

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VANESSA STALDONI DE OLIVEIRA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS  
INFLORESCÊNCIAS DE *Musa paradisiaca* L.

CURITIBA

2015

VANESSA STALDONI DE OLIVEIRA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS  
INFLORESCÊNCIAS DE *Musa paradisiaca* L.

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre ao Programa de Pós Graduação em Ciências – Bioquímica, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profª Dra. Juliana Bello Baron Maurer.

Co-orientadora: Profª Dra. Selma Faria Zawadzki Baggio.

CURITIBA

2015

Universidade Federal do Paraná  
Sistema de Bibliotecas

Oliveira, Vanessa Staldoni de

Caracterização química e atividade antioxidante das inflorescências de  
*Musa paradisiaca* L. / Vanessa Staldoni de Oliveira. – Curitiba, 2015.  
92f.: il. ; 30cm.

Orientadora: Juliana Bello Baron Maurer  
Coorientadora: Selma Faria Zawadzki Baggio  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de  
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências - Bioquímica.

1. Banana. 2. Compostos Fenólicos. 3. Inflorescência. I. Título II. Maurer,  
Juliana Bello Baron. III. Baggio, Selma Faria Zawadzki. IV. Universidade  
Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-  
Graduação em Ciências - Bioquímica.

CDD (20. ed.) 574.192

## TERMO DE APROVAÇÃO

VANESSA STALDONI DE OLIVEIRA

Caracterização Química e Atividade Antioxidante das Inflorescências de *Musa  
paradisíaca* L.

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre  
no curso de Pós-Graduação em Ciências-Bioquímica, Setor de Ciências  
Biológicas, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



Prof.ª Dr.ª Juliana Bello Baron Maurer – Orientador  
Departamento de Bioquímica, UFPR



Prof.ª Dr.ª Maria Eliane Merlin Rocha  
Departamento de Bioquímica, UFPR



Prof.ª Dr.ª Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia  
Departamento de Química, UFPR

Curitiba, 20 de março de 2015.

*Aos meus avós, Vicente e Miguelina, pelo conhecimento empírico sobre plantas medicinais transmitido com muita sabedoria e amor.*

## AGRADECIMENTOS

À professora Juliana Maurer pela orientação e pela confiança depositada em mim e no meu trabalho, mesmo quando eu era apenas uma professora de ensino básico e com experiência mínima em bioquímica batendo em sua porta e querendo sua orientação para esse mestrado. Tu tens um estilo único e especial de orientar. Parabéns!

À professora Selma Zawadzki-Baggio, minha co-orientadora. Obrigada pela elucidação de dúvidas, correções, companhia e carinho!

Ao professor Thales Cipriani pela correção do projeto e sugestões.

Ao doutor Luciano Campestrini, meu pai científico. Não tenho nem como agradecer todo o ensinamento prático e paciência. Sem você esse mestrado não teria sido possível. Tudo o que sei hoje sobre prática laboratorial devo a ti!

À doutora Fernanda Bovo, pioneira no projeto *Musa*. Obrigada pelas sugestões, incentivo, momentos de descontração e por acreditar em mim e no meu trabalho!

Ao mestre Fábio Yamassaki, meu colega de laboratório. Obrigada por estar sempre disposto a me ajudar, ensinar e discutir os resultados, mas principalmente pelos inúmeros momentos de bom-humor no dia-a-dia.

Às mestres e colegas de laboratório Andressa Soldera e Melina Seyfried por me acolherem com carinho e sempre estarem dispostas a me ensinar e ajudar. *Together* sempre!

À mestre Alessandra Pedro pela paciência em me ensinar a usar os *softwares* de análise estatística e gráficos. Sou muito grata também pelas sugestões, discussões sobre atividade antioxidante e caracterização química e pela ótima companhia.

Às demais colegas de laboratório: Constanza Monteiro, Karla Weldt, Pamela Fontana e Mariana Lundberg. Obrigada pela companhia e momentos de descontração.

Ao programa de pós-graduação em Ciências-Bioquímica da UFPR pela acolhida e pela oportunidade de poder lhe dar uma parcela da minha contribuição.

Ao CNPq, PRONEX-CHO, PROAP-CAPES e UGF/SETI (CV 43-08) pelo apoio financeiro.

A todos os professores do departamento de bioquímica e biologia molecular da UFPR pelo ensinamento e por serem exemplos de profissionais de sucesso.

À minha amiga Gislaine dos Santos, um presente que ganhei desse mestrado. Obrigada por compartilhar os momentos bons e ruins de pós-graduando e da nova vida em Curitiba, pela companhia, pelos inúmeros momentos de descontração e por estar sempre disposta e me ouvir e aconselhar. Torço muito e tenho absoluta certeza do teu sucesso!

À família Peters (Luisi, Letícia, Nicolas e Márcio) que me deram apoio e incentivo a vir morar e estudar em Curitiba. Obrigada pelo acolhimento e pelos momentos maravilhosos na montanha.

À minha amiga, irmã de coração, cumadre e parceira de montanha Luisa Diederichs. Obrigada pela amizade verdadeira, pelo incentivo, por acreditar em mim e por, mesmo longe, estar sempre perto do meu coração.

À minha mãe Maria Bernadete pelo amor incondicional e por sempre acreditar em mim e me apoiar nas minhas decisões. Tu és o meu porto seguro! Ao meu pai João Marcos pelo amor incondicional e pela educação. Se hoje eu sei me virar muito bem sozinha é graças a ti!

Aos meus avós Vicente e Miguelina pelo imenso amor e carinho, por manterem a nossa família unida e pelo ensinamento empírico sobre plantas medicinais.

A todos os colegas estudantes do programa de pós-graduação em ciências-bioquímica da UFPR, mas em especial a essas pessoas: Glauco, William, Janaina, Helyn, Yonny, Alexssandro, Edgar, Normanda, Geison, André e Daniel. Nosso convívio ultrapassou o simples dia-a-dia de trabalho. Graças a vocês a vida em Curitiba se tornou muito mais divertida, afinal a felicidade só é real quando compartilhada!

À Dona Maria que me acolheu em sua casa como uma mãe e às meninas Allen, Aline, Fernanda, Jaqueline, Janaina, Gislaine, Priscila e Vanderleia que me receberam como uma irmã.

À natureza, que desperta curiosidade e é incrivelmente bela e perfeita, por me proporcionar esse estudo.

*“Minha modesta contribuição neste cenário é informar, dando igual importância ao conhecimento tradicional e ao conhecimento científico, minha certeza inabalável de que as plantas curam.” (Ângela Lima, 2008)*

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivos caracterizar fitoquimicamente e avaliar a atividade antioxidante das inflorescências de *Musa paradisiaca* L. Esta espécie, cujo fruto é conhecido popularmente como banana, tem suas inflorescências tradicionalmente usadas no combate a diabetes mellitus, menorragia e desordens digestivas e respiratórias como bronquite, tosse e asma. As inflorescências frescas de *M. paradisiaca* foram utilizadas para o preparo dos extratos aquosos, hidroalcoólicos e frações com solventes de diferentes polaridades. As amostras foram submetidas, primeiramente, a uma análise fitoquímica qualitativa e, em seguida, a dosagens espectrofotométricas de diferentes metabólitos como carboidratos, proteínas, fenólicos, flavonoides, taninos condensados e antocianinas. Para caracterização de compostos fenólicos, as amostras foram submetidas à análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As amostras ainda foram testadas quanto a sua atividade antioxidante *in vitro* através dos ensaios de: redução do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH<sup>•</sup>), sequestro dos radicais superóxido e hidroxila, poder redutor e capacidade de inibir a peroxidação lipídica através do ensaio de inibição das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A análise qualitativa mostrou a presença nas inflorescências de polifenóis, antocianinas, flavonoides, taninos, saponinas, triterpenos/esteroides e cumarinas, todos compostos com já relatada atividade terapêutica. As amostras estudadas apresentaram variações nos conteúdos de carboidratos (14 a 42 %), proteínas (4,8 a 6,8 %), fenólicos (1,5 a 16 %) e taninos condensados (0,07 a 0,3 %). O conteúdo de antocianinas foi semelhante nas amostras testadas, com variação entre 42 a 46 mg equivalente à cianidina-3-glucosídeo por 100 g extrato seco. A análise de CLAE sugere a presença de ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido cumárico, ácido ferúlico e ácido sinápico) e de flavonoides (rutina, miricetina e epicatequina). A presença de ácido clorogênico e rutina no material em estudo sugere que eles podem estar envolvidos nas atividades apresentadas pelo seu uso tradicional, como no combate a injúrias intestinais e asma. As amostras apresentaram atividade antioxidante, com valores de concentração efetiva de amostra necessária para inibir 50 % da concentração inicial de radicais (EC<sub>50</sub>), em mg.mL<sup>-1</sup>, variando de 0,27 a 1,94, para DPPH<sup>•</sup>; 1,97 a 5,64, para hidroxila, e 1,22 a 2,25, para superóxido. O ensaio de redução do radical DPPH<sup>•</sup> do extrato hidroalcoólico das flores (EOH-F) apresentou atividade semelhante ao padrão comercial BHT e foi constatada uma forte correlação entre a atividade antioxidante e o conteúdo fenólico das amostras nesse ensaio (r= -0,8494). Também apresentaram poder redutor com absorbância a 700 nm variando de 0 a 1,3 e atividade de inibição da peroxidação lipídica, com atividade de inibição média entre as amostras de 19 %. Portanto, os resultados sugerem que compostos fenólicos como flavonoides e ácidos fenólicos podem estar relacionados com as propriedades medicinais das inflorescências de *M. paradisiaca* e que o seu consumo deve ter impactos favoráveis sobre a saúde.

Palavras-chave: *Musa paradisiaca*, inflorescências, caracterização química, atividade antioxidante, compostos fenólicos.

## ABSTRACT

The present study aims to investigate chemical characterization and antioxidant activity from *Musa paradisiaca* L. inflorescences. This species, whose fruit is popularly known as banana, has its inflorescences traditionally used to combat diabetes mellitus, menorrhagia and digestive and respiratory disorders such as bronchitis, cough and asthma. The fresh *M. paradisiaca* inflorescences were used for the preparation of aqueous and hydroalcoholic extracts and fractions with solvents of different polarities. The samples were subjected, first, to a phytochemical screening, and then to spectrophotometric measurements of various metabolites such as carbohydrates, proteins, phenolics, flavonoids, condensed tannins and anthocyanins. Then with the objective of characterizing the phenolic compounds, the samples were examined by high performance liquid chromatography (HPLC). The samples were also tested for their *in vitro* antioxidant activity using the 1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>), superoxide and hydroxyl radical-scavenging assays; the reducing power and the ability to inhibit lipid peroxidation by testing inhibition of thiobarbituric acid reactive species (TBARS). The phytochemical screening showed the presence of polyphenols, anthocyanins, flavonoids, tannins, saponins, triterpenes/steroids and coumarins, all compounds reported to have therapeutic activity. The samples exhibited variations in the carbohydrate content (14 to 42 %), protein (4.8 to 6.8 %) phenolic (1.5 to 16 %) and condensed tannins (0.07 to 0.3 %). The anthocyanin content was similar in the samples tested, ranging from 42 to 46 mg equivalent to cyanidin-3-glucoside per 100 g dry extract. The HPLC analysis suggests the presence of phenolic acids (chlorogenic acid, coumaric acid, ferulic acid and sinapic acid) and flavonoids (rutin, myricetin and epicatechin). The presence of chlorogenic acid and rutin in the material under study, suggests that they may be involved in the activities presented by their traditional use as in combating intestinal injuries and asthma. The samples exhibited antioxidant activity with effective concentration required to inhibit 50 % of the initial concentration of radical (EC<sub>50</sub>) values, in mg.mL<sup>-1</sup>, varying from 0.27 to 1.94 for DPPH<sup>•</sup>; from 1.97 to 5.64 for hydroxyl and from 1.22 to 2.25 for superoxide. The DPPH<sup>•</sup> assay of the hydroalcoholic extract of the flowers (EOH-F) showed activity similar to commercial standard BHT and a strong correlation was found between the antioxidant activity and phenolic content of the samples in this assay ( $r = -0.8494$ ). Also showed reducing power with absorbance at 700 nm ranging from 0 to 1.3 and inhibition of lipid peroxidation activity with mean activity inhibition between samples of 19 %. Therefore, the results suggest that phenolic compounds such as flavonoids and phenolic acids may be related to the medicinal properties from *M. paradisiaca* inflorescences, and that their use should have positive impact on health.

Key-words: *Musa paradisiaca*, inflorescences, chemical characterization, antioxidant activity, phenolic compounds.

**LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 1 - EXEMPLOS DE ESTRUTURAS QUÍMICAS DE COMPOSTOS SECUNDÁRIOS.....	23
FIGURA 2 - ROTAS DO METABOLISMO SECUNDÁRIO E SUAS INTERLIGAÇÕES COM O METABOLISMO PRIMÁRIO.....	23
FIGURA 3 - IMAGENS DAS PARTES AÉREAS DA ESPÉCIE <i>Musa paradisiaca</i> .....	31
FIGURA 4 - PERFIL DE CLAE DETECTADO A 254 nm DOS COMPOSTOS FENÓLICOS PADRÕES.....	60
FIGURA 5 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO AQUOSO DAS INFLORESCÊNCIAS DE <i>M. paradisiaca</i> .....	61
FIGURA 6 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO AQUOSO DAS BRÁCTEAS DE <i>M. paradisiaca</i> .....	61
FIGURA 7 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO AQUOSOS DAS FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> .....	62
FIGURA 8 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS INFLORESCÊNCIAS DE <i>M. paradisiaca</i> .....	62
FIGURA 9 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS BRÁCTEAS DE <i>M. paradisiaca</i> .....	63
FIGURA 10 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> .....	63
FIGURA 11 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DAS INFLORESCÊNCIAS DE <i>M. paradisiaca</i> .....	64
FIGURA 12 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DA FRAÇÃO BUTANÓLICA DAS INFLORESCÊNCIAS DE <i>M. paradisiaca</i> .....	64

FIGURA 13 - PERCENTAGEM DE REDUÇÃO DO RADICAL DPPH' POR DIFERENTES EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> E PADRÕES COMERCIAIS ÁCIDO ASCÓRBICO E BHT.....	68
FIGURA 14 - CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS (%) E A ATIVIDADE DE REDUÇÃO DO RADICAL DPPH' ATRAVÉS DO EC <sub>50</sub> (mg.mL <sup>-1</sup> ) NOS EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> .....	70
FIGURA 15 - PODER REDUTOR DE DIFERENTES EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> E PADRÕES COMERCIAIS ÁCIDO ASCÓRBICO E QUERCETINA.....	71
FIGURA 16 - PERCENTAGEM DE SEQUESTRO DO RADICAL HIDROXILA POR DIFERENTES EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> E PADRÕES COMERCIAIS ÁCIDO ASCÓRBICO E ÁCIDO GÁLICO.....	73
FIGURA 17 - PERCENTAGEM DE SEQUESTRO DO RADICAL SUPERÓXIDO POR DIFERENTES EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> E DO PADRÃO COMERCIAL ÁCIDO ASCÓRBICO.....	75

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CLASSIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DE ACORDO COM O ESQUELETO BÁSICO.....	24
TABELA 2 - EXEMPLOS DE USOS DE DIFERENTES PARTES DE <i>M. paradisiaca</i> NA MEDICINA TRADICIONAL.....	32
TABELA 3 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE DIFERENTES PARTES DA ESPÉCIE <i>M. paradisiaca</i> .....	34
TABELA 4 - RENDIMENTOS DOS EXTRATOS BRUTOS E DAS FRAÇÕES DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> .....	51
TABELA 5 - ANÁLISE FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> .....	52
TABELA 6 - ANÁLISE FITOQUÍMICA QUANTITATIVA DOS DIFERENTES EXTRATOS E FRAÇÕES DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> .....	55
TABELA 7 - LIMITE DE DETECÇÃO, LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO E CURVA PADRÃO DE RUTINA E DE ÁCIDO CLOGÊNICO.....	66
TABELA 8 - CONCENTRAÇÃO DE RUTINA E DE ÁCIDO CLOGÊNICO NOS EXTRATOS E NAS FRAÇÕES DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> .....	67
TABELA 9 - VALORES DE EC <sub>50</sub> (mg.mL <sup>-1</sup> ) OBTIDOS NO ENSAIO DE REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE DPPH' PARA OS EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE <i>M. paradisiaca</i> E DOS PADRÕES COMERCIAIS ÁCIDO ASCÓRBICO E BHT.....	69

TABELA 10 - VALORES DE EC<sub>50</sub> OBTIDO NO ENSAIO DE SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE HIDROXILA PARA AS OS EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca* E O PADRÃO COMERCIAL ÁCIDO ASCÓRBICO.....73

TABELA 11 - VALORES DE EC<sub>50</sub> (mg.mL<sup>-1</sup>) OBTIDOS NO ENSAIO DE SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE SUPERÓXIDO PARA OS EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca*.....75

TABELA 12 - INIBIÇÃO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA POR EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca* E PADRÕES COMERCIAIS ÁCIDO ASCÓRBICO E BHT.....77

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	- Ácido ascórbico.
ABAP	- Cloreto de 2,2' – azo-bis (2-amidinopropano).
AG	- Ácido gálico.
ANOVA	- Análise de variância.
BHA	- Butil-hidroxianisol.
BHT	- Butil-hidroxitolueno.
CLAE	- Cromatografia em fase líquida de alta eficiência.
DPPH <sup>•</sup>	- 1,1-difenil-2-picril-hidrazila.
EC50%	- Concentração efetiva de amostra necessária para inibir 50% da concentração inicial de radicais.
ER	- Espécie reativa.
ERO	- Espécie reativa de oxigênio.
EHW-I	- Extrato aquoso-quente das inflorescências completas.
EHW-B	- Extrato aquoso-quente das brácteas.
EHW-F	- Extrato aquoso-quente das flores.
EMET	- Extrato metanólico das inflorescências completas.
EOH-I	- Extrato hidroalcoólico das inflorescências completas.
EOH-B	- Extrato hidroalcoólico das brácteas.
EOB-F	- Extrato hidroalcoólico das flores.
FHEX	- Fração hexânica.
FCLO	- Fração clorofórmica.
FACT	- Fração acetato de etila.
FBUT	- Fração butanólica.
HO <sup>•</sup>	- Radical hidroxila.
LOD	- Limite de detecção.
LOQ	- Limite de quantificação.
NADH	- Dinucleotídeo de nicotinamida adenina reduzido
NBT	- <i>Nitro blue tetrazolium</i> .
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	- Radical superóxido.
P.A.	- Padrão analítico.
PMS	- <i>Phenazine methosulfate</i> .

SDS - *Sodium dodecyl sulfate*  
TFA - *Trifluoroacetic acid.*  
TBA - *Thiobarbituric acid.*  
TBARS - *Thiobarbituric acid reactive substances.*

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	20
2.1 PLANTAS MEDICINAIS .....	20
2.2 METABOLISMO SECUNDÁRIO VEGETAL.....	21
2.2.1 Funções, Classes e Origens Biossintéticas dos Metabólitos Secundários .....	21
2.2.2 Compostos Fenólicos.....	24
2.3 ASPECTOS RELACIONADOS AO ESTRESSE OXIDATIVO E À ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	25
2.3.1 Espécies Reativas.....	25
2.3.2 Antioxidantes.....	28
2.3.3 Métodos de Análise da Atividade Antioxidante <i>in vitro</i> .....	29
2.4 ESPÉCIE VEGETAL EM ESTUDO: <i>Musa paradisiaca</i> L. ....	30
2.4.1 Descrição Botânica e Importância Econômica .....	30
2.4.2 Usos na Medicina Tradicional .....	31
2.4.3 Estudos Científicos.....	32
2.4.3.1 Atividades Biológicas de <i>M. paradisiaca</i> .....	32
2.4.3.2 Caracterização Fitoquímica de <i>M. paradisiaca</i> .....	33
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	37
3.1 QUÍMICOS E REAGENTES.....	37
3.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL .....	37
3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS E DAS FRAÇÕES .....	38
3.3.1 Obtenção do Extrato Aquoso-Quente .....	38
3.3.2 Obtenção do Extrato Hidroalcoólico .....	38
3.3.3 Obtenção do Extrato Metanólico e das Frações.....	39
3.4 ANÁLISE FITOQUÍMICA - MARCHA FITOQUÍMICA.....	40
3.5 DOSAGENS ESPECTROFOTOMÉTRICAS .....	40
3.5.1 Dosagem de Carboidratos.....	40
3.5.2 Dosagem de Proteínas.....	41
3.5.3 Dosagem de Compostos Fenólicos.....	41
3.5.4 Dosagem de Flavonoides.....	42
3.5.5 Dosagem de Taninos Condensados .....	42
3.5.6 Dosagem de Antocianinas.....	42
3.6 CROMATOGRAFIA EM FASE LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) .	43
3.6.1 Método para Caracterização de Compostos Fenólicos .....	43
3.6.2 Preparo dos Extratos.....	44
3.6.3 Sensibilidade Analítica e Dosagem de Rutina e de Ácido Clorogênico...	44
3.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	45
3.7.1 Redução do Radical Livre DPPH' .....	45
3.7.2 Análise do Poder Redutor .....	46
3.7.3 Sequestro do Radical Livre Hidroxila (HO <sup>•</sup> ) .....	47
3.7.4 Sequestro do Radical Livre Superóxido (O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ) .....	47
3.7.5 Inibição da Peroxidação Lipídica (TBARS).....	48
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	49
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	51
4.1 RENDIMENTOS DOS EXTRATOS E DAS FRAÇÕES DE <i>M. paradisiaca</i> 51	

4.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA - MARCHA FITOQUÍMICA.....	52
4.3 DOSAGENS ESPECTROFOTOMÉTRICAS .....	54
4.3.1 Dosagem de Carboidratos e de Proteínas .....	54
4.3.2 Dosagem de Compostos Fenólicos.....	56
4.3.3 Dosagem de Flavonoides.....	57
4.3.4 Dosagem de Taninos Condensados .....	58
4.3.5 Dosagem de Antocianinas.....	59
4.4 CROMATOGRAFIA EM FASE LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) ..	59
4.4.1 Perfil Cromatográfico dos Compostos Fenólicos Padrões .....	59
4.4.2 Perfil Cromatográfico dos Compostos Fenólicos dos Extratos e das Frações de <i>M. paradisiaca</i> .....	60
4.4.3 Sensibilidade Analítica e Quantificação de Rutina e de Ácido Clorogênico nos Extratos e nas Frações de <i>M. paradisiaca</i> .....	66
4.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	68
4.5.1 Redução do Radical Livre DPPH'.....	68
4.5.2 Poder Redutor .....	71
4.5.3 Sequestro do Radical Livre Hidroxila (HO <sup>•</sup> ) .....	72
4.5.4 Sequestro do Radical Livre Superóxido (O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ) .....	74
4.5.5 Inibição da Peroxidação Lipídica (TBARS).....	76
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	79
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	80

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas como medicamento é conhecido desde o início da civilização e, atualmente, ele tem recebido grande interesse da indústria farmacêutica (BORGES *et al.* 2005a). O recente interesse em plantas medicinais é devido, entre outras razões, a chamada “medicina convencional”, que utiliza, na maioria das vezes, compostos puros e sintéticos que, muitas vezes, são ineficientes devido aos muitos efeitos colaterais que provocam e ao seu uso abusivo e incorreto por parte dos pacientes (RATES, 2001).

As plantas são fonte de muitos compostos biologicamente ativos. Metabólitos secundários, também conhecidos como metabólitos especiais, têm recebido grande atenção devido às suas importantes propriedades farmacológicas (MOHR e SCHOPFER, 1995). Esses compostos constituem um vasto e diversificado grupo de compostos vegetais com função primária ecológica e indireta sobre o crescimento e desenvolvimento vegetal (CROTEAU, KUTCHAN e LEWIS 2000). Baseado na sua origem biossintética, os metabólitos secundários podem ser divididos em três grandes grupos: terpenos, compostos nitrogenados e compostos fenólicos (MOHR e SCHOPFER, 1995; CROTEAU, KUTCHAN e LEWIS 2000; SIMÕES, 2007). O último grupo tem recebido atenção especial na ciência devido aos seus notáveis benefícios à saúde como: atividade antimicrobiana (DZIRI *et al.* 2012), anti-inflamatória (PÉREZ *et al.* 2014), antiproliferativa (NGUYEN *et al.* 2013), anti-hipertensiva (LEE *et al.* 2010), antioxidante (CONDE-HERNÁNDEZ e BELTRÁN, 2014), entre outras.

O estresse oxidativo nas células tem sido associado a patologias como câncer, doenças neurodegenerativas (HALLIWELL, 2012) e processos de envelhecimento (NAVARRO, 2004). Parte considerável das substâncias de origem vegetal que previnem doenças fazem parte dos metabólitos secundários e muitos deles são antioxidantes (PERES, 2005). Os compostos fenólicos se destacam por constituírem uma das principais classes de antioxidantes naturais (MORAIS *et al.* 2009). Na procura de espécies vegetais com propriedades antioxidantes e de substâncias biologicamente ativas, métodos para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* têm se tornado

ferramentas usuais e extremamente necessárias em estudos químicos e farmacológicos (ALVES *et al.* 2010).

Uma espécie vegetal amplamente utilizada, tanto pelo valor nutricional quando medicinal é a *Musa paradisiaca* L., pertencente à família Musaceae, cujo fruto é conhecido popularmente como banana. De acordo com o Centro de Socioeconomia e Planejamento Agrícola (CEPA, 2013) no Brasil ela destaca-se como a segunda fruta mais explorada no país, que é o terceiro maior produtor mundial de banana e ostenta a maior área plantada. Em relação às propriedades medicinais dessa espécie, estudos recentes relatam a utilização de diferentes partes do vegetal na medicina popular, em função de propriedades como: hipoglicêmica (KUMAR *et al.* 2012), anti-hipertensiva (IMAM e AKTER, 2011), também no combate a úlceras (MAHMOOD, OMAR e NGAH 2012), como cicatrizante (LIMA, 2008) e contra picadas de serpentes peçonhentas (BORGES *et al.* 2005b). As inflorescências são especialmente empregadas no combate a doenças respiratórias como tosse, bronquite e asma (LIMA, 2008; IMAM e AKTER, 2011; MAHMOOD, OMAR e NGAH 2012) cuja eficiência antiasmática dos extratos aquoso e hidroalcoólico em camundongos foi comprovada por Bovo (2013). Apesar das pesquisas etnomedicinais revelarem o amplo valor farmacológico dessa parte da planta, as inflorescências têm recebido pouca atenção do mundo científico (SENS, 2002) e ainda são consideradas resíduos, sendo descartadas durante a colheita da banana (PAZMIÑO-DURÁN *et al.* 2001).

Tendo em vista a importância do desenvolvimento de uma forma terapêutica menos agressiva aos pacientes asmáticos; o difundido uso tradicional das inflorescências de *M. paradisiaca*, sua ampla distribuição, seu baixo custo de produção e sua eficiência corroborada em recente estudo científico; existe a hipótese de que compostos secundários, em especial compostos fenólicos, estariam envolvidos nas propriedades medicinais dessa espécie. Portanto, a composição química e as atividades biológicas das inflorescências de *M. paradisiaca* necessitam de uma investigação mais aprofundada.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 PLANTAS MEDICINAIS

Plantas medicinais são usadas tradicionalmente no tratamento e na prevenção de enfermidades por populações de todo o mundo, desde o início da civilização (JAWLA, KUMAR e KHAN 2012). Este conhecimento passado de geração à geração tem contribuído significativamente para o desenvolvimento da medicina tradicional bem como auxiliado na exploração científica de plantas medicinais que podem fornecer uma ampla gama de produtos de importância farmacológica e econômica (IMAN e AKTER, 2011). Dentre eles destacam-se os fitoterápicos e os fitofármacos. Fitoterápicos são aqueles medicamentos preparados exclusivamente à base de plantas medicinais. Este é o caso da sete-sangrias (*Cuphea cartagenensis* Jacq.), utilizada no combate a distúrbios do sistema circulatório e da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.), eficiente no combate a problemas gastrointestinais. Fitofármacos são substâncias extraídas de plantas que apresentam atividade (s) farmacológica (s). É o caso do jaborandi (*Pilocarpus spp.*), cujas folhas produzem a pilocarpina, substância ativa usada para tratamento do glaucoma (SIMÕES, 2007).

Os fitoterápicos e as plantas medicinais foram, até a primeira metade do século XX, os principais medicamentos à disposição dos profissionais de saúde. À medida que a ciência identificou os princípios ativos daquelas plantas e isolou o principal agente do efeito terapêutico da planta, esta foi preterida pelas novas fórmulas práticas de tratamento com as drogas puras e sintéticas (LIMA, 2008). Entretanto, a partir dos anos 80, devido aos muitos efeitos colaterais no organismo e aos altos custos das drogas puras e sintéticas, a Organização Mundial da Saúde (OMS) passou a incentivar o uso e a pesquisa da medicina tradicional (SANTOS *et al.* 2012).

Inúmeros exemplos de medicamentos foram desenvolvidos, direta ou indiretamente de fontes naturais, especialmente de plantas, incluindo, entre outros, os fitofármacos morfina, potente analgésico do grupo dos alcaloides obtido das flores da papoula (*Papaver somniferum* L.) e vincristina, alcaloide

oncolítico obtido das folhas de vinca (*Catharanthus roseus* L.) e o fitoterápico *acheflan*<sup>®</sup>, obtido das folhas e ramos da erva-baleeira (*Cordia verbenacea* DC), cujo princípio ativo é um terpeno conhecido como humuleno com propriedades anti-inflamatórias (YUNES e CALIXTO, 2001).

Outro aspecto a ser ressaltado é a quantidade de plantas existentes no planeta, sendo que a maioria é desconhecida sob o ponto de vista científico, o que a torna uma fonte muito ampla de fitofármacos e fitoterápicos. Dentre as cerca de 250-500 mil espécies vegetais existentes no planeta, apenas aproximadamente 5 % têm sido estudadas sob os aspectos fitoquímicos (CECHINEL-FILHO e YUNES, 1998). A pesquisa fitoquímica tem por objetivo conhecer os constituintes químicos das espécies vegetais ou avaliar a sua presença (SIMÕES, 2007). Entre as espécies químicas vegetais de grande importância prática para o homem estão os metabólitos secundários, dentre os quais muitos representam uma importante fonte de compostos ativos farmacêuticos (MOHR e SCHOPFER, 1995).

## 2.2 METABOLISMO SECUNDÁRIO VEGETAL

### 2.2.1 Funções, Classes e Origens Biossintéticas dos Metabólitos Secundários

Células vivas dependem de um sistema complexo de reações químicas, regulado de maneira intrincada, que produzem e utilizam energia, chamado metabolismo (DEVLIN, 2007). No caso das células vegetais o metabolismo costuma ser dividido em primário e secundário (PERES, 2005). No primeiro grupo, encontram-se substâncias distribuídas em todas as plantas e que são responsáveis por processos fisiológicos vitais como, entre outros, a fotossíntese, a respiração, a reprodução e o transporte de solutos. Como exemplo de metabólitos primários, ou essenciais, podemos citar proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e carboidratos (BRISKIN, 2000; BRANDÃO, 2010), sendo que dentro desse último grupo destacam-se moléculas como os polissacarídeos (principalmente sulfatados) e glicoconjugados, com significativo valor terapêutico relatado (TSIAPALI *et al.* 2001; WANG, ZHANG e ZHANG 2008). Por outro lado, o metabolismo secundário é formado por um conjunto de diversificadas substâncias derivadas do metabolismo primário, sem ampla

distribuição no reino vegetal e que são sintetizadas apenas em tecidos ou órgãos em estágios particulares do desenvolvimento da planta (MOHR e SCHOPFER, 1995). Em geral, os metabólitos secundários, ou especiais, não apresentam papéis reconhecidos diretos nos processos fisiológicos vitais, porém exercem importante efeito na adaptação da planta ao seu ambiente. Diferentes metabólitos são restritos a uma espécie ou a um táxon (TAIZ e ZEIGER 2009), o que torna o seu estudo uma importante ferramenta na sistemática vegetal (MOHR e SCHOPFER, 1995). Embora o metabolismo secundário nem sempre seja necessário para que uma planta complete seu ciclo de vida (PERES, 2005) a capacidade de competição e sobrevivência das plantas é profundamente afetada por ele (TAIZ e ZEIGER 2009). Dissuasão de herbívoros, proteção contra patógenos, alelopatia, interações com polinizadores e dispersores e associações simbióticas são alguns exemplos de interações do vegetal com o meio biótico que são mediadas por metabólitos secundários (LAMBERS, CHAPIN e PONS 1998). Contudo, eles também possuem ação protetora em relação a estresses do meio abiótico, como aqueles associados a mudanças de temperatura, conteúdo hídrico, exposição a radiação ultravioleta, níveis de luz e deficiência de nutrientes minerais (PERES, 2005).

Baseada na sua origem biossintética, os metabólitos secundários podem ser divididos em três grandes grupos (FIGURA 1). O grupo dos terpenos pertence a uma classe de compostos formados por unidades de 5 átomos de carbonos ligados chamados difosfato de isopentenila; como exemplo pode-se citar óleos essenciais, pigmentos como carotenoides e os inseticidas piretroides. Ao grupo dos compostos nitrogenados pertencem moléculas heterocíclicas, com nitrogênio na sua estrutura, e que são originados principalmente através de aminoácidos; representantes desse grupo são alcaloides como nicotina e morfina e glicosídeos cianogênicos. E, por último, os compostos fenólicos que são moléculas que contêm pelo menos um grupo hidroxila funcional substituindo um hidrogênio em pelo menos um anel aromático, derivados principalmente das rotas do ácido chiquímico e malonato/acetato; flavonoides, pigmentos como antocianinas, taninos, ligninas e fitoalexinas são exemplos de compostos desse diversificado grupo (FIGURA

1) (MOHR e SCHOPFER, 1995; CROTEAU, KUTCHAN e LEWIS 2000; SIMÕES, 2007).

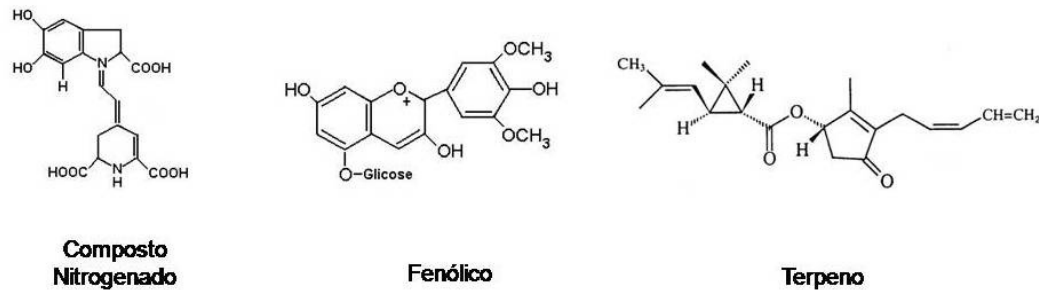


FIGURA 1 – EXEMPLOS DE ESTRUTURAS QUÍMICAS DE COMPOSTOS SECUNDÁRIOS. FONTE: PERES (2005) modificado pelo autor (2015).

A (FIGURA 2) apresenta um resumo das principais rotas de biossíntese dos metabólitos secundários e suas interligações com o metabolismo primário.

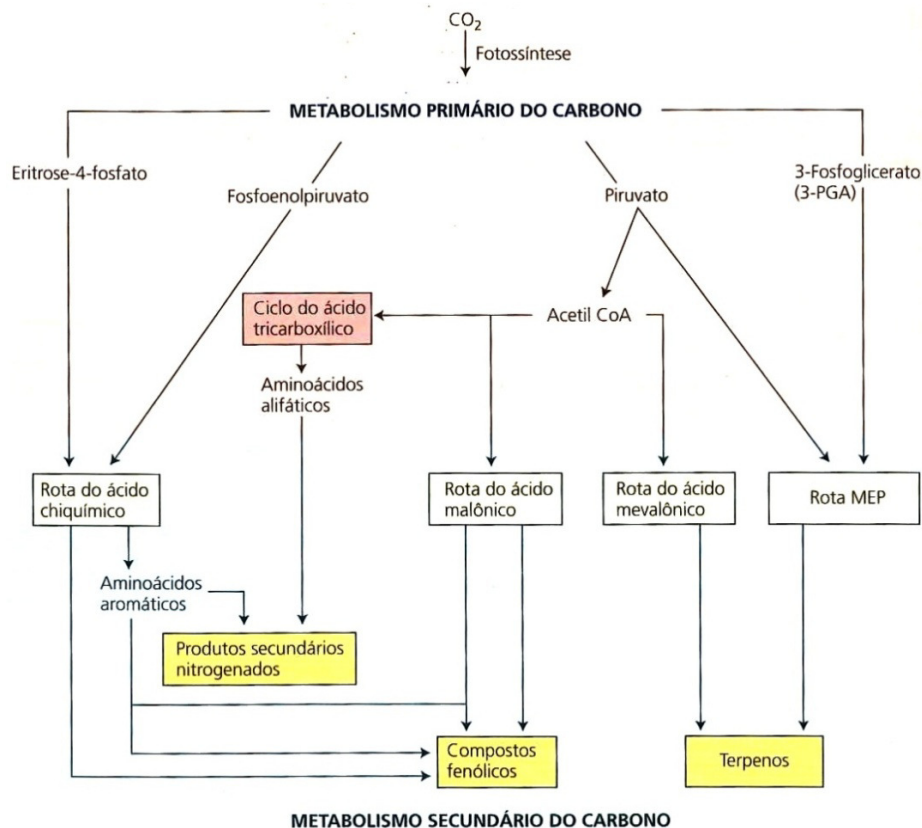


FIGURA 2 - ROTAS DO METABOLISMO SECUNDÁRIO E SUAS INTERLIÇÕES COM O METABOLISMO PRIMÁRIO.

FONTE: TAIZ e ZEIGER, 2009.

NOTA: CO<sub>2</sub>= dióxido de carbono, CoA= coenzima A, MEP= metil eritritol fosfato.

### 2.2.2 Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos se tornaram um importante foco na pesquisa devido aos seus notáveis benefícios à saúde, incluindo atividade anticarcinogênica, anti-inflamatória, antimicrobiana, anestésica, vasodilatadora, imunomoduladora, entre outras (LOGANAYAKI, RAJENDRAKUMARAN e MANIAN 2010).

Estruturalmente, os compostos fenólicos podem variar de simples moléculas, como os ácidos fenólicos, a grandes e complexas moléculas conhecidas como polifenóis. Eles podem ser classificados baseados no número e arranjo dos seus átomos de carbono, conforme representado na (TABELA 1), e são comumente encontrados ligados a açúcares e ácidos orgânicos (CROZIER, CLIFFORD e ASHIHARA 2006).

TABELA 1 - CLASSIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DE ACORDO COM O ESQUELETO BÁSICO.

Esqueleto Básico	Classe de Compostos Fenólicos
C6	Fenóis simples, benzoquinonas.
C6-C1	Ácidos fenólicos.
C6-C2	Acetofenonas e ácidos fenilacéticos.
C6-C3	Arilpropanóides: ácidos cinâmicos e compostos análogos, arilpropenos, cumarinas, isocumarinas e cromonas.
C6-C4	Naftoquinonas.
C6-C1-C6	Xantonas.
C6-C2-C6	Estilbenos, antraquinonas.
C6-C3-C6	Flavonoides e isoflavonoides.
(C6-C3)2	Lignanas.
(C6-C3-C6)2	Diflavonoides.
(C6)n	Melaninas vegetais.
(C6-C3)n	Ligninas.
(C6-C1)n	Taninos hidrolisáveis.
(C6-C3-C6)n	Taninos condensados.

FONTE: SIMÕES (2007).

NOTA: C6 corresponde ao anel benzênico e CX à cadeia substituinte com X átomos de carbono.

Três diferentes rotas biossintéticas levam a produção de fenólicos nos vegetais. A rota do ácido chiquímico leva, através da fenilalanina, à maioria

dos fenólicos vegetais. A rota do ácido malônico leva a algumas quinonas, mas também a vários arilpropanoides. Por último, a rota do ácido mevalônico leva, através de reações de desidrogenação, a alguns terpenoides aromáticos. A rota do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico são as mais importantes na biossíntese de fenólicos (DEY e HARBORNE, 1997).

Muitos compostos fenólicos agem como substâncias de defesa contra herbívoros e patógenos, enquanto outros têm função como atrativos de polinizadores ou dispersores de frutos, na proteção contra a radiação ultravioleta, no suporte mecânico ou reduzindo o crescimento de plantas competidoras adjacentes (TAIZ e ZEIGER 2009). Essas e outras funções realizadas por fenólicos vegetais são essenciais para a continuidade de todas as espécies de plantas vasculares (CROTEAU, KUTCHAN e LEWIS 2000).

Entretanto, os benefícios desta classe de metabólitos secundários não se restringem apenas ao reino vegetal. Compostos fenólicos vêm recebendo atenção especial devido a já relatada atividade biológica como, por exemplo, na terapia de reposição estrogênica (ROSANO *et al.* 2014), na atividade antimicrobiana (DZIRI *et al.* 2012), anti-inflamatória (PÉREZ *et al.* 2014), antiproliferativa e imunoestimulante (NGUYEN *et al.* 2013), antialérgica (KAWAI, *et al.* 2007), vasodilatadora e anti-hipertensiva (LEE *et al.* 2010), antiasmática (JUNG *et al.* 2010), antioxidante (CONDE-HERNÁNDEZ e BELTRÁN, 2014), entre outras. Esta última tem recebido especial interesse nos últimos anos, pois sabe-se que o estresse oxidativo está relacionado com muitas desordens fisiológicas.

## 2.3 ASPECTOS RELACIONADOS AO ESTRESSE OXIDATIVO E À ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

### 2.3.1 Espécies Reativas

Oxidação é uma reação química onde ocorre a perda de um ou mais elétrons para outra substância. O procedimento inverso pode ser considerado como redução (MAHAN e MYERS, 1995). A transferência de elétrons é um dos processos químicos fundamentais para a sobrevivência das células. O efeito colateral dessa dependência é a produção de radicais livres e de outras

espécies reativas (ALVES *et al.* 2010). Espécies reativas (ER) são moléculas ou compostos químicos capazes de gerar danos através de reações de oxidação. Esse é um termo que inclui espécies derivadas do oxigênio, também conhecidas como espécies reativas de oxigênio (EROs), e de outros elementos químicos como o nitrogênio, cloro, ferro, cobre e enxofre (HALLIWELL, 2011). Radicais livres são espécies reativas capazes de existência independente e que possuem ao menos um elétron desemparelhado (JONES, 2008). As espécies reativas podem ser ou não radicais livres.

Sistemas biológicos são expostos a espécies reativas geradas tanto de forma exógena quanto endógena. A respiração mitocondrial é a maior fonte de espécies reativas de forma endógena. É conhecido também que os organismos geram espécies oxidantes em processos fisiológicos regulares como: reações envolvendo enzimas oxidases e durante o funcionamento normal de organelas como peroxissomo e retículo endoplasmático (WINTERBOURN, 2008). Por sua vez, fontes exógenas que estimulam a produção de espécies reativas nas células são: radiação de alta energia, como raios X e ultravioleta, disponibilidade de íons de metais de transição, como ferro e cobre, e o metabolismo de xenobióticos e poluentes (OHARA, 2006).

Há sete espécies reativas principais que danificam as macromoléculas, tanto em alimentos quanto nos organismos vivos. São elas: radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ), radical peroxil ( $ROO^{\cdot}$ ), radical óxido nítrico ( $\cdot NO$ ), oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), peroxinitrito ( $ONOO^{\cdot}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (MACDONALD-WICKS, LWOOD e GARG, 2006). Os radicais livres de oxigênio mais conhecidos são os radicais livres superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e hidroxil ( $HO^{\cdot}$ ) (SCHEIBMEIR *et al.* 2005). O radical superóxido é formado a partir da adição de um elétron ao oxigênio molecular e representa o radical livre mais produzido pelo metabolismo mitocondrial em humanos (SCHEIBMEIR *et al.* 2005). Uma vez produzido, este radical desencadeia uma série de eventos que cria outros radicais (GUTTERIDGE e MITCHELL, 1999). A ação oxidativa direta do radical superóxido sobre os componentes celulares ainda é controversa. É provável que a ação citotóxica desse radical ocorra devido à ação de outras EROs mais reativas e danosas gerados a partir dele como, por exemplo, o peróxido de nitrogênio (VALKO *et al.* 2006). O radical hidroxila é considerado o mais reativo entre as EROs. Ele reage muito próximo ao seu local de origem e logo após

sua formação. Suas principais formas de síntese são a partir das espécies reativas radical superóxido e peróxido de hidrogênio e também a partir da reação de Fenton, utilizando ferro livre e peróxido de hidrogênio ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^\bullet + \text{OH}^-$ ) (VALKO *et al.* 2006). Os radicais hidroxil são deletérios para as células, principalmente por causar a peroxidação lipídica nas membranas e lipoproteínas como LDL (*Low Density Lipoprotein*). Essa última é especialmente relacionada com a formação de placas de aterosclerose (SCHEIBMEIR *et al.* 2005).

Estudos mostram que a espécie reativa de oxigênio, conhecida como peróxido de hidrogênio, ativa várias rotas de sinalização (RHEE *et al.* 2000). Outros mostram que muitas respostas a fatores de crescimento, hormônios e citocinas inflamatórias envolvem sinalização redox (FINKEL, 2003). Muitas rotas dependentes de fosforilação e cálcio, que controlam a transcrição de genes e atividade metabólica, são redox-reguladas (TONKS, 2005). E sabe-se ainda que a produção de espécies reativas por células do sistema imunológico é uma das formas de combater microrganismos invasores (FANG, 2004). Apesar disso, abundantes evidências correlacionam espécies reativas com muitas consequências do envelhecimento e como principais desencadeadoras de enfermidades como doenças cardiovasculares (ELAHI, CHUANG e MATATA 2014), doenças neurodegenerativas (MORÁN *et al.* 2012), inflamações articulares (COMAR *et al.* 2013), diabetes mellitus (RAINS e JAIN, 2011) e câncer (VALKO *et al.* 2006). Assim, podemos concluir que o controle da produção e do consumo de espécies reativas dentro da célula é vital e fundamental (BECHARA, 2002). O estado metabólico onde a síntese de espécies oxidantes é maior do que o seu consumo é conhecido como estresse oxidativo. As células sob estresse oxidativo podem sofrer injúrias à molécula de DNA, nas membranas celulares, nas proteínas, podendo evoluir para graus patológicos mais severos (VALKO *et al.* 2006).

Frente à ação potencial lesiva da produção excessiva de espécies reativas, é fundamental um sistema com atividade preventiva, interceptadora ou reparadora dos sistemas biológicos afetados pelo estresse oxidativo. Essa função é realizada por proteínas, enzimas, vitaminas, alguns metabólitos, fármacos e produtos naturais de plantas, denominados conjuntamente de espécies antioxidantes (BECHARA, 2002).

### 2.3.2 Antioxidantes

No dia-a-dia fala-se cada vez mais em antioxidantes e na sua importância não só na alimentação e saúde como nas indústrias alimentícia, farmacêutica, dos plásticos, dos óleos de lubrificação e em muitas outras áreas (MIGUEL, 2007). Um antioxidante pode ser definido como sendo uma substância que, quando presente em concentrações pequenas comparada as do substrato oxidável, impede ou atrasa significativamente a oxidação do substrato. Nessas condições, uma substância que seja capaz de inibir um agente oxidante específico, que reaja com agentes oxidantes antes que estes danifiquem outras moléculas, que forme complexos com íons metálicos ou que seja mesmo capaz de reparar sistemas danificados por processos oxidativos, pode ser considerada antioxidante (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999; MACDONALD-WICKS, LWOOD e GARG, 2006).

Existem duas categorias básicas de antioxidantes: os sintéticos e os naturais. Antioxidantes sintéticos são compostos com estruturas fenólicas com variados graus de substituintes alquilas (VELIOGLU *et al.* 1998). Antioxidantes sintéticos como butil-hidroxianisol (BHA) e butil-hidroxitolueno (BHT) têm sido usados como antioxidantes desde o início do século. Entretanto, restrições no uso dessas substâncias estão sendo impostas devido aos seus efeitos tóxicos e carcinogênicos (BRANEN, 1975). Assim, a pesquisa por antioxidantes menos nocivos, derivados de fontes naturais, tem recebido muito interesse (YATHONG, HUTADILOK-TOWATABA e PHROMKUNTHONG 2009; DOSS *et al.* 2010).

Antioxidantes naturais podem ser divididos em dois grandes grupos: antioxidantes enzimáticos, de origem endógena, e não enzimáticos, que incluem substâncias tanto de origem endógena quanto exógena (SIES, 1996). Os mais eficientes antioxidantes enzimáticos são a superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase. Antioxidantes não enzimáticos envolvem vitamina C, vitamina E, antioxidantes tiol (glutathione, tioredoxina e ácido lipóico), melatonina, compostos fenólicos, entre outros (VALKO *et al.* 2006).

Os componentes celulares não são protegidos totalmente por antioxidantes endógenos e é bem estabelecido que antioxidantes obtidos da dieta são indispensáveis para a defesa apropriada contra a oxidação e, portanto, têm importante papel na manutenção da saúde. Os incontáveis

benefícios para a saúde associados ao consumo de alimentos de origem vegetal devem-se, em parte, à presença de antioxidantes como vitamina E, vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos nesses alimentos (CERQUEIRA, MEDEIROS e AUGUSTO, 2007).

### 2.3.3 Métodos de Análise da Atividade Antioxidante *in vitro*

Métodos para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas têm se tornado ferramentas usuais e extremamente necessárias na seleção preliminar de plantas para estudos químicos e farmacológicos. Seus resultados nos permitem rejeitar um possível antioxidante, pois um composto que exibe baixa atividade antioxidante *in vitro* provavelmente exibirá pouca atividade *in vivo* (ALVES *et al.* 2010).

Existem muitos métodos analíticos a disposição para avaliar a atividade antioxidante de extratos vegetais. Entretanto, os valores obtidos por diferentes métodos não são comparáveis e isso deve-se a vários fatores: a estrutura física do sistema, a natureza do substrato oxidado, presença de componentes que interagem, o modo de indução da oxidação e o método analítico para quantificar a oxidação (FRANKEL e MEYER, 2000). Portanto, a fim de avaliar e interpretar com um grau de segurança a atividade antioxidante de uma amostra é necessário recorrer a mais de um ensaio antioxidante e considerar o efeito do solvente no mecanismo antioxidante (BECKER, NISSEN e SKIBSTED, 2004).

Pode-se classificar os ensaios antioxidantes *in vitro* dentro de dois distintos grupos: os métodos que avaliam a peroxidação lipídica, no qual um substrato lipídico é usado e o grau de inibição da sua oxidação é avaliado; e aqueles que avaliam a habilidade em reduzir ou “sequestrar” espécies reativas (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Cada um destes métodos apresenta vantagens e desvantagens quanto ao seu uso (KOHEN e NYSKA, 2002). Dentre os métodos que avaliam a peroxidação lipídica está o ensaio de inibição das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) que é um dos testes mais utilizados dentro desta classe de ensaios antioxidantes; ele permite estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa do lipídeo ou a eficácia de um antioxidante (KOHEN e NYSKA, 2002). Entre os ensaios que avaliam a habilidade de compostos reagirem com espécies reativas pode-se citar o

ensaio de redução do radical DPPH<sup>\*</sup>, que é considerado, do ponto de vista metodológico, um dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da atividade antioxidante de amostras vegetais (ALVES *et al.* 2010). Os testes de sequestro dos radicais superóxido e hidroxila são muito relevantes visto que estas espécies reativas são conhecidas por serem produzidas metabolicamente por seres vivos e estão relacionadas com algumas desordens do organismo (HALLIWELL, 1999). Por último, o ensaio do poder redutor de um composto serve como um indicador significativo da sua atividade antioxidante, pois, em geral, um antioxidante exerce sua atividade por quebrar a cadeia de atuação do radical livre via doação de elétrons ou transferência de átomos de hidrogênio (DZIRI *et al.* 2012; SHODEHINDE e OBOH, 2012).

## 2.4 ESPÉCIE VEGETAL EM ESTUDO: *Musa paradisiaca* L.

### 2.4.1 Descrição Botânica e Importância Econômica

A espécie *M. paradisiaca*, conhecida popularmente como bananeira, pertence à família Musaceae. É uma herbácea de grande porte. O caule é um rizoma subterrâneo. A parte aérea (FIGURA 3-A) não é um caule mas sim as bainhas sobrepostas das folhas que são também muito grandes, conhecido como pseudocaule. Ao longo de todo o pseudocaule existe externamente o pedúnculo da inflorescência de cor violácea que é hermafrodita: a base onde se forma o cacho é a parte feminina e a ponta onde fica o coração ou umbigo é masculina (FIGURA 3-B). Dependendo da variedade os frutos terão ou não sementes. Cada cacho pode ter de 50 a 150 frutos. De origem indiana, foi levada para a África e de lá trazida para as Américas Central e do Sul (LIMA, 2008).

É uma espécie vegetal utilizada amplamente tanto pelo valor nutricional quando medicinal. O fruto é conhecido popularmente como banana. O Brasil é o terceiro maior produtor do mundo de banana e é o país com a maior área plantada, 11,6 % do total mundial. Depois da laranja é a segunda fruta mais explorada no país. Alguns aspectos contribuem para que a banana continue sendo a fruta mais comercializada no mundo: a facilidade de propagação, o bom rendimento por hectare, o fato de ser uma cultura de ciclo curto, de produção contínua, de fácil manipulação quando verde, além de fácil armazenamento e maturação rápida (CEPA, 2013).



FIGURA 3 - IMAGENS DAS PARTES AÉREAS DA ESPÉCIE *M. paradisiaca*.  
NOTA: (A) Pseudocaul, folhas, frutos e inflorescência. (B) Detalhes da inflorescência.  
FONTE: (A) Maximo (2010), (B) Xaver (1998) modificados pelo autor (2015).

#### 2.4.2 Usos na Medicina Tradicional

Praticamente todas as partes de *M. paradisiaca* têm alguma aplicação na medicina tradicional (IMAN e AKTER, 2011). A (TABELA 2) ilustra alguns usos etnomedicinais que são relatados na bibliografia de diferentes partes da bananeira.

Essa espécie tem alto valor nutricional e versátil valor medicinal. Frutos, folhas, cascas, raízes, pseudocaul e inflorescências têm sido usados oralmente e topicamente para o tratamento e prevenção de diferentes doenças (NISHA e MINI, 2013), principalmente no combate a desordens gástricas,

cutâneas, respiratórias e diabetes e é considerada uma planta segura, sem contra-indicações e toxicidade nas doses recomendadas (LIMA, 2008).

As inflorescências são utilizadas pelos índios da tribo XOKLENG (Ibirama, SC, Brasil) na formulação de um xarope com propriedades expectorantes para auxiliar o tratamento de doenças respiratórias como tosse, bronquite e asma. De acordo com a tribo XOKLENG, uma inflorescência completa é fatiada e misturada com meio copo de água até ferver e adiciona-se mel para formar um xarope. Esse xarope deve ser tomado quente na posologia de uma colher de sopa, três vezes ao dia (SENS, 2002). Apesar de seu difundido uso medicinal, as inflorescências da bananeira são descartadas durante a colheita do fruto (PAZMIÑO-DURÁN *et al.* 2001).

TABELA 2 - EXEMPLOS DE USOS DE DIFERENTES PARTES DE *M. paradisiaca* NA MEDICINA TRADICIONAL.

Parte Vegetal	Usos Relatados na Medicina Tradicional
Polpa dos frutos	Combate a desordens gástricas como diarreia, disenteria, constipação e lesões intestinais <sup>1,2</sup> . No tratamento de hipertensão e doenças cardíacas <sup>2</sup> e energético em crianças <sup>4</sup> .
Casca dos frutos	No tratamento de queimaduras, traumatismos e nevralgias <sup>1</sup> .
Folhas	No tratamento de queimaduras e outras desordens cutâneas <sup>2,4</sup> .
Seiva do Pseudocaule	Cicatrização de feridas <sup>1</sup> , combate a lepra <sup>4</sup> , hemorroidas <sup>1,4</sup> , picadas de insetos <sup>4</sup> , histeria e epilepsia <sup>4</sup> , tuberculose <sup>1</sup> e febre <sup>4</sup> .
Inflorescências	Tratamento e prevenção de doenças pulmonares como tosse, asma e bronquite <sup>1,3,4</sup> . Combate à disenteria, úlceras estomacais, diabetes e menorragia <sup>3,4</sup> .
Raízes	Anti-helmíntico, tratamento de doenças venéreas e desordens sanguíneas <sup>2</sup> . Tratamento de desordens digestivas <sup>4</sup> .

FONTE: o autor (2015).

NOTA: (1) LIMA (2008), (2) IMAM e AKTER (2011), (3) MAHMOOD, OMAR e NGAH, (2012), (4) KUMAR *et al.* (2012).

### 2.4.3 Estudos Científicos

#### 2.4.3.1 Atividades Biológicas de *M. paradisiaca*

Alguns usos tradicionais dessa espécie já foram corroborados em estudos científicos *in vitro* e *in vivo* e na pesquisa clínica, sendo que a maioria dos estudos foi realizada com o fruto (SENS, 2002; SANTOS *et al.* 2012). Como exemplos da atividade biológica da espécie *M. paradisiaca* pode-se citar

a efetividade do fruto em combater a diarreia (RABBANI *et al.* 2001), a úlcera gástrica (LEWIS, FIELDS e SHAW; 1999), a hiperglicemia (OJEWOLE e ADEWUNMI, 2003), a hipertensão (PERFUMI, MASSI e DE CARO, 1994) e também atuar como agente cicatrizante (AGARWAL *et al.* 2009) e antioxidante (VIJAYAKUMAR, PRESANNAKUMAR e VIJAYALAKSHMI, 2008; SHODEHINDE e OBOH, 2013) *in vivo*. As folhas apresentaram grande atividade em combater agentes patológicos mostrando atividade antimicrobial (ALISI *et al.* 2008), antimalárica (KAOU *et al.* 2008) e antiparasitária (MARIE-MAGDELEINE *et al.* 2010). Para as inflorescências já foram relatadas atividade antimalárica (BAGAVAN *et al.* 2011), galactagoga (MAHMOOD, AOMAR e NGAH 2012), antimicrobial (PADAM *et al.* 2012; JAWLA, KUMAR e KHAN, 2012), hipoglicêmica (JAWLA, KUMAR e KHAN, 2012; NISHA e MINI, 2013), anti-inflamatória (NISHA e MINI, 2013; BOVO, 2013) e antioxidante *in vivo* e *in vitro* (LOGANAYAKI, RAJENDRAKUMARAN e MANIAN, 2010; SHENG *et al.* 2011; PADAM *et al.* 2012; NISHA e MINI, 2013; NISHA e MINI, 2014). A atividade antiasmática *in vivo* e atividade antioxidante *in vitro* foram avaliadas anteriormente pelo grupo NUPPLAMED no estudo de BOVO (2013).

#### 2.4.3.2 Caracterização Fitoquímica de *M. paradisiaca*

No campo da pesquisa que diz respeito à caracterização química dos extratos vegetais alguns trabalhos já identificaram produtos do metabolismo primário e secundário na espécie *M. paradisiaca*. A (TABELA 3) apresenta um resumo dos resultados da caracterização química em diferentes partes desse vegetal.

Como pode ser observado através da pesquisa fitoquímica, a bananeira é rica em compostos bioativos como fibras, flavonoides e taninos que podem estar relacionados com as atividades terapêuticas apresentadas pela espécie (BHASKAR *et al.* 2011).

TABELA 3 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE DIFERENTES PARTES DA ESPÉCIE *M. paradisiaca*.

Parte Vegetal	Compostos Químicos Identificados
Polpa dos Frutos	Celulose, hemicelulose, arginina, ácido aspártico, leucina, valina, fenilalanina e treonina <sup>1</sup> ; leucocianidina <sup>3</sup> ; serotonina, noraepinefrina, triptofano, taninos e amido <sup>5</sup> ; apigenina, miricetina, luteolina, capsaicina, ácido caféico, kampfrol, quercetina, ácido p-hidroxibenzóico, gingerol, isoramnetina <sup>13</sup> .
Casca dos Frutos	Celulose, hemicelulose, arginina, ácido aspártico, leucina, valina, fenilalanina e treonina <sup>1</sup> .
Folhas	Flavonoides, terpenoides, saponinas e polifenólicos <sup>6</sup> , taninos condensados <sup>6,9</sup> , esteroides <sup>9</sup> , rutina <sup>11</sup> .
Inflorescências	Triterpenoide tetracíclico <sup>2</sup> , antocianinas <sup>4,10</sup> , alcalóides <sup>7</sup> , saponinas, flavonoides e esteroides <sup>7,8</sup> ; taninos <sup>7,8,10</sup> , ácido gálico, quercetina e epicatequina <sup>12</sup> e heterosídeos antraquinônicos <sup>10</sup> .

FONTE: o autor (2015).

NOTA: (1) KETIKU (1979), (2) DUTTA, DAS e BANERJI, (1983), (3) LEWIS, FIELDS e SHAW (1999), (4) PAZMIÑO-DURÁN *et al.* (2001), (5) GHANI (2003), (6) MARIE-MAGDELEINE *et al.* (2010), (7) MAHMOOD, NGAH e OMAR (2011), (8) JAWLA, KUMAR e KHAN, (2012), (9) ACCIOLY *et al.* (2012), (10) BOVO (2013), (11) KAPPEL *et al.* (2013), (12) NISHA e MINI (2013), (13) SHODEHINDE e OBOH (2013).

## JUSTIFICATIVA

É evidente a importância das plantas medicinais no cenário farmacológico atual e o interesse e a eficácia comprovada do uso tradicional de plantas no combate e tratamento de doenças frequentes da população. Tendo em vista o difundido uso medicinal, o baixo custo, a facilidade de acesso por todas as camadas da população à espécie *M. paradisiaca* e os escassos estudos fitoquímicos realizados com as suas inflorescências, é de grande importância um estudo que identifique moléculas potencialmente bioativas dessa espécie e investigue suas propriedades biológicas. Esses resultados poderão ser usados para corroborar o uso tradicional como planta medicinal dessa espécie e também em estudos posteriores na procura de novos fitoterápicos.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL

O objetivo geral do presente estudo é caracterizar os metabólitos presentes nas inflorescências da espécie *M. paradisiaca*, dando ênfase ao grupo dos compostos fenólicos, e avaliar a sua atividade antioxidante *in vitro*.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos do presente estudo em relação à espécie *M. paradisiaca* são:

- obter extratos e frações das inflorescências completas e também das brácteas e flores isoladas;
- identificar e quantificar metabólitos extraídos das diferentes amostras das inflorescências com compostos comerciais padrões;
- avaliar a atividade antioxidante *in vitro* das diferentes amostras das inflorescências;
- co-relacionar o conteúdo de compostos fenólicos com a atividade antioxidante observada;
- comparar a caracterização química e a atividade antioxidante entre as diferentes partes das inflorescências;
- contribuir para um melhor conhecimento sobre a caracterização química da espécie e sua atividade antioxidante.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 QUÍMICOS E REAGENTES

As fases móveis de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram preparadas com metanol padrão CLAE da J.T. Baker (9093-03, 99.98 %, Xalostoc, MEX), ácido trifluoroacético (TFA) da Merck ( $\geq 99$  %, Damstadt, DEU) e água tratada em um ultra purificador modelo MS 2000 da marca Gehaka (São Paulo, BR). Os padrões comerciais de CLAE como ácido *p*-cumárico (C9008  $\geq 98$  %), ácido clorogênico (C3878  $\geq 95$  %), ácido ferúlico (128708  $\geq 99$  %), ácido gálico (G7384  $\geq 97.5$  %), ácido sinápico (D7927  $\geq 98$  %), ácido siríngico (S6881  $\geq 95$  %), epicatequina ( $\geq 90$  %), miricetina (M6760  $\geq 96$  %), quercetina (Q4951  $\geq 95$  %) e rutina (R5143  $\geq 94$  %) e outros reagentes como ABAP (cloreto de 2,2' – azo-bis (2-amidinopropano), 440914  $\geq 97$  %), ácido salicílico (247588  $\geq 99$  %), albumina bovina sérica (A4503  $\geq 96-99$  %), BHT (W218405  $\geq 99$  %), *Coomassie Brilliant Blue* G250 (B0770  $\geq 95$  %), D-glucose (G5250  $\geq 97$  %), DPPH<sup>•</sup>, PMS (*phenazine methosulfate*, P9625) e TBA (*thiobarbituric acid*, T5500  $\geq 98$  %) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis-MO, EUA). NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo, 0384-5G) e NBT (*nitro blue tetrazolium*, 0329) foram obtidos da Amresco (OHIO, EUA). Folin-Ciocalteu (F2002920500) foi obtido da Cromato (São Paulo, BR).

#### 3.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

As inflorescências de *M. paradisiaca* foram coletadas em agosto de 2013 no município de Maringá, Paraná, Brasil. Uma exsicata do material vegetal foi depositada no Museu Botânico Municipal de Curitiba-PR (MBM), sendo identificada pelo biólogo Osmar dos Santos Ribas, com o número de registro de MBM: 367379.

### 3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS E DAS FRAÇÕES

#### 3.3.1 Obtenção do Extrato Aquoso-Quente

Para o preparo do extrato aquoso-quente (EHW) foram utilizados 80 g de material vegetal fresco e 200 mL de água destilada. Foram preparados três diferentes extratos aquosos: das inflorescências completas, das brácteas separadas e das flores separadas. A mistura foi submetida à trituração e agitação mecânica por 10 min. O conteúdo foi levado ao banho de água a 70 °C por uma hora. O material foi filtrado em papel e funil Büchner em um sistema de bomba a vácuo. Posteriormente, o solvente foi evaporado do filtrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida a 40 °C. O material obtido foi congelado e liofilizado. Os extratos brutos obtidos foram mantidos em ambiente seco, no escuro, a 4 °C e nomeados de acordo com as siglas descritas a seguir: EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores.

#### 3.3.2 Obtenção do Extrato Hidroalcoólico

Para o preparo do extrato hidroalcoólico (EOH) utilizou-se, nas seguintes proporções, 80 g do material vegetal fresco e 200 mL de etanol 70 % (v/v). Foram preparados três diferentes extratos hidroalcoólicos: das inflorescências completas, das brácteas separadas e das flores separadas. A mistura foi submetida à trituração e agitação mecânica por 10 min. O material resultante dessa preparação foi mantido em maceração em frasco âmbar, fechado, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, com agitações manuais diárias, por 10 dias. O material foi filtrado em papel e funil Büchner em um sistema de bomba a vácuo e concentrado até a evaporação total do etanol em evaporador rotatório sob pressão reduzida a 40 °C. O material obtido foi congelado e liofilizado. Os extratos brutos obtidos foram mantidos em ambiente seco, no escuro, a 4 °C e nomeados de acordo com as siglas descritas a seguir: EOH-I=

extrato hidroalcoólico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcoólico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcoólico das flores.

### 3.3.3 Obtenção do Extrato Metanólico e das Frações

De acordo com a literatura (CECHINEL-FILHO e YUNES, 1997), o metanol é um dos solventes que extrai o maior número de compostos bioativos de plantas. Visto que esses compostos são alvo desse estudo, optou-se por uma extração hidro-metanólica no preparo das frações. As frações foram obtidas a fim de possibilitar a identificação de um maior número de compostos secundários nas inflorescências de *M. paradisiaca*. Para o preparo do extrato metanólico, 2,3 kg de material vegetal fresco foi submetido à trituração e agitação mecânica por 10 min. Em seguida adicionou-se 2,3 L de metanol 80 % (v/v) ao material e este foi mantido em maceração em frasco âmbar, fechado, a temperatura ambiente e ao abrigo da luz, com agitações diárias por inversão, durante 14 dias. O material obtido foi filtrado em papel e funil Büchner em um sistema de bomba a vácuo e concentrado até a evaporação total do metanol em evaporador rotatório sob pressão reduzida a 40 °C. O material obtido foi congelado e liofilizado. O extrato bruto resultante foi submetido ao fracionamento por partição líquido-líquido utilizando solventes com polaridades crescentes, como descrito a seguir.

O extrato metanólico foi ressuspendido em água destilada e fracionado, primeiramente, com *n*-hexano na proporção 3:1 (v/v), em funil de separação e após agitação vigorosa, a fase hexânica foi separada. Este processo foi repetido mais duas vezes. As três partições *n*-hexânicas foram adicionadas a um único frasco e mantidas em capela de exaustão até a completa evaporação do solvente. Na sequência, o extrato residual foi fracionado, respectivamente, com clorofórmio, acetato de etila e *n*-butanol de acordo com o mesmo procedimento realizado com *n*-hexano. A fase acetato de etila foi concentrada separadamente em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, a 40 °C, até aproximadamente 10 mL e posteriormente mantida em capela de exaustão até a completa evaporação do solvente.

As frações resultantes foram pesadas para o cálculo do rendimento e posteriormente mantidas em ambiente seco e ao abrigo da luz. O extrato metanólico bruto e as frações foram nomeados de acordo com as siglas descritas a seguir: EMET-I= extrato metanólico das inflorescências completas, FHEX= fração hexânica, FCLO= fração clorofórmica, FACT= fração acetato de etila e FBUT= fração butanólica.

### 3.4 ANÁLISE FITOQUÍMICA - MARCHA FITOQUÍMICA

Os testes fitoquímicos preliminares foram realizados seguindo a metodologia de Matos (2009). Estes testes são baseados na adição de reagentes específicos diretamente sobre a solução dos extratos, onde é observada a troca na coloração ou a formação de precipitado. Foram realizadas as pesquisas de presença para os seguintes metabólitos: alcaloides (reativo de Dragendorff), aminogrupos (com ninhidrina), antocianinas (pH diferencial), antranóis (com água oxigenada), cumarinas (com hidróxido de sódio e ultravioleta), flavonoides (reação com cloreto de alumínio, Pew e Shinoda), heterosídeos cianogênicos (com papel picro-sódico), polifenóis (com cloreto férrico), quinonas (com hidróxido de potássio), saponinas (formação de espuma permanente com mudança de pH), taninos (reação com gelatina, sais de chumbo, e cloreto férrico) e triterpenoides/esteroides (reação de Lieberman-Burchard).

### 3.5 DOSAGENS ESPECTROFOTOMÉTRICAS

#### 3.5.1 Dosagem de Carboidratos

O teor de carboidratos das amostras foi determinado por meio do teste colorimétrico do fenol-sulfúrico (DUBOIS *et al.* 1956) que se baseia na ação do ácido sulfúrico, desidratando o carboidrato a um composto (furfural ou hidroxifurfural) que reage com o fenol e forma um complexo colorido, o qual é quantificado por espectrofotometria. Para tal, 40  $\mu\text{L}$  de amostra ressuspenida em água ( $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) foi misturada com 40  $\mu\text{L}$  de fenol e 200  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi incubada a 100 °C por 10 min. Após o

resfriamento, uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  foi transferida para uma placa de leitura de 96 poços e foi realizada a verificação da absorvância num espectrofotômetro modelo ELX800 da marca Biotek (Vermont, EUA) a 490 nm. A percentagem glicídica total foi estimada a partir de uma curva padrão de glucose comercial ( $r^2=0,993$ ) com massas de 10 a 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra.

### 3.5.2 Dosagem de Proteínas

A dosagem de proteínas foi realizada através da metodologia de Bradford (1976). Esse ensaio se baseia na coloração das proteínas pelo reagente *Coomassie Brilliant Blue* G250, que pode ser acompanhada por espectrofotometria. Para tal, 100  $\mu\text{L}$  de amostra ressuspendida em água (5  $\text{mg.mL}^{-1}$ ) foi misturada a 5 mL de reagente de Bradford (50 mg *Briliant Blue* G250 + 25 mL etanol 95 % + 50 mL ácido fosfórico 85 % + 425 mL água). Após agitação, uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  foi transferida para uma placa de leitura de 96 poços e foi realizada a verificação da absorvância num espectrofotômetro modelo ELX800 da marca Biotek (Vermont, EUA) a 595 nm. A curva padrão de albumina bovina sérica comercial ( $r^2= 0,911$ ) foi construída a partir de concentrações variadas (10 a 640  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ). O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra.

### 3.5.3 Dosagem de Compostos Fenólicos

A dosagem de compostos fenólicos foi realizada de acordo com o método descrito por Singleton e Rossi Jr. (1965), que avalia o teor de fenólicos a partir da ligação com o reagente de Folin-Ciocalteu. Para tal, 20  $\mu\text{L}$  de amostra ressuspendida em água (5  $\text{mg.mL}^{-1}$ ) foi misturada com 100  $\mu\text{L}$  de reagente Folin-Ciocalteu. Após agitação, adicionou-se 80  $\mu\text{L}$  de solução de carbonato de sódio 7,5 % (m/v) à mistura. A solução foi mantida em estufa a 100 °C por 10 min. Após esfriar, uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  foi transferida para uma placa de leitura de 96 poços e foi realizada a verificação da absorvância num espectrofotômetro modelo ELX800 da marca Biotek (Vermont, EUA) a 760 nm. As absorvâncias foram comparadas com uma curva padrão de ácido gálico

comercial preparado nas concentrações de 31 a 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  ( $r^2= 0,992$ ). O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra.

#### 3.5.4 Dosagem de Flavonoides

A dosagem de flavonoides foi realizada de acordo com Vennat *et al.* (1992) com modificações. Este método utiliza cloreto de alumínio como marcador de flavonoides. Para tal, 3 mL de amostra ressuspensa em água ( $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) foi misturada a 0,2 mL de solução de cloreto de alumínio 5 % (m/v) e a solução foi completada para 10 mL com água destilada. A mistura foi mantida em repouso por 30 min no escuro. Posteriormente, a absorbância das amostras foi lida em espectrofotômetro modelo SP 2000 UV da marca Bel Photonics (Monza, ITA) no comprimento de onda de 425 nm. Rutina comercial a concentrações de 5 a 600  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  foi utilizada para a construção da curva padrão ( $r^2= 0,982$ ). O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra.

#### 3.5.5 Dosagem de Taninos Condensados

A dosagem de taninos condensados foi realizada de acordo com Queiroz, Morais e Nascimento (2002). Este método utiliza vanilina sulfúrica como reagente. Para tal, 1 mL de amostra ressuspensa em água ( $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) foi misturada a 2 mL de solução de vanilina sulfúrica 2 % (m/v). A mistura permaneceu em banho de água a 20 °C por 5 min. Uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  foi transferida para uma placa de leitura de 96 poços e foi realizada a verificação da absorbância num espectrofotômetro modelo ELX800 da marca Biotek (Vermont, EUA) a 500 nm. Utilizou-se epicatequina comercial para a construção da curva padrão em concentrações de 1,25 a 30  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  ( $r^2=0,991$ ). O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra.

#### 3.5.6 Dosagem de Antocianinas

A dosagem de antocianinas dos extratos EOH-I e EOH-B foi realizada através do método do pH diferencial (LEE, DURST e WROLSTAD, 2005). As

absorbâncias das amostras foram mensuradas num espectrofotômetro modelo ELX800 da marca Biotek (Vermont, EUA) a 510 e 700 nm em tampões cloreto de potássio (0,025 M em pH 1,0) e acetato de sódio (1 M em pH 4,5). A diferença nos valores de absorbância em pH 1,0 e pH 4,5 é diretamente proporcional à concentração de antocianinas, com o cálculo baseado na cianidina-3-glicosídeo. A análise foi realizada em triplicata para cada amostra. Para calcular o teor de antocianinas, a seguinte fórmula foi utilizada:

$$TA = \{[(A_{510} - A_{700})_{pH1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH4,5}] \times MM \times D \times 1000\} / \epsilon, \text{ onde} \quad (1)$$

TA= teor de antocianinas (mg.L<sup>-1</sup>).

A= absorbância da amostra no correspondente comprimento de onda.

MM= massa molecular de cianidina-3-glicosídeo (449,2 g.mol<sup>-1</sup>).

D: fator de diluição (1).

$\epsilon$ = absorvidade molar (26.900).

### 3.6 CROMATOGRAFIA EM FASE LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

#### 3.6.1 Método para Caracterização de Compostos Fenólicos

O conteúdo de compostos fenólicos dos extratos brutos e frações FACT e FBUT de *M. paradisiaca* foi analisado utilizando a técnica de cromatografia em fase líquida de alta eficiência utilizando um sistema da Agilent Technologies 1200 Series (St. Clara, CA, EUA) equipado com um degaseificador a vácuo (G1322A), uma bomba quaternária (G1311A) e injetor manual de 20  $\mu$ L (Rheodyne, 7725(i)) acoplado a um multidetector de luz ultravioleta/visível (G1365D) nos comprimentos de onda de 254, 280, 300, 325 a 375 nm. Uma coluna Eclipse XDB-C-18 (150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m) (Agilent) foi utilizada. Foram utilizados como padrões ácido gálico, ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido cumárico, ácido sinápico, ácido siríngico, rutina, quercetina, miricetina e epicatequina. Os padrões foram preparados em soluções estoque solubilizados em metanol na concentração de 1 mg.mL<sup>-1</sup> e suas dissoluções de 0,1 mg.mL<sup>-1</sup> preparadas no momento da análise com metanol aquoso 10 %. As amostras e os padrões foram analisados de acordo com o método descrito por Pavei *et al.*

(2010) com modificações. A separação foi realizada utilizando um gradiente de eluição que consiste nas seguintes fases móveis: água: TFA 0,1 % (v/v) (A) e metanol: TFA 0,1 % (v/v) (B) como segue: 0-10 min., 60 % A; 10-22 min., 40 % A; 22-28 min, 70 % A e 28-30 min., 60 % A. O fluxo foi ajustado para 1 mL.min<sup>-1</sup>. As análises foram realizadas a 23 °C. As amostras, previamente filtradas, foram injetadas (20 µL) em triplicata. Para o controle do sistema e a análise dos dados utilizou-se o programa EZChrom Elite através do Windows 7. Os compostos fenólicos foram identificados comparando seus tempos de retenção aos obtidos dos compostos padrões.

### 3.6.2 Preparo dos Extratos

Com o objetivo de analisar os compostos fenólicos nos extratos brutos de *M. paradisiaca*, foi realizada precipitação etanólica para separar os compostos de alta massa molecular. Para isso, as amostras foram ressuspendidas em água destilada. A solução foi filtrada em sistema de filtração a vácuo para separar os agregados insolúveis formados. Adicionou-se três vezes o volume de etanol P.A. na temperatura de 4 °C e a mistura permaneceu em geladeira *overnight*. No dia seguinte a mistura foi submetida à centrifugação a 4300 rpm por 10 min. O sobrenadante foi concentrado em evaporador rotatório a vácuo por até 40 °C, congelado e liofilizado. Os extratos obtidos foram pesados e mantidos a 4 °C e no abrigo da luz. No dia da análise, os extratos foram solubilizados numa solução de metanol aquoso 10 %, na concentração de 5,0 mg.mL<sup>-1</sup>. Posteriormente, os extratos foram filtrados através de uma membrana de fluoreto de polivinilideno, 0,22 µm da marca JetBiofil (Guangzhou, CHN) e imediatamente submetidos a análise.

### 3.6.3 Sensibilidade Analítica e Dosagem de Rutina e de Ácido Clorogênico

Foram preparadas soluções metanólicas de rutina e de ácido clorogênico comerciais. As diluições foram preparadas utilizando-se água para rutina e metanol aquoso 30 % para ácido clorogênico numa escala de 2,5 a 80 µg.mL<sup>-1</sup>. Cada amostra foi submetida a três análises.

O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram calculados baseados no desvio padrão das áreas, em sextuplicata, da concentração mínima detectável visualmente e na inclinação da curva de calibração, conforme as fórmulas abaixo:

$$\text{LOD} = (3,3 \times \text{DP})/\alpha \quad (2)$$

$$\text{LOQ} = (10 \times \text{DP})/\alpha, \quad (3)$$

onde

DP= desvio padrão da área da concentração mínima detectável visualmente;  
 $\alpha$  = inclinação da curva de calibração.

### 3.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

#### 3.7.1 Redução do Radical Livre DPPH<sup>\*</sup>

A taxa de redução do radical livre DPPH<sup>\*</sup> foi determinada pela metodologia adaptada de Blois (1958). Para tal, 0,1 mL de solução metanólica de DPPH<sup>\*</sup> 1 mM foi incubada com 0,3 mL de solução de amostra (solubilizada em água destilada) ou padrão (solubilizado em etanol), 20 min, no escuro, à temperatura ambiente. Após este período, 200  $\mu\text{L}$  da solução foi transferida para microplaca de 96 poços e a absorbância foi analisada num espectrofotômetro modelo ELX800 da marca Biotek (Vermont, EUA) a 515 nm. Utilizou-se como padrões ácido ascórbico e BHT comerciais. As análises foram realizadas com quatro diferentes concentrações de amostra e de padrões (125, 250, 500 e 1000  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) em triplicata. O DPPH<sup>\*</sup> é um radical livre violeta na sua forma oxidada que quando reduzido ao composto hidrazina torna-se amarelo, diminuindo a absorção a 515 nm. Então a taxa de redução do radical DPPH<sup>\*</sup> em percentagem foi determinada a partir da equação:

$$\text{Taxa Redução DPPH}^* (\%) = \{[A_0 - (A - A_b)]/A_0\} \times 100 \quad (4)$$

onde, A0 é a absorvância da solução DPPH' com água no lugar das amostras; A é a absorvância da solução DPPH' e amostras e Ab é a absorvância das amostras com metanol no lugar da solução DPPH'.

Para o cálculo concentração efetiva de amostra necessária para inibir 50 % da concentração inicial de radicais ( $EC_{50}$ ), foram realizadas análises das amostras em oito diferentes concentrações de 1 a 2000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Para o cálculo do  $EC_{50}$ , dos padrões ácido ascórbico e BHT foram realizadas análises em oito diferentes concentrações, respectivamente: 0,625 a 160  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e 10 a 640  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

### 3.7.2 Análise do Poder Redutor

O poder redutor foi determinado pelo método adaptado de Oyaizu (1986). Para tal, 0,25 mL de amostras (solubilizadas em água destilada) e de padrões comerciais (solubilizados em metanol), preparados em quatro diferentes concentrações (0,5; 1,0; 2,0 e 3,0  $\text{mg.mL}^{-1}$ ), foram unidos a 0,25 mL de tampão fosfato de sódio (0,2 M; pH= 6,6) e 0,25 mL de solução aquosa de ferricianeto de potássio (1 %, m/v). As soluções permaneceram em repouso por 20 min a 50 °C, no escuro e, após o resfriamento foi adicionado 0,25 mL de ácido tricloroacético (10 %, v/v). Desta solução, uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  foi transferida para placa de 96 poços e em seguida foi adicionado 50  $\mu\text{L}$  de cloreto férrico 0,1 % (m/v) para a revelação. O ensaio foi analisado num espectrofotômetro modelo ELX800 da marca Biotek (Vermont, EUA) a 700 nm. Esse ensaio se baseia no fato de substâncias com poder de redução serem capazes de reduzir o ferro na forma férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dando origem a forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ), o qual reage com o cloreto férrico formando um complexo com absorção máxima a 700 nm. Dessa forma, quanto maior a absorvância, maior o poder redutor da amostra testada.

Os resultados do poder redutor das amostras de *M. paradisiaca* foram comparados aos padrões comerciais ácido ascórbico e quercetina.

### 3.7.3 Sequestro do Radical Livre Hidroxila (HO<sup>•</sup>)

A capacidade de inibição de radicais hidroxila foi determinada a partir do método de Halliwell e Gutteridge (1984) com modificações. O método se baseia na produção de radicais HO<sup>•</sup> via reação de Fenton (0,2 mL de peróxido de hidrogênio 8,8 mM e 0,2 mL de sulfato ferroso 6 mM). Em seguida, 0,2 mL de amostra (solubilizadas em água destilada) e padrões comerciais (solubilizados em água destilada) preparados em quatro diferentes concentrações (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.mL<sup>-1</sup>) foram adicionados à solução que após agitação foi mantida em repouso por 20 min à temperatura ambiente. Posteriormente, 0,2 mL de ácido salicílico 6 mM foi adicionado e em seguida uma alíquota de 0,2 mL foi transferida para uma placa de 96 poços e sua absorbância foi analisada num espectrofotômetro modelo ELX800 da marca Biotek (Vermont, EUA) a 510 nm. Utilizou-se como padrão ácido ascórbico e ácido gálico. A taxa de sequestro em percentual de radicais hidroxila é obtida a partir da equação:

$$\text{Taxa de Sequestro HO}^{\bullet} (\%) = \{[A_0 - (A - A_b)]/A_0\} \times 100 \quad (5)$$

onde A<sub>0</sub> é a absorbância da solução (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>, ácido salicílico) com água no lugar das amostras; A é a absorbância da solução (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>, ácido salicílico) e amostras e A<sub>b</sub> é a absorbância das amostras sem a solução (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>, ácido salicílico).

Para o cálculo do EC<sub>50</sub>, foram realizadas análises das amostras em seis diferentes concentrações de 500 a 5000 µg.mL<sup>-1</sup>. Para o cálculo do EC<sub>50</sub>, do padrão ácido ascórbico foram realizadas análises em oito diferentes concentrações de 100 a 800 µg.mL<sup>-1</sup>.

### 3.7.4 Sequestro do Radical Livre Superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)

A taxa de sequestro do radical superóxido foi determinada pelo método de Nishikimi, Rao e Yagi (1972) com modificações. Neste ensaio o radical O<sub>2</sub><sup>•-</sup> é gerado de forma não enzimática através da reação do PMS na presença de NADH e oxigênio molecular. O radical superóxido gerado reduz o NBT a formazan. A síntese de formazan gera uma coloração púrpura, que é

acompanhada espectrofotometricamente a 560 nm. O antioxidante adicionado ao sistema é capaz de reagir com o  $O_2^{\cdot-}$  inibindo a produção de formazan. As amostras e o padrão comercial ácido ascórbico foram solubilizados em tampão Tris-HCl pH 8,0 e preparados nas seguintes concentrações: 0,5; 1,0 e 2,0 mg.mL<sup>-1</sup>. Em seguida, 900 µL de cada amostra e padrão foram misturados a 20 µL de NBT e a 20 µL de PMS. A solução foi agitada e mantida em repouso por 2 minutos. Em seguida foram adicionados 60 µL de NADH. As concentrações finais de NBT, PMS e NADH foram 72 µM, 30 µM e 338 µM, respectivamente. A concentração final de NADH foi calculada a partir da lei de Beer-Lambert ( $A=\epsilon.c.l$ ) utilizando espectrofotômetro modelo SP 2000 UV da marca Bel Photonics (Monza, ITA) a 340 nm e coeficiente de extinção molar,  $\epsilon= 6220$  L/mol/cm.

Após agitação, a leitura da absorbância máxima a 560 nm foi realizada em espectrofotômetro modelo SP 2000 UV da marca Bel Photonics (Monza, ITA) e a percentagem de radicais superóxido sequestrados foi obtida a partir da seguinte equação:

$$\text{Taxa de Sequestro } O_2^{\cdot-} (\%) = \{[A_0 - (A - A_b)]/A_0\} \times 100 \quad (6)$$

onde  $A_0$  é a absorbância da solução com água no lugar das amostras;  $A$  é a absorbância da solução com as amostras e  $A_b$  é a absorbância da solução com tampão Tris-HCl no lugar de NADH.

Para o cálculo do  $EC_{50}$ , foram realizadas análises das amostras em oito diferentes concentrações de 0,5 a 4 mg.mL<sup>-1</sup>.

### 3.7.5 Inibição da Peroxidação Lipídica (TBARS)

A capacidade das amostras em inibir a peroxidação lipídica foi avaliada através do ensaio TBARS de acordo com o método adaptado de Morais *et al.* (2009) e descrita originalmente por Kishida *et al.* (1993). Este ensaio tem como princípio a quantificação dos produtos secundários, como o malonaldeído e outros aldeídos, pela peroxidação induzida dos ácidos graxos poli-insaturados presentes na gema do ovo. Os produtos secundários da peroxidação lipídica reagem com o ácido tiobarbitúrico formando um complexo colorido, o qual pode

ser acompanhado espectrofotometricamente. Para tal, em tubos de ensaio com tampa foram adicionados: 125  $\mu\text{L}$  de solução de gema de ovo 10 % (m/v) solubilizada em solução aquosa de *sodium dodecyl sulfate* (SDS) a 1,1 % (m/v); 25  $\mu\text{L}$  de solução aquosa de amostra e padrões ácido ascórbico e BHT em três diferentes concentrações (0,1; 0,5 e 1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ); 100  $\mu\text{L}$  de água destilada; 12,5  $\mu\text{L}$  de solução aquosa de ABAP a 0,07  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; de ácido acético glacial aquoso 20 % (v/v) e 375  $\mu\text{L}$  de solução de TBA 0,8 % (m/v) em SDS. A mistura foi agitada e incubada em banho de água fervente por uma hora. Após resfriamento da mistura, adicionou-se 1,25 mL de butanol a cada tubo de ensaio. A mistura foi agitada e mantida em repouso por 10 min. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 3000 rpm por 10 min. Alíquota de 200  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foi transferida para uma placa de leitura de 96 poços e submetidos a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 532 nm. Cada amostra foi analisada em triplicata. A taxa de inibição, em percentagem, da peroxidação lipídica foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{Taxa de Inibição (\%)} = \{[A_0 - (A - A_b)]/A_0\} \times 100 \quad (7)$$

onde  $A_0$  é a absorbância da solução com água destilada no lugar das amostras;  $A$  é a absorbância da solução com as amostras e  $A_b$  é a absorbância da solução com água destilada no lugar de ABAP.

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das dosagens quantitativas e das atividades antioxidantes dos extratos de *M. paradisiaca* foram submetidos ao teste análise de variância de uma via (ANOVA *one-way*), seguido do teste *post-hoc* de múltiplas comparações e teste de Fisher LSD para comparação das médias. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão de no mínimo três experimentos. Foram considerados estatisticamente significativos os valores comparados ao nível de significância  $p \leq 0,05$ .

Foi calculado o  $\text{EC}_{50}$  (concentração efetiva de amostra necessária para inibir 50% da concentração inicial de radicais) nos ensaios de inibição do radical DPPH, radical hidroxil e radical superóxido. Para tal foi realizada a

linearização das médias de percentagem de inibição (pelo menos quatro médias diferentes para cada ensaio) a partir da confecção do seguinte gráfico: ln da concentração *versus* % de radical inibido. A partir da equação da reta linearizada obtida ( $r^2 \geq 0,95$ ) foi calculado o  $EC_{50}$ .

A fim de verificar se existe correlação entre a dosagem de fenólicos e a atividade antioxidante ( $EC_{50}$ ), foi aplicado o teste de correlação de Pearson. Foram considerados estatisticamente significativos os valores comparados ao nível de significância  $p \leq 0,05$ .

Os análises foram realizadas através do programa StatSoft Statistica 8.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 RENDIMENTOS DOS EXTRATOS E DAS FRAÇÕES DE *M. paradisiaca*

Os rendimentos dos extratos aquosos e hidroalcoólicos e das frações das inflorescências de *M. paradisiaca* estão apresentados na (TABELA 4).

TABELA 4 - RENDIMENTOS DOS EXTRATOS BRUTOS E DAS FRAÇÕES DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca*.

<b>Amostra</b>	<b>Massa Inicial (g)</b>	<b>Massa Final (g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
EHW-I	1000	19,1	1,9
EHW-B	1000	16,4	1,6
EHW-F	1000	20,2	2
EOH-I	1400	25,7	1,8
EOH-B	1000	19,4	1,9
EOH-F	300	4,2	1,4
EMET-I	2300	27,6	1,2
FHEX	27,6	0,04	0,1
FCLO	27,6	0,14	0,5
FACT	27,6	0,16	0,6
FBUT	27,6	0,96	3,5

FONTE: o autor (2015).

NOTA: rendimentos em percentuais calculados em relação à massa do vegetal fresco para os extratos brutos e em relação à massa do extrato metanólico, para as frações. A massa é apresentada em gramas. EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcoólico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcoólico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcoólico das flores, EMET-I= extrato metanólico das inflorescências completas, FHEX= fração hexânica, FCLO= fração clorofórmica, FACT= fração acetato de atila, FBUT= fração butanólica.

Os rendimentos dos extratos aquosos e hidroalcoólicos foram calculados em relação à massa do vegetal fresco. Os resultados dos rendimentos variaram entre 1,2 a 2 %. Esse baixo rendimento é esperado, visto que aproximadamente 92 % do conteúdo das inflorescências frescas de *M. paradisiaca* é composto por água (SILVA, SARTORI e OLIVEIRA, 2014).

Os rendimentos das frações do extrato metanólico foram calculados em relação à massa do extrato bruto metanólico liofilizado. A fração de maior rendimento foi aquela onde se utilizou butanol como solvente. Pode-se observar que há um aumento do rendimento à medida que aumenta a

polaridade do solvente, evidenciando o teor polar dos compostos do extrato metanólico.

#### 4.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA - MARCHA FITOQUÍMICA

A análise fitoquímica qualitativa dos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* está apresentada na (TABELA 5).

TABELA 5 - ANÁLISE FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca*.

Compostos	EHW-I	EHW-B	EHW-F	EOH-I	EOH-B	EOH-F
<b>Alcaloides</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Amino Grupos</b>	+	+	+	+	+	+
<b>Antocianinas</b>	-	-	-	+	+	-
<b>Antranois</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Cumarinas</b>	+	+	+	+	+	+
<b>Heterosídeos Cianogênicos</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Flavonoides</b>	+	+	+	+	+	+
<b>Polifenóis</b>	+	+	+	+	+	+
<b>Quinonas</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Saponinas</b>	-	+	+	-	+	+
<b>Taninos</b>	+	+	+	+	+	+
<b>Triterpenos/Esteroides</b>	-	-	+	+	+	+

FONTE: o autor (2015).

NOTA: resultado + = reação positiva. Resultado - = reação negativa. Metodologia: Matos (2009). EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcolólico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcolólico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcolólico das flores.

Todos os extratos brutos das inflorescências de *M. paradisiaca* apresentaram reação positiva para a presença de polifenóis, flavonoides, taninos, cumarinas e aminogrupos. Esses resultados estão de acordo com os resultados apresentados em estudos anteriores realizados com as inflorescências desta espécie. Aminogrupos já haviam sido identificados no extrato aquoso das inflorescências completas de acordo com o estudo de Bovo (2013), assim como flavonoides foram identificados também por Jawla, Kumar e Khan (2012) no extrato etanólico das flores e por Nisha e Mini (2013) no extrato metanólico das inflorescências. Taninos foram identificados também por

Jawla, Kumar e Khan (2012) e Bovo (2013) no extrato etanólico das flores e aquoso das inflorescências, respectivamente.

O grupo dos triterpenos/esteroides se revelou presente em todos os extratos hidroalcoólicos e também no extrato aquoso das flores. Conhecidos esteroides e triterpenos foram identificados no extrato clorofórmico de flores no estudo de Dutta, Das e Banerji (1983) e um novo triterpenoide tetracíclico foi isolado e identificado nesse mesmo estudo. Jawla, Kumar e Khan (2012) também identificaram a presença de esteroides no extrato etanólico das flores. Terpenos compreendem um amplo número de compostos. Possuem uma vasta gama de atividades biológicas como: antitumoral, antiviral, antidiabética, antiinflamatória, antimicrobial, antiparasitária, cicatrizante, gastroprotetiva, entre outras (SHENG e SUN, 2011).

O grupo das saponinas foi identificado apenas nos extratos das brácteas e flores, em ambos os tipos de extrações, não sendo detectadas nos extratos das inflorescências completas. Saponinas também foram identificadas por Jawla, Kumar e Khan (2012) no extrato etanólico das flores. Saponinas pertencem a classe dos terpenos dentro do grupo dos metabólitos secundários e são um dos mais numerosos e diversificados grupos de produtos naturais de plantas. Possuem atividades biológicas relatadas como anti-inflamatória, antiviral, antimicrobial, antioxidante, anticâncer, imunomodulatória, hepatoprotetiva, cardioprotetiva, entre outras (OSBOURN, GOSS e FIELD, 2011).

O ensaio para antocianinas revelou a presença desse grupo apenas nos extratos hidroalcoólicos das inflorescências e das brácteas. Antocianinas também foram identificadas no extrato metanólico das brácteas, no estudo de Pazmiño-Durán *et al.* (2001), e no extrato aquoso das inflorescências, no estudo de Bovo (2013). Antocianinas são reconhecidas pelos seus benefícios à saúde (LILA, 2004) que serão discutidos posteriormente.

Cumarinas não haviam sido identificadas nos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* em nenhum estudo até o presente momento. Cumarinas pertencem a uma ampla classe de compostos vegetais, sendo encontradas também em fungos e bactérias (HOULT e PAYÁ, 1996). Esse grupo de compostos naturais tem atraído bastante interesse devido às inúmeras atividades biológicas relatadas como: antitumoral, anticoagulante,

antinflamatória, antioxidante (HOULT e PAYÁ, 1996; BORGES *et al.* 2005b) e ainda anti-HIV, antimicrobial, vasodilatadora e ativadora do sistema nervoso central (BORGES *et al.* 2005b).

Alcaloides, antranois, heterosídeos cianogênicos e quinonas não foram identificados nos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* através dos ensaios fitoquímicos realizados.

Visto que todos os grupos de compostos químicos identificados na marcha fitoquímica possuem atividade terapêutica, é provável que esses compostos estejam relacionados com as atividades biológicas relatadas para as inflorescências de *M. paradisiaca*.

#### 4.3 DOSAGENS ESPECTROFOTOMÉTRICAS

Os resultados das dosagens colorimétricas realizadas com os extratos brutos e as frações FACT e FBUT de *M. paradisiaca* estão apresentados na (TABELA 6). Dentre as frações do extrato metanólico, foram realizadas dosagens de compostos fenólicos e flavonoides apenas nas frações FACT e FBUT pois elas apresentam compostos de maior polaridade. Os extratos EOH-I e EOH-B foram os únicos que apresentaram resultado positivo para antocianinas no ensaio qualitativo, portanto foram os únicos submetidos dosagem desse grupo.

##### 4.3.1 Dosagem de Carboidratos e de Proteínas

Quanto ao teor de carboidratos, os extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* apresentaram resultados que variaram de 14 a 42 %. Pode-se observar que não houve diferença significativa entre os resultados dos extratos EOH-B, EHW-I e EHW-B que apresentaram as maiores dosagens de carboidratos, seguidos em ordem decrescente por EHW-F, EOH-I e EOH-F. O teor de proteínas apresentou-se baixo e estatisticamente semelhante entre todos os extratos, variando entre 4,8 a 6,8 %.

TABELA 6 - ANÁLISE FITOQUÍMICA QUANTITATIVA DE EXTRATOS E DE FRAÇÕES DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca*.

Amostra	Carboidratos (%)	Proteínas (%)	Fenólicos (%)	Flavonoides (%)	Taninos Condensados (%)	Antocianinas (%)
<b>EHW-I</b>	35,2±5,0 <sup>c</sup>	4,8±0,9 <sup>a</sup>	3,5±0,7 <sup>d</sup>	0,3±0,09 <sup>e</sup>	0,08±0,005 <sup>c</sup>	nd
<b>EHW-B</b>	38,1±4,3 <sup>c</sup>	5,3±1,9 <sup>a</sup>	2,2±0,2 <sup>de</sup>	0,3±0,06 <sup>e</sup>	0,07±0,008 <sup>d</sup>	nd
<b>EHW-F</b>	26,6±0,6 <sup>a</sup>	6,3±1,7 <sup>a</sup>	1,5±0,4 <sup>e</sup>	0,3±0,1 <sup>e</sup>	0,1±0,001 <sup>b</sup>	nd
<b>EOH-I</b>	14,0±2,7 <sup>b</sup>	6,8±2,2 <sup>a</sup>	2,6±0,1 <sup>de</sup>	2,5±0,08 <sup>a</sup>	0,2±0,004 <sup>e</sup>	0,05±0,01 <sup>a</sup>
<b>EOH-B</b>	42,3±6,5 <sup>c</sup>	6,7±2,1 <sup>a</sup>	2,1±0,4 <sup>de</sup>	1,4±0,2 <sup>d</sup>	0,2±0,006 <sup>e</sup>	0,04±0,003 <sup>a</sup>
<b>EOH-F</b>	17,4±5,3 <sup>b</sup>	5,9±2,3 <sup>a</sup>	5,5±0,7 <sup>c</sup>	1,0±0,1 <sup>c</sup>	0,3±0,007 <sup>a</sup>	nd
<b>FBUT</b>	nd	Nd	9,4±2,0 <sup>b</sup>	1,6±0,1 <sup>b</sup>	nd	nd
<b>FACT</b>	nd	Nd	16±1,5 <sup>a</sup>	1,3±0,1 <sup>d</sup>	nd	nd

FONTE: o autor (2015).

NOTA: percentagem equivalente à massa do extrato bruto liofilizado. Os dados são apresentados como média±desvio padrão dos ensaios em triplicata. Diferentes letras em cada coluna representam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras de acordo com o teste de Fisher LSD ( $p \leq 0,05$ ). Carboidratos: % equivalente à glucose (DUBOIS *et al.* 1956); proteínas: % equivalente à albumina bovina sérica (BRADFORD, 1976); fenólicos: % equivalente ao ácido gálico (SINGLETON e ROSSI JR. 1965); flavonoides: % equivalente à rutina (VENNAT *et al.* 1992); taninos condensados: % equivalente à epicatequina (QUEIROZ, MORAIS e NASCIMENTO, 2002); antocianinas: % equivalente à cianidina-3-glucosídeo (LEE, DURST e WROLSTAD, 2005); (nd) dosagem não determinada. EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcolóico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcolóico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcolóico das flores, FACT= fração acetato de atila, FBUT= fração butanólica.

#### 4.3.2 Dosagem de Compostos Fenólicos

O teor de compostos fenólicos entre os extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* variou entre 1,5 a 5,5 %, ou seja, 15 a 55 mg de equivalente a ácido gálico (EAG) por grama de extrato bruto. O teor de fenólicos das frações FACT e FBUT foi significativamente maior do que os extratos, apresentando como resultados, respectivamente, 9,4 a 16 %, ou seja 94 a 160 mg de EAG por grama extrato bruto.

Comparando o presente estudo com aqueles realizados previamente e que utilizaram o mesmo método de dosagem de compostos fenólicos, pode-se considerar que esses resultados são maiores do que o apresentado por Sheng *et al.* (2011) (6,58 mg de EAG por grama de extrato etanólico das flores) e semelhante ao apresentado por Loganayaki, Rajendrakumaran e Manian (2010) (14 mg de EAG por grama do extrato das inflorescências). Padam *et al.* (2012), também analisou o teor de fenólicos das brácteas e das flores separadamente e, assim como no presente estudo, encontrou que o extrato das flores exhibe mais teor de fenólicos do que as brácteas nos extratos hidroalcoólicos. O conteúdo de fenóis nos diferentes extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* no estudo de Padam *et al.* (2012) também variou entre 1 a 125 mg de EAG por grama de extrato. O conteúdo de fenólicos nos extratos da polpa dos frutos (0,89 a 1,09 mg de EAG por grama de extrato, de acordo com Shodehinde e Oboh, 2013) e do pseudocaule (0,4 a 1,2 mg de EAG por grama de extrato, de acordo com Loganayaki, Rajendrakumaran e Manian (2010) se mostraram inferiores aos encontrados nos extratos das inflorescências no presente estudo.

Cai *et al.* (2004) avaliaram o conteúdo de fenólicos de 162 plantas medicinais chinesas associadas a atividade anticancerígena. O conteúdo de fenóis encontrado nos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* no atual estudo foi superior ao encontrado em 63 vegetais dessa lista, dentre eles o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe.) e o açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.) que são plantas amplamente reconhecidas pelos seus fins terapêuticos (ARAÚJO e LEON, 2001; ALI *et al.* 2008). Velioglu *et al.* (1998) avaliaram o conteúdo fenólico de 28 espécies, entre eles frutas, vegetais e produtos derivados de grãos. O conteúdo fenólico dos extratos de *M. paradisiaca* no

presente estudo foi superior ao de 10 espécies. Considerando apenas o conteúdo fenólico do extrato EOH-F, esse foi superior aos resultados encontrados em vegetais que são conhecidos por suas propriedades nutracêuticas como o mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.), a cereja-doce (*Prunus avium* L.), o ginseng (*Panax* sp.), o germem de trigo (*Triticum* sp.) e a semente de linhaça (*Linum usitassinum* L.).

Compostos fenólicos são normalmente encontrados em plantas comestíveis e não comestíveis e é relatado que possuem múltiplos efeitos biológicos, incluindo atividade antioxidante, antimutagênica e anticarcinogênica em humanos (KUMARAN e KARUNAKARAN, 2007). Visto que as inflorescências de *M. paradisiaca* são ricas em fenólicos, é provável que suas atividades biológicas estejam relacionadas com esse grupo de compostos secundários.

#### 4.3.3 Dosagem de Flavonoides

O teor de flavonoides nos extratos e nas frações das inflorescências de *M. paradisiaca* variou de 0,3 a 2,5 %, ou seja, 3 a 25 mg de equivalente a rutina (ERU) por grama de extrato bruto. O conteúdo de flavonoides foi significativamente maior nos extratos hidroalcoólicos comparado com os aquosos, provando que um sistema de solvente utilizando a mistura de etanol e de água é mais eficiente em extrair flavonoides.

O conteúdo de flavonoides no presente estudo se mostrou maior do que o apresentado em estudos anteriores com *M. paradisiaca* como o apresentado por Sheng *et al.* (2011) de 0,05 mg de equivalente a catequina por grama de extrato etanólico das flores e por Shodehinde e Oboh (2013) de 0,48 a 0,73 mg de equivalente a quercetina por grama de extrato bruto no extratos aquosos da polpa dos frutos. Entretanto, os resultados de dosagem de flavonoides nas inflorescências de *M. paradisiaca* no presente estudo são menores do que aqueles apresentados nos extratos hexânico e metanólico da casca dos frutos pela espécie *M. acuminata* (SINGHAL e RATRA, 2013) que foram, respectivamente, 71 e 75 mg de ERU por grama de extrato.

Liu *et al.* (2008) avaliaram o conteúdo de flavonoides de 68 plantas utilizadas para fins medicinais e alimentares na China. As inflorescências de *M.*

*paradisiaca* no presente estudo mostraram conteúdo de flavonoides superior a 47 plantas dessa lista, entre elas a pimenta-preta (*Piper nigrum* L.), o grão de soja (*Glycine max* L.) e o ginkgo (*Ginkgo biloba* L.), que são conhecidas por suas propriedades medicinais (KLEIJNEN e KNIPSCHILD, 1992; VIJAYAKUMAR, PRESANNAKUMAR e VIJAYALAKSHMI, 2008; AHMAD *et al.* 2014).

Flavonoides pertencem ao grupo dos compostos fenólicos naturalmente presentes na maioria dos vegetais comestíveis e eles têm o potencial de prover múltiplos benefícios à saúde (JAGTAP, PANASKAR e BAPAT; 2010). De acordo com os resultados apresentados no presente estudo, pode-se inferir que as inflorescências de *M. paradisiaca* são boas fontes de flavonoides. Portanto, é provável que suas atividades biológicas estejam relacionadas com essa classe de fenólicos.

#### 4.3.4 Dosagem de Taninos Condensados

O conteúdo de taninos condensados nas inflorescências de *M. paradisiaca* variou de 0,07 a 0,1 % no extrato aquoso e de 0,1 a 0,3 % no extrato hidroalcolico, o que é aproximado aos resultados relatados por Marie-Magdeleine *et al.* (2014) que utilizaram o mesmo método de dosagem do presente estudo e encontraram 0,05 % de taninos condensados no extrato aquoso das folhas, porém é inferior ao resultado apresentado para o extrato metanólico das folhas no mesmo estudo que foi de 2,54 %. Os resultados do presente estudo também são inferiores aos encontrados na fração da parede celular da polpa dos frutos de *M. acuminata* por Bennett *et al.* (2010) que encontraram valores de 3,7 a 25,9 % de taninos condensados analisando diferentes cultivares dessa espécie de banana, utilizando um método de dosagem diferente do atual estudo. Portanto, de acordo com os estudos realizados até o presente momento, pode-se inferir que as inflorescências de *M. paradisiaca* apresentam um baixo teor de taninos condensados.

#### 4.3.5 Dosagem de Antocianinas

O conteúdo de antocianinas dos extratos EOH-I e EOH-B foi, respectivamente, 46 e 42 mg de equivalente a cianidina-3-glucosídeo (ECIG) por 100 g extrato seco. Esse resultado é inferior ao encontrado no extrato das brácteas de *M. paradisiaca* por Pazmiño-Durán *et al.* (2001), que quantificaram 250 mg de ECIG por 100 g de extrato seco, utilizando o mesmo método de dosagem que o presente estudo. É importante salientar que o estudo preliminar citado foi realizado no extrato metanólico ácido, que é a forma mais eficiente de se extrair antocianinas. Portanto, é muito provável que essas diferenças nos valores de dosagens de antocianinas devam-se às diferenças nas técnicas de extração.

De acordo com Pazmiño-Durán *et al.* (2001), as brácteas de *M. paradisiaca* apresentam um grande potencial como uma fonte econômica de pigmentos naturais devido à presença de seis diferentes tipos de antocianinas: pelagonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvinidina. Antocianinas são metabólitos secundários que fazem parte do grupo dos flavonoides. Elas ocorrem no reino vegetal proporcionando as cores vermelho ao laranja brilhante e azul ao violeta em muitos frutos, flores e alimentos a base de vegetais (WALLACE, 2011). Além do valor econômico, antocianinas são reconhecidas pelos seus benefícios à saúde. Entre inúmeros exemplos, elas podem prover proteção contra danos ao DNA, diminuir a permeabilidade e fragilidade capilar, inibir a peroxidação lipídica e com isso proteger a membrana celular (LILA, 2004).

### 4.4 CROMATOGRAFIA EM FASE LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

#### 4.4.1 Perfil Cromatográfico dos Compostos Fenólicos Padrões

A (FIGURA 4) apresenta o resultado do perfil cromatográfico dos compostos padrões a 254 nm.

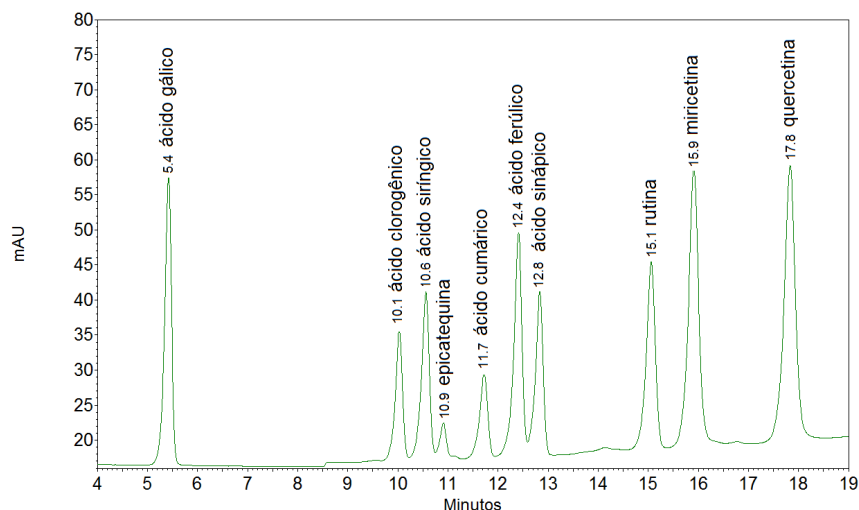


FIGURA 4 - PERFIL DE CLAE DETECTADO A 254 nm DOS COMPOSTOS FENÓLICOS PADRÕES.

FONTES: o autor (2015).

NOTA: Coluna: Eclipse XDB-C-18, 150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m. Solvente A: 0,1 % TFA, 99,9 % água; B: 0,1 % TFA, 99,9 % metanol. Gradiente de eluição: : 0-10 min., 60 % A; 10-22 min., 40 % A; 22-28 min, 70 % A e 28-30 min., 60 % A. Fluxo: 1.0 mL.min<sup>-1</sup>. Volume de injeção: 20  $\mu$ L. Os tempos de retenção estão apresentados como a média aritmética em min de três injeções.

#### 4.4.2 Perfil Cromatográfico dos Compostos Fenólicos dos Extratos e das Frações de *M. paradisiaca*

As (FIGURAS 5 a 12) apresentam, respectivamente, os resultados do perfil de compostos fenólicos nos extratos aquosos, nos extratos hidroalcoólicos e nas frações das inflorescências de *M. paradisiaca*. Comparando os tempos de retenção dos compostos padrões com os tempos de retenção dos picos presentes nos extratos e nas frações, pode-se sugerir a identificação dos ácidos fenólicos denominados: ácido clorogênico (presente em EHW-I, EOH-B, FACT e FBUT), ácido cumárico (presente em EHW-I, EOH-B e FACT), ácido ferúlico (presente em EHW-I e EOH-B) e ácido sinápico (ausente apenas em EHW-I e FBUT); e dos flavonoides denominados: rutina (presente em todos os extratos e frações), miricetina (presente apenas em EOH-F) e epicatequina (presente apenas em FBUT). Os demais picos não nomeados não foram possíveis de identificação devido aos seus pontos de retenção não corresponderem àqueles dos padrões utilizados.

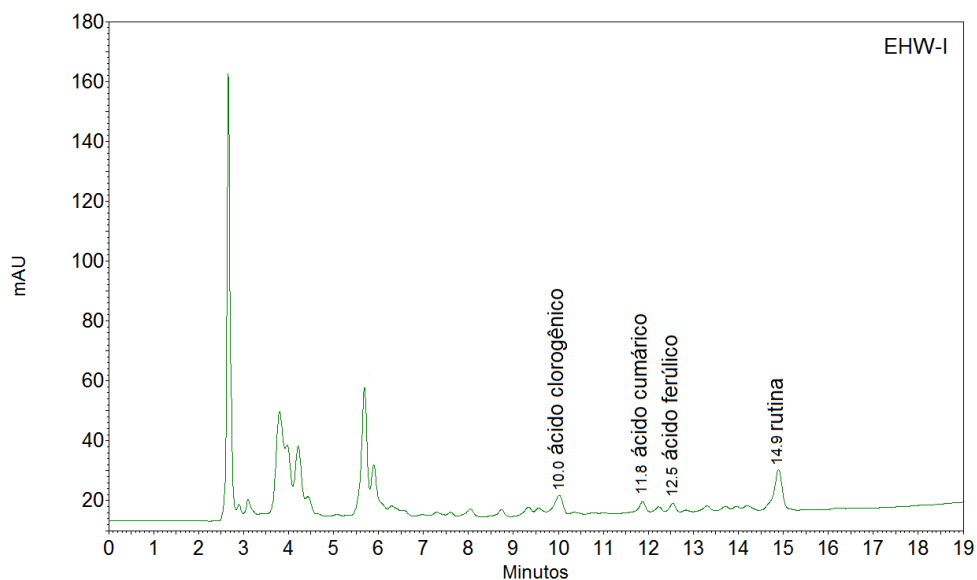


FIGURA 5 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO AQUOSO DAS INFLORESCÊNCIAS DE *M. paradisiaca*.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: Coluna Eclipse XDB-C-18, 150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m. Solvente A: 0,1 % TFA, 99,9 % água; B: 0,1 % TFA, 99,9 % metanol. Gradiente de eluição: 0-10 min., 60 % A; 10-22 min., 40 % A; 22-28 min, 70 % A e 28-30 min., 60 % A. Fluxo: 1.0 mL.min<sup>-1</sup>. Volume de injeção: 20  $\mu$ L. Os tempos de retenção estão apresentados como a média aritmética em min de três injeções. Picos não nomeados são desconhecidos.

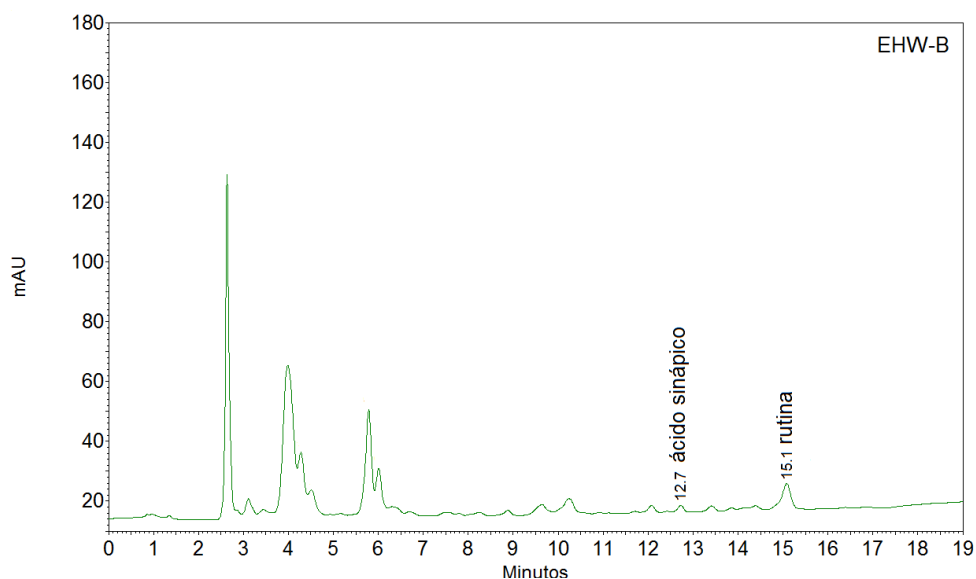


FIGURA 6 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO AQUOSO DAS BRÁCTEAS DE *M. paradisiaca*.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: Coluna Eclipse XDB-C-18, 150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m. Solvente A: 0,1 % TFA, 99,9 % água; B: 0,1 % TFA, 99,9 % metanol. Gradiente de eluição: 0-10 min., 60 % A; 10-22 min., 40 % A; 22-28 min, 70 % A e 28-30 min., 60 % A. Fluxo: 1.0 mL.min<sup>-1</sup>. Volume de injeção: 20  $\mu$ L. Os tempos de retenção estão apresentados como a média aritmética em min de três injeções. Picos não nomeados são desconhecidos.

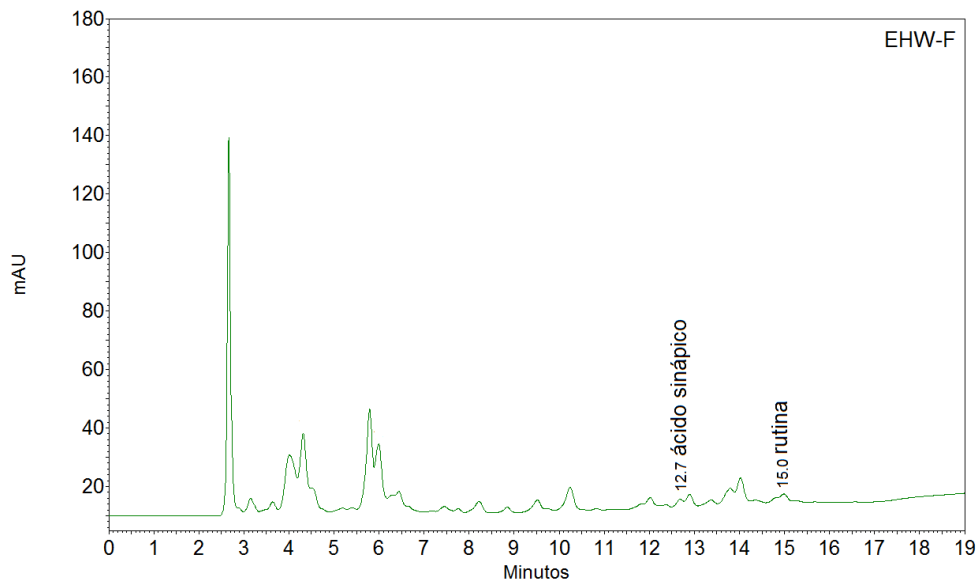


FIGURA 7 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO AQUOSO DAS FLORES DE *M. paradisiaca*.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: Coluna: Eclipse XDB-C-18, 150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m. Solvente A: 0,1 % TFA, 99,9 % água; B: 0,1 % TFA, 99,9 % metanol. Gradiente de eluição: 0-10 min., 60 % A; 10-22 min., 40 % A; 22-28 min, 70 % A e 28-30 min., 60 % A. Fluxo: 1.0 mL.min<sup>-1</sup>. Volume de injeção: 20  $\mu$ L. Os tempos de retenção estão apresentados como a média aritmética em min de três injeções. Picos não nomeados são desconhecidos.

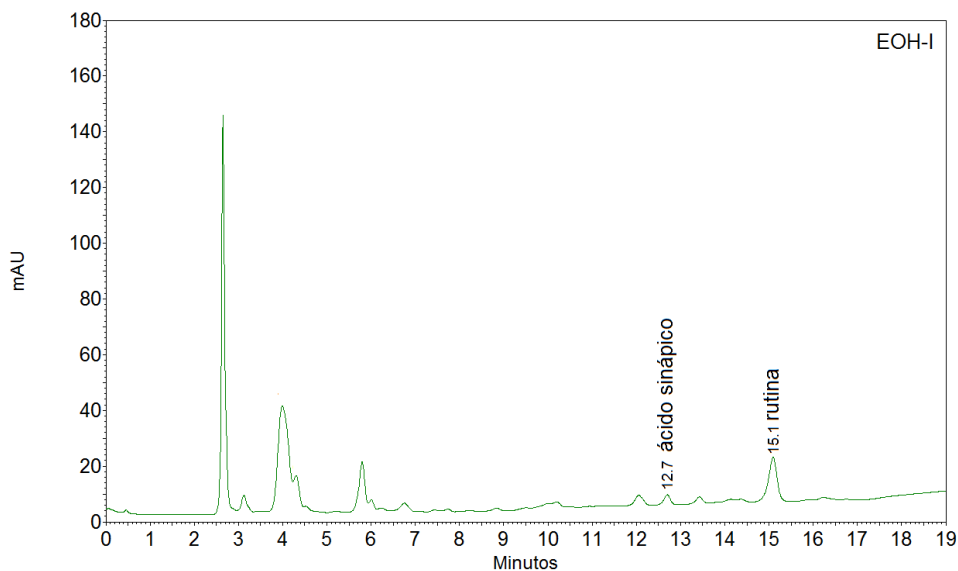


FIGURA 8 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS INFLORESCÊNCIAS DE *M. paradisiaca*.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: Coluna: Eclipse XDB-C-18, 150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m. Solvente A: 0,1 % TFA, 99,9 % água; B: 0,1 % TFA, 99,9 % metanol. Gradiente de eluição: 0-10 min., 60 % A; 10-22 min., 40 % A; 22-28 min, 70 % A e 28-30 min., 60 % A. Fluxo: 1.0 mL.min<sup>-1</sup>. Volume de injeção: 20  $\mu$ L. Os tempos de retenção estão apresentados como a média aritmética em min de três injeções. Picos não nomeados são desconhecidos.

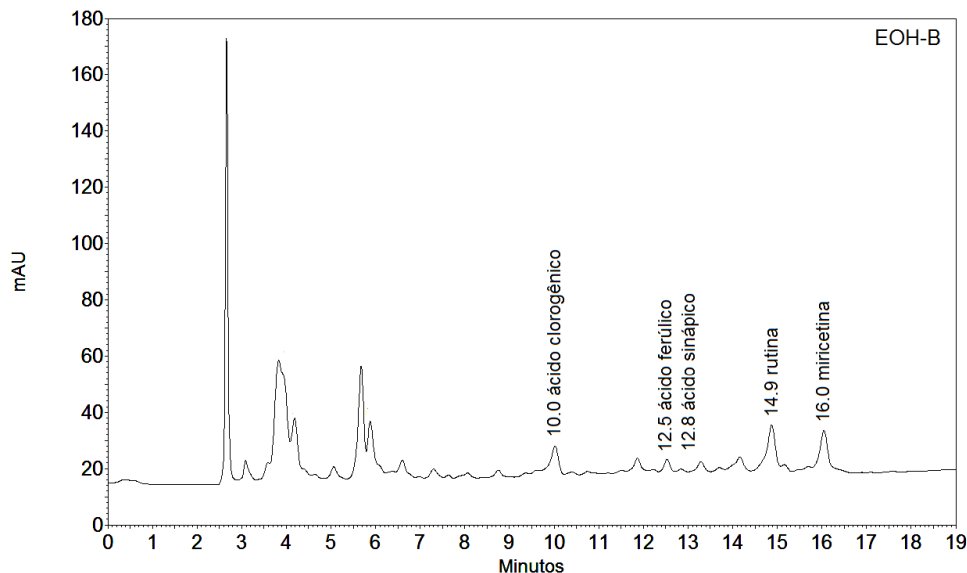


FIGURA 9 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS BRÁCTEAS DE *M. paradisiaca*.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: Coluna: Eclipse XDB-C-18, 150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m. Solvente A: 0,1 % TFA, 99,9 % água; B: 0,1 % TFA, 99,9 % metanol. Gradiente de eluição: 0-10 min., 60 % A; 10-22 min., 40 % A; 22-28 min, 70 % A e 28-30 min., 60 % A. Fluxo: 1.0 mL.min<sup>-1</sup>. Volume de injeção: 20  $\mu$ L. Os tempos de retenção estão apresentados como a média aritmética em min de três injeções. Picos não nomeados são desconhecidos.

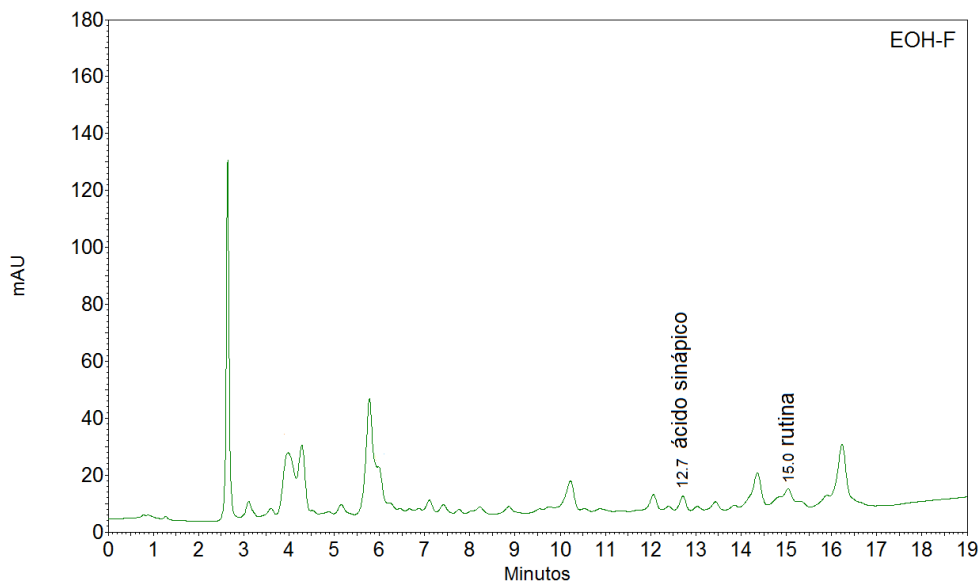


FIGURA 10 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FLORES DE *M. paradisiaca*.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: Coluna: Eclipse XDB-C-18, 150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m. Solvente A: 0,1 % TFA, 99,9 % água; B: 0,1 % TFA, 99,9 % metanol. Gradiente de eluição: 0-10 min., 60 % A; 10-22 min., 40 % A; 22-28 min, 70 % A e 28-30 min., 60 % A. Fluxo: 1.0 mL.min<sup>-1</sup>. Volume de injeção: 20  $\mu$ L. Os tempos de retenção estão apresentados como a média aritmética em min de três injeções. Picos não nomeados são desconhecidos.

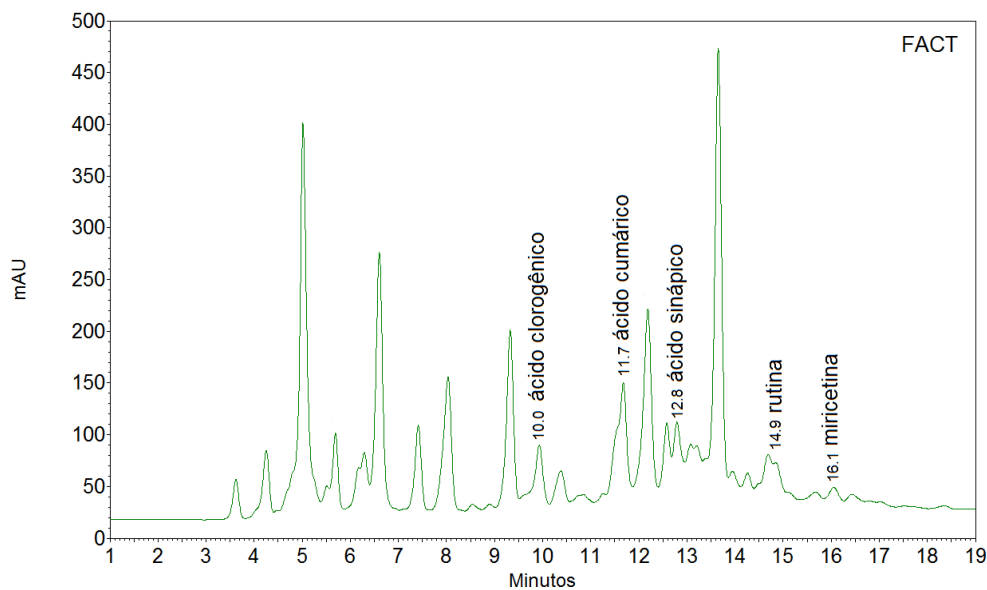


FIGURA 11 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DAS INFLORESCÊNCIAS DE *M. paradisiaca*.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: Coluna: Eclipse XDB-C-18, 150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m. Solvente A: 0,1 % TFA, 99,9 % água; B: 0,1 % TFA, 99,9 % metanol. Gradiente de eluição: 0-10 min., 60 % A; 10-22 min., 40 % A; 22-28 min, 70 % A e 28-30 min., 60 % A. Fluxo: 1.0 mL.min<sup>-1</sup>. Volume de injeção: 20  $\mu$ L. Os tempos de retenção estão apresentados como a média aritmética em min de três injeções. Picos não nomeados são desconhecidos.

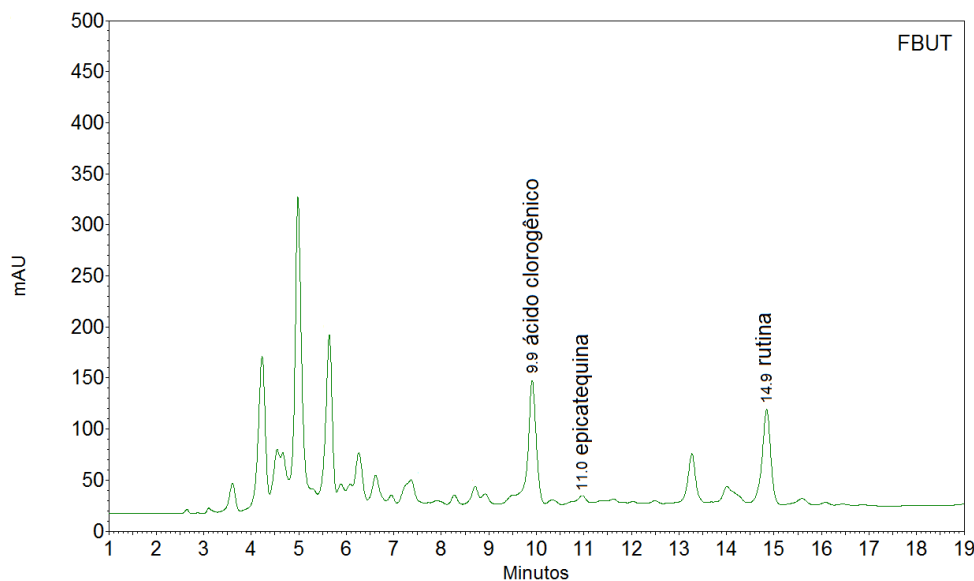


FIGURA 12 - PERFIL DE CLAE A 254 nm DA FRAÇÃO BUTANÓLICA DAS INFLORESCÊNCIAS DE *M. paradisiaca*.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: Coluna: Eclipse XDB-C-18, 150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m. Solvente A: 0,1 % TFA, 99,9 % água; B: 0,1 % TFA, 99,9 % metanol. Gradiente de eluição: 0-10 min., 60 % A; 10-22 min., 40 % A; 22-28 min, 70 % A e 28-30 min., 60 % A. Fluxo: 1.0 mL.min<sup>-1</sup>. Volume de injeção: 20  $\mu$ L. Os tempos de retenção estão apresentados como a média aritmética em min de três injeções. Picos não nomeados são desconhecidos.

Estudos anteriores relatam inúmeras atividades biológicas para rutina e ácido clorogênico. Além desses compostos possuírem forte atividade antioxidante (OHNISHI *et al.* 1994, YANG, GUO e YUAN 2008), eles também são eficazes em combater doenças relacionadas à inflamação como injúrias intestinais (SATO *et al.* 2011, MASCARAQUE *et al.* 2015) e asma (JUNG *et al.* 2007, KIM *et al.* 2010). Portanto, é provável que a habilidade em combater injúrias intestinais e as atividades antiinflamatória e antiasmática apresentadas pelo uso tradicional das inflorescências de *M. paradisiaca* sejam devidas a ação desses compostos.

Os demais fenólicos identificados nas inflorescências de *M. paradisiaca* como ácido ferúlico, ácido cumárico, ácido sinápico, miricetina e epicatequina são compostos comumente encontrados em frutas, vegetais, cereais e chás e são responsáveis por inúmeros efeitos benéficos do consumo de vegetais à saúde. Todos são considerados potentes antioxidantes (GRAF, 1992; TERAQ, PISKULA e YAO 1994; ONG e KHOO, 1997; KIM *et al.* 2010; KANNAN *et al.* 2013). O ácido ferúlico chegou até a ser aprovado no Japão como um aditivo alimentar para prevenir a oxidação em substituição aos antioxidantes sintéticos que possuem conhecida atividade carcinogênica (ITAGAKI *et al.* 2009). Miricetina, epicatequina, ácido ferúlico e ácido sinápico possuem ação anti-hiperglicêmica, atenuando os efeitos do diabetes (ONG e KHOO, 1997; RIZVI e ZAID, 2001; ZHAO e MOGHADASIAN, 2008; CHERNG *et al.* 2013). Ácido ferúlico, ácido sinápico e epicatequina apresentam propriedades hipolipodêmicas, que auxilia na redução do colesterol total e na prevenção de doenças cardiovasculares (GRAF, 1992; CHAN *et al.* 1999; ROY e PRINCE, 2013). Miricetina, epicatequina, ácido ferúlico e ácido cumárico se mostraram eficazes no combate a diferentes tipos de cânceres (LU *et al.* 2006; ZHAO e MOGHADASIAN, 2008; KANNAN *et al.* 2013). Esses resultados mostram que os compostos fenólicos encontrados nas inflorescências de *M. paradisiaca* podem ser eficazes no combate às principais enfermidades que afetam a população ocidental como doenças cardiovasculares, diabetes e câncer.

Os custos com saúde em doenças crônicas associadas com dietas e estilo de vida causam preocupação por parte dos governos. Entre outras iniciativas, estes solicitam melhorias na dieta, incluindo alimentos funcionais. Os alimentos funcionais fornecem adicionais benefícios fisiológicos, além de atender as necessidades nutricionais básicas (DING, VEEMEN e ADAMOWICZ; 2015).

Assim, devido a sua caracterização química, pode-se inferir que as inflorescências de *M. paradisiaca* podem ser consideradas um alimento funcional e que seu consumo deve ter impactos favoráveis sobre a saúde.

#### 4.4.3 Sensibilidade Analítica e Quantificação de Rutina e de Ácido Clorogênico nos Extratos e nas Frações de *M. paradisiaca*

A (TABELA 7) apresenta a sensibilidade analítica do método de detecção de compostos fenólicos utilizado nesse estudo através dos parâmetros LOD e LOQ. A tabela ainda apresenta as equações da reta obtidas através das curvas padrões de rutina e de ácido clorogênico.

TABELA 7 - LIMITE DE DETECÇÃO, LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO E CURVA PADRÃO DE RUTINA E ÁCIDO CLOROGÊNICO.

Substância	R <sup>2</sup>	Equação da Reta	LOD (µg.mL <sup>-1</sup> )	LOQ (µg.mL <sup>-1</sup> )
Rutina	0.992	y = 70847x - 115470	0.55	1.67
Ácido Clorogênico	0.997	y = 39116x + 46220	0.61	1.85

FONTE: o autor (2015).

NOTA: curva padrão de rutina elaborada utilizando 8 pontos de concentrações variáveis de 1,25 a 80 µg.mL<sup>-1</sup>. Curva padrão de ácido clorogênico elaborada utilizando 7 pontos de concentrações de 2,5 a 80 µg.mL<sup>-1</sup>. O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram calculados baseados no desvio padrão das áreas, em sextuplicata, da concentração mínima detectável.

Através das equações da reta foi possível calcular a concentração de rutina e de ácido clorogênico nos extratos e nas frações das inflorescências de *M. paradisiaca*. Esses resultados são apresentados na (TABELA 8).

Dentre os extratos, aquele que apresentou o conteúdo de rutina estatisticamente superior foi o EOH-B, seguido em ordem decrescente por EOH-I, EHW-I, EOH-F, EHW-B e EHW-F. Nas frações a concentração de rutina foi estatisticamente superior quando comparada aos extratos, sendo que a FBUT se mostrou superior a FACT. A FBUT também se mostrou estatisticamente superior em conteúdo de ácido clorogênico quando comparada às demais amostras, seguida em ordem decrescente por FACT, EOH-B e EHW-I. Nas demais amostras não foi possível detectar a presença de ácido clorogênico.

TABELA 8 - CONCENTRAÇÃO DE RUTINA E DE ÁCIDO CLOROGÊNICO NOS EXTRATOS E NAS FRAÇÕES DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca*.

Extrato	Rutina ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	Ácido Clorogênico ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
EHW-I	5,8 $\pm$ 0,4 <sup>cd</sup>	4,0 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>
EHW-B	4,0 $\pm$ 0,3 <sup>cd</sup>	nd
EHW-F	2,5 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>	nd
EOH-I	7,3 $\pm$ 0,1 <sup>cd</sup>	nd
EOH-B	7,8 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	8,5 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>
EOH-F	4,5 $\pm$ 0,1 <sup>cd</sup>	nd
FACT	23,5 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	66,5 $\pm$ 5,1 <sup>b</sup>
FBUT	51,6 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	104,9 $\pm$ 12,7 <sup>a</sup>

FONTE: o autor (2015).

NOTA: concentração em  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (concentração das amostras na injeção: 5mg.mL<sup>-1</sup>). Os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão de três injeções. Diferentes letras em cada coluna representam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras de acordo com o teste de Fisher LSD ( $p \leq 0,05$ ). nd= concentração não detectada. EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcolólico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcolólico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcolólico das flores, FACT= fração acetato de atila, FBUT= fração butanólica.

Uma das principais fontes de rutina, de acordo com Grupta *et al.* (2012), são as sementes do trigo sarraceno (*Fagopyrum tataricum* L.). Grupta *et al.* (2012) quantificaram por CLAE o conteúdo de rutina de 195 cultivares de trigo sarraceno e encontraram que o conteúdo desse metabólito do extrato metanólico das sementes dessa espécie da maioria dos cultivares (81 %) variou entre 10 a 16  $\mu\text{g}$  por mg de amostra seca. O conteúdo de rutina nas inflorescências de *M. paradisiaca* entre as diferentes amostras variou 2,5 a 51,6  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , ou seja, de 0,5 a 10,3  $\mu\text{g}$  por mg de amostra seca, o que é muito próximo ao resultado apresentado no estudo anterior por uma das principais fontes de rutina. Portanto, pode-se inferir que as inflorescências de *M. paradisiaca* são boas fontes de rutina e que têm chances de serem utilizadas como fonte de extração desse fenólico.

O café (*Coffea* sp.) é a principal fonte de ácido clorogênico na dieta humana (OLTHOF, HOLLMAN e KATAN; 2001). Seus grãos verdes (ou crus) são a maior fonte de ácido clorogênico na natureza, com um conteúdo que varia entre 4 a 14 % por massa seca de amostra (FARAH *et al.* 2008). A concentração de ácido clorogênico encontrada nos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* no presente estudo variou de 4 a 104,9  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , ou seja 0,08 a 2,09 % de ácido clorogênico por massa de extrato seco. Essa concentração não chega a ser próxima a concentração da espécie referência em produção desse ácido fenólico,

porém pode ser suficiente para influenciar benéficamente a saúde de consumidores de produtos oriundos das inflorescências de *M. paradisiaca*.

#### 4.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

##### 4.5.1 Redução do Radical Livre DPPH<sup>\*</sup>

A (FIGURA 13) apresenta os resultados das atividades antioxidantes de redução do radical livre DPPH<sup>\*</sup> dos diferentes extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* e dos padrões comerciais, ácido ascórbico e BHT, que apresentaram maiores atividades antioxidantes.

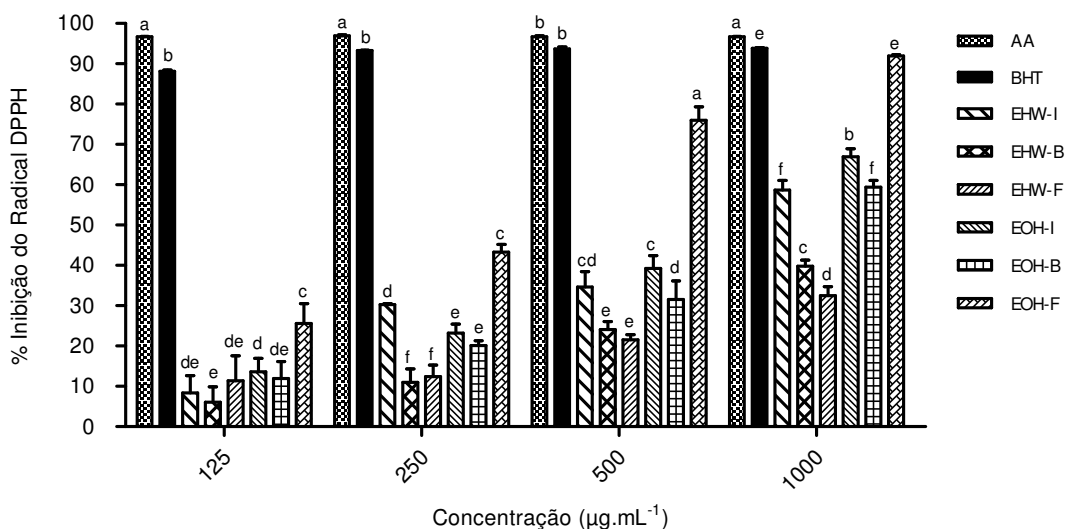


FIGURA 13 - PERCENTAGEM DE REDUÇÃO DO RADICAL DPPH<sup>\*</sup> POR DIFERENTES EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca* E PADRÕES COMERCIAIS ÁCIDO ASCÓRBICO E BHT.

FONTES: o autor (2015).

NOTA: ensaio realizado de acordo com Blois (1958). Cada valor é expresso como a média do ensaio em triplicata  $\pm$  o desvio padrão. Diferentes letras em cada grupo (concentração) significam diferenças estatisticamente significantes entre as amostras de acordo com o teste de Fisher LSD ( $p \leq 0,05$ ). AA= ácido ascórbico, BHT= butil-hidroxitolueno, EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcolico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcolico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcolico das flores.

Pode-se observar que a atividade antioxidante é dependente da concentração do extrato. Na concentração de 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  a atividade de redução do extrato EOH-F foi comparável a do antioxidante comercial BHT.

Todas as amostras tiveram a atividade antioxidante dependente da concentração testada. Desta forma foi possível calcular o EC<sub>50</sub> para o ensaio de captação do radical DPPH<sup>\*</sup> dessas amostras (TABELA 9).

TABELA 9 - VALORES DE EC<sub>50</sub> (mg.mL<sup>-1</sup>) OBTIDOS NO ENSAIO DE REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE DPPH<sup>\*</sup> PARA OS EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. Paradisiaca* E DOS PADRÕES COMERCIAIS ÁCIDO ASCÓRBICO E BHT.

Amostra	EHW-I	EHW-B	EHW-F	EOH-I	EOH-B	EOH-F	AA	BHT
EC <sub>50</sub> (mg.mL <sup>-1</sup> )	0,82	1,62	1,94	0,56	1,38	0,27	0,01	0,04

FONTES: o autor (2015).

NOTA: ensaio de redução do radical DPPH<sup>\*</sup> realizado de acordo com Blois (1958). EC<sub>50</sub> calculado através da equação da reta da linearização das médias de percentagem de inibição ( $r^2 \geq 0,95$ ). AA= ácido ascórbico, BHT= butil-hidroxitolueno, EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcolico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcolico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcolico das flores.

Os valores de EC<sub>50</sub> no ensaio de captação do radical DPPH<sup>\*</sup> para os extratos de *M. paradisiaca* apresentados no presente estudo variaram de 0,27 a 1,94 mg.mL<sup>-1</sup> e são menores do que aqueles obtidos para os extratos dos frutos (SHODEHINDE e OBOH, 2013) e do pseudocaulo (LOGANAYAKI, RAJENDRAKUMARAN e MANIAN; 2010), cujos valores variaram, respectivamente, de 24 a 33 mg.mL<sup>-1</sup> e de 4 a 11 mg.mL<sup>-1</sup>. Esses resultados sugerem que as inflorescências apresentam atividade antioxidante *in vitro* para o radical DPPH<sup>\*</sup> superior a outras partes do vegetal como frutos e pseudocaulo.

É relatado que amostras que apresentam maior teor de fenólicos apresentam maior atividade de redução do radical DPPH<sup>\*</sup> (HONG *et al.* 2008; YANGTHONG, HUTADILOK-TOWATABA e PHROMKUNTHONG 2009; DINIS *et al.* 2012; PADAM *et al.* 2012). A correlação entre o teor de compostos fenólicos e a atividade de redução do radical DPPH<sup>\*</sup> através do EC<sub>50</sub> foi confirmada através do teste de correlação de Pearson que forneceu um  $r = -0,8494$  (FIGURA 14). Esse resultado indica que a variação na concentração de compostos fenólicos ocorre negativamente correlacionada à atividade de redução do radical livre DPPH<sup>\*</sup> através do EC<sub>50</sub>. Dessa forma, sugere-se que a atividade de redução do radical livre DPPH<sup>\*</sup> é diretamente influenciada pela concentração de compostos fenólicos nos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca*.

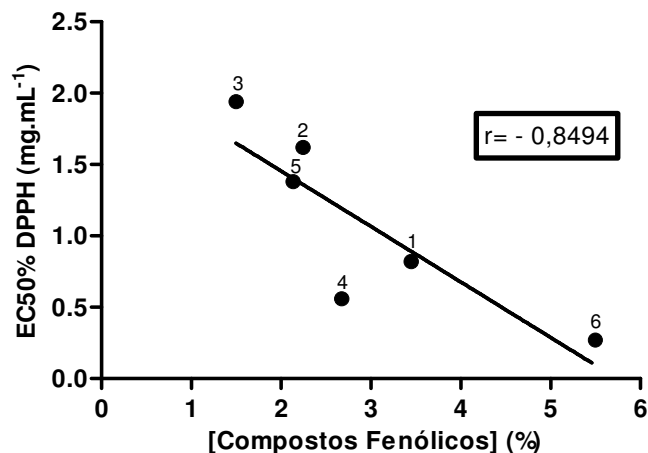


FIGURA 14 - CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS (%) E A ATIVIDADE DE REDUÇÃO DO RADICAL DPPH' ATRAVÉS DO EC<sub>50</sub> (mg.mL<sup>-1</sup>) NOS EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca*.  
 FONTE: o autor (2015).

NOTA: 1= EHW-I, 2= EHW-B, 3= EHW-F, 4= EOH-I, 5= EOH-B e 6= EOH-F. Concentração de compostos fenólicos determinada através do método de Singleton e Rossi Jr. (1965). Ensaio de redução do radical DPPH' realizado de acordo com Blois (1958). EC<sub>50</sub> calculado através da equação da reta da linearização das médias de percentagem de redução ( $r^2 \geq 0,95$ ). Correlação entre as variáveis foram consideradas significantes com  $p \leq 0,05$ . EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcolólico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcolólico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcolólico das flores.

O ensaio de redução do radical DPPH' se baseia na transferência de elétron da amostra antioxidante para o radical reduzindo-o a hidrazina (MIGUEL, 2007). A hidrazina muda a cor da solução do ensaio do violeta para o amarelo pálido que é acompanhado por espectrometria (ALVES *et al.* 2010). Utilizando este ensaio para avaliar a capacidade antioxidante de compostos fenólicos, Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) concluíram que a eficiência antioxidante de uma amostra com o DPPH' depende, sobretudo, da sua posição e do número de grupos hidroxílicos disponíveis. De acordo com Alves *et al.* (2010), moléculas pequenas que têm melhor acesso ao sítio do radical podem apresentar uma maior atividade aparente quando comparadas às moléculas maiores. Tendo em vista que compostos fenólicos são ricos em grupos hidroxilas e que, na sua maioria, se apresentam como moléculas pequenas, de baixa massa molecular, era esperado que eles estivessem relacionados com a atividade de redução do radical DPPH'.

#### 4.5.2 Poder Redutor

Os resultados do ensaio do poder redutor dos diferentes extratos das inflorescências de *M. paradisiaca*, juntamente com os padrões ácido ascórbico e quercetina, são apresentados na (FIGURA 15).

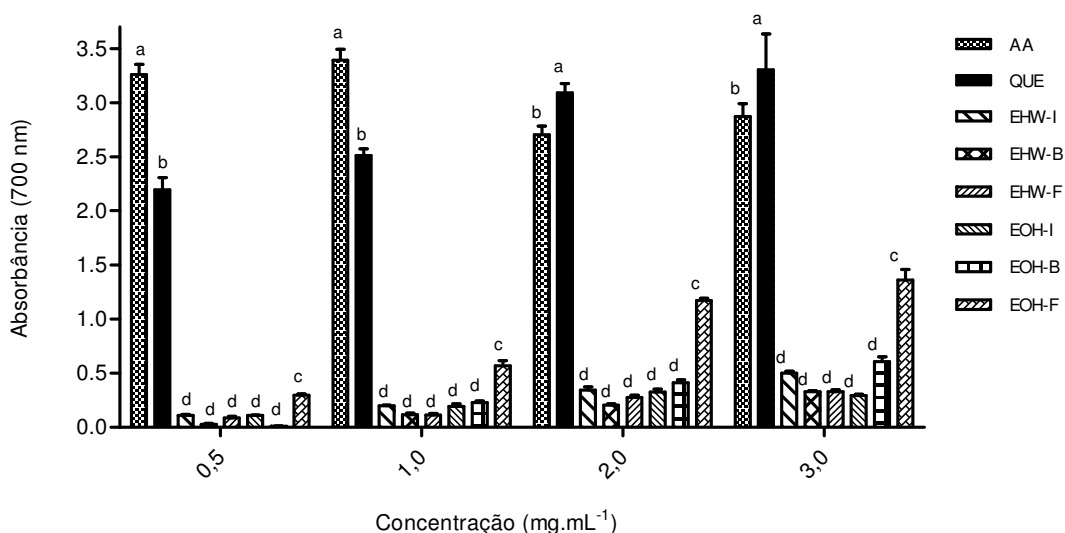


FIGURA 15 - PODER REDUTOR DE DIFERENTES EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca* E PADRÕES COMERCIAIS ÁCIDO ASCÓRBICO E QUERCETINA.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: ensaio realizado de acordo com Oyaizu (1986). Cada valor é expresso como a média do ensaio em triplicata  $\pm$  o desvio padrão. Diferentes letras em cada grupo (concentração) significam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras de acordo com o teste de Fisher LSD ( $p \leq 0,05$ ). AA= ácido ascórbico, QUE= quercetina, EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcolólico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcolólico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcolólico das flores.

O poder redutor de um composto serve como um indicador significativo da sua atividade antioxidante. Em geral um antioxidante exerce sua atividade por quebrar a cadeia de atuação do radical livre via doação de elétrons ou transferência de átomos de hidrogênio (DZIRI *et al.* 2012; SHODEHINDE e OBOH, 2012). No presente ensaio o poder redutor das amostras de *M. paradisiaca* bem como os padrões comerciais, ácido ascórbico e quercetina, foram testados quanto a sua capacidade de causar a conversão do ferro na forma férrica ( $Fe^{+3}$ ) para ferrosa ( $Fe^{+2}$ ). O poder redutor dos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* aumenta com a concentração da amostra. Nenhum extrato

atingiu resultados estatisticamente semelhantes ao dos padrões comerciais. Neste ensaio o EOH-F apresentou resultados significativamente maiores comparados com as demais amostras. A absorvância do EOH-F variou de 0,3 a 1,3 nas concentrações de 0,5 a 3,0 mg.mL<sup>-1</sup>. Comparando os resultados de EOH-F com aqueles encontrados por Saha *et al.* (2013) que analisaram o poder redutor do extrato etanólico dos frutos de *Musa seminifera* e encontraram um resultado significativamente maior do que o presente estudo onde a absorvância variou de, aproximadamente, 0,8 a 1,4 nas concentrações de 0,12 a 0,5 mg.mL<sup>-1</sup>. Por outro lado, o EOH-F apresentou resultados semelhantes aos apresentados por Shodehinde e Oboh (2012) que encontraram no extrato da farinha da polpa do fruto torrada de *M. paradisiaca* os valores de absorvância de aproximadamente 0,3 a 1,3 para as mesmas concentrações utilizadas no presente estudo. Os autores atribuem essa atividade aos compostos fenólicos presentes na amostra. Entretanto, a correlação entre o poder redutor das amostras e o conteúdo fenólico foi não significativo ( $p < 0,05$ ). Portanto, devem existir outros compostos nos extratos, extraídos majoritariamente no EOH-F, que estejam envolvidos no poder redutor das inflorescências de *M. paradisiaca*.

#### 4.5.3 Sequestro do Radical Livre Hidroxila (HO<sup>•</sup>)

A (FIGURA 16) apresenta os resultados das atividades antioxidantes de sequestro do radical livre hidroxila dos diferentes extratos de *M. paradisiaca* e dos padrões comerciais, ácido ascórbico e ácido gálico.

Os extratos e os padrões tiveram a atividade antioxidante dependente da concentração testada. Desta forma foi possível calcular o EC<sub>50</sub> para o ensaio de captação do radical hidroxil dessas amostras (TABELA 10).

Os valores de EC<sub>50</sub> no ensaio de captação do radical hidroxil para os extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* apresentados no presente estudo variaram de 1,97 a 5,64 mg.mL<sup>-1</sup> e são levemente menores comparados àqueles obtidos para os extratos dos frutos (SHODEHINDE e OBOH, 2013) cujos valores variaram de 4,35 a 7,31 mg.mL<sup>-1</sup>.

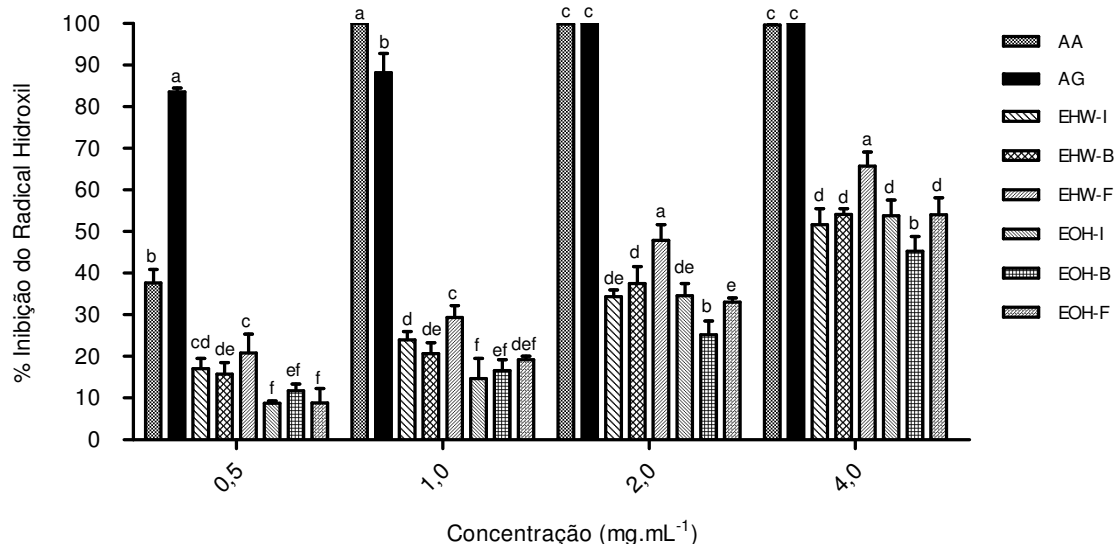


FIGURA 16 - PERCENTAGEM DE SEQUESTRO DO RADICAL HIDROXILA POR DIFERENTES EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca* E PADRÕES COMERCIAIS ÁCIDO ASCÓRBICO E ÁCIDO GÁLICO.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: ensaio realizado de acordo com Halliwell e Gutteridge (1984). Cada valor é expresso como a média do ensaio em triplicata  $\pm$  o desvio padrão. Diferentes letras em cada grupo (concentração) significam diferenças estatisticamente significantes entre as amostras de acordo com o teste de Fisher LSD ( $p \leq 0,05$ ). AA= ácido ascórbico, AG= ácido gálico, EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcolico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcolico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcolico das flores.

TABELA 10 - VALORES DE  $EC_{50}$  OBTIDO NO ENSAIO DE SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE HIDROXIL PARA AS OS EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca* E O PADRÃO COMERCIAL ÁCIDO ASCÓRBICO.

Amostra	EHW-I	EHW-B	EHW-F	EOH-I	EOH-B	EOH-F	AA
$EC_{50}$ (mg.mL <sup>-1</sup> )	3,56	3,24	1,97	3,66	5,64	3,65	0,56

FONTE: o autor (2015).

NOTA: ensaio sequestro do radical hidroxil realizado de acordo com Halliwell e Gutteridge (1984).  $EC_{50}$  calculado através da equação da reta da linearização das médias de percentagem de inibição ( $r^2 \geq 0,95$ ). AA= ácido ascórbico, EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcolico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcolico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcolico das flores.

A correlação entre o teor de fenóis e a atividade de sequestro do radical hidroxil através do  $EC_{50}$  foi não significativa ( $p > 0,05$ ) através do teste de correlação de Pearson. Yangthong *et al.* (2009) igualmente não encontraram correlação entre o conteúdo de fenólicos e a atividade de sequestro do radical hidroxil nos extratos de algas marinhas. Os mesmos autores sugerem que é provável que

polissacarídeos sulfatados extraídos do extrato aquoso quente possam estar envolvidos no sequestro do radical HO<sup>•</sup> *in vitro*. A atividade antioxidante nos extratos aquosos foi moderadamente maior quando comparados com os extratos hidroalcoólicos no presente estudo. Portanto, é possível que compostos extraídos principalmente nos extratos aquosos, estejam envolvidos com a atividade antioxidante de sequestro do radical hidroxila nos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca*.

O radical hidroxila é uma das mais deletérias espécies reativas devido a sua alta reatividade (ALVES *et al.* 2010). Neste ensaio, a capacidade das amostras em sequestrar o radical hidroxila pode seguir dois possíveis mecanismos. Um é impedindo a geração de HO<sup>•</sup> por se ligar com o íon férrico (Fe<sup>+3</sup>) e outro é a transferência direta de um elétron para o radical hidroxila gerado (YANGTHONG *et al.* 2009). A eficiência antioxidante de compostos fenólicos geralmente é devida a capacidade redutora de seus grupos hidroxilas. Tendo em vista que a correlação entre o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante deste ensaio foi não significativa, é provável que a atividade de sequestro dos radicais HO<sup>•</sup> dos extratos de *M. paradisiaca* devam-se a ação de outras classes de moléculas, provavelmente aquelas que são mais eficientes em quelar íons metálicos, por exemplo.

#### 4.5.4 Sequestro do Radical Livre Superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)

A (FIGURA 17) apresenta os resultados das atividades antioxidantes de sequestro do radical livre ânion superóxido dos diferentes extratos de *M. paradisiaca* e do comercial padrão ácido ascórbico.

Os extratos EOH-I e EOH-B não apresentaram atividade antioxidante de sequestro do radical superóxido nesse ensaio.

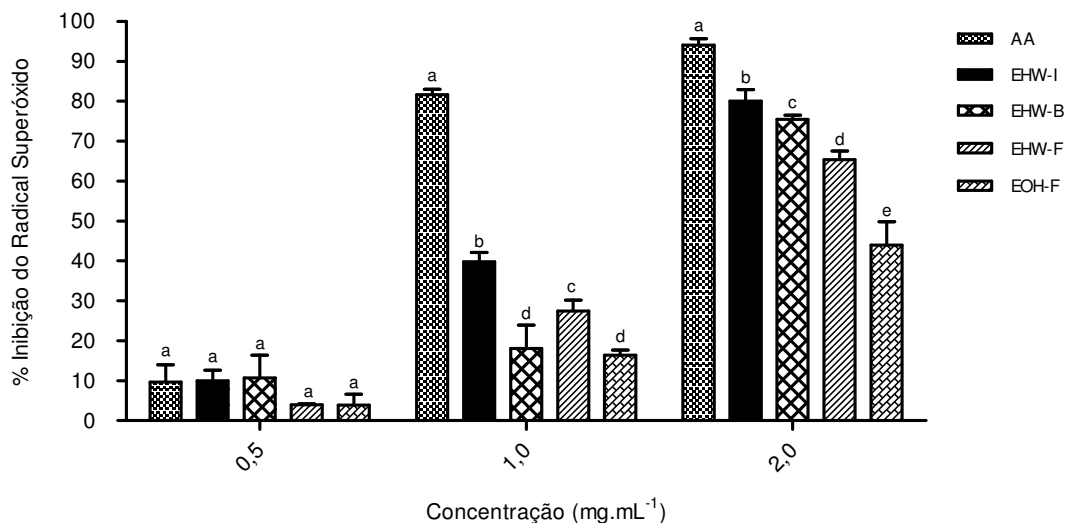


FIGURA 17 - PERCENTAGEM DE SEQUESTRO DO RADICAL SUPERÓXIDO POR DIFERENTES EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca* E DO PADRÃO COMERCIAL ÁCIDO ASCÓRBICO.

FONTE: o autor (2015).

NOTA: ensaio realizado de acordo com Nishikimi, Rao e Yagi (1972). Cada valor é expresso como a média do ensaio em triplicata  $\pm$  o desvio padrão. Diferentes letras em cada grupo (concentração) significam diferenças estatisticamente significantes entre as amostras de acordo com o teste de Fisher LSD ( $p \leq 0,05$ ). AA= ácido ascórbico, EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-F= extrato hidroalcoólico das flores.

Os extratos aquosos e o extrato hidroalcoólico das flores tiveram a atividade antioxidante dependente da concentração testada. Desta forma foi possível calcular o  $EC_{50}$  para o ensaio de sequestro do radical superóxido dessas amostras (TABELA 11). Não foi possível calcular o  $EC_{50}$  do padrão ácido ascórbico porque não foi possível obter pelo menos quatro diferentes resultados de atividade antioxidante dependente da concentração para esse padrão.

TABELA 11 - VALORES DE  $EC_{50}$  (mg.mL<sup>-1</sup>) OBTIDOS NO ENSAIO DE SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE SUPERÓXIDO PARA OS EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca*.

Amostra	EHW-I	EHW-B	EHW-F	EOH-F
$EC_{50}$ (mg.mL <sup>-1</sup> )	1,22	1,24	1,58	2,25

FONTE: o autor (2015).

NOTA: ensaio sequestro do radical superóxido realizado de acordo com Nishikimi, Rao e Yagi (1972).  $EC_{50}$  calculado através da equação daretta da linearização das médias de percentagem de inibição ( $r^2 \geq 0,95$ ). EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-F= extrato hidroalcoólico das flores.

A correlação entre o teor de fenóis totais e a atividade de captação do radical superóxido através do EC<sub>50</sub> foi não significativa ( $p > 0,05$ ) através do teste de correlação de Pearson. Yangthong *et al.* (2009) igualmente não encontraram correlação entre o conteúdo de fenólicos e a atividade de sequestro do radical superóxido nos extratos de algas marinhas. Esses resultados sugerem que outros compostos dos extratos de *M. paradisiaca*, principalmente oriundos dos extratos aquosos, estejam envolvidos no sequestro dos radicais superóxido.

Neste ensaio o radical  $O_2^{\cdot -}$  é gerado de forma não enzimática através da reação do PMS na presença de NADH e oxigênio molecular. O radical superóxido gerado reduz o NBT a formazan. A síntese de formazan gera uma coloração púrpura, que é acompanhada por espectrometria. O antioxidante adicionado ao sistema é capaz de reagir com o  $O_2^{\cdot -}$  inibindo a produção de formazan (SANCHEZ-MORENO, 2002). Os resultados do presente estudo mostram que substâncias obtidas da extração aquosa foram mais eficientes em sequestrar o radical superóxido do que aquelas obtidas da extração hidroalcoólica. Isto está de acordo com o estudo de Yangthong *et al.* (2009) que observaram que o extrato aquoso-quente de algas tem significativo efeito antioxidante sobre o radical superóxido, enquanto o extrato autoclavado não apresentou atividade significativa. Os autores ainda observaram que a atividade de sequestro do  $O_2^{\cdot -}$  está diretamente correlacionada com o conteúdo de sulfato das amostras testadas. Dessa forma, pode-se inferir que diferentes métodos de extração fornecem diferentes tipos de moléculas antioxidantes. Portanto, a atividade de sequestro do radical superóxido dos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* é baseada em algum (s) grupo(s) de moléculas obtidas principalmente do extrato aquoso.

#### 4.5.5 Inibição da Peroxidação Lipídica (TBARS)

Os resultados da atividade de inibição da peroxidação lipídica pelos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca* e dos padrões comerciais ácido ascórbico e BHT estão apresentados na (TABELA 12).

Os extratos de *M. paradisiaca* apresentaram leve atividade de inibição da peroxidação lipídica quando comparados à substância padrão utilizada, BHT. A atividade de inibição variou de 4 a 41 %, com média de atividade de 19 %. Esse

resultado está de acordo com a média da taxa de inibição de estudos anteriores. González-Montelongo, Lobo e González (2010) avaliaram o potencial de inibição da peroxidação lipídica, através do ensaio TBARS, dos extratos da casca do fruto de *M. acuminata* e encontraram atividade inferior 40 % em diversos sistemas de solventes, com excessão do extrato aquoso que apresentou uma atividade significamente maior, de 80 %. Iyawe e Azih (2011) avaliaram o potencial de inibição da peroxidação lipídica, através do ensaio TBARS, de quatro espécies vegetais com propriedade antimalárica: manga (*Magnifera indica* L.), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), neem (*Azachiractha indica* A. Juss.) e mamoeiro (*Carica papaya* L.). A maior atividade antioxidante entre elas foi de 30 %.

TABELA 12 - INIBIÇÃO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA POR EXTRATOS DAS INFLORESCÊNCIAS, BRÁCTEAS E FLORES DE *M. paradisiaca* E PADRÕES COMERCIAIS ÁCIDO ASCÓRBICO E BHT.

mg.mL <sup>-1</sup>	% Inibição da Peroxidação Lipídica							
	AA	BHT	EHW-I	EHW-B	EHW-F	EOH-I	EOH-B	EOH-F
0,1	27±2,4 <sup>c</sup>	35±12 <sup>c</sup>	17±5,0 <sup>c</sup>	7,0±7,0 <sup>bc</sup>	4,0±6,0 <sup>bc</sup>	31±7,0 <sup>a</sup>	12±4,7 <sup>b</sup>	31±8,0 <sup>a</sup>
0,5	23±4,3 <sup>bc</sup>	60±12 <sup>ab</sup>	12±5,0 <sup>c</sup>	13±4,0 <sup>bc</sup>	14±10 <sup>bc</sup>	29±2,0 <sup>a</sup>	16±7,0 <sup>bc</sup>	16±6,0 <sup>bc</sup>
1	10±7,0 <sup>d</sup>	63±5,0 <sup>a</sup>	6,0±5,0 <sup>cd</sup>	21±8,0 <sup>e</sup>	18±7,0 <sup>ce</sup>	41±2,0 <sup>b</sup>	28±6,0 <sup>e</sup>	27±11 <sup>e</sup>

FONTE: o autor (2015).

NOTA: ensaio realizado de acordo com Kishida *et al.* (1993), com modificações de Morais *et al.* (2009) Os dados são apresentados como a percentagem da atividade de inibição da peroxidação lipídica dos extratos em diferentes concentrações. Cada valor é expresso como a média do ensaio em triplicata ± o desvio padrão. Diferentes letras em cada grupo (linhas) significam diferenças estatisticamente significantes entre as amostras de acordo com o teste de Fisher LSD ( $p < 0,05$ ). AA= ácido ascórbico, BHT= butil-hidroxitolueno, EHW-I= extrato aquoso-quente das inflorescências completas, EHW-B= extrato aquoso-quente das brácteas, EHW-F= extrato aquoso-quente das flores, EOH-I= extrato hidroalcolólico das inflorescências completas, EOH-B= extrato hidroalcolólico das brácteas, EOH-F= extrato hidroalcolólico das flores.

Diferente dos ensaios de inibição de espécies reativas, na avaliação da capacidade de inibir a oxidação lipídica, é necessária a presença de substratos lipídicos (BECKER, NISSEN e SKIBSTED, 2004). O ensaio de inibição das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico tem como princípio a quantificação dos produtos secundários, como o malonaldeído, pela peroxidação induzida dos ácidos graxos poli-insaturados presentes na gema do ovo (HODGES *et al.* 1999). A oxidação é inibida com a adição de um antioxidante ao sistema, sendo acompanhada pela redução na absorbância (ALVES *et al.* 2010). A temperatura do sistema é um fator fundamental na eficiência do método. Os ensaios realizados à temperatura ambiente, apesar de serem os que mais se aproximam das condições reais, apresentam a desvantagem de serem extremamente lentos e, portanto,

pouco práticos. Entretanto, existem diversas moléculas presentes em extratos vegetais que são sensíveis à temperaturas elevadas, o que é o caso dos compostos fenólicos (MIGUEL, 2007). Outro parâmetro que pode influenciar na eficácia dos antioxidantes em sistemas multifásicos, como é o caso do ensaio TBARS, é o “paradoxo polar” que se explica da seguinte forma: numa emulsão óleo em água, os antioxidantes hidrofóbicos estão localizados no óleo e na interface óleo-água, onde protegem melhor do que os antioxidantes hidrofílicos. Estes ficam na fase aquosa, sendo, portanto, incapazes de proteger os lipídeos na interface água-óleo (FRANKEL e MEYER, 2000). Como compostos fenólicos são, na sua maioria, moléculas hidrofílicas pode-se inferir que o fenômeno interfacial possa ter impedido-os de interagir com o substrato lipídico. Portanto, a instabilidade térmica dos compostos químicos e o fenômeno interfacial podem explicar as leves taxas de inibição da peroxidação lipídica presente nos extratos das inflorescências de *M. paradisiaca*.

## 5 CONCLUSÕES

Quanto à caracterização química e a atividade antioxidante das inflorescências de *M. paradisiaca*, pode-se concluir que:

- são fontes de compostos fenólicos como flavonoides e ácidos fenólicos, todos com atividades terapêuticas já relatadas.
- a presença de cumarinas foi verificada, sendo que a identificação da presença destes compostos é inédita para essa espécie;
- a presença de ácido clorogênico e de rutina sugere que eles possam estar envolvidos nas atividades do uso tradicional das inflorescências como combate a injúrias intestinais e asma.
- devido ao rendimento de extração de rutina, as inflorescências têm chances de serem usadas como fonte renovável e de baixo custo desse fenólico.
- sugere-se que o fenólico rutina seja usado como um marcador fitoquímico dos extratos das inflorescências em estudos posteriores.
- apresentaram atividade antioxidante frente a diferentes ensaios *in vitro*.
- assim, devido a sua caracterização química e atividade biológica, as inflorescências de *M. paradisiaca* podem ser consideradas um alimento funcional e o seu consumo pode ter impactos favoráveis sobre a saúde.

## REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, M.P.; BEVILAQUA, C.M.L.; RONDON, F.C.M.; MORAIS, S.M.; MACHADO, L.K.A.; ALMEIDA, C.A.; ANDRADE, J.R.H.F.; CARDOSO, R.P.A. Leishmanicidal activity in vitro of *Musa paradisiaca* L. and *Spondias mombin* L. fractions. **Veterinary Parasitology**, v. 87, p. 79-84, 2012.
- AGARWAL, P.K.; SINGH, A.; GAURAV, K.; GOEL, S.; KHANNA, H.D.; GOEL, R.K. Evaluation of wound healing activity of extracts of plantain banana (*Musa sapientum* var. *paradisiaca*) in rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 47, p. 32-40, 2009.
- AHMAD, A.; HAYAT, I.; ARIF, S.; MASUD, T.; KHALID, N.; AHMED, A. Mechanisms involved in the therapeutic effects of soybean (*Glycine max*). **International Journal of Food Properties**, v. 17, n. 6, p. 1332-1354, 2014.
- ALI, B.H.; BLUNDEN, G.; TANIRA, M.O.; NEMMAR, A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 409-420, 2008.
- ALISI, C.S.; NWANYANWU, C.E.; AKUJOBI, C.O.; IBEGBULEM, C.O. Inhibition of dehydrogenase activity in pathogenic bacteria isolates by aqueous extract of *Musa paradisiaca* (var. *sapientum*). **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n.12, p. 1821-1825, 2008.
- ALVES, C.Q.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; BAHIA, M.P.; AGUIAR, R.M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ARAÚJO, C.A.C.; LEON, L.L. Biological activities of *Curcuma longa* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.
- BAGAVAN, A.; RAHUMAN, A.A.; KAUSHIK, N.K.; SAHAL, D. *In vitro* antimalarial activity of medicinal plant extracts against *Plasmodium falciparum*. **Parasitology Research**, v. 108, p. 15-22, 2011.
- BECKER, E.M.; NISSEN, L.R.; SKIBSTED, L.H. Antioxidant evaluation protocols: food quality or health effects. **European Food Research and Technology**, v. 219, p. 561-571, 2004.
- BENNETT, R.N.; SHIGA, T.M.; HASSIMOTTO, N.M.A.; ROSA, E.A.S.; LAJOLO, F.M.; CORDENUNSI, B.R. Phenolics and antioxidant properties of fruit pulp and cell wall fractions of postharvest banana (*Musa acuminata* Juss.) cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 13, p. 7991-8003, 2010.
- BECHARA, E.J.H. Química da vida: a dupla face do oxigênio. **Informativo do Conselho Regional de Química-IV**, n. 55, p. 8-10, 2002.

BHASKAR, J.J.; SHOBHA, M.S.; SAMBAIAH, K.; SALIMATH, P.V. Beneficial effects of banana (*Musa* sp. var. elakki bale) flower and pseudostem on hyperglycemia and advanced glycation end-products (AGEs) in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 67, n. 3, p. 415-425, 2011.

BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, p. 1199-1200, 1958.

BORGES<sup>a</sup>, F.; ROLEIRA, F.; MILHAZES, N.; SANTANA, L.; URIARTE, E. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 887-916, 2005.

BORGES<sup>b</sup>, M.H.; ALVES, D.L.F.; RASLAN, D.S.; PILÓ-VELOSO, D.; RODRIGUES, V.M., HOMSI-BRANDEBURGO, M.I.; LIMA, M.E. Neutralizing properties of *Musa paradisiaca* L. (Musaceae) juice on phospholipase A<sub>2</sub> myotoxic, hemorrhagic and lethal activities of crotalidae venoms. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 21-29, 2005.

BOVO, F. **Investigação das Propriedades Antiinflamatória e Antioxidante de Extratos de Inflorescências de *Musa paradisiaca* L. em Modelos Experimentais *in vivo* e *in vitro***. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2013.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT Food Science Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRANDÃO, M.G.L.; PAUSA-SOUZA, J.; GRAEL, C.F.F.; SCALON, V.; SANTOS, A.C.P.; SALIMENHA, M.F.; MONTE-MOR, R.L.M. Biodiversidade, uso tradicional de plantas medicinais e produção de fitoterápicos em Minas Gerais. In: **XIV Seminário sobre a Economia Mineira**, Minas Gerais, 2010.

BRANEN, A.L. Toxicology and biochemistry of butylated hidroxyanisole and butylated hydroxytoluene. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 52, p. 59-63, 1975.

BRISKIN, D.P. Medicinal plants and phytomedicines: linking plant biochemistry and physiology to human health. **Plant Physiology**, v.124, p.507-514, 2000.

CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, v. 74, p. 2157-2184, 2004.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre

modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n.1, p. 99-105, 1998.

CEPA: Centro de Socioeconomia e Planejamento Agrícola. Disponível em: <[http://cepa.epagri.sc.gov.br/Informativos\\_agropecuarios/banana/Banana\\_310709.pdf](http://cepa.epagri.sc.gov.br/Informativos_agropecuarios/banana/Banana_310709.pdf)>. Acesso em: 13/08/2013.

CERQUEIRA, F.M.; MEDEIROS, M.H.G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHAN, P.T.; FONG, W.P.; CHEUNG, Y.L.; HO, W.K.K.; CHEN, Z. Jasmine green tea epicatechins are hypolipidemic in hamsters (*Mesocricetus auratus*) fed high fat diet. **The Journal of Nutrition**, v. 129, n. 6, p. 1094-1101, 1999.

CHERNG, Y.; TSAI, C.; CHUNG, H.; LAY, Y.; KUO, J.; CHENG, J. Antihyperglycemic action of sinapic acid in diabetic rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 12053-12059, 2013.

COMAR, J.F.; SÁ-NAKANISHI, A.B.; OLIVEIRA, A.L.; MARQUES, M.; WENDT, M.M.; AMADO, C.A.B.; IWAMOTO, E.L.I.; PERALTA, R.M.; BRACHT, A. Oxidative state of the liver of rats with adjuvant-induced arthritis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 58, p. 144-153, 2013.

CONDE-HERNÁNDEZ, L.A.; GUERRERO-BELTRÁN, J.Á. Total phenolics and antioxidant activity of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale*. **Food Chemistry**, v. 142, p. 455-460, 2014.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M.; LEWIS, N.G. Natural Products (Secondary Metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, Maryland, USA: American Society of Plant Physiologists, 1250-1318, 2000.

CROZIER, A.; CLIFFORD, M.N.; ASHIHARA, H. **Plant Secondary Metabolites: occurrence, structure and role in the human diet**, 1<sup>st</sup> ed. UK: Blackwell Publishing Ltd., p. 1-24, 2006.

DEVLIN, T.M. **Manual de Bioquímica com Correlações Clínicas**, 6<sup>a</sup> ed., São Paulo: Editora Blücher, p.522, 2007.

DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. **Plant Biochemistry**, California/USA: Academic Press, 387 p., 1997.

DING, Y.; VEEMAN, M.M.; ADAMOWICZ, W.L. Functional food choices: impacts of trust and health control beliefs on Canadian consumers' choices of canola oil. **Food Policy**, na impressão. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306919214001997>>. Acesso em: 13/02/2014.

DINIS, L.T.; OLIVEIRA, M.M.; ALMEIDA, J.; COSTA, R.; GOMES-LARANJO, J.; PEIXOTO, F. Antioxidant activities of chestnut nut of *Castanea sativa* Mill (cultivar "Judia") as function of origin ecosystem. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1-8, 2012.

DOSS, A.; PUGALENTHI, M.; RAJENDRAKUMARAN, D.; VADIVEL, V. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of under-utilized legume seeds. **Asian Journal of Experimental Sciences**, v. 1, n. 3, p. 700-705, 2010.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Biochemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

DUTTA, P.K.; DAS, A.K.; BANERJI, N. A tetracyclic triterpenoid from *Musa paradisiaca*. **Phytochemistry**, v. 22, n. 11, p. 2563-2564, 1983.

DZIRI, S.; HASSEN, I.; FATNASSI, S.; MRABET, Y.; CASABIANCA, H.; HANCHI, B.; HOSNI, K. Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*), **Journal of Functional Foods**, v.4, p.423-432, 2012.

ELAHI, M.M.; CHUANG, A.; MATATA, B.M. Overview of oxidative stress and cardiovascular disease. **Systems Biology and Free Radicals and Antioxidants**, p. 719-767, 2014.

FANG, F.C. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. **Nature Reviews (Microbiology)**, v. 2, p. 820-832, 2004.

FARAH, A.; MONTEIRO, M.; DONANGELO, C.M.; LAFAY, S. Chlorogenic acids from green coffee extract highly bioavailable in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 12, p. 2309-2315, 2008.

FINKEL, T. Oxidant signal and oxidative stress. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 15, p. 247-254, 2003.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1925-1941, 2000.

GHANI, A. **Medicinal Plants of Bangladesh: Chemical Constituents and Uses**, 2<sup>st</sup> ed., Bangladesh: The Asiatic Society of Bangladesh, 987 p., 2003.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, R.; LOBO, M.G.; GONZÁLEZ, M. Antioxidant activity in banana peel extracts: testing extraction conditions and related bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1030-1039, 2010.

GRAF, E. Antioxidant potential of ferulic acid. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 13, p. 435-448, 1992.

GRUPTA, N.; SHARMA, S.K.; RANA, J.C.; CHAUHAN, R.S. AFLP fingerprinting of tartary buckwheat accessions (*Fagopyrum tataricum*) displaying rutin content variation. **Fitoterapia**, v. 83, n. 6, p. 1131-1137, 2012.

GUTTERIDGE, J.M.C.; MITCHELL, J. Redox imbalance in the critically ill, **British Medical Bulletin**, v. 55, n. 1, p. 49-75, 1999.

HALLIWELL, B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement mechanism and the effects of nutrition. **Mutation Research**, v. 443, p. 37-52, 1999.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants – *quo vadis?* **Trends in Pharmacological Sciences**. v. 32, n. 3, p. 125-130, 2011.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 70, n. 5, p. 257-265, 2012.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Oxygen radicals in biological systems. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 47-59, 1984.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C.; **Free Radicals and Biology and Medicine**. Oxford: Oxford University Press, 968 p., 1999.

HODGES, D.M.; DELONG, J.M.; FORNEY, C.F.; PRANGE, R.K. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta**, v. 207, p. 604-611, 1999.

HONG, Y.; LIN, S.; JIANG, Y.; ASHRAF, M. Variation in contents of total phenolics and flavonoids and antioxidant activities in the leaves of 11 *Eriobotrya* species. **Plant Foods Human Nutrition**, v. 63, p. 200-204, 2008.

HOULT, J.R.S.; PAYÁ, M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. **General Pharmacology**, v. 27, n. 4, p. 713-722, 1996.

IMAM, M.Z.; AKTER, S. *Musa paradisiaca* L. and *Musa sapientum* L.: A Phytochemical and Pharmacological Review. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v.1, n.5, p.14-20, 2011.

ITAGAKI, S.; KUROKAWA, T.; NAKATA, C.; SAITO, Y.; OIKAWA, S.; KOBAYASHI, M.; HIRANO, T.; ISEKI, K. In vitro and in vivo antioxidant properties of ferulic acid: A comparative study with other natural oxidation inhibitors. **Food Chemistry**, v. 114, p. 466-471, 2009.

IYAWA, H.O.T.; AZIH, M.C. Total phenolic contents and lipid peroxidation potentials of some tropical antimalarial plants. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 1, n. 2, p. 33-39, 2011.

JAGTAP, U.B.; PANASKAR, S.N.; BAPAT, V.A. Evaluation of antioxidant capacity and phenol content in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) fruit pulp. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, n. 2, p. 99-104, 2010.

JAWLA S.; KUMAR, Y.; KHAN, M.S.Y. Antimicrobial and antihyperglycemic activities of *Musa paradisiaca* flowers. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 2, p. 914-918, 2012.

JONES, D.P. Radicaal-free Biology of Oxidative Stress. **American Journal of Physiology (Cell Physiology)**, v. 295, n. 4, p. 849-868, 2008.

JUNG, C.H.; LEE, J.Y.; CHO, B.J.; KIM, C.J. Anti-asthmatic action of quercetin and rutin in conscious guinea-pigs challenged with aerosolized ovalbumin. **Archives of Pharmacal Research**, v. 30, n. 12, p. 1599-1607, 2007.

JUNG, C.H.; LEE, J.Y.; PARK, J.H.; CHO, B.J.; SIM, S.S.; KIM, C.J. Flavonols attenuate the immediate and late-phase asthmatic responses to aerosolized-ovalbumin exposure in the conscious guinea pig. **Fitoterapia**, n. 81, p.803-812, 2010.

KANNAN, R.R.R.; ARUMUGAM, R.; THANGARADJOU, T.; ANANTHARAMAN, P. Phytochemical constituents, antioxidant properties and *p*-coumaric acid analysis in some seagrasses. **Food Research International**, v. 54, p. 1229-1236, 2013.

KAOU, A.M.; MAHIOU-LEDDI, V.; HUTTER, S.; AÏNOUDDINE, S.; HASSANI, S.; YAHAYA, I.; AZAS, N.; OLLIVIE, E.; Antimalarial activity of crude extracts from nine African medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, n. 1, p. 74-83, 2008.

KAPPEL, V.D.; CAZAROLLI, L.H.; PEREIRA, D.F.; POSTAL, B.G.; MADOGGIO, F.A.; BUSS, Z.S.; REGINATTO, F.H.; SILVA, F.R.M.B. Beneficial effects of banana leaves (*Musa x paradisiaca*) on glucose homeostasis: multiple sites of action. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 4, p. 706-715, 2013.

KAWAI, M.; HIRANO, T.; HIGA, S.; ARIMITSU, J.; MARUTA, M.; KUWAHARA, Y.; OHKAWARA, T.; HAGIHARA, K.; YAMADORI, T.; SHIMA, Y.; OGATA, A.; KAWASE, I.; TANAKA, T. Flavonoids and related compounds as anti-allergic substances. **Allergology International**, v. 56, n. 2, p. 113-123, 2007.

KETIKU, A.O. Chemical composition of unripe (green) and ripe plantain (*Musa paradisiaca*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 24, n. 6, p. 703-707, 1973.

KIM, H.; LEE, D.; LEE, S.; SEONG, A.; GIN, D.; HWANG, J.; PARK, J. Chlorogenic acid suppresses pulmonary eosinophilia, IgE production, and Th2-type cytokine production in ovalbumin-induced allergic asthma: activation of STAT-6 and JNK is inhibited by chlorogenic acid. **International Immunopharmacology**, v. 10, p. 1242-1248, 2010.

KISHIDA, E.; TOKUMARU, S.; ISHITANI, Y.; YAMAMOTO, M.; ORIBE, M.; IGUCHI, H.; KOJO, S. Comparison of the formation of malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactive substances from autoxidized fatty acids based on oxygen consumption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 1598-1600, 1993.

KLEIJNEN, J.; KNIPSCHILD, P.; *Ginkgo biloba* for cerebral insufficiency. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 34, n. 4, p. 352-358, 1992.

KOHEN, R.; NYSKA, A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. **Toxicologic Pathology**, v. 30, n. 6, p. 620-650, 2002.

KUMAR, K.P.S.; BHOWMIK, D.; DURAIVEL, S.; UMADEVI, M. Traditional and medicinal uses of banana. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 1, n. 3, p. 51-63, 2012.

KUMARAN, A.; KARUNAKARAN, R.J. *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. **LWT: Food Science and Technology**, v. 40, p. 344-352, 2007.

LAMBERS, H.; CHAPIN III, F.S.; PONS, T.L. **Plant Physiological Ecology**, New York: Springer, p. 413, 1998.

LEE, J.; DURST, R.W.; WROLSTAD, R.E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by pH differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n.5, p. 1269-1278, 2005.

LEE, H.; LEE, J.Y.; SUH, M.H.; SIM, S.; LEE, M.; KIM, C.J. Hydrolysable tannins depress cardiac papillary muscle contraction and propranolol-induced negative inotropism. **Fitoterapia**, v. 81, p.820-825, 2010.

LEWIS, D.A.; FIELDS, W.N.; SHAW, G.P. A natural flavonoid present in unripe plantain banana pulp (*Musa sapientum* L. var. *paradisiaca*) protects the gastric mucosa from aspirin-induced erosions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 65, p. 283-288, 1999.

LILA, M.A. Anthocyanins and human health: an *in vitro* investigative approach. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2004, n. 5, p. 306-313, 2004.

LIMA, A. **Índice Terapêutico e Fitoterápico: ITF**, 1ª ed., Petrópolis/RJ: Editora Científica, 328 p., 2008.

LIU, H.; QIU, N.; DING, H.; YAO, R. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. **Food Research International**, v. 41, p. 363-370, 2008.

LOGANAYAKI, N.; RAJENDRAKUMARAN, D.; MANIAN, S. Antioxidant capacity and phenolic content of different solvent extracts from banana (*Musa paradisiaca*)

and mustai (*Rivea hypocrateriformis*). **Food Science Biotechnology**, v. 19, n. 5, p. 1251-1258, 2010.

LU, J.; PAPP, L.V.; FANG, J.; RORIGUEZ-NIETO, S.; ZHIVOTOUSKY, B.; HOLMGREN, A. Inhibition of mammalian thioredoxin reductase by some flavonoids: implications for myricetin and quercetin anticancer activity. **Cancer Research**, v. 66, n.8, p. 4410-4418, 2006.

MACDONALD-WICKS, L.K.; WOOD, L.G.; GARG, M.L. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: a review. **Journal of Science of Food Agriculture**, v. 86, n.13, p. 2046-2056, 2006.

MAHAN, B.M.; MYERS, R.J. **Química: um curso universitário**, São Paulo: Editora Blücher LTDA, p. 168, 1995.

MAHMOOD, A.; NGAH, N.; OMAR, M.N. Phytochemicals constituent and antioxidant activities in *Musa x paradisiaca* flower. **European Journal of Scientific Research**, v. 66, n. 2, p. 311-318, 2011.

MAHMOOD, A.; OMAR, M.N.; NGAH, N. Galactagogue effects of *Musa x paradisiaca* flower extract on lactating rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 11, p. 882-886, 2012.

MARIE-MAGDELEINE, C.; BOVAL, M.; PHILIBERT, L.; BORDE, A.; ARCHIMÈDE, H. Effect of foliage (*Musa x paradisiaca*) on nutrition, parasite infection and growth of lambs. **Livestock Science**, v. 131, p. 234-239, 2010.

MARIE-MAGDELEINE, C.; UDINO, L.; PHILIBERT, L.; BOCAGE, B.; ARCHIMEDE, H. *In vitro* effects of *Musa x paradisiaca* extracts on four developmental stages of *Haemoncus contortus*. **Research in Veterinary Science**, v. 96, p. 127-132, 2014.

MASCARAQUE, C.; LÓPEZ-POSADAS, R.; MONTE, M.J.; ROMERO-CALVO, I.; DADDAUA, A.; GONZÁLEZ, M.; MARTÍNEZ-PLATA, E.; SUÁREZ, M.D.; GONZÁLEZ, R.; MARÍN, J.J.G.; ZARZUELO, A.; MARTÍNEZ-AUGUSTIN, O.; MEDINA, F.S. The small intestinal mucosa acts as rutin reservoir to extend flavonoid anti-inflammatory activity in experimental ileitis and colitis. **Journal of Functional Foods**, v. 13, p. 117-125, 2015.

MAXIMO, M. Imagem disponível em: <  
<http://mmaximo.musicblog.com.br/332350/BANANEIRA/>>. Acesso em:  
 25/02/2015.

MATOS, F.J.A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**, 3ª ed. EUFC: Fortaleza, 2009.

MIGUEL, M.G. Plantas aromáticas e medicinais como antioxidantes naturais: métodos de análise. In: FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; PEDRO, L.G. **Potencialidades das Plantas Aromáticas e Medicinais. Curso Teórico-**

**Prático**, 3<sup>a</sup> ed., Portugal: Editora da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa - Centro de Biotecnologia Vegetal, p. 106-136, 2007.

MORAIS, S.A.L.; AQUINO, F.J.T.; NASCIMENTO, P.M.; NASCIMENTO, E.A.; CHANG, R. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café conilon submetido a diferentes graus de torra. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 327-331, 2009.

MORÁN, M.; MORENO-LASTRES, D.; MARÍN-BUERA, L.; ARENAS, J.; MARTÍN, M.A.; UGALDE, C. Mitochondrial respiratory chain dysfunction: Implications in neurodegeneration. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, p. 595-609, 2012.

MOHR, H; SCHOPFER, P. **Plant Physiology**, 4<sup>th</sup> ed. Germany: Springer, p. 275-284, 1995.

NAVARRO, A. Mitochondrial enzyme activities as biochemical markers of aging. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 25, p. 37-48, 2004.

NGUYEN, H.T.; VO, B.T.; NGUYEN, L.H.; BERNAD, J.; ALAEDDINE, M.; COSTE, A.; REYBIER, K.; PIPY, B.; NEPVEU, F. Extracts of *Crinum latifolium* inhibit the cell viability of mouse lymphoma cell line EL4 and induce activation of anti-tumour activity of macrophages *in vitro*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149, n. 1, p. 75-83, 2013.

NISHA, P.; MINI, S. Flavanoid rich ethyl acetate fraction of *Musa paradisiaca* inflorescences down-regulates the streptozotocin induced oxidative stress, hyperglycaemia and mRNA levels of selected inflammatory genes in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 1838-1847, 2013.

NISHA, P.; MINI, S. *In Vitro* Antioxidant and antiglycation properties of methanol extract and its different solvent fractions of *Musa paradisiaca* L. (cv Nendran) inflorescences. **International Journal of Food Properties**, v. 17, n. 2, p. 399-409, 2014.

NISHIKIMI, M.; RAO, N.A.; YAGI, K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazinemetosulfate and molecular oxygen. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 46, n. 2, p. 849-854, 1972.

IYAWA, H.O.T.; AZIH, M.C. Total phenolic contents and lipid peroxidation potentials of some tropical antimalarial plants, **European Journal of Medicinal Plants**, v. 1, n. 2, p. 33-39, 2011.

OHARA, A. **Radicais Livres: bons, maus e naturais**. 1<sup>a</sup> ed., São Paulo: Editora Oficina de Textos, p. 35-65, 2006.

OHNISHI, M.; MORISHITA, H.; IWAHASHI, H.; TODA, S.; SHIRATAKI, Y.; KIMURA, M.; KIDO, R. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and hemolysis. **Phytochemistry**, v. 36, n. 3, p. 579-583, 1994.

OJEWOLE, J.A.; ADEWUNMI, C.O. Hypoglycemic effect of methanolic extract of *Musa paradisiaca* (Musaceae) green fruits in normal and diabetic mice. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, v. 25, n. 6, p. 453-456, 2003.

OLTHOF, M.R.; HOLLMAN, C.H.; KATAN, M.B. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 1, p. 66-71, 2001.

ONG, K.C.; KHOO, H. Biological effects of myricetin. **General Pharmacology**, v. 29, n. 2, p. 121-126, 1997.

OSBOURN, A.; GOSS, R.J.M.; FIELD, R.A. The saponins: polar isoprenoids with important and diverse biological activities. **Natural Products Report**, v. 28, p. 1261-1268, 2011.

OYAIZU, M. Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. **Japanese of Journal of Nutrition**, v. 44, p. 307, 1986.

PADAM, B.S.; TIN, H.S.; CHYE, F.Y.; ABDULLAH, M.I. Antibacterial and antioxidative activities of the various solvent extracts of banana (*Musa paradisiaca* cv. Mysore) inflorescences. **Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 2, p. 62-73, 2012.

PAVEI, C., KAISER, S., BORRÉ, G. L., & ORTEGA, G. G. Validation of a LC method for polyphenols assay in cat's claw (*Uncaria tomentosa*). **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 33, p. 1551-1561, 2010.

PAZMIÑO-DURÁN, E.A.; GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E.; GLÓRIA, M.B.A. Anthocyanins from banana bracts (*Musa x paradisiaca*) as potential food colorants. **Food Chemistry**, v. 73, p. 327-332, 2001.

PERES, Lázaro E. P. Metabolismo secundário In: CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. PERES, **Manual de Fisiologia Vegetal: Teoria e Prática**. 1ª ed., São Paulo: Editora Agronomica Ceres LTDA, 650 p., 2005.

PERFUMI, M.; MASSI, M.; DE CARO, G.; Effects of banana feeding on deoxycorticosterone-induced hypertension and salt consumption in rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 32, n. 2, p. 115-125, 1994.

PÉREZ, M.J.; CUELLO, A.S.; ZAMPINI, I.C.; ORDOÑEZ, R.M.; ALBERTO, M.R.; QUISPE, C.; HIRSCHMANN, G.S.; ISLA, M.I. Polyphenolic compounds and anthocyanin content of *Prosopis nigra* and *Prosopis alba* pods flour and their antioxidant and anti-inflammatory capacities. **Food Research International**, v.64, p.762-771, 2014.

QUEIROZ, C.R.A.A.; MORAIS, S.A.L; NASCIMENTO, E.A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta. **Sociedade de Investigações Florestais**, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

RABBANI, G.H.; TEKA, T.; ZAMAN, B.; MAJID, N. KHATUN, M. FUCHS, G.J. Clinical studies in persistent diarrhea: dietary management with green banana or pectin in Bangladeshi children. **Gastroenterology**, v.121, p. 554-560, 2001.

RAINS, J.L.; JAIN, S.K. Oxidative stress, insulin, signaling and diabetes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 50, n. 5, p. 567-575, 2011.

RATES, S.M.K. Plants as Source of Drugs. **Toxicon**, v. 9, n. 5, p. 603-613, 2001.

RHEE, S.G.; BAE, Y.S.; LEE, S.R.; KWON, J. Hydrogen peroxide: a key messenger that modulates protein phosphorylation through cysteine oxidation. **Science (Science Signaling)**, v. 2000, n. 53, 2000.

RIZVI, S.I.; ZAID, M.A. Insulin-like effect of (-) epicatechin on erythrocyte membrane acetylcholinesterase activity in type 2 diabetes mellitus. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 28, p. 776-778, 2001.

ROSANO, A.A.C.; ANGELINI, G.; AMARO, A.; ESPOSITO, A.I.; MARAMOTTI, S.; NOONAN, D.M.; PFEFFER, U. Exogenous hormonal regulation in breast cancer cells by phytoestrogens and endocrine disruptors. **Current Medicinal Chemistry**, v. 21, p.1129-1145, 2014.

ROY, S.J.; PRINCE, P.S.M.; Protective effects of sinapic acid on cardiac hypertrophy, dyslipidaemia and altered electrocardiogram in isoproterenol-induced myocardial infarcted rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 699, p. 213-218, 2013.

SAHA, S.; HOSSAIN, F.; ANISUZZMAN, M.; ISLAM, M.K. Pharmacological evaluation of *Musa seminifera* Lour. fruit. **Journal of Integrative Medicine**, v. 11, n. 4, p. 253-261, 2013.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.

SANTOS, J.M.; CAMPESATTO, E.A.; BASTOS, M.L.A.; SANTOS, R.M.; LÚCIO, I.M.L.; CONSERVA, L.M. Avaliação da atividade biológica da *Musa* spp. (bananeira): revisão integrativa da literatura. **Journal of Nursing UFPE online**, v. 6, n. 8, 1948-1957, 2012.

SATO, Y.; ITAGAKI, S.; KUROKAWA, T.; OGURA, J.; KOBAYASHI, M.; HIRANO, T.; SUGAWARA, M.; ISEKI, K.; *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 403, p. 136-138, 2011.

SCHEIBMEIR, H.D.; CHRISTENSEN, K.; WHITAKER, S.H. JEGAETHESAN, J.; CLANCY, R.; PIERCE, J.D. A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. **Intensive and Critical Care Nursing**, v. 21, p. 24-28, 2005.

SENS, S. L. **Alternativas para a auto-sustentabilidade dos xokleng da terra indígena Ibirama**. Dissertação (Mestrado em Engenharia da Produção), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

SHENG, H.; SUN, H. Synthesis, biology and clinical significance of pentacyclic triterpenes: a multi-target approach to prevention and treatment of metabolic and vascular diseases. **Natural Products Reports**, v. 28, p. 543-593, 2011.

SHENG, Z.W.; MA, W.H.; GAO, J.H.; BI, Y.; ZHANG, W.M.; DOU, H.T.; JIN, Z.Q. Antioxidant properties of banana flower of two cultivars in China using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) reducing power, 2,2-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate (ABTS) and inhibition of lipid peroxidation assays. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 21, p. 4470-4477, 2011.

SHODEHINDE, S.A.; OBOH, G. Aqueous extracts from unripe plantain (*Musa paradisiaca*) products inhibit key enzymes linked with type 2 diabetes and hypertension *in vitro*. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 5, n. 4, p. 239-246, 2012.

SHODEHINDE, S.A.; OBOH, G. Antioxidant properties of aqueous extracts of unripe *Musa paradisiaca* on sodium nitroprusside induced lipid peroxidation in rat pancreas *in vitro*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 6, p. 449-457, 2013.

SIES, H. Oxidative Stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**, v. 82, n. 2, p. 291-295, 1997.

SILVA, A.C.P.; SARTORI, G.V.; OLIVEIRA, A.L. Composição nutricional do coração da bananeira e sua utilização como um alimento alternativo, **SaBios: revista de saúde e biologia**, v. 9, n. 2, p.40-45, 2014.

SIMÕES, C.M.O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 6<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 1102 p., 2007.

SINGHAL, M.; RATRA, P. Antioxidant activity, total flavonoid and total phenolic content of *Musa acuminata* peel extracts. **Global Journal of Pharmacology**, v. 7, n. 2, p.118-122, 2013.

SINGLETON, V.L.; ROSSI JR., J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 4<sup>a</sup> ed, Porto Alegre: Artmed, p. 343-372, 2009.

TERAO, J.; PISKULA, M.; YAO, M. Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate, and quercetin n lipid peroxidation in phospholipid bilayers. **Archives of Biochemistry an Biophysics**, v. 308, n. 1, p. 278-284, 1994.

TSIAPALI, E.; WHALEY, S.; KALBFLEISCH, J.; ENSLEY, H.E.; BROWDER, I.W.; WILLIAMNS, D.L. Glucans exhibit weak antioxidant activity, but stimulate macrophage free radical activity. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 30, n. 4, p. 393-402, 2001.

TONKS, N.K. Redox redux: revisiting PTPs and the control of cell signaling. **Cell**, v.121, p. 667-670, 2005.

VALKO, M.; RHODES, C.J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, n. 1, p. 1-40, 2006.

VELIOGLU, Y.S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B.D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4113-4117, 1998.

VENNAT, B.; GROSS, D.; POURRAT, A.; POURRAT, H. *Hamamelis virginiana*: identification and assay of proanthocyanidins, phenolic acids and flavonoids in leaf extracts. **Pharm. Acta Helv.** v. 67. n. 1, p. 11-14, 1992.

VIJAYAKUMAR, S.; PRESANNAKUMAR, G.; VIJAYALAKSHMI, N.R. Antioxidant activity of banana flavonoids. **Fitoterapia**, v. 79, p. 279-282, 2008.

YANG, J.; GUO, J.; YUAN, J. *In vitro* antioxidant properties of rutin. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, p. 1060-1066, 2008.

YANG THONG, M.; HUTADILOK-TOWATABA, N.; PHROMKUNTHONG, W. Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. **Plant Foods Human Nutrition**, v. 64, p. 218-223, 2009.

YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas Medicinais: sob a ótica da química medicinal moderna**, 1ª ed. Chapecó: Argos, 1102 p., 2001.

WALLACE, T.C. Anthocyanins in cardiovascular disease. **Advances in Nutrition**, v. 2, p. 1-7, 2011.

WANG, J.; ZHANG, Q.; ZHANG, Z.; LI, Z. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. **International Journal of Macromolecules**, v. 42, p. 127-132, 2008.

WINTERBOURN, C.C. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. **Nature (Chemical Biology)**, v. 4, n. 5, p. 278-286, 2008.

XAVER, F. Imagem disponível em: <[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Musa\\_paradisiaca\\_1.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Musa_paradisiaca_1.jpg)>. Acesso em: 25/02/2015.

ZHAO, Z.; MOGHADASIAN, M.H. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: a review. **Food Chemistry**, v. 109, p. 691-702, 2008.