

Caracterização fitoquímica, teor de fenóis e flavonoides e avaliação da capacidade antioxidante da folhas de *Lacistema pubescens* mart

Josiane Mello da Silva*
Erick Vicente da Silva Motta*
Renata de Freitas Mendes*
Elita Scio*

RESUMO

Este estudo teve como objetivos avaliar o potencial antioxidante e verificar o perfil fitoquímico do extrato bruto metanólico e das partições hexânica, diclorometânica, em acetato de etila e hidrometanólica das folhas de *Lacistema pubescens*. A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos do DPPH e TBA. Pelo método do DPPH, todas as amostras foram efetivas em sequestrar o radical livre e, pelo ensaio com TBA, todas as amostras, com exceção da partição hexânica, inibiram significativamente a peroxidação lipídica. A partição hidrometanólica foi a que apresentou a melhor atividade antioxidante e também o maior conteúdo de substâncias fenólicas. Estas, portanto, parecem ser as responsáveis pela atividade encontrada.

Palavras-chave: Antioxidantes. Peroxidação de lipídeos. Fenóis.

1 INTRODUÇÃO

A formação de radicais livres é uma ação contínua e fisiológica, que desempenha funções biológicas essenciais no organismo (OKEZIE, 1998). Entretanto, seu excesso apresenta inúmeros efeitos prejudiciais, como peroxidação dos lipídeos de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, aos carboidratos e às moléculas de DNA. Desta forma, os radicais livres encontram-se relacionados com várias patologias, tais como: artrite, doenças cardíacas, catarata, disfunções cognitivas, câncer, AIDS, dentre outras, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; HUSAIN; CILLARD; CILLARD, 1987).

Devido à produção contínua dos radicais livres durante os processos metabólicos, muitos mecanismos de defesa antioxidante foram desenvolvidos para limitar seus níveis intracelulares e impedir a indução de danos (SIES, 1993). Desta forma, uma ampla definição de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe sua oxidação de maneira eficaz” (SIES; STAHL, 1995).

Pesquisas recentes mostraram que extratos de plantas podem exercer ação antioxidante sendo indicados para atenuar ou prevenir os efeitos deletérios do estresse oxidativo celular (ANDRADE et al., 2007; BALESTRIN et al., 2008; ROCHA et al., 2007;

RODRÍGUEZ et al., 2008). Dessa forma, existe um crescente interesse na busca de espécies vegetais que possam atuar no combate aos radicais livres.

O gênero arbóreo, nativo e com distribuição neotropical, *Lacistema* sp (*Lacistemataceae*), pode ser encontrado em inúmeros estados como Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Amazonas, Amapá, Pará, dentre outros (HOFFMANN, 2005) e, conforme a região em que se encontra, pode assumir diferentes denominações populares: espeto-vermelho e canela-vermelha – MG (SILVA, 2002; SILVA et al., 2004), sabonete – RJ (PINTO SOBRINHO, 2007) e cafezinho – PA (TRINDADE, 2007).

Estudos sobre as propriedades farmacológicas e/ou químicas referentes à espécie *Lacistema pubescens* Mart. não foram conduzidos até o momento, contudo tradicionalmente, *Lacistema* sp é amplamente utilizada, principalmente por comunidades indígenas, no combate à febre e dores no corpo, reumatismo, vômitos e disenteria (BARBOSA; PINTO, 2003; DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; ROUMY et al., 2007). Desta forma, para contribuir com o conhecimento sobre as propriedades químicas e biológicas desta espécie, os objetivos desse trabalho foram avaliar o potencial antioxidante, realizar a caracterização fitoquímica e determinar o teor de fenóis totais e flavonoides dessa espécie.

* Universidade Federal de Juiz de Fora, Departamento de Bioquímica, Laboratório de Produtos Naturais Bioativos - Juiz de Fora, MG. E-mail: jmsjf@yahoo.com.br

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo experimental para avaliar a capacidade antioxidante das folhas de *Lacistema pubescens* bem como sua caracterização fitoquímica.

2.1 Material vegetal

As folhas de *L. pubescens* foram coletadas em Juiz de Fora, Estado de Minas Gerais, Brasil, em dezembro de 2008. Uma exsicata (CESJ 49751) foi depositada no herbário Leopoldo Krieger da Universidade Federal de Juiz de Fora.

2.2 Preparo do extrato bruto metanólico e participações

As folhas secas (375 g) foram moídas e maceradas com metanol (3 x 300ml) por cinco dias à temperatura ambiente. O extrato bruto metanólico (EBM - 65 g), após remoção do solvente, foi dissolvido em Metanol-Água (MeOH-H₂O ; 8:2) e particionado com hexano (PHEX - 16 g), diclorometano (PDCM - 8 g) e acetato de etila (PACOEt - 7g). A partição hidrometanólica (PHM) remanescente forneceu 5g. Todas as amostras foram concentradas utilizando um evaporador rotatório sob pressão reduzida e mantidas em frascos hermeticamente fechados sob refrigeração.

2.3 Triagem fitoquímica

Um miligrama de cada amostra foi utilizado para a identificação das principais classes de metabólitos secundários empregando os protocolos descritos por Matos (1997).

2.4 Determinação do teor de fenólicos totais e flavonóides

O conteúdo de substâncias fenólicas em cada amostra foi determinado pelo método de Folin-Denis (DUH; YEN, 1997). Ácido tânico foi utilizado como padrão para a curva de calibração e os resultados foram expressos em mg/g de extrato em equivalentes de ácido tânico (EAT). O teor de flavonóides foi determinado como previamente descrito por Miliauskas; Venskutonis e Van-Beek (2004) com algumas modificações. Rutina foi utilizada como padrão para a curva de calibração e os resultados foram expressos em mg/g de extrato em equivalentes de rutina (ER).

2.5 Ensaio com DPPH

A atividade antioxidante de radicais 2,2-difenil-1-picrilidrazina (DPPH) foi determinada de acordo com o método de Brand-Williams (GOVINDARAJAN et al., 2003). As amostras foram solubilizados em MeOH (1mg/ml) e diluídas em soluções metanólicas do radical DPPH (50µmol/ml) até as concentrações de 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; 3,91 e 1,95µg/

ml. Esta reação ocorreu à temperatura ambiente e, após 30 min., foi realizada a leitura da absorvância das amostras e do branco em espectrofotômetro utilizando comprimento de onda (µ) de 515nm. Os testes foram realizados em triplicata. Ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo nas mesmas concentrações da amostra. Os resultados foram expressos em CI50, que é a concentração da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH, calculado pelo programa estatístico Grafit5 (Erithacus Software Ltda., Horley, U.K).

2.6 Avaliação da peroxidação lipídica utilizando o ácido tiobarbitúrico (TBA)

Este ensaio foi realizado pelo método proposto por Wong; Hashimoto e Shibamoto (1995) com algumas modificações. Para a preparação das amostras utilizou-se carne moída. Três amostras foram preparadas com 25g de carne moída, 17ml de água e 7,5; 15 e 30mg de extrato, respectivamente. Como controle positivo foi utilizado butil-hidroxi-tolueno (BHT) nas mesmas concentrações e como controle negativo, somente 25g de carne moída e 17ml de água destilada. Todas estas amostras foram misturadas com auxílio de processador e levadas ao aquecimento até aparecimento da coloração marrom da carne. Após o cozimento, adicionou-se água destilada aos preparados até completar o volume de 100ml e, por mais uma vez, foram misturados com o processador até formar um homogenato. As amostras foram transferidas para frascos âmbar e armazenadas sob refrigeração. No quinto dia após o preparo das amostras, 0,5g de cada homogenato contendo extrato ou BHT, foram colocados em tubos de ensaio juntamente com 50µL de solução etanólica de BHT 4% (p/v), 2,5ml de ácido fosfórico 1% (v/v) e 1,25ml de ácido tiobarbitúrico 1% (p/v; em NaOH 0,05 M). Estas soluções foram aquecidas em banho fervente por 15 min. e em seguida resfriadas em banho de gelo por 10 min. Depois de resfriadas, foram adicionados 3ml de butanol em cada tubo de ensaio para que o complexo ácido tiobarbitúrico - malonaldeído (TBA-MDA) (indicativo de oxidação da carne) fosse transferido para a fase orgânica, após leve agitação por inversão. A fase contendo butanol foi separada por centrifugação a 4000g por 5 min. e 200µL do sobrenadante de cada amostra foram coletados e suas absorvâncias lidas em espectrofotômetro em 535nm. A concentração do complexo TBA-MDA foi calculada a partir da curva padrão de MDA. Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni utilizado como post-hoc.

3 RESULTADOS

Os resultados da triagem fitoquímica encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1
Triagem fitoquímica de *L. pubescens*

Amostras ^a	Constituintes químicos ^b								
	Fen	Fla	Cum	Sap	Tan	Est	Tri	Ant	Alc
EBM	+	+	+	+	+	+	+	-	+
PHEX	+	+	-	+	-	+	+	-	+
PDCM	+	+	+	+	+	+	-	-	+
PAcOEt	+	+	+	+	+	-	-	-	-
PHM	+	+	-	+	+	-	-	-	-

^aAmostras: EBM – extrato bruto metanólico; PHEX – partição em hexano; PDCM – partição em diclorometano; PAcOEt – partição em acetato de etila; PHM – partição hidrometanólica

^bConstituintes químicos: Fen - fenóis; Fla - flavonoides; Cum - cumarinas; Sap - saponinas; Tan -taninos; Est - esteroides; Tri - triterpenos; Ant - antraquinonas; Alc - alcaloides. + presença; - ausência

Fonte – Os autores (2010).

O teor de fenóis e flavonoides e a atividade antioxidante utilizando o ensaio com o DPPH do EBM e partições das folhas de *L. pubescens* encontram-se na Tabela 2.

TABELA 2
Atividade antioxidante (DPPH) e teor de fenóis totais e flavonoides de *L. pubescens*

Amostras ^a	DPPH	Fenóis totais (EAT em	Flavonoides (ER em
	CI50 ($\mu\text{g/ml}$) ^b	mg/g de extrato) ^b	mg/g de extrato) ^b
EBM	14,3 \pm 0,9	69,38 \pm 0,3	27,5 \pm 1,7
PHEX	24,2 \pm 1,1	66,53 \pm 0,8	32,7 \pm 2,8
PDCM	14,6 \pm 0,4	169,38 \pm 0,5	12,7 \pm 0,3
PAcOEt	8,9 \pm 0,1	123,36 \pm 0,5	14,68 \pm 3,9
PHM	1,8 \pm 0,8	283,61 \pm 0,9	16,56 \pm 3,9
Ácido Ascórbico	1,5 \pm 0,1		

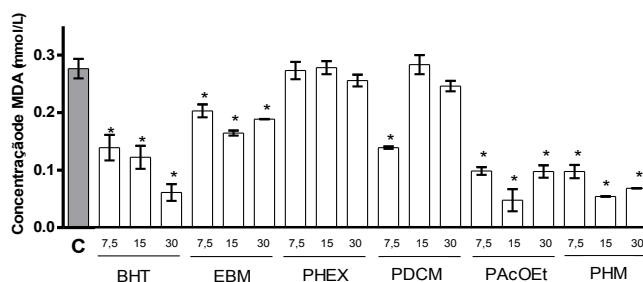
^aAmostras: EBM – extrato bruto metanólico; PHEX – partição em hexano; PDCM – partição em diclorometano; PAcOEt – partição em acetato de etila; PHM – partição hidrometanólica

^bMédia dos resultados em triplicata \pm desvio padrão cSubstância de referência

Fonte – Os autores (2010).

Os resultados da atividade antioxidante dessas amostras pelo método do TBA encontram-se no Gráfico 1.

Gráfico 1 – Atividade antioxidante (TBA) de *L. pubescens*



Efeito antioxidante do EBM e partições de *L. pubescens* e BHT na peroxidação lipídica em homogenato de carne moída nas concentrações de 7,5; 15 e 30 mg de extrato. Os ensaios foram realizados em quadruplicata e os valores em cada coluna representam a média \pm e.p.m. da concentração de MDA. ANOVA, seguido pelo teste de Bonferroni foram utilizados como teste post-hoc. Valores significativos: $P < 0,001$ vs controle (C).

Fonte – Os autores (2010).

4 DISCUSSÃO

A triagem fitoquímica tem por objetivo conhecer as classes de constituintes químicos presentes em espécies vegetais (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2007). Nas diferentes amostras de *L. pubescens* foram identificadas várias classes de metabólitos secundários, com exceção de antraquinonas (Tabela 1). Uma vez que foram observados fenóis e flavonoides em todas as amostras, procedeu-se ao doseamento dos mesmos (Tabela 2). A PHM foi a que apresentou o maior teor de fenóis seguido da PDCM. Em contrapartida, a PHEX foi a que apresentou a maior quantidade de flavonoides. Flavonoides lipofílicos presentes em plantas geralmente são flavonas ou éteres metílicos de flavonóis, mas flavononas e outras classes de flavonoides podem igualmente estar presentes (GREENHAM; HARBORNE; WILLIAMS, 2003).

O estresse oxidativo representa um aumento considerável da concentração intracelular de espécies oxidantes, como espécies reativas de oxigênio (ERO) sendo acompanhado simultaneamente pela perda das defesas antioxidantes (ARTEEL; SIES, 2001). Este processo pode causar lesão tecidual ou mesmo morte celular, os quais ocorrem essencialmente pelos mecanismos de necrose e apoptose (GUETENS et al., 2002). Também, o estresse oxidativo desempenha um importante papel em processos inflamatórios, no envelhecimento e em patologias como, aterosclerose, câncer, catarata, distúrbios do sistema nervoso central, artrite reumatoide, diabetes, mal de Parkinson, mal de Alzheimer, AIDS e doenças cardiovasculares, inflamatória intestinal, respiratórias, auto-imunes, hepáticas, renais, de pele e outros (GALLI et al., 2005).

Para avaliação da atividade antioxidante foram utilizados os métodos do DPPH e avaliação da peroxidação lipídica pelo método do TBA. O método do DPPH é um método colorimétrico, realizado em comprimento de onda de 515 nm. Após a adição do antioxidante, produz-se uma diminuição da absorvância pela redução dos antioxidantes devido à habilidade das substâncias antioxidantes em transferirem átomos de hidrogênio para os radicais DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUVÉLIER; BERSET, 1995). Ao avaliar a capacidade de sequestrar o radical DPPH, pôde-se constatar que, comparados à substância de referência, o ácido ascórbico (CI50 1,5 µg/ml), os valores de CI50 mais expressivos foram encontrados para PAcOEt (8,9 µg/ml) e PHM (1,8 µg/ml), ou seja, substâncias com polaridade maior contribuíram mais para a capacidade sequestrante do radical DPPH. É importante ressaltar que a PHM apresentou um valor estatisticamente igual ao controle positivo do experi-

mento, uma substância pura amplamente utilizada na medicina.

Também uma relação entre a atividade antioxidante determinada pelo método DPPH e a concentração de substâncias fenólicas pôde ser constatada, uma vez que a partição mais polar (PHM) foi a que apresentou os maiores teores de substâncias fenólicas e a que melhor sequestrou o radical DPPH. É sabido que antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais livres e, algumas vezes, como quelantes de metais (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

O ensaio do TBA é um método usado para se identificar a oxidação lipídica. Este procedimento mede o malonaldeído formado a partir de subproduto de uma lipoperoxidação. O malonaldeído reage com a substância ácido tiobarbitúrico (TBARS) formando um pigmento rosa, medido espectrofotometricamente com o máximo de absorvância entre 532-535 nm (ANTOLOVICH et al., 2002). A quantificação desta substância tem sido utilizada para avaliar a extensão do dano oxidativo (FASSEAS et al., 2007).

Ao utilizar esse método, como demonstra o Gráfico 1, o EBM, PDCM, PAcOEt e PHM foram efetivos em inibir a oxidação dos lipídeos da carne, principalmente nas maiores concentrações utilizadas (dose-dependente), com exceção da PDCM, que apresentou atividade apenas na menor concentração. Sabe-se que algumas substâncias atuam como pró-oxidantes que, quando presentes em maior concentração, conduzem a uma inversão de estabilidade, a exemplo do μ -tocoferol (CILLARD et al., 1980). Dessa forma, a PHM foi a que se mostrou mais efetiva, sendo possivelmente as substâncias mais polares responsáveis pela atividade, particularmente as substâncias fenólicas encontradas em maior concentração. Fenóis interferem na oxidação dos lipídeos e de outras moléculas por uma rápida doação de um átomo de hidrogênio aos radicais livres. Os radicais fenóxidos formados são intermediários estáveis e dificilmente iniciam uma nova reação em cadeia em função da falta de sítios ativos para o ataque do oxigênio molecular. Estes radicais intermediários fenóxidos atuam reagindo com outros radicais livres, culminando com a terminação das reações de oxidação (SANCHEZ-MORENO, 2002).

Os resultados deste trabalho corroboram com dados obtidos por outros autores, os quais correlacionam o teor de substâncias fenólicas e o potencial antioxidante de extratos vegetais. Rosa e outros (2010), ao verificarem o teor de compostos fenólicos totais do extrato bruto metanólico e frações das folhas da espécie *Palicourea rigida*, constataram que apesar da baixa atividade apresentada pelo extrato bruto (500

ppm), a fração acetato de etila apresentou atividade moderada (192 ppm) e o maior teor de fenólicos totais dentre as frações ensaiadas. Também, Souza e outros (2007), ao analisarem o teor de fenóis totais e a atividade antioxidante de cinco plantas medicinais, concluíram que três espécies (*Terminalia brasiliensis*, *Cenostigma macrophyllu* e *Copernicia cerifera*) apresentaram uma relação positiva entre o conteúdo de fenóis e a capacidade antioxidante, analisada pelo método do DPPH.

5 CONCLUSÃO

L. pubescens apresentou um grande potencial antioxidante em processos envolvendo o sequestro de radicais

livres bem como de peroxidação lipídica, particularmente a partição mais polar (PHM), sendo possivelmente os fenóis os responsáveis pela atividade encontrada. Cabe-se ressaltar que este é o primeiro relato de estudos químicos e biológicos não apenas para a espécie *L. pubescens*, mas também gênero *Lacistema*, a qual representa uma fonte promissora de fitoantioxidantes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPEMIG pelo auxílio financeiro concedido e a UFJF pelas bolsas de iniciação científica concedidas.

Phytochemical characterization and evaluation of the antioxidant activity of different partitions of *Lacistema pubescens* mart

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antioxidant potential and to determine the phytochemical profile of the crude methanol extract and the hexane, dichloromethane, ethyl acetate and hydromethanolic partitions of the leaves of *Lacistema pubescens*. Antioxidant activity was evaluated by the DPPH and TBA assays. By the DPPH method, all samples were effective in scavenging the free radical and, by using the TBA method, also all samples, except for the hexane partition, were able to significantly inhibit lipid peroxidation. In both methods the sample of higher polarity (PHM) showed the best antioxidant capacity and also the highest content of phenols. Those compounds seem to be responsible for the activity observed.

Keywords: *Lacistema pubescens*. Antioxidants. Lipid peroxidation.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, C. A. et al. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acácia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 2, p. 231-235, 2007.

ANTOLOVICH, M. et al. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, Cambridge, v. 127, no. 1, p. 183-198, 2002.

ARTEEL, G. E., SIES, H. The biochemistry of selenium and glutathione system. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, De Boelelaan, v. 10, no. 4, p. 153-158, 2001.

BALESTRIN, L. et al. Contribuição ao estudo fitoquímico de *Dorstenia multiformis* Miquel (Moraceae) com abordagem em atividade antioxidante. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 2, p. 230-235, 2008.

BARBOSA, W. L. R.; PINTO, L. N. Documentação e valorização da fitoterapia tradicional Kayapó nas aldeias A'Ukre e Pykanu - sudeste do Pará, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 13, n. 1, p. 47-49, 2003.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-126, 2006.

BRAND-WILLIAMNS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss Technology**, Zürich, v. 28, no. 1, p. 28-30, 1995.

CILLARD, J. et al. μ -Tocopherol prooxidant effect in aqueous media: Increased autoxidation rate of linoleic acid. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Madison, v. 57, no. 1, p. 252-255, 1980.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2 ed. São Paulo: Ed. da UNESP, 2002.

DUH, P. D.; YEN, G. C. Antioxidative activity of three herbal water extracts. **Food Chemistry**, Reading, v. 60, no. 1, p. 639-645, 1997.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2007. p. 229-245.

- FASSEAS, M. K. et al. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. **Food Chemistry**, Reading, v. 106, no. 3, p. 1188–1194, 2007.
- GALLI, F. et al. Oxidative stress and reactive oxygen species. **Contributions to Nephrology**, Basel, v. 149, no. 1, p. 240-260, 2005.
- GOVINDARAJAN, R. et al. Studies on the antioxidant activities of desmodium gangeticum, **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 26, no. 10, p. 1424–1427, 2003.
- GREENHAM, J., HARBORNE, J. B., WILLIAMS, C. A. Identification of lipophilic flavones and flavonols by comparative HPLC, TLC and UV spectral analysis. **Phytochemical Analysis**, Malden, v. 14, no. 2, p. 100-118, 2003.
- GUETENS, G. et al. Oxidative DNA damage: biological significance and methods of analysis. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, Perth, v. 39, no. 4, p. 331-457, 2002.
- HOFFMANN, P. **Malpighiales**: an introduction. Surrey, 2005. Disponível em: <http://www.kew.org/>. Acesso em: 6 out. 2009.
- HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. Hydroxyl radical scavenging activity of Flavonoids. **Phytochemistry**, Pullman, v. 26, no. 9, p. 2489-2491, 1987.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: EUFC, 1997.
- MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN-BEEK, T. A. Screening of radical scavenging effect of picroliv from *Pichorhiza kurroa* against *Leishmania donovani* infections in *Mesocricetus auratus*. **Life Sciences**, Tuscon, v. 63, no. 20, p. 1823-1834, 2004.
- OKEZIE, I. A. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Heidelberg, v. 75, no. 2, p. 199-212, 1998.
- ROCHA, F. D. et al. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 4, p. 631-639, 2007.
- RODRÍGUEZ, M. et al. Antidiabetic and antiradical activities of plants from Venezuelan Amazon. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 3, p. 331-338, 2008.
- ROSA, E. A. et al. Flavonóides e atividade antioxidante em *Palicourea rigida*, Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 20, n. 3, p. 484-488, 2010.
- ROUMY, V. et al. Amazonian plants from Peru used by quechua and mestizo to treat malaria with evaluation of their activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Cagliari, v. 112, no. 3, p. 482-489, 2007.
- SANCHEZ-MORENO, C. **Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos: actividad antioxidante**. Alimentaria, Madrid, v. 329, n. 329, p. 29-40, 2002.
- SHAHIDI, F., JANITHA, P. K., WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Amherst, v. 32, no. 1, p. 67-103, 1992.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defence: review. **European Journal of Biochemistry**, Cambridge, v. 215, no. 2, p. 213-219, 1993.
- SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, μ -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Houston, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.
- SILVA, C. T. et al. Avaliação temporal da florística arbórea de uma floresta secundária no Município de Viçosa, Minas Gerais. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 429-441, 2004.
- SILVA, N. R. S. **Florística e estrutura horizontal de uma floresta estacional semidecidual montana – Mata do Juquinha de Paula, Viçosa, MG**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.
- PINTO SOBRINHO, F. A. **Conhecimento etnobotânico de mateiros residentes no entorno de unidades de conservação no estado do Rio de Janeiro**. 2007. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.
- SOUZA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.
- TRINDADE, E. F. S. **Atributos físico-hídricos e matéria orgânica do solo em função de sistemas de uso e manejo da vegetação secundária**. 2007. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Manaus, 2007.
- WONG, J. W.; HASHIMOTO, K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant activities of Rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 43, no. 10, p. 2707-2712, 1995.

Enviado em //

Aprovado em //