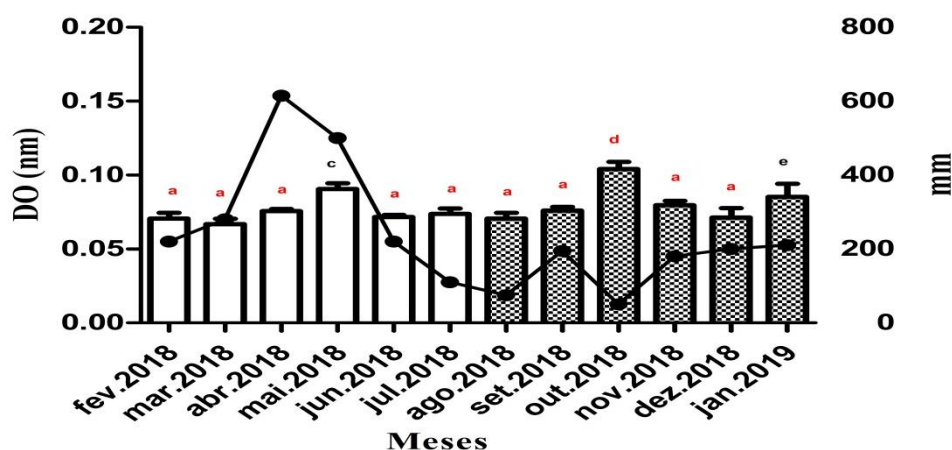
Então, ao comparar as três espécies estudadas, é possível notar que *D. monetaria* apresentou os maiores conteúdos de fenois e flavonóides totais, no entanto, as taxas de fenois foram bem mais elevadas que as demais, quando comparado com os flavonoides, o que possibilita uma investigação mais acurada destas substâncias, em pesquisas alimentares, como conservantes. Pois as indústrias seguem, atualmente (século XXI), uma tendência em recrutar produtos naturais (com baixa toxidez) em substituição aos sintéticos, para a preservação de alimentos, que retratam pouco tempo de prateleira, resultando em menor disponibilidade ao mercado consumidor (GALANAKIS, 2018).

Neste contexto a oxidação lipídica é uma das principais causas de perdas nutricionais dos alimentos, principalmente carnes e produtos oriundos dos pescados; e com o propósito sazonal de identificar um mês ou período adequado de coleta, para facilitar a extração de compostos fenólicos que visem a conservação de alimentos (GALANAKIS, 2018), *Dalbergia monetaria* é uma forte proponente para testes nutricionais, envolvendo alimentos propensos a ranço oxidativo, deterioração e descoloração, por exibirem altos teores de fenois totais, principalmente no período menos chuvoso, entre setembro e dezembro. Esses compostos fenólicos, com excessão dos flavonoides, atuam como antioxidantes primários, impedindo ou retardando a iniciação de processos oxidativos.

Outra alternativa viável e bastante promissora, seria a incorporação destes extratos em sistemas nanoencapsulados (nanofitotecnologia), com o intuito de maximizar o potencial antioxidante deste produto natural. Estudo com nanoemulssão de extratos de *Curcuma longa*, mostraram forte atividade antioxidante e boa capacidade de conservação de filé de peixe, prologando a vida útil do mesmo e agregando valor ao produto (FOUJDAR et al., 2018).

A análise do poder redutor do ferro mostrou pouca variabilidade durante o ano, tendo o mês de outubro ($0,104 \pm 0,002$ DO) a maior absorbância, contra março ($0,066 \pm 0,001$ DO). Os meses de fevereiro, março, abril, junho, julho, agosto, setembro, novembro e dezembro, não diferiram significativamente (Figura 32). Sem diferença entre as estações ($p = 0,06$).

Figura 32 – Variação sazonal do poder redutor do ferro por *Dalbergia monetaria* em resposta as chuvas (mm).



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as densidades ópticas. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam PMEC. Os extratos foram padronizados em uma única concentração ($2.000 \mu\text{g/mL}$); Ácido ascórbico foi utilizado como padrão ($0,521 \text{ nm}$). O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

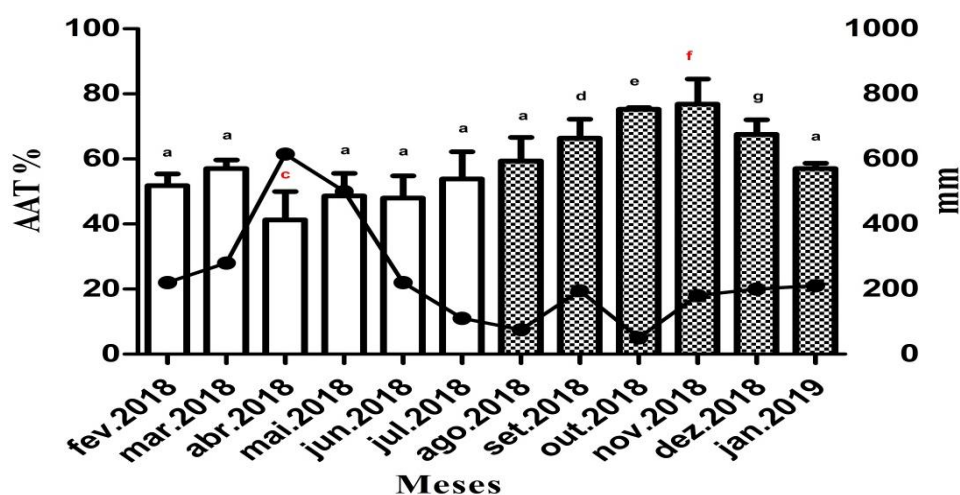
Quanto ao ensaio do poder redutor do ferro, extratos alcóolicos de *Dalbergia odorifera* apresentaram resultados fracos, quando comparado com outros extratos de plantas medicinais (GAN et al., 2010). Os resultados para o FRAP em *D. monetaria* revelaram baixo poder redutor do ferro ao longo dos meses durante todo o período avaliado. Mesmo sendo resultados pouco promissores para esta metodologia (Poder Redutor do Ferro), vale lembrar que esta espécie apresentou excelentes resultados para sequestro de radical e redução de complexo fosfomolibdênio, além da elevada taxa de fenois totais, principalmente quando comparado com Sacaca e Anauerá.

Desse modo, a continuidade de estudos sazonais e com outras atividades biológicas utilizando *D. monetaria* é muito importante para o descobrimento e produção de novos produtos naturais, que favoreçam para a população manutenção da saúde assim como qualidade de vida. Sendo importante também conservar e preservar o vegetal em questão.

Para a capacidade de redução do fosfomolibdênio (Figura 33), os meses de outubro e novembro ($76,87 \pm 3,10 \%$) exibiram os valores mais elevados, precedidos de

aumento e seguidos de diminuição para este teste. Enquanto que o mês de abril ($41,29 \pm 3,49 \%$) mostrou a menor taxa, seguido de leve aumento. Com diferença estatística entre as estações ($p = 0,0001$).

Figura 33 – Variação sazonal da porcentagem de redução do complexo fosfomolibdênio correlacionado com a precipitação (mm) de *Dalbergia monetaria*.



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste de ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as porcentagens. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam PMEC. Ácido ascórbico foi utilizado como padrão e representa 100% de atividade antioxidante total (AAT%). O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Contudo, trabalhos mostram que frações apolares apresentam melhores resultados do que extrativos polares (MERINO et al., 2015). Diferente da maioria dos resultados desta pesquisa que apresentaram bons resultados para extratos de *D. monetaria*, conforme Figura 33. Quando comparado com os extratos brutos etanólicos da casca do caule de *Dalbergia brasiliensis*, *D. monetaria* demonstrou melhores resultados em todo o período avaliado, inclusive contra as frações de *D. brasiliensis* (DALARMI et al., 2017). Mostrando que o período seco ou menos chuvoso é um bom tempo de colheita quando se objetiva atividade antioxidante de redução de complexos.

Ao analisar a correlação de Pearson da variável ambiental com as metodologias empregadas com *D. monetaria*, pode-se perceber que fenóis totais se correlacionaram de maneira positiva com flavonoides, DPPH e Fosfomolibdênio; e de modo negativo com FRAP e a precipitação, todos de fraco a moderado. Já os flavonoides totais apresentaram correlação positiva com DPPH e precipitação, fraco e moderado, respectivamente; e relação negativa com FRAP e Fosfomolibdênio, entretanto, de maneira moderada e forte. O resultado que mais representou a relação com a chuva foi o Fosfomolibdênio, porém, inversamente, conforme apresentado na Tabela 13.

Tabela 13 - Coeficientes da correlação de Pearson de todo o período avaliado para *Dalbergia monetaria*.

	Fenois	Flavonoides	DPPH	FRAP	Fosfomol.	Precipitação
Fenois	1					
Flavonoides	0.38*	1				
DPPH	0.22	0.12	1			
FRAP	-0.30	-0.37*	0.20	1		
Fosfomol.	0.18	-0.66*	0.03	0.33*	1	
Precipitação	-0.17	0.37*	-0.15	-0.05	-0.65*	1

*Valores com $p < 0.05$.

4.2.3 *Licania macrophylla* Benth

Tabela 14 – Valores dos compostos fenólicos analisados dos extratos da casca de *Licania macrophylla* coletada em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.

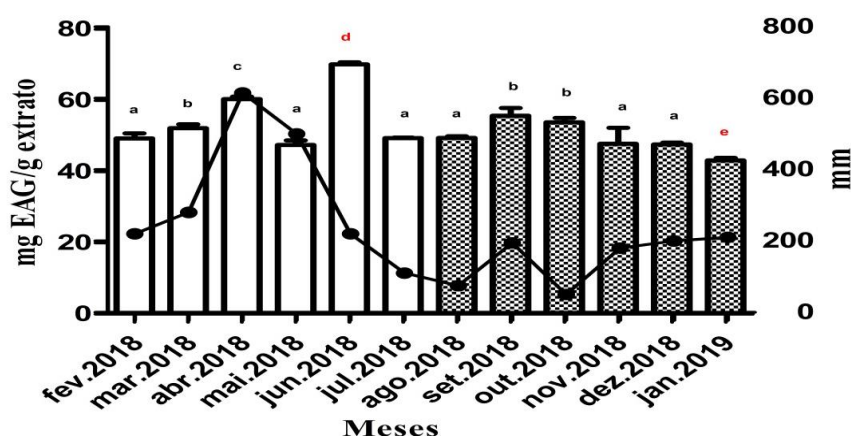
Meses	Fenois	Meses	Flavonoides
PMAC	mg/g	PMAC	mg/g
Fevereiro	49,4 ± 0,56 ^a	Fevereiro	19,84 ± 0,56 ^a
Março	52,27 ± 0,43b	Março	19,26 ± 0,44 ^a
Abril	60,40 ± 0,30c	Abril	22,33 ± 0,73b
Mai	47,57 ± 0,50 ^a	Mai	19,33 ± 0,48 ^a
Junho	70,23 ± 0,21d	Junho	12,52 ± 0,47c
Julho	49,50 ± 0,05 ^a	Julho	24,06 ± 0,39b
Meses	Fenois	Meses	Flavonoides
PMEC	mg/g	PMEC	mg/g
Agosto	49,57 ± 0,17 ^a	Agosto	18,41 ± 0,56 ^a
Setembro	55,77 ± 0,88b	Setembro	26,62 ± 0,24d
Outubro	53,93 ± 0,51b	Outubro	26,68 ± 1,87f
Novembro	47,90 ± 1,80 ^a	Novembro	11,86 ± 1,06c
Dezembro	47,70 ± 0,20 ^a	Dezembro	11,64 ± 0,57c
Janeiro	43,23 ± 0,31e	Janeiro	14,64 ± 0,54c

Esses valores representam a média e desvio padrão, tratados pelo teste ANOVA seguido de tukey (n=3). Letras minúsculas diferentes nas mesmas colunas retratam diferenças significativas. mm (milímetros); mg/g (miligrama de ácido gálico/rutina equivalente a g de extrato), para fenois e flavonoides, respetivamente.

Plantas do mesmo gênero e família de *L. macrophylla* apresentam muitas utilidades na medicina popular, como tratamento da malária, epilepsia, diarreia, diabetes, entre outros, e as principais moléculas isoladas destes vegetais são flavanoides, o que pode direcionar pesquisas para averiguação de compostos de natureza fenólica e atividades biológicas/farmacológicas relacionadas a estas moléculas, como os antioxidantes (NETO et al., 2013).

A Figura 34 apresenta o monitoramento anual dos compostos fenólicos totais dos extratos brutos de *Licania macrophylla*, mostrando que o mês de junho apresentou a maior taxa de polifenóis ($70,23 \pm 0,21\text{mg/g}$) e o mês de janeiro a menor ($43,23 \pm 0,31\text{mg/g}$). Analisando de modo geral entre período mais e menos chuvoso, houve diferença estatística entre os períodos ($p = 0,024$). Pmac apresentou maiores médias de compostos fenólicos, talvez por influência do acúmulo das chuvas nessa época do ano (1945 mm).

Figura 34 – Variação sazonal dos teores de fenois totais de *Licania macrophylla* em resposta as chuvas (mm).

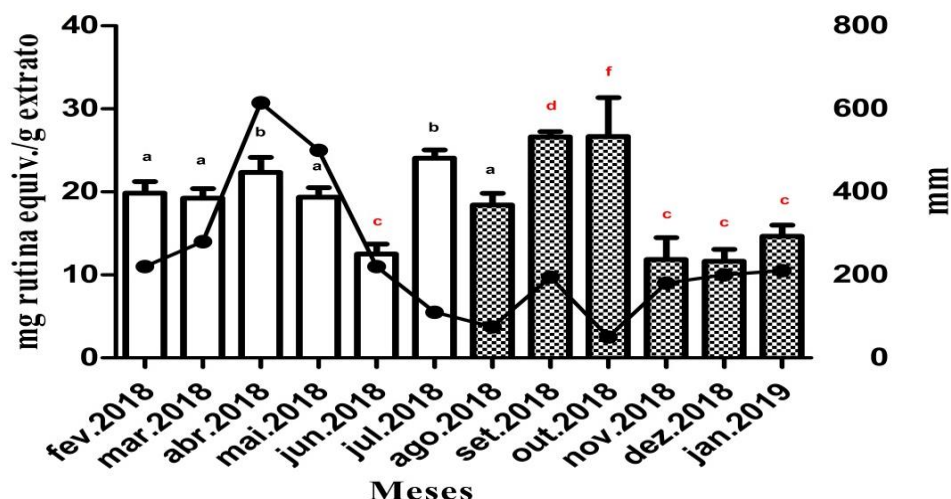


Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão e representa a taxa de fenois totais. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam P MEC. O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Os meses de setembro e outubro mostraram os maiores teores de flavonoides totais de *L. macrophylla* ($26,62 \pm 0,24$ e $26,68 \pm 1,87$ mg/g), como mostra a Figura 35, seguido de considerável diminuição nos valores. Representativamente, os meses de fevereiro, março e abril mostram aumento nas taxas deste composto em comparação ao final do p mec, que apresentaram as menores taxas, sem diferença estatística, juntamente com o mês de junho. Já na comparação entre os dois períodos não ocorreu diferença entre os mesmos ($p = 0,487$). Análises mais específicas devem ser realizadas para

investigar e descobrir qual classe de flavonoide pode estar influenciando as flutuações de flavonoides totais.

Figura 35 – Variação sazonal dos teores de flavonoides totais de *Licania macrophylla* em resposta as chuvas (mm).



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão e representa as taxas de flavonoides. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam PMEC. O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Ao analisar as Figuras 34 e 35, ficou evidente que a taxa de fenois totais em *L. macrophylla* foi mais constante ao longo do ano do que flavonoides totais, onde estes últimos foram mais oscilantes.

Do ponto de vista ecológico os flavonoides são responsáveis pela proteção da planta contra a radiação solar (Simões et al., 2010), o que pode corroborar com os resultados, pois suas máximas produções foram nos meses de setembro e outubro (mês que menos choveu), proporcionando menores índices de umidade no ar e aumento brando da temperatura.

Ainda são insuficientes os estudos com plantas da família Chrysobalanaceae, sobre sua composição fenólica. No entanto, alguns estudos fitoquímicos mostram a presença de flavonoides e taninos na casca do caule de *L. macrophylla* (extratos hidroetanólicos) (GOMES et al., 2006).

Ao comparar os extratos de casca de *L. macrophylla* com preparos hidroalcolicos das folhas de *L. rigida* e *tomentosa*; *L. macrophylla* apresentou melhores valores em todos os meses avaliados em relação a estas espécies do mesmo gênero, mesmo nos meses com as menores taxas de flavonoides (MACEDO, 2011).

A Tabela 15 mostra com detalhe os valores das atividades antioxidantes empregadas neste estudo para as cascas do caule de Anauerá, valendo de consulta e auxiliando a apreciação da Figura 37.

Tabela 15 - Valores da atividade antioxidante analisados dos extratos da casca de *Licania macrophylla* coletada em área rural de Porto Grande, Amapá, Brasil. Os valores estão expressos em média e desvio padrão.

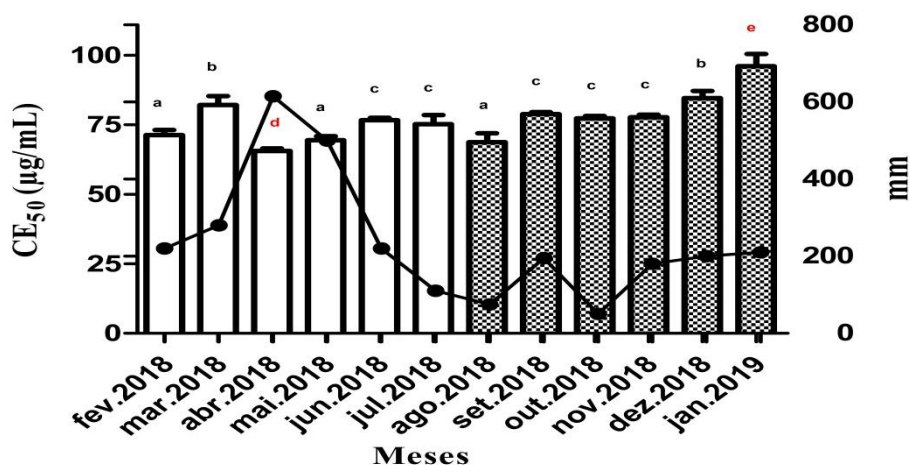
Meses	DPPH (CE ₅₀)	Fosfomolibdênio	Frap
PMAC	µg/mL	%	DO
Fevereiro	71,30 ± 0,71 ^a	23,32 ± 0,63 ^d	0,041 ± 0,0005 ^a
Março	82,05 ± 1,28 ^b	54,15 ± 2,37 ^e	0,031 ± 0,0005 ^b
Abril	65,63 ± 0,36 ^d	40,57 ± 2,91 ^a	0,042 ± 0,001 ^a
Mai	69,46 ± 0,59 ^a	43,28 ± 0,23 ^a	0,039 ± 0,001 ^a
Junho	76,68 ± 0,32 ^c	30,82 ± 0,17 ^c	0,054 ± 0,001 ^c
Julho	75,20 ± 1,33 ^c	47,13 ± 0,21 ^a	0,032 ± 0,0005 ^b
PMEC	µg/mL	%	DO
Agosto	68,74 ± 1,27 ^a	33,02 ± 0,77 ^c	0,049 ± 0,001 ^d
Setembro	78,83 ± 0,27 ^c	43,12 ± 2,62 ^a	0,031 ± 0,003 ^b
Outubro	77,31 ± 0,34 ^c	43,15 ± 0,85 ^a	0,033 ± 0,0005 ^b
Novembro	77,72 ± 0,33 ^c	64,44 ± 3,36 ^f	0,045 ± 0,0005 ^a
Dezembro	84,56 ± 1,04 ^b	39,65 ± 1,39 ^a	0,035 ± 0,0005 ^b
Janeiro	96,02 ± 1,77 ^e	42,93 ± 2,34 ^a	0,033 ± 0,001 ^b
Quercetina	5,57 ± 0,41	-	-
Ácido ascórbico	-	100	0,521 ± 10,25

Esses valores representam a média e desvio padrão, tratados pelo teste ANOVA seguido de tukey (n=3). Letras minúsculas nas mesmas colunas retratam diferenças significativas. µg/mL (concentração); % (porcentagem de redução do fosfomolibdênio); DO (densidade óptica ou absorbância).

Todas as amostras avaliadas foram capazes de consumir o DPPH e demonstraram boa efetividade em consumir 50% do radical. O mês de abril foi o mais efetivo (65,63 ± 0,36 µg/mL), contra o mês de janeiro que foi o menos efetivo (96,02 ± 1,77 µg/mL), como mostra a Figura 36. Ocorreu diferença significativa (p = 0,0056) entre os períodos, tendo o

pmac demonstrado melhores resultados de CE_{50} , entre seus meses. Nota-se um sutil aumento da CE_{50} no final do pmac até o fim do pmec.

Figura 36 – Variação sazonal do valor da CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$) de *Licania macrophylla* e a comparação com a chuva (mm).



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre os valores de CE_{50} . As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam Pmec. Como controle foi utilizada a quercetina ($CE_{50} = 5,57 \mu\text{g/mL}$). O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Ao contrastar o potencial antioxidante das sementes de *L. tomentosa* e *rigida* com *L. macrophylla*, esta foi bem superior no sequestro de DPPH; as sementes foram coletadas em dezembro de 2007 e janeiro de 2008 e macerados com etanol absoluto (FARIAS et al., 2013).

Os radicais livres e outros agentes oxidantes estão intimamente relacionados a doenças cardiovasculares, catarata, diabetes (melitos, tipo 1) e muitas formas de câncer (SOUSA et al., 2007). Nesse sentido, o chá da anauerá, que apresenta várias utilidades, pode ainda complementar o sistema de defesa antioxidante (exógeno), através da dieta, no sentido de prevenção. Além de possibilitar a redução do desenvolvimento de doenças crônicas (PEREIRA, CARDOSO, 2012). No entanto, mais pesquisas devem ser realizadas para assegurar o uso de produtos naturais.

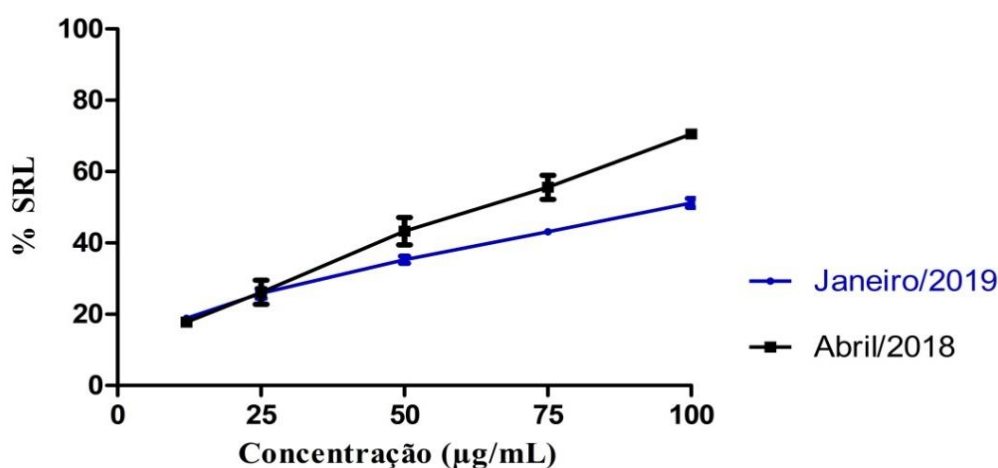
A Tabela 16 detalha a A.A. dos preparos hidroalcólicos de *L. macrophylla*, avaliados em várias concentrações ao longo de um ano. A maioria dos fitocomplexos exibiram de moderada a forte capacidade de sequestrar o DPPH, principalmente na concentração de $100 \mu\text{g/mL}$; ao comparar todas as amostras avaliadas pode-se perceber que nenhum mês apresentou melhor CE_{50} (Figura 37) que o controle, porém é válido notar que o mês de abril mostrou maior efetividade que o padrão quercetina (Figura 38) em sequestrar o radical a $100 \mu\text{g/mL}$.

Tabela 16 – Avaliação sazonal da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH, das diferentes concentrações dos extratos de *Licania macrophylla*, ao longo dos meses de coleta.

$\mu\text{g/mL}$	controle	fev./2018	mar./2018	abr./2018	mai./2018	jun./2018	jul./2018
12	39.21 \pm 0.79	23 \pm 1,26	18,73 \pm 0,59	17,77 \pm 0,31	18,08 \pm 0,70	15,58 \pm 0,72	20,06 \pm 0,78
25	64.78 \pm 0.68	28,47 \pm 0,48	22,86 \pm 0,36	26,14 \pm 1,35	26,86 \pm 0,35	23,44 \pm 0,47	29,80 \pm 2,60
50	65.46 \pm 0.21	45,15 \pm 0,56	35,96 \pm 0,92	43,27 \pm 1,54	42,59 \pm 0,92	36,40 \pm 1,26	37,32 \pm 1,26
75	66.04 \pm 0.10	50,73 \pm 0,92	47,89 \pm 0,31	55,58 \pm 1,34	53,05 \pm 0,05	46,9 \pm 0,82	52,50 \pm 0,61
100	66.82 \pm 0.21	62,76 \pm 0,54	58,45 \pm 0,89	70,52 \pm 0,21	65,63 \pm 0,89	64,71 \pm 0,27	60,74 \pm 0,32
$\mu\text{g/mL}$	controle	ago./2018	set./2018	out./2018	nov./2018	dez./2018	jan./2019
12	39.21 \pm 0.79	23,78 \pm 1,14	21,80 \pm 1,05	22,49 \pm 1,32	16,30 \pm 0,57	20,06 \pm 0,50	18,83 \pm 0,35
25	64.78 \pm 0.68	29,22 \pm 0,17	24,98 \pm 0,97	28,64 \pm 0,59	24,13 \pm 0,42	25,05 \pm 0,30	25,84 \pm 0,54
50	65.46 \pm 0.21	44,30 \pm 1,13	27,38 \pm 0,99	40,68 \pm 0,42	40,16 \pm 1,09	37,05 \pm 0,82	35,28 \pm 0,41
75	66.04 \pm 0.10	50,97 \pm 1,03	51,54 \pm 0,78	50,52 \pm 0,42	51,72 \pm 0,36	44,57 \pm 2,63	43,10 \pm 0,36
100	66.82 \pm 0.21	65,63 \pm 1,57	62,62 \pm 0,31	58,62 \pm 0,33	58,45 \pm 0,47	57,74 \pm 1,20	51,21 \pm 0,51

Cada valor é a média de três repetições \pm desvio padrão e equivale a % de Sequestro de Radical Livre (% SRL). Quercetina foi utilizada como controle, nas mesmas condições dos extratos.

Figura 37 -Porcentagem de sequestro de radical livre pelos meses que apresentaram maior e menor consumo do DPPH em comparação de *Licania macrophylla*. Cada ponto no gráfico representa a média de três repetições \pm desvio padrão.

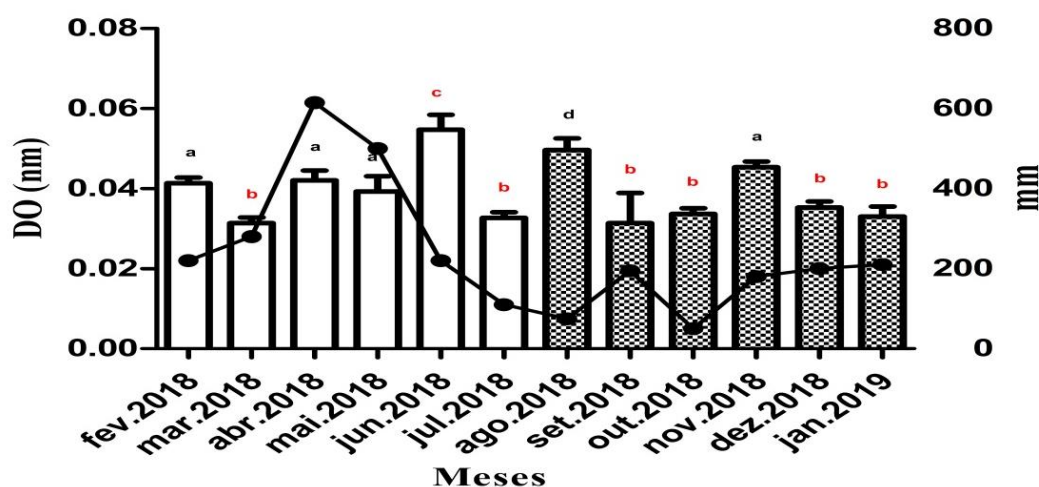


Quando confrontados com extratos das folhas tanto de *L. rigida* quanto de *L. tomentosa*, nenhuma destas plantas foram capazes de consumir mais radicais DPPH do que *L. macrophylla*, mesmo estando solubilizado a 120 µg/mL suas amostras (MACEDO, 2011). Evidenciando elevado poder antioxidante para *L. macrophylla*.

Licania macrophylla apresentou bons resultados (valores significativos de CE_{50} para a metodologia de limpeza de radicais livres, principalmente nos meses de fevereiro, abril e maio (período mais chuvoso), testemunhando que esta época do ano pode ser um bom período para sua coleta em detrimento desta técnica. Resultados do mesmo método empregado, para espécies do mesmo gênero de *Licania*, corroboram para o seu potencial antioxidante (Pessoa *et al.*, 2016), agregando valor para suas atribuições biofarmacológicas.

Para o teste de poder de redução do ferro o mês de junho apresentou o maior resultado ($0,054 \pm 0,001$ DO), e ao longo do ano foram predominantes as flutuações e não ocorreram diferenças entre os períodos avaliados ($p = 0,396$), como mostra a Figura 38.

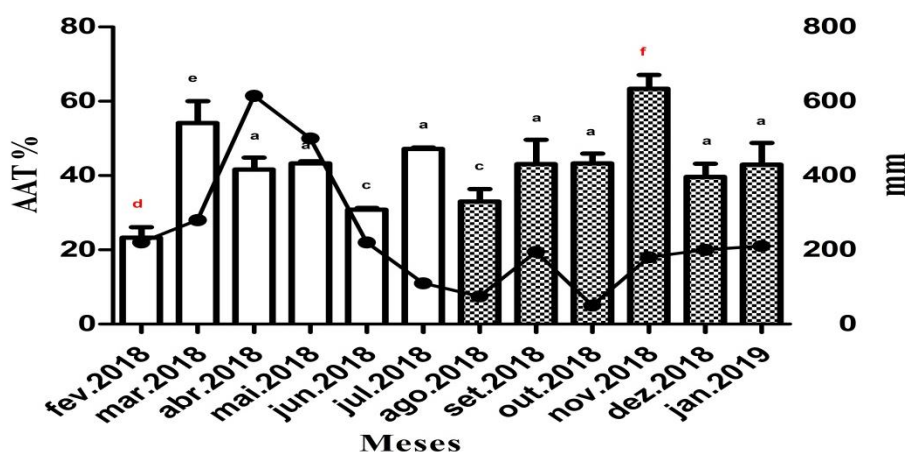
Figura 38 – Variação sazonal do poder redutor do ferro por *Licania macrophylla* em resposta as chuvas (mm).



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as densidades ópticas. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam PMEC. Os extratos foram padronizados em uma única concentração (2.000 µg/mL); Ácido ascórbico foi utilizado como padrão (0,521 nm). O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

Ao investigar a porcentagem de redução do complexo fosfomolibdênio, foi possível identificar o mês de novembro ($64,44 \pm 3,36$ %) com o maior poder de redução do complexo e inversamente o mês de fevereiro ($23,32 \pm 0,63$ %) apresentando o menor valor para este teste, conforme a Figura 39. Nota-se uma clara oscilação durante todo o ano investigado, mas não há diferença significativa entre os períodos ($p = 0,224$).

Figura 39 – Variação sazonal da porcentagem de redução do complexo fosfomolibdênio correlacionado com a precipitação (mm) de *Licania macrophylla*.



Cada valor no gráfico de colunas é a média de três repetições \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas, pelo teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) entre as porcentagens. As colunas brancas representam PMAC e as colunas pontilhadas representam PMEC. Ácido ascórbico foi utilizado como padrão e representa 100% de atividade antioxidante total (AAT%). O gráfico de linhas representa a precipitação (mm) e sua relação com os testes são descritos na correlação de Pearson.

A Tabela 17 apresenta os coeficientes de Pearson entre a precipitação e os métodos utilizados nesta pesquisa, mostrando que há correlação positiva significativa entre precipitação e o teste de seqüestro de DPPH, os fenois também apresentaram relação positiva com a chuva, no entanto, ambos apresentaram correlação fraca. Os fenois totais mostram correlação positiva significativa com o seqüestro de DPPH e FRAP, ao contrário dos flavonoides que apresentaram relação inversa com estes; corroborando com a fraca ou inexistente correlação de fenois e flavonoides ao longo do ano. Seqüestro de DPPH correlacionou-se com FRAP e Fosmolibdênio, porém de modo inverso; estes resultados corroboram com as diferenças e semelhanças intrínsecas entre os métodos.

Tabela 17 – Coeficientes da correlação de pearson de todo o período avaliado para *Licania macrophylla*.

	Fenois	Flavonoides	DPPH	FRAP	Fosfomol.	Precipitação
Fenois	1					
Flavonoides	0,09	1				
DPPH	0,34*	-0,35*	1			
FRAP	0,50*	-0,48*	0,46*	1		
Fosfomol.	-0,28	-0,05	-0,26	-0,35*	1	
Precipitação	0,20	0,01	0,36*	0,07	0,03	1

*Valores com $p < 0.05$.

4.3 ABORDAGENS SAZONAIS

Os flavonoides podem exercer inúmeras funções, de acordo com a especificidade de cada classe, por exemplo, isoflavonoides atuam na reposição hormonal por possuírem atividade estrogênica (DORNAS et al., 2007). Além da funcionalidade de reduzir o LDL e elevar os níveis de HDL; sem falar a expressiva capacidade antifúngica e antibacteriana (DASTIBAR et al., 2004; DORNAS et al., 2007). Por apresentarem ação antimicrobiana, os flavonoides produzidos pelas plantas podem proporcionar possíveis ataques a patógenos, em determinada época do ano, por questões inerentes ao ecossistema amazônico e fatores climáticos propícios para a proliferação de micro-organismos como umidade ou outra forma de infecção a planta, sugerindo uma explicação para a não correlação forte positiva com A.A., ou com outra variável ambiental como a chuva e estas substâncias.

A acumulação de metabólitos secundários pode ser influenciada por vários efeitos ambientais combinados, como ciclo de crescimento, chuva, temperatura, herbivoria, parasitismo, entre outros; desse modo a influência de um fator isolado pode não demonstrar ou dificultar a intervenção deste na composição química e atividade antioxidante, com o fator ambiental analisado (YAO et al., 2016). Fortalecendo os valores encontrados na maioria dos resultados para a correlação de Pearson (nas Tabelas 9, 13 e 17).

Quando se objetiva investigar, extrair ou isolar algum fitocomposto, o estudo sazonal torna-se importante no sentido de potencializar a síntese específica do metabólito ou conjunto destes, principalmente em escala industrial, para viabilizar a sociedade a produção de um possível novo fitoterápico (DALMAGRO et al., 2018). Concomitantemente, ajudando a preservação da biodiversidade em detrimento da escolha assertiva do período de coleta mais apropriado.

Durante esta investigação, foi trabalhado com amostras de folhas e cascas de caule de três árvores, onde constatou-se que o uso (colheita) das folhas é menos agressivo ao vegetal do que as cascas, pois ao retirar o segundo é possível causar um dano muito elevado a planta, ou até mesmo sua perda total, dependendo do objetivo (quantidade) de quem realiza a coleta; é nesse contexto que esta pesquisa se faz necessária, pois a identificação de uma época em que as espécies apresentem seu maior potencial, seja de composição química (metabólitos secundários) ou atividade biológica (perfil antioxidante, por exemplo), estes ajudam a preservação das espécies medicinais. O que corrobora com idéias de outros estudos (BOTHA et al., 2018), ao citar a

relevância da exploração de parte das raízes, cascas e folhas de *Euclea undulata*, de modo sazonal.

As atividades antioxidantes de todos os extratos apresentaram variação durante a temporada analisada o que corrobora com outros trabalhos que mostram variação sazonal, intercalando meses ou períodos de menor e maior atividade biológica (SIATKA, KASPAVORÁ, 2010).

Essas oscilações dos resultados podem estar atreladas aos procedimentos antioxidantes das diferentes técnicas utilizadas ou em detrimento do metabolismo da planta ao envolver mecanismos distintos durante processos de oxirredução. Deste modo, a quantidade das substâncias comprometidas com este evento biológico, podem alterar-se ao longo do ano, mas não necessariamente com todos os outros compostos (BULBOVAS et al., 2005; ARAUJO et al., 2015). Nesta perspectiva, a atividade antioxidante pode ser aumentada ou diminuída, dependendo da época de coleta e influências ambientais, isoladamente ou em conjunto podem ser as responsáveis.

O melhor período de coleta pode estar relacionado ao método utilizado, pois dependendo da propriedade farmacológica de interesse, uma metodologia pode ser mais apropriada em função da outra (BUJOR et al., 2018). Todos os procedimentos realizados nesta pesquisa visam mensurar a capacidade antioxidante, no entanto, alguns apresentam particularidades diferentes e conseqüentemente períodos diferentes de maior potencialidade, como observado ao longo do trabalho, o que contribuiu para as diferentes épocas “convenientes” de colheita.

Nesta pesquisa, foi investigado a composição química de fenois e flavonoides totais e atividades antioxidantes *in vitro* por três métodos distintos de modo sazonal (mês a mês no período de um ano). Foi descoberto que a partir destes métodos, ocorrem variações durante a temporada analisada, sendo umas mais acentuadas e outras menos. Demonstrando a relevância de descobrir um período apropriado para coletar estas amostras vegetais, no sentido de otimizar sua produção ou síntese de compostos bioativos.

Verificando a planta *Croton cajucara* o mês de junho foi o período em que a planta apresentou as maiores taxas de compostos fenólicos totais, assim como para flavonoides; e os meses de maio, agosto e setembro foram os períodos em que a planta apresentou os melhores (mais eficientes) resultados para o método de sequestro de radical DPPH, junho para FRAP e agosto para a redução do complexo Fosfomolibdênio.

Ao analisar a espécie *Dalbergia monetaria* os melhores meses (ou seja, as maiores concentrações) de fenois totais foram os meses de setembro para fenois, junho para flavonoides, março e outubro para o sequestro de DPPH, outubro para FRAP e Fosfomolibdênio.

Enquanto que o vegetal *L. macrophylla* foram os meses de junho para fenois, setembro e outubro para flavonoides, abril para o sequestro de DPPH, junho para o FRAP e novembro para Fosfomolibdênio. A identificação destes meses, com bons resultados (resultados satisfatórios para cada método), a partir das técnicas utilizadas, podem permitir coletas mais eficientes e sustentáveis destas plantas.

Além disso, este estudo mostra uma análise espectrofotométrica abrangente de técnicas antioxidantes *in vitro* com extratos das folhas de *C. cajucara* e casca do caule de *D. monetaria* e *L. macrophylla*. Mostrando que o preparo hidroalcolico destas plantas apresentam de moderado a forte potencial antioxidante pelos métodos fosfomolibdênio e de sequestro de DPPH, respectivamente e fraco poder de redução do ferro, ao longo do ano. O melhor tipo de extração em detrimento do melhor período de coleta pode ser uma alternativa para otimizar o potencial antioxidante dos extratos, agregando valor as estas espécies, podendo serem utilizadas como antioxidantes naturais, além das atividades farmacológicas que já exercem.

As espécies que não apresentaram forte correlação positiva da atividade antioxidante com os compostos analisados (fenois totais e flavonoides totais), sugerem a investigação de outros metabólitos que possam estar atrelados fortemente as atividades desenvolvidas nesta dissertação de maneira sazonal. Pois de acordo com pesquisas de Leitão et al. (2017), ao investigar extratos e substâncias isoladas de folhas de laranja mexicana, comprovaram que alcalóides exibiram boa capacidade antioxidante, apesar de não serem compostos aromáticos hidroxilados, como flavonoides, por exemplo.

Contudo, mais estudos são necessários para comprovar o efeito antioxidante *in vivo* e clínico de extratos de Sacaca, Verônica e Anauerá. Além de uma análise que envolva mais variáveis, como composição do solo, herbivoria e ataque de patógenos. Afim de elucidar de maneira mais assertiva o motivo da variação sazonal dos compostos fenólicos e atividade antioxidante, durante o período de um ano ou mais.

Em relação a sazonalidade esta deve ser considerada para as três espécies estudadas, pois observou-se que esta influência ambiental é importante, pois os resultados obtidos mostraram clara mudança, tanto da composição química, quanto da atividade antioxidante *in vitro* utilizada.

Esta é a primeira pesquisa no estado do Amapá que investiga influência de fatores ambientais na composição química e atividades biológicas de extratos de plantas medicinais, por longo período, sendo importante a continuidade de seus estudos para o descobrimento e/ou otimização de produtos naturais e a possível aplicação dos mesmos em alimentos ou em dietas que visem prevenir doenças ligadas ao desequilíbrio oxidativo.

- ABE, F.; DONNELLY, D.M.X.; MORETTI, C.; POLONSKY, J. Isoflavanoid constituents from *Dalbergia monetaria*. **Phytochemistry**. Vol. 24 (5), p. 1071-1076, 1985.
- AHMAD, N.; SHAHWAR, D.; KHAN, M.A.; MUGHAL, M.S. Antioxidant Potential and Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of *Croton sparsiflorus*. **Asian Journal of Chemistry**. Vol. 22. p. 555-561. 2010.
- ALVES, A.S.; PINHEIRO, E.S.R.; JUNIOR, A.O.; PENA, F.; UDHE, M. As Dez Plantas Medicinais Mais Indicadas Pelos Curadores Tradicionais No Estado Do Amapá. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Vol. 5, p. 42-52. 2006.
- AMANAJAS, J.C.; BRAGA, C.C. Padrões Espaço-Temporal Pluviométricos Na Amazônia Oriental Utilizando Análise Multivariada. **Revista Brasileira de Meteorologia**. Vol. 27, p. 423-434, 2012.
- ARAUJO, T.A.S.; ALMEIDA E CASTRO, V.T.N.; SOLON, L.G.S.; SILVA, G.A.; ALMEIDA, M.G.; COSTA, J.G.M.; AMORIN, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Does rainfall affect the antioxidant capacity and production of phenolic compounds of an important medicinal species?. **Industrial Crops and Products**. Vol. 76, p. 550-556, 2015.
- BAYNES, J. W.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- BEREZINA, E.V.; BRILKINA, A.A.; VESELOV, A.P. Content of phenolic compounds, ascorbic acid, and photosynthetic pigments in *Vaccinium macrocarpon* Ait. dependent on seasonal plant development stages and age (the example of introduction in Russia). **Scientia Horticulturae**. Vol. 216, p.139–146, 2017.
- BIRBEN, E; SAHINER, U.M.; SACKESEN, C.; ERZURUN, S.; KALAYCI, O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **World Allergy Organization Journal**. Vol. 5 (1), p. 9-19, 2012.
- BHOTA, L.E.; PRINSLOO, G.; DEUTSCHLANDER, M.S. Variations in the accumulation of three secondary metabolites in *Euclea undulata* Thunb. var. *myrtina* as a function of seasonal changes. **South African Journal of Botany**. Vol. 117, p. 34-40, 2018.
- BRACA, A.; LUNA, D.; MENDEZ, J.; MORELLI, I. Flavonoids from *Licania apetala* and *Licania licaniaeflora* (Chrysobalanaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**. Vol. 30. p. 271-273. 2002.
- BREWER, L.R., KUBOLA, J.; SIRIAMORNPU, S.; HERALD, T.J.; SHI, Y.C. Wheat bran particle size influence on phytochemical extractability and antioxidant properties. **Food Chemistry**. Vol. 52, p. 483-90, 2014.
- BUJOR, O.C.; GINIES, C.; POPA, V.I.; DUFOUR, C. Phenolic compounds and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods. **Food Chemistry**. Vol. 252, p. 356-365, 2018.

- BULBOVAS, P.; RINALDI, M.C.S.; DELITTI, W.B.C.; DOMINGOS, M. Variação sazonal em antioxidantes em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). **Revista Brasileira de Botânica**. Vol. 28 (4), p. 687–696, 2005.
- ČANADANOVIĆ-BRUNET, J.M.; DJILAS, S.M.; ČETKOVIĆ, G.S.; TUMBAS, V.T.; MANDIĆ, A.L.; ČANADANOVIĆ, V.M. Antioxidant activities of different *Teucrium montanum* L. extracts, *Int. J. Food Scientia Technology*. Vol. 41, p. 667–673, 2006.
- CARVALHO, A. M. de. A synopsis of the genus *Dalbergia* (Fabaceae: *Dalbergia*) in Brazil. **Brittonia**. Vol. 49, p. 87-109, 1997.
- CARVALHO, P.E.R. **Jacarandá - *Dalbergia brasiliensis***. Curitiba: EMPRAPA-CNPQ (EMBRAPA-CNPQ.Circular Técnica,98), 2004.
- CASTILHO, R.O.; SOUZA, I.; GUIMARÃES, U.P.; KAPLAN, M.A.C.; A survey of chemistry and biological activities of chrysobalanaceae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Vol. 72, p. 2, 2005.
- CHAN, S.C.; CHANG, Y.S.; WANG, J.P.; CHEN, S.C.; KUO, S.C. Three new flavonoids and antiallergic, anti-inflammatory constituents from the heartwood of *Dalbergia odorifera*. **Planta Medica**. Vol. 64, p. 153-158, 1998.
- CHAVES, T.P. **VARIAÇÃO SAZONAL NA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ESPÉCIES VEGETAIS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**. Universidade Estadual da Paraíba, DISSERTAÇÃO DE MESTRADO, P.77, 2012.
- CHAVES, T.P.; SANTANA, C.P.; VERAS, G.; Brandão, D.O.; FELISMINO, D.C.; MEDEIROS, A.C.D.; TROVÃO, D.M.B.M. Seasonal variation in the production of secondary metabolites and antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine. **African Journal of Biotechnology**. Vol. 12(8), p. 847-853, 2013.
- CHENG, Z.J.; KUO, S.C.; CHAN, S.C.; KO, F.N.; TENG, C.M. Antioxidant properties of butein isolated from *Dalbergia odorifera*. **Biochimica et Biophysica Acta**. Vol. 1392, p. 291-299. 1998.
- CORREA, A.F.; SEGOVIA, J.F.O.; GONÇALVES, M.C.A.; DE OLIVEIRA, V.L.; SILVEIRA, D.; CARVALHO, J.C.T.; KANZAKI, L.I.B. Amazonian plant crude extract screening for activity against multidrug-resistant bacteria. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**. Vol. 12, p. 369-380, 2008.
- COTA, R.H.; GRASSI, K.D.M.; BRATFISCH, R.C.S.; SOUZA, A.R.B. Anti-ulcerogenic mechanisms of a lyophilized aqueous extract of *Dalbergia monetaria* L. in rats, mice and guinea-pigs. **Journal Pharmacy Pharmacology**. Vol. 51 (6), p. 735-740, 1999.
- DALARMI, L.; SILVA, C.B. da S.; OCAMPOS, F.M.M.; BURCI, L.M.; NASCIMENTO, K.F. do; JESUS, de C.; DIAS, J.F.G.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.; ZANIN, S.M.W.. *Dalbergia brasiliensis*. Vogel extracts in vitro antioxidant activity and phytotoxic effect in *Lactuca sativa* and *Allium cepa*. **International Journal of sciences**. Vol. 6, p. 80-87, 2017.
- DALMAGRO, A.P.; CAMARGO, A.; FILHO, H.H.S.; VALCANIA, M.M.; JESUS, P.C.; ZENI, A.L.B. Seasonal variation in the antioxidant phytochemicals production from the *Morus nigra* leaves. **Industrial Crops and Products**. Vol. 123, p. 323-330, 2018.

- DASTIBAR, S.G.; MANNA, A.; ASOK KUMAR, K.; KAUSHIKI, M.; SHIRATAKI, Y. Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. **Int Journal Antimicrob Agents**. Vol. 23, p. 99-102, 2004.
- DENG, J.; WANG, Y., Q.; SHI, L. Otimização do Processo de Extração e Atividade Antioxidante de Polifenóis de Folhas de *Dalbergia sissoo* (Roxb.). **Pesquisa florestal**. Vol. 31 (6), p. 161-167, 2018.
- DIXIT, P.; CHILLARA, R.; KHEDGIKAR, V.; GAUTAM, J.; KUSHWAHA, P.; KUMAR, A.; SINGH, D.; TRIVEDI, R.; MAURYA, R. Constituents of *Dalbergia sissoo*Roxb. leaves with osteogenic activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. Vol. 22, p. 890-897. 2012.
- DORMAN, H. J. D.; KOSAR, M.; KAHLOS, K.; HOLM, Y.; HILTUNEN, R. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, Hybrids, Varieties, and Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Vol. 51 (16), p. 4563-4569, 2003.
- DORNAS, W.C.; OLIVEIRA, T.T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R.G.; SANTOS, A.F.; NAGEM, T.J. Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. Vol. 28 (3), p. 241-249, 2007.
- FALCÃO, D.Q.; COSTA, E.R.; ALVIANO, D.S.; KUSTER, R.M.; MENEZES, F.S. Atividade antioxidante e antimicrobiana de *Calceolaria chelidonioides* Humb. Bonpl. & Kunth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Vol. 16(1), p. 73-76, 2006.
- FARIAS, D.F.; SOUZA, T.M.; VIANA, M.P.; SOARES, B.M.; CUNHA, A.P.; VASCONCELOS, I.M.; RICARDO, N.M.P.S.; FERREIRA, P.M.P.; MELO, V.M.M.; CARVALHO, A.F.U. Antibacterial, Antioxidant, and Anticholinesterase Activities of Plant Seed Extracts from Brazilian Semiarid Region. **Biological Medical Research International**. Vol. 1, p. 1-9, 2013.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5º ed. Brasília: **Anvisa**. v.1-2; 2010.
- FOUJDAR, R.; CHOPRA, H.K.; BERA, M.B. Optimization and production of turmeric extract-based nanoemulsion (TEBN) and its application in preservation of fatty fish fillet. **Journal of Food Processing and Preservation**. Vol. 10, P. 1-11, 2018.
- FRESCURA, V.D.S. et al. Compostos fenólicos em extratos de *Rosmarinus officinalis* L. sob cultivo fora do solo. **Enciclopédia biosfera**, Vol. 9 (17), p.755-761, 2013.
- FURLAN, C.M.; SANTOS, K.P.; SEDANO-PARTIDA, M.D.; MOTTA, L.B.; SANTOS, D.Y.A.C.; SALATINO, M.L.F.; NEGRI, G.; BERRY, P.E.; Ee, B.W.V.; SALATINO, A. Flavonoids and antioxidant potential of nine Argentinian species of *Croton* (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of botany**. Vol. 1, p. 1-10, 2015.
- GALANAKIS, C.M. Phenols recovered from olive mill wastewater as additives in meat products. **Trends in Food Science e Technology**. Vol. 79, p. 98-105, 2018.
- GAN, R.Y.; XU, X.R.; SONG, F.L.; KUANG, L.; LI, H.B. Antioxidant activity and total phenolic content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases. **Journal of Medicinal Plants Research**. Vol. 4(22), p. 2438-2444, 2010.

- GIAMPIERI, F.; ALVAREZ-SUAREZ, J.M.; BATTINO, M. Strawberry and human health: Effects beyond antioxidant activity. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. Vol. 62, p. 3867–3876, 2014.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas Medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**. Vol. 30 (2), p. 374-381, 2007.
- GOBBO-NETO, L.; BAUERMEISTER, A.; SAKAMOTO, H.T.; GOUVEA, D.R.; LOPES, J.L.C.; LOPES, N.P. Spatial and temporal variations in secondary metabolites content of the brazilian arnica leaves (*Lychnophora ericoides* Mart., Asteraceae). **Journal of Brazilian Chemistry Society**. Vol. 28 (12), p. 2382-2390, 2017.
- GOMES, M.L.; OLIVEIRA, J.S.; JARDIM, M.A.G.; SILVA, J.C. Usos medicinais e composição química das folhas de *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**. Vol. 87, p. 26-29, 2006.
- GÓMEZ-PLAZA, E; MIÑANO, A, LÓPEZ-ROCA, JM. Comparison of Chromatic Properties, Stability and Antioxidant Capacity of Anthocyanin-Based Aqueous Extracts from *Grape pomace* Obtained from Different Vinification Methods. **Food Chemistry**. Vol. 97 (1), p. 87–94, 2006.
- GRENAND, P.; MORETTI, C.; JACQUEMIN, H.; Pharmacopées Traditionnelles en Guyane, Orstom: **Paris**, 1987.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4th. ed. New York: Oxford University Press, 2010.
- HARAGUCHI, H.; ISHIKAWA, H.; MIZUTANI, K.; TAMURA, Y.; KINOSHITA, T. Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in *Glycyrrhiza inflata*. Bioorg. **Medica Chemistry**. Vol .6, p. 339-347, 1998.
- HARAGUCHI, H. Antioxidative Plant Constituents. In: TRINGALI, C. (ed.) **Bioactive Compounds from natural sources**. London: Taylor e Francis, 2001.
- HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**. Vol. 68 (24), p. 2831–2846, 2007.
- HERTOG, M.G.; KROMHOUT, D.; ARAVANIS, C.; Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. **Arch Intern Med**. Vol. 155, p. 381-6, 1995.
- HIROSE, M.; HAGIWARA, A.; HASUI,; INOVE, K.; ITO, N. Combined effects of BHA and other antioxidants in induction of forestomach lesions in rats. **Cancer Lett**. Vol. 30 (2), p. 169-174, 1981.
- HUANG, D.; Ou, B.; Prior, R. The chemistry behing antioxidant capacity assays. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. Vol. 53, p. 1841-1856, 2005.
- INNOCENT, E. A new isoflavone glycoside from *Dalbergia vacciniifolia* (Fabaceae). **Scientia Pharmaceutica**. Vol.80, p. 469-474, 2012.
- KNEKT, P.; JARVINEN, R.; REUNANEN, A.; MAATELA, J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. **BMJ**. Vol. 312. p. 478-481, 1996.

LALL, N.; KISHORE, N.J. Are plants used for skin care in South Africa fully explored? **Ethnopharmacology**. Vol. 153 (1), p.61-84, 2014.

LARSON, R. A.; Naturally occurring antioxidants. **Lewis Publishers**: New York, p. 1, 1997.

LEE, K. S.; Shamon, L. A.; Chai, H. B.; Chagwedera, T. E.; Besterman, J. M.; Farnsworth, N.; Cordell, G. A.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, D.; **Chem.-Biol. Interact.** Vol.99, p. 193, 1996.

LEE, D.S.; LI, B.; KEO, S.; KIM, K.S.; JEONG, G.S.; OH, H.; KIM, Y.C. Inhibitory effect of 9-hydroxy-6,7-dimethoxydalbergiquinol from *Dalbergia odorifera* on the NF- κ B-related neuroinflammatory response in lipopolysaccharide-stimulated mouse BV2 microglial cells is mediated by heme oxygenase-1. **International Immunopharmacology** . Vol. 17, p. 828–835, 2013.

LEITÃO, G.G.; PEREIRA, J.P.B.; CARVALHO, P.R.; ROPERO, D.R.; FERNANDES, P.D.; BOYLAN, F. Isolation of quinoline alkaloids from three *Choisya* species by high-speed countercurrent chromatography and the determination of their antioxidant capacity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Vol. 27, p. 297-301, 2017.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. **Pharmac Reviews**. Vol. 4 (8), p. 118-123, 2010.

LOPES-LUTZ, D.; ALVIANO, D.S.; ALVIANO, C.S.; KOLODZIEJCZYK, P.P. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. **Phytochemistry**, Vol. 69, p. 1732-1738, 2008.

LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.D.; NAGEM, T.J., PINTO, A.D.S. Flavonoides. **Biotecnologia Ciencia & Desenvolvimento**. Vol. 3 (14); 2014.

MACEDO, J.B.M. **Capacidade antioxidante in vitro e avaliação da toxicidade aguda in vivo de extratos de folhas de *Licania rigida Benth.*, *Licania tomentosa Benth.* Fritsch e *Couepia impressa Prance* (Chrysobalanaceae)**. 105 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de ciências da saúde, Programa de pós graduação em ciências farmacêuticas. Natal. 2011.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; ARRUDA, A.C.; PAMPLONA, S.G.S.R.; VANDERLINE, F.A.; LAPA, A.J.; ECHEVARRIA, A.; GRYNBERG, N.F.; CÔLUS, I.M.S.; FARIAS, R.A.F.; LUNA COSTA, A.M.; RAO, V.S.N. Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. **Journal of Ethnopharmacology**, Vol.70 (1), p.41-55, 2000.

MACIEL, M.A.M., PINTO, A.C., VEIGA JR., V.F., MARTINS, J.R., GRYNBERG, N.F., ECHEVARRIA, A., LAPA, A.J.; VANDERLINDE, F.A. *Croton cajucara* as an alternative to traditional medicine in a modern health system, *Phytochem. Pharmacol. II Ser. Recent Prog. Med. Plants*, Vol.8, p. 502-517, 2002a.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA JR., V.F. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**. Vol.25 (3), p. 429-438, 2002b.

MACIEL, M. A. M.; ANJOS, G. C.; GOMES, F. E. S.; DANTAS, T. N. C.; PINTO, A. C.; KAISER, C. R.; MIRANDA, A. F.; ECHEVARRIA, A. Estudo fitoquímico de folhas de

Croton cajucara Benth e determinação da suapropriedade antioxidante. **Revista Fitos**. Vol.4, p. 45-51, 2009.

MAHOMOODALLY, M.F.; ZENGİN, G.; ZHELEVA-DIMITROVA, D.; MOLLIĆA, A.; STEFANUCCI, A.; SINAN, K.I. Metabolomics profiling, bio-pharmaceutical properties of *Hypericum lanuginosum* extracts by in vitro and in silico approaches. **Industrial Crops and Products**. Vol. 133, p. 373-382, 2019.

MARÍN-MARTINEZ, R.; VELOZ-GARCÍA, R.; GUZMÁN-MALDONADO, S.H.; LOARCA-PINA, G.; CARDADOR-MARTINEZ, A.; GUEVARA-OLVERA, L.; MIRANDA-LÓPEZ, R.; TORRES-PACHECO, I.; PÉREZ, C.P.; HERRERA-HERNÁNDEZ, G.; VILLASEÑOR-ORTEGA, F.; GONZÁLEZ-CHAVIRA, M.; GUEVARA-GONZALEZ, R.G. Antimutagenic and antioxidant activities of quebracho phenolics (*Schinopsis balansae*) recovered from tannery wastewaters. **Bioresource Technology**. Vol. 100, p. 434-439, 2009.

MARCHIORI, J.N.C. **Elementos de Dendrologia**. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, p. 163, 1995.

MARTINS, F.J.; CANESCHI, C.A.; VIEIRA, J.L.F.; BARBOSA, W.; RAPOSO, N.R.B. Antioxidant Activity And Potential Photoprotective From Amazon Native Flora Extracts. **Photochemistry and Photobiology**. Vol. 161; p. 34-39, 2016.

MEDEIROS, F.A.; MEDEIROS, A.A.N. Licanol, um novo flavanol, e outros constituintes de *licania macrophylla* Benth. **Química Nova**. Vol. 35 (6), p. 1179-1183, 2012.

MELO, E.L.; RAMOS, R.S.; ALMEIDA, S.S.M.S. Phytochemical Study, Chemicalphysical Analysis and Toxicological Testing of Stem Bark of *Dalbergia monetaria* L. f. British. **Journal of Pharmaceutical Research**, Vol. 12, p. 1-7. 2016.

MENDES, C.E.; CASARIN, F.; OHLAND, A.L. Efeitos das condições ambientais sobre o teor e variabilidade dos óleos voláteis de *Dalbergia frutescens* (vell.) Britton (Fabaceae). **Química Nova**. Vol. 35 (9), p. 1787-1793, 2012.

MENDES, C.E.; FLACH, A.; DA COSTA, L.A.M.A.; DENARDIN, R.B.N.; MOURA, N.F.DE. Chemical Composition and Multivariate Analysis of the Volatile Oil of *Dalbergia frutescens*(Vell.) Britton (Fabaceae). **Journal Brazilian Chemistry Society**. Vol. 25 (8), p. 1326-1330, 2014.

MERINO, F.J.Z.; OLIVEIRA, V.B.; PAULA, C.S.; CANSIAN, F.C.; SOUZA, A.M.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B.C.K.; DUARTE, A.F.S.; KULIK, J.D.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Vol. 17 (4), p. 1031-1040, 2015.

MOLYNEUX, P.; SONGKLANAKARIN J. **ScienceTechnol**.26, 211, 2004.

NASCIMENTO, A.M.; FERREIRA, D.M.; SOUZA, E.F.J.; SOUZA, L.M.; SASSAKI, G.L.; IACOMINI, M.; WERNER, M.F.P.; CIPRIANIT.R. Gastroprotective effect and chemical characterization of a polysaccharide fraction from leaves of *Croton cajucara* Benth. **International Journal of Biological Macromolecules**. Vol. 1 (2), p. 1-30, 2016.

NASCIMENTO, A.M.; FERREIRA, D.M.; LIN, F.T.D.; KIMURA, A.; SANTANA-FILHO, A.P.; WERNER, M.F.P.; IACOMINI, M.; SASSAKI, G.L.; CIPRIANI, T.R.; SOUZA, L.M. Phytochemical analysis and anti-inflammatory evaluation of compounds from an aqueous

- extract of *Croton cajucara* Benth. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. Vol. 2 (3), p. 1-27, 2017.
- MORAIS, L.V.F. **Atividade antimicrobiana e antioxidante de *Licania rigida* e *Turnera ulmifolia*. Dissertação (Mestrado)**. 64 f. Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas. Universidade Federal do rio Grande do Norte. Natal, 2015.
- NASCIMENTO, A.M.; FERREIRA, D.M.; LIN, F.T.D.; KIMURA, A.; SANTANA-FILHO, A.P.; WERNEC, M.F.P.; IACOMINIA, M.; SASSAKIA, G.L.; CIPRIANIA, T.R.; SOUZA, L.M. Phytochemical analysis and anti-inflammatory evaluation of compounds from an aqueous extract of *Croton cajucara* Benth. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. Vol. 145, p. 821-830, 2017.
- NEHA, K.; HAIDER, R.; PATHAK, A.; YAR, S. Medicinal prospects of antioxidants: A review. **European Journal of Medicinal chemistry**. Vol. 178, p. 687-704, 2019.
- NETO, R.M.; MONTEIRO, H.F.C.; PEREIRA, T.P.N.; PARACAMPO, N.E.N.P. **PERFIL FITOQUÍMICO DOS EXTRATOS DE CASCAS DO CAULE E FOLHAS DE SACACA COMUM (*Croton spp*)**. 14º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA. 2010.
- NETO, F.C.; PILON, A.C.; BOLZANI, V.S.B.; GAMBOA, I.C. Chrysobalanaceae: secondary metabolites, ethnopharmacology and pharmacological potential. **Phytochemistry Reviews**. Vol. 12, p. 121-146, 2013.
- NIJVELDT, R.J.; NOOD, E.V.; HOORN, D.E.C.V.; BOELEN, P.G.; NORREN, K.V.; LEEUWEN, P.A.M.V. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Am J Clin Nutr**. Vol. 74, p. 415-25, 2001.
- NUNES, D.S.; HAAG, A.; BESTMANN, H.J. Two proanthocyanidins from the bark of *Dalbergia monetaria*. **Phytochemistry**. Vol. 28, p. 2183-2186, 1989.
- OLIVEIRA, D.S. et al. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum**. Vol.33 (1), p. 89-98, 2011.
- OLIVEIRA, G.L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Vol. 17 (1), p. 33-44, 2015.
- OYAIZU, M. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activity of products of browning reaction. **Journal Nutrition**. Vol. 44, p. 307-315, 1986.
- PESSOA, I.P.; NETO, J.J.L.; ALMEIDA, T.S.; FARIAS, D.F.; VIEIRA, L.R.; MEDEIROS, J.L.; BOLIGON, A.A.; PEIJNENBURG, A.; CASTELAR, I.; CARVALHO, A.F.U. Polyphenol composition, antioxidant activity and cytotoxicity of seeds from two underexploited wild *Licania* Species: *L. rigida* and *L. tomentosa*. **Molecules**. Vol. 21, p. 1-16, 2016.
- PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. Vol. 3 (4), p. 146-152, 2012.
- PETERS, V.M.; GUERRA, M.O. Effects of *Dalbergia subcymosa* Ducke decoction on rats and their offspring during pregnancy. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 46, p. 161-165, 1995.

- PIO, I.D.S.L.; LAVOR, A.L.; DAMASCENO, C.M.D.; MENEZES, P.M.N.; SILVA, F.S.; MAIA, G.L.A. Traditional knowledge and uses of medicinal plants by the inhabitants of the islands of the São Francisco river, Brazil and preliminary analysis of *Rhaphiodon echinus* (Lamiaceae). **Brazilian Journal of Biology**. Vol. 79 (1), p. 87-99, 2019.
- PORT'S, P.S.; CHISTÉ, R.C.; GODOY, H.T.; PRADO, M.A. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. **Food Research International**. Vol. 1, p. 1-7, 2013.
- PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M.; Spectrophotometric quantitation of antioxidante capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**. Vol. 269, p. 337-341, 1999.
- PRANCE, G.T. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Chrysobalanaceae. **Rodriguésia**. Vol.8 (3), p. 493-531, 2007.
- PROMDEN, W.; MONTHAKANTIRAT, O.; UMEHARA, K.; NOGUCHI, H.; DE-EKNAMKUL, W. Structure and Antioxidant Activity Relationships of Isoflavonoids from *Dalbergia parviflora*. **Molecules**. Vol. 19, p. 2226-2237, 2014.
- RAMESH, P.; YUVARAJAN, C.R. Coromandelin, a new isoflavoneapioglucoside from the leaves of *Dalbergia coromandeliana*. **Journal of Natural Products**. Vol.58, p. 1240-1241, 1995.
- RAMOS, R.S.; RODRIGUES, A.B.L.; ALMEIDA, S.S.M.S. Preliminary study of the extract of the barks of *Licania macrophylla* Benth: phytochemicals and toxicological aspects. **Biota Amazônica**. Vol. 4, p. 94-99, 2014.
- RAVEN, P.H.; EICHHORN, S.E.; EVERT, R.F. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro/ Rio de Janeiro. Ed. 8º. Guanabara Koogan, p. 122-150, 2014.
- RIBEIRO, S.M.; BONILA, O.H.; LUCENA, E.M.P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. **Iheringia, Série Botânica**. Vol. 22, p. 31-38, 2018.
- RODRIGUES, R. M.; Belém: **CEJUP**.33, 1989.
- RODRIGUES, G.R.; NASO, F.C.D.; PORAWSKI, M.; MARCOLIN, E.; KRETZMANN, N.A.; FERRAZ, A.B.F.; RICHTER, M.F.; MARRONI, C.A.; MARRONI, N.P. Treatment with aqueous extract from *Croton cajucara* Benth reduces hepatic oxidative stress in streptozotocin-diabetic rats. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. Vol. 2, p. 1-7, 2012.
- RODRIGUES, J.A.R.; ARAUJO, M.C. **OS CORANTES NATURAIS E SEU USO EM PRODUTOS DE MODA DE ORIGEM TÊXTIL**. 2º Congresso Científico Textil e de Moda, 22-24 de maio, São Paulo, 2014.
- ROMERO, C. A.; MARCOS, M.P.; SANTIAGO, A.L. Del envejecimiento al deterioro funcional. **Formación Médica Continuada**. Vol.12 (7), p. 434-444, 2005.
- ROSSING, D.; KAHL, R.; HILDEBRANDT, A. G. Effect of synthetic antioxidants on hydrogen peroxide formation, oxyferro cytochrome P450 concentration and oxygen consumption in liver microsomes. **Toxicology**. Vol.34 (1), p. 67-77, 1985.

- ROSSO, V.V. Bioactivities of brazilian fruits and the antioxidant potential of tropical biomes. **Food and Public Health**. Vol. 3 (1), p.37-51, 2013.
- ROY, N.; LASKAR, R.A.; SK, I.; KUMARI, D.; GHOSH, T.; BEGUM, N.A. A detailed study on the antioxidant activity of the stem bark of *Dalbergia sissoo* Roxb., an Indian medicinal plant. **Food Chemistry**. Vol. 126, p. 1115-1121, 2011.
- RUIZ-TERÁN, F.; MEDRANO-MARTINEZ, A.; NAVARRO-OCAÑA, A. Antioxidant and free radical scavenging activities of plant extracts used in traditional medicine in Mexico. **African Journal of Biotechnology**. Vol. 7 (12), p. 1886-1893, 2008.
- SAHA, S.; SHILPI, J.A.; MONDAL, H.; HOSSAIN, F.; ANISUZZMAN, M.D.; HASAN, M.D.; CORDELL, G.A. Ethnomedicinal, phytochemical, and pharmacological profile of the genus *Dalbergia* L. (Fabaceae). **Phytopharmacology**. Vol. 4(2), p. 291-346, 2013.
- SALMON, A. B.; RICHARDSON, A.; PÉREZ, V.I. Update on the oxidative stress theory of aging: Does oxidative stress play a role in aging or healthy aging? **Free Radical Biology & Medicine**. Vol. 48 (5), p. 642–655, 2010.
- SANTOS, D. S.; RODRIGUES, M. M. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**. Vol. 7 (3), p. 29-35, 2017.
- SARAEI, R.; MAROFI, F.; NAIMI, A.; TALEBI, M.; GHAEBI, M.; JAVAN, N.; SALIMI, O.; HASSANZADEH, A. Leukemia therapy by flavonoids: Future and involved mechanisms. **Journal Cellular Physiology**. Vol. 1, p. 1-18, 2018.
- SASTRE, J.; PALLARDO, F.V.; VINA, J. The role of mitochondrial oxidative stress in aging. **Free Radical Biology & Medicine**. Vol. 35 (1), p. 1–8, 2003.
- SHANLEY, P.; ROSA, N.A. Conhecimento em erosão: um inventário etnobotânico na fronteira de exploração da Amazônia Oriental. Bol Mus Para Emílio Goeldi, sér. **Ciências Naturais**. Vol. 1, p. 147-171, 2005.
- SIATKA, T.; KASPAROVÁ, M. Seasonal variation in total phenolic and flavonoid contents and DPPH scavenging activity of *Bellis perennis* L. flowers. **Molecules**. Vol. 15 (12), p. 9450–9461, 2010.
- SILVA, E.M.; SOUZA, J.N.S.; ROGEZ, H.; REES, J.F.; LARONDELLE, Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. **Food Chemistry**. Vol. 101, p. 1012-1018, 2007.
- SILVA, M.M.C.; RODRIGUES, S.F.S.; CASTRO, E.M.; PANTOJA, S.S.; LEITÃO, R.L.; MENDES, A.S. **Determinação de ferro solúvel em extrato aquoso da espécie *Dalbergia subcymosa* (verônica) por espectrofotometria na região do visível**. 47th Brazilian Congress of Chemistry, 2007.
- SILVA, J.B.N.F.; MENEZES, I.R.A.; COUTINHO, H.D.M.; RODRIGUES, F.F.G.; COSTA, J.G.M.; FELIPE, C.F.B. Antibacterial and antioxidant activities of *Licania tomentosa* (Benth.) fritsch (Crhysobalanaceae). **Archives of Biological Sciences**. Vol. 64(2), p. 459-464, 2012.
- SILVA, L.R.; MARTINS, L.V.; CALOU, I.B.F.; DEUS, M.S.M.; FERREIRA, P.M.P.; PERON, A.P. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta Toxicológica Argentina**. Vol. 23 (1), p. 36-43. 2015.

SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN JR. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1986.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. **Farmacognosia. Da planta ao medicamento**. Porto Alegre/ Florianópolis. Ed.6 UFRGS/UFSC, p. 387-415, 2010.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymology**. Vol. 299, 152–178, 1999.

SOARES, M.C.P. Would *Sacaca*, *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae) be an hepatotoxic plant like Germander, *Teucrium chamaedrys* L. (Labiatae)? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Vol.37, p. 96-97, 2004.

SOLSA, C. M. M.; et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**. Vol. 30 (2), p. 351-355, 2007.

SOUZA, C.R.F.; GEORGETTI, S.R.; SALVADOR, M.J.; FONSECA, M.J.V.F.; OLIVEIRA, W.P.O. Antioxidant activity and physical-chemical properties of spray and spouted bed dried extracts of *Bauhinia forficata*. **Brazilian Journal Pharmaceutical Science**. Vol. 45(2), p. 378-383, 2009.

STANDARD METHODS. **Phenanthroline Method**; 1995.

STANKOVIĆ, M.S.; ĆURČIĆ, M.G.; ŽIŽIĆ, J.B.; TOPUZOVIĆ, M.D.; SOLUJIĆ, S.R.; MARKOVIĆ, S.D. *Teucrium* plant species as natural sources of novel anticancer compounds: antiproliferative, proapoptotic and antioxidant properties. **Journal Molecular Scientia**. Vol. 12, p. 4190–4205, 2011.

TABASSUM, N.; HAMDANI, M. Plants used to treat skin diseases. **Pharmacognosy Reviews**. Vol.8 (15), p.52-60, 2014.

TELESZKO, M.; WOJDYLO, A. Comparison of phenolic compounds and antioxidant potential between selected edible fruits and their leaves. **Journal of functional foods**. Vol. 5, 1756-4646, 2015.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D.H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food composition and analysis**. Vol.19, p. 669-675, 2006.

TIEPPO, M.; PORAWSKI, M.; SALVADOR, M.; MOREIRA, A.J.; COLLADO, P.S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; MARRONI, N.P. *Croton cajucara* BENTH. Leaf Extract Scavenges the Stable Free Radical. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. Vol. 29 (1), p. 161-165, 2006.

UMEHARA, K.; NEMOTO, K.; MATSUSHITA, A.; TERADA E, MONTHAKANTIRAT, O.; DE-EKNAMKUL W.; MIYASE T.; WARASHINA T.; DEGAWA, M.; NOGUCHI, H. Flavonoids from the heartwood of the Thai medicinal plant *Dalbergia parviflora* and their effects on estrogenic-responsive human breast cancer cells. **Journal of Natural Products**. Vol.72, p. 2163-2168; 2009.

VALE, J.P.C. **POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE PLANTAS DA CAATINGA: ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIOXIDANTE DE CONSTITUINTES FIXOS E VOLÁTEIS DE *Vitex gardnerianae* Croton piauhiensis**. 139 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará. DEPARTAMENTO DE MEDICINA E PATOLOGIA LEGAL REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA. Fortaleza. 2015.

VAN DEN BERG, M.E. Plantas Medicinais na Amazônia: Contribuição ao seu conhecimento sistemático. **Belém: Falangola**, p.159, 1982.

VARGAS, A.G. **INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E NAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DAS FOLHAS DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller)**. 80 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de pós-graduação em em tecnologia de processos químicos e bioquímicos. Pato branco. 2017.

VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**. Vol.28, p.519-528, 2005.

WINK, M. Evolutionary advantage and molecular modes of action of multicomponent mixtures used in phytomedicine. **Current drug metabolism**. Vol. 9 (10), p. 996–1009, 2008.

WOISKY, R.G.; SALANTINO, A. Analysis os propolis: some parameters ond prodecure for chemical fuality control. **Journal Apic. Res**. Vol. 37(2), 99-105,1998.

YAO, X.H.; ZHANG, Z.B.; SONG, P.; HAO, J.Y.; ZHANG, D.Y.; ZHANG, Y.F. Different harvest seasons modify bioactive compounds and antioxidant activities of *Pyrolaincarnata*. **Industrial Crops and Products**. Vol. 9 (4), p. 405-412, 2016.

YARIWAKE, J.H.; LANÇAS, F. M.; CAPPELARO, E. A.; VASCONCELOS, E.C. de; TIBERTI, L.A.; PEREIRA, A.M.S.; FRANCA, S. de C. Variabilidade sazonal de constituintes químicos (triterpenos, flavonóides e polifenóis) das folhas de *Maytenus aquifolium* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Vol. 15 (2), p. 162-168, 2005.

YEMITAN, O.K.; ADEYEMI, O.O. Mechanistic assessment of the analgesic, anti-inflammatory and antipyretic actions of *Dalbergia saxatilis* in animal models. **Pharmaceutical Biology**. Vol. 55 (1), p. 898–905, 2017.

Anexo 1 – Artigo submetido no Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences



Evaluation of the seasonal and pluviometric effects on the phenolic compounds composition and antioxidant potential of *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae): a medicinal plant from the Amazon rainforest

Journal:	<i>Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Araujo, Ramon Diego; Universidade Federal do Amapa, Post graduation Program in Pharmaceutical Sciences Costa, Anderson; Universidade Federal do Amapa, Post graduation Program in Pharmaceutical Sciences; Universidade Federal do Amapa, Laboratory of Toxicology and Pharmaceutical Chemistry da Silva, Luis Mauricio; Instituto de pesquisas científicas e tecnológicas do Amapá - IEPA Barbosa, Jardel; Universidade do Estado do Amapá, Colegiado de engenharia química da Silva, Gabriel; Universidade do Estado do Amapá, Colegiado de química
Keyword:	Anaerá, Antioxidant activity, Extracts, Rain, Seasonality

SCHOLARONE™
Manuscripts