

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

FACULDADE DE FARMÁCIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MARCELLE PINTO MOURA

**QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DO
POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Dalbergia
monetaria* L (Fabaceae)**

JUIZ DE FORA

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

FACULDADE DE FARMÁCIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MARCELLE PINTO MOURA

**Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao corpo docente da Faculdade
de Farmácia da Universidade Federal de
Juiz de Fora para a obtenção do título de
Farmacêutica.**

**Orientador: Prof. Dr. Guilherme Diniz
Tavares**

JUIZ DE FORA

2016

MARCELLE PINTO MOURA

**QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DO
POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Dalbergia
monetaria* L (Fabaceae)**

**Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao corpo docente da
Faculdade de Farmácia da
Universidade Federal de Juiz de Fora
para a obtenção do título de
Farmacêutica.**

**Orientador: Prof. Dr. Guilherme Diniz
Tavares**

Aprovada em ____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Guilherme Diniz Tavares (Orientador)

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Hudson Caetano Polonini

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora - SUPREMA

Dra. Magda Narciso Leite

Universidade Federal de Juiz de Fora

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus pela proteção e amparo nos momentos difíceis e à Santa Rita de Cássia, minha intercessora. Obrigada Meu Deus, por ser meu ombro amigo e por estar comigo todo o tempo.

Ao Prof. Dr. Guilherme Diniz Tavares por toda orientação, disponibilidade, atenção diante dos contratemplos que porventura vieram a acontecer.

Ao Prof. Dr. Hudson Caetano Polonini pela imensa disposição em me ajudar, com uma boa vontade imparcial, sanando minhas dúvidas.

À Prof^a. Dra. Magda Narciso Leite pela imensa disposição em me ajudar durante os experimentos.

À Prof^a. Dra. Paula Rocha Chellini pela imensa disposição, atenção e ajuda.

À Prof^a. Dra. Fabíola Dutra Rocha pela imensa disposição, atenção e ajuda.

Ao Ms. Davi Campos La Gatta pelo ombro amigo, atenção, imensa disposição em me ajudar.

Aos queridos da Farmácia Universitária por todo apoio, amizade e exemplo de profissionais que amam a profissão.

Aos meus pais, por me incentivarem todos os dias e fortalecerem minhas decisões. Se hoje estou aqui, é porque vocês me conduziram por esse caminho e me ofertaram muito mais do que podiam. Sem vocês de nada valeria essa conquista.

Aos meus irmãos, pelo amor, carinho e paciência. Sempre com palavras de ânimo e incentivo.

À Karina, pelo companheirismo durante os cinco anos de Faculdade, por sempre me apoiar, me consolar, se alegrar com minhas vitórias e dividir comigo a tristeza das derrotas. A irmã que a vida me deu.

À Sarah, por ser uma amiga exemplar, sendo suporte em vários momentos.

Aos meus sobrinhos, que são presentes de Deus para a minha vida. Se hoje estou celebrando mais essa conquista, é porque vocês me inspiram, me fazem ser uma pessoa melhor todos os dias.

À minha avó, por sempre me colocar em suas orações e por me incentivar a nunca desistir.

Aos meus tios, tias, primos e primas por sempre estarem ao meu lado.

Ao meu padrinho Rogério, por todas as orações e apoio incondicional.

Às minhas amigas de Faculdade: Karine, Carolina, Samara, Daise, Thaís, Camila, Patrícia, Marina, Hariane, Rafaela, Paula agradeço pela amizade. Vocês fizeram com que essa caminhada se tornasse mais leve.

Às minhas amigas de Capivari: Aline, Tamires e Natália por sempre me incentivarem, entenderem minha ausência e estarem ao meu lado durante todo esse tempo.

“Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou teu Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a destra da minha justiça. Porque eu, o Senhor teu Deus, te tomo pela tua mão direita e te digo: Não temas, eu te ajudo.” (Isaías 41, 10.13)

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

MOURA, MARCELLE PINTO.
QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DE *Dalbergia monetaria* L (Fabaceae) /
MARCELLE PINTO MOURA. -- 2016.
50 f. : il.

Orientador: GUILHERME DINIZ TAVARES
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade
Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, 2016.

1. *Dalbergia*. 2. *Dalbergia monetaria* L.. 3. Atividade antioxidante.
4. Compostos fenólicos. 5. Flavonóides. I. TAVARES, GUILHERME
DINIZ, orient. II. Título.

RESUMO

Dalbergia monetaria L é um arbusto trepador popularmente encontrado em dois tipos da planta, a “Verônica Branca” e “Verônica Vermelha”. A Verônica é utilizada, na medicina popular, para recuperação de convalescentes, anêmicos e indivíduos enfraquecidos devido a doenças pulmonares, por aumentar o apetite, redução do nível de colesterol, dentre outras aplicações. Estudos fitoquímicos do gênero *Dalbergia* demonstram a presença de compostos químicos de estimado valor farmacológicos, dentre eles os flavonóides e as proantocianidinas. Aos tais compostos atribuem-se diversas atividades, destacando a atividade antioxidante, que é o poder de seqüestrar radicais livres e inibir sua formação. Devido à importância dessa planta e a necessidade de ampliar os estudos acerca dos seus constituintes e efeitos, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial antioxidante do extrato hidroalcoólico da *Dalbergia monetaria* L. Além disso, realizamos uma prospecção fitoquímica a fim de descobrir quais os seus constituintes e quantificar, polifenóis e flavonóides, que são os compostos majoritários. De acordo com os experimentos realizados, temos como resultado da prospecção fitoquímica a presença de flavonóides, taninos e proantocianidinas no extrato. Na quantificação de compostos fenólicos encontramos 713.2 mg EAG/ g EXTRATO SECO e para flavonóides, 262.5 mg ER/g EXTRATO SECO. Na avaliação do potencial antioxidante, temos a IC₅₀=10 µg ml⁻¹, sendo, portanto classificada como ótima (IC₅₀ < 15 µg ml⁻¹). Ao quantificarmos tais compostos obtivemos valores considerados satisfatórios e que suportam a elevada atividade antioxidante *in vitro*. Portanto, podemos sugerir que o extrato hidroalcoólico *Dalbergia monetaria* L. pode ser usado em cosméticos, auxiliando a retardar o envelhecimento da pele.

Palavras chave: *Dalbergia*; *Dalbergia monetaria* L.; atividade antioxidante; compostos fenólicos; polifenóis; flavonóides.

ABSTRACT

Dalbergia monetaria L is a climbing shrub popularly found in two kinds of plant, namely "White Veronica" and "Red Veronica". Veronica plant is used, in popular medicine to recover sick people from illness, anemic individuals and pulmonary disease patients because of its ability to improve appetite, reduce the cholesterol blood levels, among other properties. Phytochemical studies of the *Dalbergia* genus demonstrated the presence of chemical compounds of high pharmacological value, like the flavonoids and proanthocyanidins. Such compounds exhibit, among other effects, an antioxidant activity, being able to scavenge and inhibit the production of free radicals. Due to the degree of importance of such plant and the necessity to expand the studies about its constituents and effects, the aim of the present work was to evaluate the antioxidant potential of the hidroalcoholic extract of *Dalbergia monetaria* L. In addition we performed a phytochemical prospection in order to discover which its constituents are and quantified polyphenols and flavonoids, which are the major compounds. According to the experiments we found flavonoids, tannins and proanthocyanidins in the extract. In the phenolic compounds quantification we found 713.2 mg EAG/ g dry extract and 262.5 mg EAG/ g dry extract of flavonoids. In the antioxidant potential assays the IC₅₀ value was 10 µg ml⁻¹, being classified as optimal (IC₅₀ < 15 µg ml⁻¹). In the quantification of such compounds we obtained satisfactory values that support the high level of antioxidant activity *in vitro*. Therefore we suggest that the hidroalcoholic extract of *Dalbergia monetaria* L. may be used in cosmetic preparations, helping to retard the skin aging.

Keywords: *Dalbergia*; *Dalbergia monetaria* L.; antioxidant activity; phenolic compounds; polyphenols; flavonoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Caule de <i>Dalbergia monetaria</i> L.	15
Figura 2 – Estrutura química básica dos flavonóides	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Diluição da solução inicial	35
Tabela 2: Valores para diluição	36
Tabela 3: Prospecção fitoquímica	38
Tabela 4: Porcentagem de inibição do efeito oxidante do DPPH para cada concentração	41

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 GÊNERO <i>Dalbergia</i>	15
2.2 ENVELHECIMENTO CUTÂNEO	17
2.2.1 Ativos cosméticos antienvelhecimento	18
2.2.2 Ativos antioxidantes	19
2.2.3 Radicais livres e a peroxidação dos ácidos graxos	21
2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS	22
3 OBJETIVOS	24
3.1 GERAL	24
3.2 ESPECÍFICOS	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 MATÉRIAS PRIMAS, SOLVENTES E REAGENTES	25
4.2 EQUIPAMENTOS	27
4.3 COLETA DO MATERIAL VEGETAL	27
4.4 PREPARAÇÃO DO EXTRATO	28
4.5 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA	28
4.6 QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS	32
4.7 QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES	33
4.8 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	34
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
5 RESULTADOS	37
5.1 ANÁLISE DA PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA	37
5.2 ANÁLISE DA QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS	38
5.3 ANÁLISE DA QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES	40
5.4 ANÁLISE DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	40
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	43

1 INTRODUÇÃO

A *Dalbergia monetaria* L é um arbusto trepador, que possui folhas compostas de 3-5 folíolos ovais, acuminados, concolores. Popularmente, são conhecidos dois tipos da planta, a “Verônica Branca” e “Verônica Vermelha”, embora não tenha sido encontradas diferenças botânicas entre elas. A preferência pela Vermelha para uso medicinal se dá pela sua coloração evidente da casca, vermelho escura, quando separada do caule. A Verônica é utilizada, na medicina popular, para recuperação de convalescentes, anêmicos e indivíduos enfraquecidos devido a doenças pulmonares, por aumentar o apetite, redução do nível de colesterol, dentre outras aplicações. Os taninos condensados presentes no extrato são, em parte, responsáveis por sua ação antiulcerogênica (COTA, 1999). Estudos fitoquímicos de tal gênero demonstram a presença de compostos químicos de estimado valor farmacológicos, sendo eles os flavonóides, as proantocianidinas, xantonóides, neoflavonóides, cinamoilfenóis, benzofenonas e rotenóides. Aos tais compostos atribuem-se diversas atividades, destacando a atividade antioxidante, que é o poder de seqüestrar radicais livres e inibir sua formação (DALARMI, 2012).

O envelhecimento cutâneo pode ser definido como um conjunto de alterações inevitáveis e irreversíveis diante de uma perda progressiva da capacidade de adaptação do organismo. O envelhecimento pode ser acentuado por fatores controláveis como fumo, exposição à luz solar, bebidas alcoólicas, poluentes e má alimentação (SANTOS *et al*, 2014). A degeneração senil se dá sobre regiões mais expostas às intempéries como face, pescoço, dorso das mãos e antebraços. (CAMPOS *et al.*, 2015).

Estima-se que 80% das causas do envelhecimento correspondem ao efeito da radiação ultravioleta (RUV) e à formação de radicais livres (RLs) devido à exposição do organismo à radiação solar. A aplicação tópica de substâncias antioxidantes reduz os danos causados, contudo, essa proteção será realmente eficaz se essas substâncias penetrarem nas camadas mais profundas da pele (SCOTTI *et al.*, 2007).

Antioxidantes são definidos como substâncias que, quando presentes em baixas concentrações comparadas com o substrato oxidável, retardam ou inibem a oxidação do mesmo. São os agentes encarregados de inibir e reduzir as lesões

causadas pelos RLs nas células. O organismo possui uma série de mecanismos para controlar a peroxidação e inativar ou eliminar os RLs, impedindo a transformação destes em compostos mais tóxicos para as células (SANTOS *et al.*, 2014). Os extratos vegetais são ricos em substâncias antioxidantes, que contribuem para a evolução das espécies, utilizando-os como proteção natural dos RLs advindos da ação da RUV, que é imprescindível para a fotossíntese. Dentre essas substâncias, podemos citar os polifenóis, os flavonóides, os organosulfídeos e os indóis. O maior grupo é o dos compostos fenólicos (SCOTTI *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos são quimicamente definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo grupos funcionais. Por possuírem estruturas variáveis, devido às diversas combinações que ocorrem na natureza, são chamados de polifenóis (ANGELO *et al.*, 2007). Os compostos fenólicos são antioxidantes não somente por serem doadores de hidrogênio ou elétrons, mas por seus radicais intermediários serem estáveis, impedindo assim a oxidação de outras moléculas (SOARES *et al.*, 2008).

As plantas que constituem o gênero *Dalbergia* contêm compostos com uma variedade muito grande de efeitos biológicos. Entretanto, existem poucos dados na literatura sobre o potencial dos efeitos de extratos da espécie *Dalbergia monetaria* L. visando aplicação cosmética. Este é um estudo preliminar com vistas à preparação de formulações cosméticas antienvhecimento utilizando o extrato supracitado. Neste estudo foi realizada triagem fitoquímica para avaliação qualitativa da composição do extrato e ainda, quantificações dos compostos majoritários e avaliação do potencial antioxidante.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 GÊNERO *Dalbergia*

Proposto pelo filho de Linnaeus em 1781, o gênero *Dalbergia*, família Fabaceae, foi descrito para acomodar duas espécies: *D. lanceolaria*, originária de Ceilão e *D. monetaria*, originária do Suriname. Existem cerca de 100 espécies no gênero *Dalbergia*, e no Brasil, encontram-se 40 destas. No estado da Bahia, o gênero é representado por 10 espécies, entre elas *D. nigra*, *D. decipulares*, *D. miscolobium*, *D. cearencis*, *D. acuta*, *D. foliolosa*, *D. glaucescens*, *D. catingicola*, *D. frutescens* e *D. ecastaphyllum* (ROCHA, 2004). Estas estão distribuídas em praticamente todos os ecossistemas, com destaque para as vegetações de Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Campo Rupestre. Recentemente, o gênero vem se destacando pelas variadas atividades biologicamente comprovadas, as quais incluem atividade anti-inflamatória, antirreumática, antioxidante e antibacteriana (MENDES, *et al.*, 2012). Muitas espécies do gênero *Dalbergia* são árvores de madeira valorizada, utilizadas em decoração e ricas em óleos aromáticos (DALARMI, 2012).

Figura 1 – Caule de *Dalbergia monetaria* L. (SOUZA BRITO *et al.*, 1997).



A *Dalbergia monetaria* L (**Figura 1**) é um arbusto trepador, que possui folhas compostas de 3-5 folíolos ovais, acuminados, concolores. Popularmente, encontra-se dois tipos da planta, a “Verônica Branca” e “Verônica Vermelha”, embora não tenham sido observadas diferenças botânicas entre elas. A preferência pela Vermelha para uso medicinal se dá pela sua coloração evidente da casca, vermelho escuro, quando separada do caule. A Verônica é utilizada, na medicina popular, para recuperação de convalescentes, anêmicos e indivíduos enfraquecidos devido a doenças pulmonares, por aumentar o apetite, redução do nível de colesterol, dentre outras aplicações. Os taninos condensados presentes no extrato são, em parte, responsáveis pela ação antiulcerogênica (COTA, 1999). Estudos fitoquímicos do gênero *Dalbergia* demonstram a presença de compostos químicos de estimado valor farmacológico, sendo eles os flavonóides, as proantocianidinas, xantonóides, neoflavonóides, cinamoilfenóis, benzofenonas e rotenóides. Aos tais compostos atribuem-se diversas atividades, destacando a atividade antioxidante, que é o poder de seqüestrar radicais livres e inibir sua formação (DALARMI, 2012).

Quatro modelos de úlceras gástricas em ratos foram estudados frente à atividade antiulcerogênica do extrato aquoso liofilizado de *Dalbergia monetaria* L. O extrato mostrou-se mais eficiente contra as lesões induzidas pelo estresse e menos eficaz contra os danos da mucosa gástrica induzida por indometacina. Já é sabido que as proantocianidinas são compostos fenólicos presentes nessa espécie e que inibem a enzima histidina descarboxilase. De acordo com os estudos, o mecanismo envolvido na diminuição das ulcerações na mucosa gástrica pelo extrato pode estar relacionado diretamente com a propriedade de inibição da produção de histamina. A histamina ativa receptores H₂ nas células parietais do estômago, aumentando a liberação de ácido. A inibição enzimática inibe a produção de histamina e talvez por isso ocorra uma redução da acidez estomacal (DALARMI *et al*, 2015).

As plantas que constituem o gênero *Dalbergia* contêm compostos com uma variedade muito grande de efeitos biológicos. Entretanto, existem poucos dados na literatura sobre o potencial dos efeitos de extratos da espécie *Dalbergia monetaria* L. visando aplicação cosmética. Este é um estudo preliminar com vistas à preparação de formulações cosméticas antienvelhecimento utilizando o extrato supracitado em estudos futuros.

2.2 ENVELHECIMENTO CUTÂNEO

O envelhecimento tem sido uma preocupação constante nos diversos campos científicos, visando seu maior entendimento e, com isso, sua prevenção (GONÇALVES *et al.*, 2006). Pode ser definido como um conjunto de alterações inevitáveis e irreversíveis diante de uma perda progressiva da capacidade de adaptação do organismo. O envelhecimento pode ser acentuado por fatores controláveis como fumo, luz solar, bebidas alcoólicas, poluentes e má alimentação. À proporção que os indivíduos envelhecem, há perda da elasticidade, colágeno e hidratação, tornando a pele seca, visto que a capacidade das glândulas sudoríparas e sebáceas diminui. Assim, a derme se modifica, facilitando o surgimento das rugas (SANTOS *et al.*, 2014). A degeneração senil se dá sobre regiões mais expostas às intempéries como face, pescoço, dorso das mãos e antebraços. Outro fator importante que auxilia no envelhecimento é o uso exagerado de alguns grupos musculares da face de forma errada, provocando um excesso de expressão facial (CAMPOS *et al.*, 2015).

O envelhecimento cutâneo se dá por uma união de fatores, sendo subdividido em intrínseco ou cronológico e extrínseco (GONÇALVES *et al.*, 2006). O envelhecimento intrínseco é um processo natural, definido pela diminuição das funções vitais do organismo, da renovação celular, respostas imunes ineficazes e outros comprometimentos do funcionamento do corpo. Ao longo dessas alterações em toda organização celular, o corpo torna-se vulnerável, comprometendo a transcrição genética de proteínas, enzimas, moléculas de DNA, que ficam ineficientes em suas funções. É um envelhecimento normal, previsível e inevitável, tendo como causa base a idade e evidenciado por ser lento, gradual e suave (SANTOS *et al.*, 2014).

O envelhecimento extrínseco se dá pela intensificação do envelhecimento cronológico (GONÇALVES *et al.*, 2006). Ele é evidenciado por agressões externas ao organismo, como exposição aos raios UV, que intensificam a formação de radicais livres (RLs) e outros fatores como poluição, fumo, álcool, sendo a incidência de câncer de pele a maior preocupação. É mais lesivo e agressivo que o envelhecimento intrínseco (SANTOS *et al.*, 2014).

Segundo a Sociedade Brasileira de Cirurgia Dermatológica, o indivíduo que

leva uma vida saudável, que controla o estresse, pratica atividades físicas e tem uma alimentação rica em constituintes antioxidantes contribui de forma significativa para a prevenção da exposição aos raios UV (fotoenvelhecimento) (SANTOS *et al.*, 2014).

2.2.1 Ativos cosméticos antienvelhecimento

É estimado que 80% dos sinais causados no envelhecimento são provocados pela exposição do organismo à radiação ultravioleta (RUV) e pelos RLs. A aplicação tópica de substâncias antioxidantes reduz os danos causados, contudo, essa proteção será realmente eficaz se essas substâncias penetrarem nas camadas mais profundas da pele (SCOTTI *et al.*, 2007). Sua absorção é um processo determinante e depende de fatores como a forma molecular do ativo, propriedades físico químicas, solubilidade, pH e a base cosmética usada (FRIES *et al.*, 2010). Os agentes esfoliantes promovem a recuperação da pele por meio da remoção de células, a fim de promover uma regeneração dos tecidos epidérmicos e dérmicos. Nessa classe podem ser citados os hidroxiácidos (MARÇALO, 2013).

Os hidroxiácidos são ácidos carboxílicos orgânicos classificados em alfa hidroxiácidos (AHAs) e beta hidroxiácidos (BHAs), de acordo com a molécula. Nessa classe podem ser incluídos os ácidos glicólico, láctico, cítrico, málico, tartárico e salicílico. Tais ácidos favorecem o melhoramento da textura da pele, reduzindo os sinais de envelhecimento por diminuírem a coesão dos corneócitos, minimizando, assim, a espessura do estrato córneo. O ácido salicílico é bastante empregado em cremes antienvelhecimento e tratamentos acneicos. O uso repetitivo torna a pele mais exposta à RUV, sendo extremamente necessário o uso de fotoprotetores adequados (MARÇALO, 2013).

Por outro lado, os agentes despigmentantes são responsáveis pelo clareamento da pele (MARÇALO, 2013). Nesse grupo podemos citar a hidroquinona, ácido ascórbico e ácido kójico. O ácido ascórbico e a hidroquinona possuem o mecanismo de ação que inibe a ação da tirosinase, não havendo a produção de melanina. Já o ácido kójico inibe a produção de melanina pela inibição da tirosinase como quelante de íons e promove a diminuição de eumelanina (NICOLETTI *et al.*, 2002).

As substâncias hidratantes são ativos vitais em preparações antienvhecimento. A fim de combater a secura e desidratação da pele, que dão um aspecto ruim e envelhecido à mesma, são incluídos às formulações agentes oclusivos, umectantes e emolientes (MARÇALO, 2013).

2.2.2 Ativos antioxidantes

Antioxidantes são substâncias que, quando presente em baixas concentrações comparadas com o substrato oxidável, retardam ou inibem a oxidação do mesmo. Dessa forma, são os agentes encarregados de inibir e reduzir as lesões causadas pelos RLs nas células. O organismo possui uma série de mecanismos para controlar a peroxidação e inativar ou eliminar os RLs, impedindo a transformação destes em compostos mais tóxicos para as células. Esses mecanismos podem ser enzimáticos ou não. O sistema enzimático é composto pelas enzimas catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase, sendo esta última a mais abundante no organismo. Os antioxidantes naturais ou não-enzimáticos obtidos da dieta são as vitaminas A, C e E. Tais vitaminas são consideradas excelentes antioxidantes, capazes de seqüestrar os RLs com enorme eficiência. Cita-se ainda outras substâncias atuantes como antioxidantes como bioflavonóides, coenzima Q10, licopeno, isoflavonas, catequinas, entre outras (SANTOS *et al*, 2014).

A proteção antioxidante do ácido ascórbico é utilizada por plantas e animais; humanos e alguns mamíferos são incapazes de sintetizá-lo e, por meio da alimentação é feito o suprimento adequado ao organismo. Na pele, a epiderme contém cinco vezes mais ácido ascórbico que a derme. O ácido ascórbico também é importante na síntese de colágeno, sendo cofator nas reações de hidroxilação de prolina e lisina (GONÇALVES *et al.*, 2006). Esse ativo exerce importantes efeitos anti-envelhecimento, pois relaciona-se à regeneração da epiderme, promovendo um efeito fotoprotetor. A recomendação diária é de 65 mg/dia para mulheres e 75 mg/dia para homens. Gestantes e lactantes precisam de uma ingestão ainda maior dessa vitamina (SANTOS *et al*, 2014). A vitamina C quando usada em preparações cosméticas possibilita alcançar níveis que não seriam possíveis somente com a ingestão de alimentos (FRIES *et al.*, 2010). Além disso, essa vitamina atua sinergicamente com a Vitamina E, promovendo o aumento de sua potência em doar

elétrons para a mesma, reciclando-a para sua forma ativa (FRIES *et al.*, 2010).

A vitamina A, conhecida também como retinol, é um fator importante no crescimento e na diferenciação celular. O betacaroteno, precursor da vitamina A, está distribuído nos alimentos e possui ação antioxidante (BIANCHI *et al.*, 1999), devido a sua capacidade de capturar radicais e outras espécies como oxigênio singlete, em baixas concentrações e em baixa pressão parcial de oxigênio (VASCONCELOS *et al.*, 2007). O betacaroteno ainda promove, quando da sua ingestão, a redução das lesões nas células, aumentando a fotoproteção (SCOTTI *et al.*, 2007).

A vitamina E ou tocoferol é o antioxidante que bloqueia a etapa de propagação da peroxidação lipídica dos ácidos graxos poliinsaturados das membranas e lipoproteínas (VASCONCELOS *et al.*, 2007). Os danos oxidativos podem ser inibidos pela ação da vitamina E com a glutathione, vitamina C e vitamina A, sendo um dos principais meios de defesa endógena do organismo (BIANCHI *et al.*, 1999). Isoladamente, a vitamina E auxilia na proteção às membranas celulares da peroxidação lipídica e, por conta de sua ação calmante, é muito empregada em produtos pós-sol (FRIES *et al.*, 2010).

A importância do ácido lipóico advém da sua capacidade em recuperar os antioxidantes endógenos e reparar o dano oxidante (FRIES *et al.*, 2010). A glutathione não é bem absorvida topicamente, sendo muito utilizados os seus derivados para obtenção de melhores resultados (SCOTTI *et al.*, 2007).

O dimetilaminoetanol (DMAE) promove resistência e estabilidade às membranas das células, atua na síntese do ácido araquidônico e dos mediadores pró-inflamatórios. Os cosméticos da atualidade oferecem formulações mistas contendo DMAE e outros antioxidantes, auxiliando na firmeza da pele, diminuição de rugas, resultando em uma aparência jovial e natural da pele. É comum o aparecimento de irritação cutânea no início do tratamento com DMAE (SCOTTI *et al.*, 2007). Já a coenzima Q10, também conhecida como ubiquinona, exerce sua atividade antioxidante neutralizando radicais de oxigênio reativo e prevenindo danos nas biomoléculas (SCOTTI *et al.*, 2007).

Os extratos vegetais são altamente ricos em agentes antioxidantes, que atuam como proteção natural dos RLs advindos do efeito da RUV, que é imprescindível para a fotossíntese, contribuindo, dessa forma, para a evolução das espécies. Dentre essas substâncias, podemos citar os polifenóis, os flavonóides, os

organosulfídeos e os indóis. O maior grupo é o dos compostos fenólicos. O mecanismo de ação se explica através da doação de um átomo de hidrogênio ao RL (SCOTTI *et al.*, 2007). A ação dos antioxidantes presentes em extratos reduz a oxidação em lipídios presentes nos tecidos vegetal e animal, promovendo a conservação dos alimentos e reduzindo o risco de patologias como arteriosclerose e câncer (ANGELO *et al.*, 2007).

2.2.3 Radicais livres e a peroxidação dos ácidos graxos

Radicaís livres são espécies compostas de um ou uma associação de átomos, possuindo um elétron desemparelhado em sua camada de valência. Esse desemparelhamento traz uma alta instabilidade, sendo que, para manter a estabilidade precisam doar ou retirar um átomo de outra molécula (HIRATA *et al.*, 2004). Os RLs podem ser formados no citoplasma, nas mitocôndrias e o alvo celular (proteínas, lipídios, carboidratos e DNA) está diretamente relacionado com o seu sítio de formação, sendo a geração de RL um processo contínuo e fisiológico. Se os RLs não reagem entre si, na intenção de obter estabilidade, eles captam um átomo de uma molécula saudável, formando um novo RL. Com isso, inicia-se uma reação em cadeia, que irá danificar muitas células, podendo ser ilimitado, caso não haja o auxílio dos antioxidantes (SANTOS *et al.*, 2014).

A formação excessiva dos radicaís livres culmina no estresse oxidativo (HIRATA *et al.*, 2004) que é definido como uma perturbação no equilíbrio de sistemas pró-oxidantes e antioxidantes (SANTOS *et al.*, 2014) iniciando, assim, reações que levarão a alterações em proteínas extracelulares e modificações nas células. O maior problema causado pelo estresse oxidativo é a peroxidação dos ácidos graxos. A dupla camada lipídica é constituída basicamente por ácidos graxos, que sofrem esse efeito, levando à morte celular. Com o intuito de evitar esse processo, a pele possui meios de defesa, entre eles, enzimas, vitaminas e agentes quelantes de íons metálicos (HIRATA *et al.*, 2004). Pode-se citar algumas espécies de RLs como oxigênio singleto, radical superóxido, radical hidroxila, óxido nítrico, peroxinitrito e radical semiquinona. Entre essas formas, a que apresenta menor capacidade de oxidação é o radical superóxido (SANTOS *et al.*, 2014).

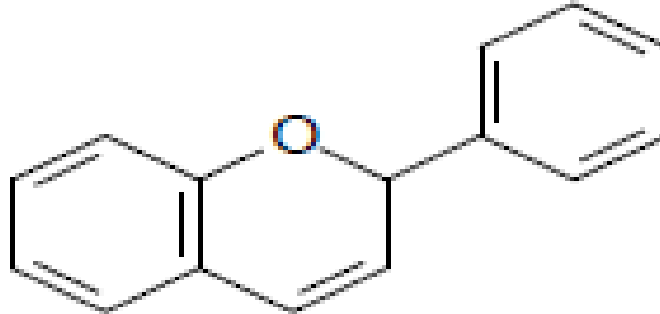
Com o envelhecimento, a capacidade dos mecanismos de defesa decaem e os compostos exógenos (enzimas, antioxidantes e compostos fenólicos) auxiliam a

proteção endógena, limitando as reações oxidativas (HIRATA *et al.*, 2004). Estudos em sistemas biológicos demonstraram efeitos prejudiciais dos RLs associados ao desenvolvimento de doenças como câncer, Alzheimer, artrite e catarata. Por outro lado, a presença desses radicais é imprescindível para a manutenção das funções normais, no processo de respiração celular, gerando ATP, além dos radicais formados por macrófagos e neutrófilos são usados para combater bactérias e fungos que invadem o organismo (SANTOS *et al.*, 2014).

2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário das plantas, possuindo funções importantes para seu crescimento e reprodução. Em definição química, os compostos fenólicos são substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo grupos funcionais. Por possuírem estruturas variáveis, devido às diversas combinações que ocorrem na natureza, são chamados de polifenóis (ANGELO *et al.*, 2007). Os compostos fenólicos são antioxidantes não somente por serem doadores de hidrogênio ou elétrons, mas por seus radicais intermediários serem estáveis, impedindo assim a oxidação (SOARES *et al.*, 2008). Nos últimos anos, os compostos fenólicos têm recebido elevada atenção por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro* (SOUSA *et al.*, 2007). Dentre os fenóis existentes, podemos destacar os flavonóides (**Figura 3**), ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis como os mais abundantes antioxidantes fenólicos de fonte natural (ANGELO *et al.*, 2007).

Figura 2 – Estrutura química básica dos flavonóides (WOLLGAST *et al.*, 2001)



A formação dos flavonóides é acelerada pela luz, sendo que uma de suas atividades é a de proteção contra os raios UV. A atividade antioxidante designada aos flavonóides se deve às suas propriedades redutoras, pela sua estrutura química. Essa estrutura é importante no seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo assim, tanto na etapa de iniciação quanto na propagação do processo oxidativo (REZENDE, 2008). Como eles são estruturalmente semelhantes aos filtros UV sintéticos, supõe-se que possam emprego na obtenção de filtros solares que contenham ingredientes naturais (POLONINI, 2011). Dentre os flavonóides já estudados, uma grande diversidade apresenta efeitos biologicamente importantes à saúde como ações antioxidantes, anticarcinogênica, anti-ulcerativa, anti-trombótica, anti-inflamatória, antimicrobiana, imunomodulatória, vasodilatadora e analgésica (REZENDE, 2008).

As propriedades farmacológicas sugeridas aos taninos são atribuídas a três características comuns, sendo elas a complexação com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, dentre outros), a atividade antioxidante e seqüestrador de radicais livres e a habilidade de complexar-se com macromoléculas, como proteínas e polissacárides (FARIA, 2013). Os flavan-3-ol e os flavan-3,4-diol, que são tipos de monoflavonóides, participam da formação dos taninos condensados, pois são capazes de sofrerem reações de polimerização. Os pigmentos das proantocianidinas são os responsáveis pela coloração rosa, vermelha, violeta e azul em flores, folhas, sucos, cascas e vinhos, sendo compostos ativos em plantas medicinais (SANTOS, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

- Avaliar o potencial antioxidante do extrato hidroalcoólico de *Dalbergia monetaria* L.

3.2 ESPECÍFICOS

- Realizar triagem fitoquímica do extrato hidroalcoólico de *Dalbergia monetaria* L. para avaliar qualitativamente sua composição.
- Quantificar os constituintes majoritários presentes no extrato hidroalcoólico de *Dalbergia monetaria* L.
- Determinar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Dalbergia monetaria* L.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATÉRIAS PRIMAS, SOLVENTES E REAGENTES

Ácido gálico (PADRÃO): Sigma-Aldrich, EUA;

Folin-Ciocalteu: fornecido pelo Laboratório NIQUA;

Rutina (PADRÃO): All Chemistry, Brasil;

Solução DPPH: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Alcool etílico absoluto anidro 99,8%: Isofar;

Solução etanol 70%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução AlCl_3 5%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução H_3BO_3 3%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução NaOH 1M: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Ácido Sulfúrico PA: Vetec, Sigma-Aldrich, EUA;

Água destilada: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Acetato de chumbo 10%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Acetato de cobre 3%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Sais de ferro 2%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução HCl 10%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução de Sal de Alcalóide solúvel 0.1%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução de Gelatina 2.5%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Acetato de Etila PA: Alphatec;

Solução de KOH 5%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução saturada de acetato básico de chumbo: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Clorofórmio PA: Vetec, Sigma-Aldrich, EUA;

Solução de ácido pícrico 0.5%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução de KOH 1M: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução alcoólica 1% de ácido 3,5-dinitrobenzóico: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia

Solução de anidrido acético: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução de NH_4OH 10%; preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução de HCl 1%: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia;

Reagentes de Dragendorff, Mayer, Bertrand e Bouchardat: preparados e fornecidos pelo Laboratório de Farmacognosia;

Solução de H_2SO_4 1M: preparada e fornecida pelo Laboratório de Farmacognosia.

4.2 EQUIPAMENTOS

Rotavapor: Rotavapor® R-210, Buchi, Suíça;

Liofilizador: ALPHA 1-4 LD plus, Christ, Germany;

Agitador de microplaca: SI-0400, Scientific Industries, EUA;

Leitor espectrofotométrico de microplaca: SpectraCount Microplate Reader, Packard, EUA;

Vórtex: G-560, Scientific industries, EUA;

Centrífuga: 5810 R, Eppendorg, Alemanha;

Ultrassom: Ultra Cleaner, Unique;

Espectrofotômetro: SP220 - Biospectro;

Luz UltraVioleta: CAMAG - 220V.

4.3 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

A planta foi coletada nas proximidades da cidade de Belém, PA-Brasil, em outubro de 2013, pelos pesquisadores do Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde (NUPICS), Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora.

4.4 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

O extrato foi preparado pelos pesquisadores do Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde (NUPICS), da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora. Para a preparação do extrato foram utilizadas cascas de *Dalbergia monetaria* L, que foram esmagadas em um moinho com borracha e lâminas (malha número 20). O extrato foi obtido pela incubação e maceração constante de 25 g da planta em etanol 70% (v/v) para 1L da preparação, em 72 h no escuro. O extrato foi filtrado e evaporado sob baixa pressão em um rotavapor, seguido por liofilização sob pressão de 1.8 mbar e – 14 °C. O rendimento obtido foi de 22.0% para *Dalbergia monetaria* L.

4.5 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

Classes de produtos oriundos do metabolismo secundário de *Dalbergia monetaria* L. foram pesquisadas a partir do extrato hidroalcolico por meio de reações de grupos funcionais da molécula, de acordo com Matos (1997) adaptado: flavonóides (reação com $AlCl_3$, reação com H_3BO_3 , reação com NaOH 1M, reação com H_2SO_4), taninos (reação com acetato de chumbo, reação com sais de cobre, reação com sais de ferro, reação com alcalóides e reação com gelatina), cumarinas (reação com KOH 5%), esteróides (reação de Kedde, reação de Liebermann-Buchard, reação de Baljet), saponinas, alcalóides (reação de Bouchardat, reação de Dragendorff e reação de Mayer) e antraquinonas (reação de Borntraeger).

- Flavonóides

Foram pesados 0.2 g do material em um béquer, acrescentou-se 13 mL de etanol 70% e foi levado a aquecimento por 30 minutos. Após filtração, foram realizadas quatro reações para detecção da presença de flavonóides.

- ✓ Reação com AlCl_3 : diferentes áreas do papel de filtro foram umedecidas com o filtrado, acrescentando-se uma gota de solução alcoólica de AlCl_3 5%. Como indicativo da presença de flavonóides seria a fluorescência esverdeada sob luz UV.
- ✓ Reação com H_3BO_3 : em 3 mL do filtrado juntou-se 3 mL de ácido bórico 3% e 1 mL de ácido oxálico 10% levando-o a resíduo. Após esfriamento, colocou-se 10 mL de éter etílico e observou-se sob a luz UV. Como indicativo da presença de flavonóides seria a fluorescência amarela-esverdeada sob luz UV.
- ✓ Reação com NaOH 1 M: em 3 mL do filtrado foi adicionado 0.5 mL de NaOH 1 M. Como indicativo da presença de flavonóides seria o aparecimento de coloração amarelada.
- ✓ Reação com H_2SO_4 : em 3 mL do filtrado foi adicionado H_2SO_4 PA gota a gota pela parede do tubo de ensaio. Como indicativo da presença de flavonóides seria o aparecimento de coloração avermelhada.

- Taninos

Foram pesados 0.2 g do material em um béquer e foram colocados 20 mL de H_2O destilada, levando-se a ebulição por 5 minutos. Após filtração, 3 mL do filtrado foram colocados em tubos de ensaio para a realização das seguintes reações:

- ✓ Reação com acetato de chumbo: adicionou-se gotas de acetato de chumbo 10% ao filtrado. Como indicativo da presença de taninos seria a formação de um precipitado branco.
- ✓ Reação com acetato de cobre: adicionou-se gotas de acetato de cobre 3% ao filtrado. Como indicativo da presença de taninos seria a formação de precipitado escuro.
- ✓ Reação com sais de ferro: adicionou-se gotas de cloreto férrico 2% ao tubo contendo o filtrado. Para reação positiva, observou-se a formação e coloração do precipitado. Como indicativo da presença de tanino condensado seria a

formação de precipitado verde, e precipitado azul indicativo de tanino hidrolisável.

- ✓ Reações com Alcalóides: adicionou-se uma gota de HCl 10% e algumas gotas de sal de alcalóide solúvel 0.1% ao tubo contendo o filtrado. Como indicativo da presença de taninos seria a formação de precipitado.
- ✓ Reação com gelatina: adicionou-se uma gota de HCl 10% e de gelatina 2.5%. Como indicativo da presença de taninos seria a formação de precipitado.

- Cumarinas

Foram pesados 0.2 g do material e foram adicionados 5 mL de HCl 10% e 5 mL de H₂O, aquecendo-se durante 15 minutos. Após filtração, foi realizada a extração com 10 mL de acetato de etila PA. O extrato em acetato de etila foi concentrado a 3 mL e transferido para um tubo de ensaio. Foram adicionados 5 mL de KOH 5% ao tubo de ensaio. Como indicativo da presença de cumarinas seria a fluorescência esverdeada, após exposição à luz UV.

- Terpenóides e Esteróides

Foram pesados 0.2 g do material em um béquer, adicionou-se 20 mL de etanol 50% e ferveu-se por 30 minutos. Após filtração, foram adicionados 10 mL de solução saturada de acetato básico de chumbo e centrifugou. O líquido sobrenadante foi filtrado para um funil de separação, adicionando-se 10 mL de água destilada e 20 mL de clorofórmio. O extrato clorofórmio foi concentrado até 20 mL para a realização das seguintes reações:

- ✓ Reação de Baljet: 3 mL do extrato clorofórmio foram levados a resíduo e adicionaram-se 4 a 5 gotas de ácido pícrico 0.5% e 2 gotas de KOH 1 M. Como indicativo da presença de anel lactônico seria a presença de coloração alaranjada intensa.

- ✓ Reação de Kedde: 3 mL do extrato clorofórmio foram levados a resíduo e adicionaram-se quatro gotas de solução alcoólica 1% de ácido 3,5-dinitrobenzóico e 2 gotas de KOH 1 M. Como indicativo da presença de lactonas α,β -insaturadas seria a presença de coloração vermelha violácea.
- ✓ Reação de Liebermann-Bouchard: 3 mL do extrato clorofórmio foi levado a resíduo, adicionou-se 0.5 mL de anidrido acético e gotas de ácido sulfúrico concentrado pela parede do tubo. Como indicativo de presença de núcleo esteroidal seria o aparecimento de coloração castanho avermelhada na zona de contato.

- Saponinas

Foram pesados 0.2 g do material em um béquer e adicionou-se 10 mL de água destilada. Após filtração, colocou-se 5 mL do filtrado em um tubo de ensaio e agitou-se vigorosamente. Como indicativo da presença de saponinas seria a formação de espuma persistente.

- Alcalóides

Foram pesados 0.2 g do material em um béquer. Agitou-se com 20 mL de HCl 1% e levou a aquecimento por 10 minutos. Após esfriamento, filtrou-se para um funil de separação e alcalinizou-se com NH_4OH 10%. A solução alcalina foi extraída com 10 mL de acetato de etila e filtrada para um béquer. Evaporou-se o clorofórmio e o resíduo foi ressuspendido com 10 mL de HCl 1%. Em quatro tubos de ensaio colocou-se 2 mL do resíduo e adicionaram-se os reagentes de Dragendorff, Mayer, Bertrand e Bouchardat nos seus respectivos tubos. Como indicativo da presença de alcalóides seria a formação de precipitados.

- Antraquinonas

Foram pesados 0.2 g de material liofilizado em um béquer e adicionou-se 10 mL de H₂SO₄ 1 M. Levou a aquecimento por 10 minutos. Após esfriamento, filtrou-se para um funil de separação, adicionando-se 10 mL de acetato de etila. Após agitação e separação das fases, recolheu-se a fase orgânica em um tubo de ensaio. Acrescentaram-se 2 mL de NaOH 2 M e agitou-se vigorosamente. Como indicativo da presença de antraquinonas seria a presença de intensa coloração vermelha na camada aquosa.

4.6 QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS

A quantificação dos constituintes fenólicos foi realizada de acordo com Leite (2002), com adaptações, utilizando o reagente *Folin-Ciocalteu* em meio alcalino.

Preparo do padrão:

Pesaram-se exatos 10 mg de ácido gálico em balão volumétrico de 10 mL, que teve o volume completado com água. O volume final desta solução estoque foi de 1000 µg mL⁻¹. A partir da solução estoque, foram obtidas nove soluções de padrões nas concentrações de 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 50 e 25 µg mL⁻¹.

Preparo da amostra:

Pesaram-se exatos 10 mg do extrato liofilizado de *Dalbergia monetaria* L., o qual foi diluído em 1 mL de etanol absoluto, obtendo-se a concentração de 10 mg mL⁻¹.

Procedimento:

Em tubos de ensaio foram adicionados 50 µL da solução do extrato hidroalcoólico da espécie vegetal, 250 µL do reagente de *Folin-Ciocalteu*, 500 µL de uma solução aquosa de carbonato de sódio a 20% e 4.2 µL de água, resultando em cada poço da microplaca o volume final de 5 µL. A microplaca foi levada a agitação

em agitador de microplaca por 2 minutos e incubada no escuro por 30 minutos, tampada para evitar evaporação. Após a incubação, seguiu-se com a microplaca em leitor espectrofotométrico de microplaca, no comprimento de onda fixo de 760 nm e registrou-se as absorvâncias.

No preparo do branco substituiu-se a solução do extrato e de ácido gálico por água.

O procedimento foi realizado em triplicata. O teor de polifenóis totais presente no extrato foi calculado a partir de uma equação da reta, obtida a partir da curva analítica construída com os valores de absorvância encontrados para o padrão.

4.7 QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES

A quantificação dos flavonóides foi realizada segundo Leite (2002) adaptado, para proceder ao doseamento utilizando microplacas.

Preparo do padrão:

Como padrão para a construção da curva analítica foi utilizada rutina. Foram pesados exatos 5.0 mg de rutina e transferiu-se para um recipiente de 20 mL. Adicionou-se 5 mL de água e levou-se o recipiente em vórtex, para solubilização. Esta solução foi transferida para balão volumétrico de 10 mL, o qual teve seu volume completado com água. Para a obtenção da curva analítica, foram utilizadas as concentrações finais de 2.5, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0 e 30.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, preparadas em tubos plásticos cônicos e diluídas em água.

Preparo da solução do extrato:

Pesaram-se exatos 30.0 mg do extrato liofilizado de *Dalbergia monetaria* L. em recipiente de 20 mL, adicionou-se 3 mL de etanol absoluto e levou-se ao vórtex, para solubilização. A concentração final da solução do extrato foi de 10 mg mL⁻¹.

Semi-purificação do extrato:

Em tubos cônicos de centrífuga, foram adicionados 2.5 mL da solução do extrato, 1 mL de clorofórmio e 1.5 mL de água. Após homogeneização, a solução foi centrifugada por 3 minutos a 2465 g (gravidade), a 25° C em centrífuga.

Procedimento em microplaca:

Para cada concentração de rutina e para o extrato foram pipetados em triplicata para uma microplaca: 99 µL de água; 25 µL de solução de cloreto de alumínio hexahidratado metanólico a 8%; 100 µL solução de piridina: metanol (2:8,v/v); 6 µL de ácido acético glacial; e 20 µL do sobrenadante da solução centrifugada do extrato liofilizado ou 20 µL de cada solução de rutina. Para o preparo do branco do padrão e do extrato foram pipetados para a microplaca: 124 µL de água destilada; 100 µL de metanol; 6 µL de ácido acético glacial; e 20 µL do sobrenadante da solução centrifugada do extrato vegetal ou 20 µL de cada solução de rutina.

A microplaca foi levada a agitação em agitador de microplaca por 2 minutos e incubada no escuro por 15 minutos, tampada para evitar evaporação. Após a incubação, seguiu-se com a microplaca em leitor espectrofotométrico de microplaca, no comprimento de onda fixo de 405 nm e registraram-se as absorvâncias. O teor de flavonóides presente no extrato foi calculado a partir de uma equação da reta, obtida a partir da curva analítica construída com os valores de absorvância encontrados para o padrão.

4.8 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade oxidante dos radicais 2,2 – difenil -1,2-picril-hidrazil (DPPH) foi determinada pela sua capacidade sequestrante. Foram testadas 6 concentrações diferentes e foram medidas as absorvâncias. Foi utilizado álcool etílico absoluto anidro 99,8% como solvente, o aparelho de ultrassom foi utilizado para diluir a amostra e o espectrofotômetro utilizado para medir a absorvância. A solução DPPH foi preparada pelo próprio Laboratório (Laboratório de Farmacognosia – Faculdade de Farmácia - UFJF)

Metodologia

Baseia-se na transferência de elétrons onde, por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar, o DPPH que possui cor púrpura é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarelada, com posterior desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorvância. A partir os resultados alcançados, faz-se a determinação da porcentagem de atividade antioxidante ou seqüestradora de radicais livres e/ou porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional. Apresenta-se como um método simples, podendo ser utilizado na avaliação de atividade antioxidante de formas sintéticas como nimesulida, ácido acetilsalicílico e formas naturais como extratos vegetais, algas, quitosana, mas por ser um método colorimétrico não é aplicado para substâncias coloridas pela interferência com os pigmentos (BORGES *et al.*, 2011).

O teste foi realizado em triplicata, denominadas amostras A, B e C. Foram pesados 10 mg do extrato. Adicionou-se 1 mL de álcool etílico absoluto anidro e as amostras foram levadas para agitação no ultrassom até completa solubilização da amostra. Após a solubilização, foi preparada a solução inicial. O volume inicial foi transferido para um balão volumétrico, e completado para 50 mL. A solução inicial foi obtida a uma concentração de 0.2 mg/mL (200 µg/mL). A partir da solução inicial obtida, preparou-se 6 diluições utilizando balão volumétrico de 10 mL (25.0 µg/mL, 15.0 µg/mL, 12.5 µg/mL, 10.0 µg/mL, 7.5 µg/mL, 5.0 µg/mL). Cada uma das concentrações foi multiplicada pelo Fator de Diluição (FD) 1.4. (**Tabela 1**)

Tabela 1: Diluição da solução inicial

Concentração	Fator de Diluição	Concentração final
25 µg/mL	1.4	35.0 µg/mL
15 µg/mL	1.4	21.0 µg/mL
12.5 µg/mL	1.4	17.5 µg/mL
10 µg/mL	1.4	14.0 µg/mL
7.5 µg/mL	1.4	10.5 µg/mL
5 µg/mL	1.4	7.0 µg/mL

Fonte: Próprio autor.

A partir dos resultados encontrados, calculou-se o volume necessário da solução inicial 200 µg/mL para cada uma das concentrações (**Tabela 2**).

Tabela 2: Valores para diluição

Concentração inicial	Volume inicial	Concentração final	Volume final
200µg/mL	1.75 mL	35.0 µg/mL	10 mL
200µg/mL	1.05 mL	21.0 µg/mL	10 mL
200µg/mL	0.87 mL	17.5 µg/mL	10 mL
200µg/mL	0.70 mL	14.0 µg/mL	10 mL
200µg/mL	0.52 mL	10.5 µg/mL	10 mL
200µg/mL	0.35 mL	7.0 µg/mL	10 mL

Fonte: Próprio autor.

Após a preparação das diluições, procedeu-se à preparação do meio reacional. Composto pela amostra, branco e o controle. A amostra é composta por 2.5 mL do extrato e 1 mL da solução DPPH. O branco é composto por 2.5 mL da amostra e 1.5 mL de álcool etílico absoluto anidro. O controle é composto por 2.5 mL de álcool etílico absoluto anidro e 1 mL da solução DPPH. Após adicionar o DPPH, aguardou 30 minutos para prosseguir a leitura no espectrofotômetro a 516 nm.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada por meio do software Excel, no qual foram realizados três testes com o propósito de verificar a metodologia da linearidade, sendo eles: Teste de Ryan-Joiner (Normalidade do resíduo), Teste de Levene (Homocedasticidade) e ANOVA (Desvio de Linearidade), com nível de significância $p > 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DA PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

Por meio das reações de prospecção fitoquímica foi possível detectar a presença de flavonóides, taninos e triterpenos (**Tabela 3**) nas amostras.

Na reação de detecção de flavonóides com NaOH, o indicativo da presença de flavonóides seria o aparecimento de coloração amarelada. Com o extrato hidroalcoólico de *Dalbergia monetaria* L. houve a formação de coloração avermelhada, ainda assim sendo positiva, pois a forte coloração do extrato mascarou a coloração amarela. Na reação de detecção de flavonóides com H₂SO₄ PA houve a formação de coloração avermelhada, sugerindo a presença das proantocianidinas

Na reação de detecção de taninos com sais de ferro observou-se a formação de precipitado verde. Esse resultado sugere a presença de taninos condensados, os quais são substâncias formadas pela polimerização de flavonóides (TAIZ *et al.*, 2004), fato que reafirma a presença desta classe química na amostra analisada.

Na reação de Kedde observou-se a formação de coloração vermelha violácea, sugerindo a presença de lactona na amostra analisada.

Devido à inexistência de estudos de prospecção fitoquímica de *Dalbergia monetaria* L., a comparação dos resultados encontrados foi feita de acordo com XISTO *et al.*, (2012) no estudo de prospecção fitoquímica de *Dalbergia decipularis*. Os compostos fenólicos estão presentes em ambas as espécies, assim como taninos, flavonóides, triterpenos e esteróides. Já a classe das saponinas se encontra somente na *Dalbergia decipularis*. Os alcalóides estão ausentes em ambas as espécies. As antocianidinas, na espécie *Dalbergia monetaria* L. estão presentes como proantocianidina e está ausente na espécie *Dalbergia decipularis*.

Tabela 3 – Prospecção Fitoquímica do extrato hidroalcoólico de *Dalbergia monetaria* L.

CLASSES QUÍMICAS	REAÇÕES	RESULTADOS
Flavonóides	AlCl ₃ 5%	+
	H ₃ BO ₃ 3%	+
	NaOH 1 M	+
Proantocianidinas	H ₂ SO ₄	+
Taninos	Acetato de Chumbo	+
	Acetato de Cobre	+
	Sais de Ferro	+
	Alcalóides	+
	Gelatina	+
Cumarinas	KOH	-
Terpenóides e Esteróides	Baljet	-
	Kedde	+
	Lieberman-Buchard	-
Saponinas	Índice de Espuma	-
Alcalóides	Dragendorff	-
	Mayer	-
	Bertrand	-
	Bouchardat	-
Antraquinonas	Borntraeger	-

Nota: + = positivo

- = negativo

Fonte: Próprio autor.

5.2 ANÁLISE DA QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS

Para a quantificação dos constituintes fenólicos totais utilizou-se os valores de absorvância encontrados para as diferentes concentrações do padrão de ácido gálico para a construção da curva analítica. A equação encontrada foi $y=0.0004x + 0.01$, tendo $R^2=0.993$. Houve correlação linear entre as absorvâncias e as concentrações de polifenóis. Com o intuito de verificar a metodologia da linearidade foram realizados testes estatísticos tais como: Normalidade do resíduo (Teste de

Ryan-Joiner) $p=0.982$, Homocedasticidade (Teste de Levene) $p=0.440$ e Desvio de Linearidade (ANOVA) $p=0.129$. O coeficiente de regressão obtido (R^2) foi maior que 0.99 para o composto supracitado e não foram observados desvios de linearidade.

Pela curva padrão de ácido gálico foi possível notar que as absorvâncias das soluções encontram-se dentro do esperado em proporcionalidade com as concentrações. Em 1g do extrato seco temos 713.2 mg equivalentes de ácido gálico (713.2 mg EAG/g EXTRATO SECO). Os resultados do teor de compostos fenólicos em folhas e cascas são similares ou superiores aos encontrados em chás verde e preto, que são uma das fontes mais ricas de polifenóis, podendo variar de 16 a 73.5 mg EAG/g EXTRATO FRESCO (SILVA *et al.*, 2007).

De acordo com SILVA *et al.*, (2007) pelo método de quantificação de polifenóis utilizando as mesmas condições do experimento em questão, foram encontrados elevados teores de constituintes fenólicos (4.1 ± 0.2 mg EAG/g EXTRATO FRESCO) para o extrato de *Dalbergia monetaria* L.

As diferenças observadas entre as concentrações podem estar relacionadas à preparação dos extratos, sendo o extrato fresco o de menor concentração de compostos fenólicos e, o extrato seco, o que obteve a maior concentração. Também pode ser advinda do solvente utilizado em cada caso. SILVA *et al.*, (2007) utilizou para a extração uma mistura de metanol, etanol, água destilada e ácido clorídrico (69:20:10:1, v/v/v/v respectivamente). Na preparação do extrato seco foi utilizada uma solução de etanol e água destilada (70% v/v). Pode-se predizer que uma melhor extração dos compostos fenólicos foi obtida com a mistura etanol/água, de acordo com os resultados supracitados.

Essa classe também foi quantificada por ARESI *et al.*, (2011) no estudo de avaliação da potencial atividade antimicrobiana da espécie *Dalbergia ecastaphyllum* L. Taub. O teor de constituintes fenólicos do extrato bruto e das frações das folhas de *Dalbergia ecastaphyllum* foi expresso em equivalentes de ácido gálico em mg/g de extrato seco, variando de 4.6 a 110.5 com diferenças estatisticamente significativas, exceto entre extrato bruto e fração butanólica. Tendo em vista a ação antimicrobiana observada nas folhas da espécie *Dalbergia ecastaphyllum* L. Taub, torna-se plausível a investigação de tal ação nas cascas da espécie em estudo, tendo em vista a quantidade superior de polifenóis presentes em seu extrato.

5.3 ANÁLISE DA QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES

Para a quantificação dos flavonóides utilizou-se os valores de absorvância encontrados para as diferentes concentrações do padrão de rutina para a construção da curva analítica. A equação encontrada foi $y=0.0006x + 0.0161$, tendo $R^2=0.990$. De acordo com os testes estatísticos realizados para verificação da metodologia da linearidade, tais como: Normalidade do resíduo (Teste de Ryan-Joiner) $p=0.938$, Homocedasticidade (Teste de Levene) $p=0.855$ e Desvio de Linearidade (ANOVA) $p=0.446$, os resíduos seguem distribuição normal, não havendo correlação entre eles, sendo, portanto, independentes. O coeficiente de regressão obtido (R^2) foi maior que 0.99 para flavonóides e não foram observados desvios de linearidade.

Em 1g do extrato seco temos 262.5 miligramas equivalentes de rutina (262.5 mg ER/g EXTRATO SECO).

De acordo com SILVA *et al.*, (2007) pelo método de quantificação de flavonóides utilizando-se o cromógeno p-dimetilaminocinamaldeído (DMACA) e catequina como padrão para a elaboração da curva de calibração, foram encontrados 0.07 ± 0.03 mg EC/g EXTRATO FRESCO de constituintes flavonoídicos.

5.4 ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

As análises demonstraram que o extrato hidroalcoólico de *Dalbergia monetaria* L apresenta grande capacidade sequestrante frente ao radical DPPH. Na **Tabela 4** tem-se a porcentagem de inibição do extrato. O cálculo foi feito a partir da relação concentração versus absorvância. A atividade antioxidante do extrato vegetal foi expressa concentração inibitória média em 50% (CI50), ou seja, a quantidade de extrato necessária para reduzir em 50% a ação oxidante do DPPH.

Tabela 4: Porcentagem de inibição do efeito oxidante do DPPH para cada concentração

Concentração µg/mL	A (% inibição)	B (% inibição)	C (% inibição)	Média	IC ₅₀	DP
15	80.49	80.66	81.18	80.78	10.05	0.36
12.5	65.33	64.29	65.33	64.98	10.11	0.60
10	54.18	54.88	56.62	55.23	10.11	1.26
7.5	29.79	27.53	25.78	27.70	10.11	2.01
5	18.47	19.16	18.64	18.76	10.09	0.36

*A, B e C: amostra em triplicata

Fonte: Próprio autor.

*IC₅₀: Concentração inibitória em média

*DP: Desvio padrão

A atividade antioxidante foi classificada de acordo com os valores de IC₅₀ como ótimo (IC₅₀ < 15 µg ml⁻¹), bom (15 µg ml⁻¹ < IC₅₀ < 50 µg ml⁻¹), médio (50 µg ml⁻¹ < IC₅₀ < 100 µg ml⁻¹), e fraco (IC₅₀ ≥ 100 µg ml⁻¹). O potencial de atividade antioxidante do extrato preparado à partir da casca de *Dalbergia monetaria* L. foi avaliado e atribuído à presença de compostos fenólicos, que são capazes de interromper reações em cadeia causadas por RLs, devido à sua capacidade de doar átomos de hidrogênio (MARTINS *et al.*, 2015). O valor de IC₅₀ encontrado para o extrato liofilizado de *Dalbergia monetaria* L. foi igual a 10, sendo considerado como ótimo. De acordo com a **Tabela 4** podemos verificar que quanto maior a concentração do extrato, maior será a porcentagem de inibição do radical DPPH pelo extrato liofilizado de *Dalbergia monetaria* L.

Frente aos estudos de DALARMI (2012), onde foi realizada a atividade antioxidante pelo método de redução do radical DPPH da espécie *Dalbergia brasiliensis* podemos verificar que essa espécie, apesar de pertencer ao mesmo gênero da planta em estudo, mostrou atividade antioxidante fraca (Média IC₅₀ da casca em hexano = 273.8684 ± 2.1608 µg ml⁻¹). Essa menor atividade pode ser devido ao extrato utilizado.

De acordo com SILVA *et al.*, (2007) no estudo de atividades antioxidantes e conteúdos polifenólicos de quinze espécies selecionadas da região amazônica, por meio do ensaio ORAC, que utilizou a fluoresceína como sonda fluorescente e Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico) como padrão para a elaboração da curva analítica, foram encontrados 83.1 ± 8.8 µmol ET/g EXTRATO FRESCO para as cascas de *Dalbergia monetaria* L, sendo um valor bem superior às frutas

ricas em antioxidantes, tais como ameixa (62.4) e morango (35.8). Nesse mesmo estudo, o potencial antioxidante foi avaliado ainda por meio do ensaio TEAC, que utilizou o radical catiônico ABTS⁺ como agente oxidante, sendo o Trolox (6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico) o padrão para elaboração da curva analítica. Para as cascas de *Dalbergia monetaria* L foram encontrados 12.5 ± 0.7 $\mu\text{mol ET/g}$ EXTRATO FRESCO, sendo um valor bem superior à atividade antioxidante encontrada no brócolis (6.5) e espinafre (7.6).

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Com base na prospecção fitoquímica, detectamos a presença de diversos compostos, dentre eles os fenólicos e flavonóides. Nesse sentido, ao quantificarmos tais compostos, obtivemos valores considerados satisfatórios e que suportam a elevada atividade antioxidante *in vitro*. Portanto, podemos sugerir que o extrato hidroalcoólico *Dalbergia monetaria* L. pode ser usado em cosméticos, auxiliando a retardar o envelhecimento da pele.

- ✓ Realização de trabalhos futuros com a avaliação de sua atividade antioxidante em outros modelos *in vitro/in vivo*.
- ✓ Avaliação da segurança do extrato hidroalcoólico de *Dalbergia monetaria* L. por meio de ensaios de citotoxicidade frente à linhagem celular de fibroblastos, bem como sua permeação cutânea (após incorporação em formulação adequada) por meio da realização de estudos *ex vivo*.
- ✓ Direcionamento para estudos mais aprofundados, visto que a literatura ainda é bastante escassa quanto à utilização do extrato hidroalcoólico de *Dalbergia monetaria* L. para aplicação cosmética.

7 REFERÊNCIAS

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/decretos/50040_61.htm. Acesso em 10 de janeiro de 2016.

ARESI, C. **Avaliação da potencial atividade antimicrobiana de produtos de origem natural: estudo bioquímico de *Dalbergia ecastaphyllum* L. Taub.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

BIANCHI, M.L.P., ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BORGES, L.L., LÚCIO, T.C., GIL, E.S., BARBOSA, E.F. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopedia biosfera**, v.7, n.12, p. 1-20, 2011.

CAMPOS, A.G.C., CUNHA, L.C.R., PINHEIRO, R., CARVALHO, A.Z. Os nanocosméticos no envelhecimento facial: revisão de literatura. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 13, n.1, p. 548-556, 2015.

COTA, R.H.S. **Ações antiulcerogênicas do extrato aquoso liofilizado de *Dalbergia monetaria* Lineu (VERONICA).** Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

DALARMI, L. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades biológicas da *Dalbergia brasiliensis*, Vogel.** Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

DALARMI, L., SILVA, C.B.; OCAMPOS, F.M.M., OLIVEIRA, D.M.S., MIGUEL, O.G., ZANIN, S.M.W., MIGUEL, M.D. Evolução na pesquisa fitoquímica aplicada às atividades biológicas do gênero ameaçado de extinção *Dalbergia*. **Visão Acadêmica**, v.16, n.1, p.163-178, 2015.

FARIA, F.M. **Avaliação da resposta anti-inflamatória intestinal de proantocianidinas de *Rhizophora mangle* L. no tratamento de colite experimental induzida por ácido tri-nitro-benzeno sulfônio (TNBS) em ratos e dextrana sal sódico (DSS) em camundongos.** Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

FRIES, A.T., FRASSON, A.P.Z. Avaliação da atividade antioxidante de cosméticos anti-idade. **Revista Contexto e Saúde**, v.10, n.19, p.17-23, 2010.

GONÇALVES, G.M.S., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Ácido ascórbico e ascorbil fosfato de magnésio na prevenção do envelhecimento cutâneo. **Infarma**, v. 18, n.7/8, p.3-6, 2006.

HIRATA, L.L., SATO, M.E.O., SANTOS, C.A.M. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 23, n.3, p. 418-424, 2004.

KILARI, E.K., PUTTA, S. Delayed progression of diabetic cataractogenesis and retinopathy by *Litchi chinensis* in STZ-induced diabetic rats. **Cutaneous and Ocular Toxicology**, p.1-8, 2016.

LEITE, J. P. V. **Estudo fitoquímico de folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. e variação sazonal e intra-específica de polifenóis em populações nativas.** Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

MARÇALO, A.R.A. **Nanotecnologia na Dermocosmética: Aplicação a formulações antienvhecimento**. Dissertação de Mestrado, Universidade do Algarve, Portugal, 2013.

MARTINS, F.J., CANESCHI, C.A., RESKALLA, H.N.J.F., VIEIRA, J.L., BARBOSA, W., RAPOSO, N.R.B. Antioxidant activity and potential photoprotective from amazon native flora extrats. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, p.1-19, 2015.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MENDES, C.E.M., CASARIN, F., OHLAND, A.L., FLACH, A., COSTA, L.A.M.A., DENARDIN, R.B.N.D., MOURA, N.F. Efeitos das condições ambientais sobre o teor e variabilidade dos óleos voláteis de *Dalbergia frutescens* (Vell.) Britton (Fabaceae). **Quim. Nova**, v. 35, n. 9, p. 1787-1793, 2012

NICOLETTI, M.A., ORSINE, E.M.A., DUARTE, A.C.N., BUONO, G.B. Hiperchromia s: Aspectos gerais e uso de despigmentantes cutâneos. **Cosmetics & Tolletries**, v.14, n.1, p. 46-51, 2002.

POLONINI, H.C. **Desenvolvimento de formulação fotoprotetora contendo extratos vegetais da zona da mata mineira**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2011.

ROCHA, P.N.C.S. **Caracterização cromossômica de três espécies do gênero *Dalbergia*, ocorrentes no estado da Bahia**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Santa Cruz, Bahia, 2004.

REZENDE, A.A.A. **Efeito protetor de proantocianidinas de sementes de *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) contra efeitos genotóxicos do cloridrato de doxorubicina, em células somáticas de *Drosophila melanogaster***. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

SANTOS, M.P., OLIVEIRA, N.R.F. A ação das vitaminas antioxidantes na prevenção do envelhecimento cutâneo. **Ciências da Saúde**, v.15, n.1, p.75-89, 2014.

SANTOS, W.A. **Caracterização química, física e mecânica da madeira de cinco espécies do sahel africano**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

SCOTTI, L., SCOTTI, M.T.S., CARDOSO, C., PAULETTI, P., CASTRO-GAMBOA, I., BOLZANI, V.S., VELASCO, M.V.R., MENEZES, C.M.S., FERREIRA, E.I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.2, p.153-163, 2007.

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**, v.101, p.1012-1018, 2007.

SOARES, M.S., WELTER, L., KUSKOSKI, E.M., GONZAGA, L., FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008.

SOUSA, C.M.M., SILVA, H.R., VIEIRA-JR, G.M., AYRES, M.C.C., COSTA, C.L.S. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA BRITO, A.R.M.; COTA, R.H.S., NUNES, D.S. Gastric antiulcerogenic effects and acute toxicity of *Dalbergia monetaria* L. in rats. **Phytotherapy Research**, v.11, p.34-316, 1997.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

VASCONCELOS, S.M.L., GOULART, M.O.F., MOURA, J.B.F., BENFATO, V.M.M.S., KUBOTA, L.T. Espécie reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v.30, n.5, p.1323-1338, 2007.

WOLLGAST, J., PALLARONI, L., AGAZZI, M.E., ANKLAM, E. Analysis of procyanidins in chocolate by reversed-phase highperformance liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometric and tandem mass spectrometric detection. **J. Chromatogr.**, 926, p.211-220, 2001.

XISTO, A. CLAUDINO, G.P., NASCIMENTO, I.A. **Avaliação citotóxica e antioxidante dos extratos brutos das folhas de *Dalbergia decipularis***. VII Jornada de Iniciação Científica, Desenvolvimento Tecnológico e Inovação do Instituto Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2012.

