

FENÓLICOS TOTAIS, FLAVONOIDES TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE *Croton argyrophyllus* KUNTH (EUPHORBIACEAE)

Matheus Andrade Rocha Costa¹; Rândilla Regis Cordeiro dos Santos²; Simone Andrade Gualberto³; Sandra Lúcia da Cunha e Silva³

¹Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais – PPGCA/UESB (matheusarcosta@gmail.com), Itapetinga-Brasil

²Mestre em Química pela Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, Ilhéus-Brasil

³Núcleo de Pesquisa em Química Aplicada (NUPESQ)/Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) – Praça Primavera, 40, Bairro Primavera, Itapetinga, Bahia. Cep: 45700-000, Brasil.

Recebido em: 08/04/2017 – Aprovado em: 10/06/2017 – Publicado em: 20/06/2017
DOI: 10.18677/EnciBio_2017A53

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antioxidante e os teores de fenólicos e flavonoides totais presentes no extrato etanólico e frações obtidos dos caules da espécie *Croton argyrophyllus* Kunth. O estudo envolveu a obtenção do extrato etanólico dos caules da espécie em estudo, por percolação com solução hidroetanólica a 95%. O fracionamento do extrato etanólico foi realizado com três diferentes solventes (Hexano, Diclorometano e Acetato de Etila). A análise preliminar da composição química foi feita por testes *in vitro*, com reagentes específicos para as diferentes classes de constituintes químicos. A quantificação dos fenólicos e flavonoides totais foi feita por espectrofotometria na região do visível. A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro de radicais livres DPPH e pelo método da redução de íons ferro (FRAP). Os resultados da prospecção química demonstraram a presença de ácidos fixos fortes, flavonoides, taninos e triterpenoides no extrato etanólico, sendo comprovado através da quantificação de compostos fenólicos e flavonoides totais. O extrato etanólico e as frações acetato de etila (FAE) e hidroalcoólica (FHA) apresentaram uma forte atividade antioxidante, sendo que a fração FAE foi a mais ativa, com CE₅₀ de 4,27 ± 0,016 µg.mL⁻¹. Os resultados obtidos demonstram que a espécie estudada é rica em compostos fenólicos e apresenta uma forte atividade antioxidante, apresentando grande potencial para aplicação como antioxidante natural.

PALAVRAS-CHAVE: Caatinga, plantas medicinais, radicais livres.

TOTAL PHENOLICS, TOTAL FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS OF *Croton argyrophyllus* KUNTH (EUPHORBIACEAE)

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the antioxidant activity and the total phenolic and flavonoid contents present in the ethanolic extract and fractions obtained from the stems of the species *Croton argyrophyllus* Kunth. The study

involved the obtaining of the ethanolic extract of the stems of the species under study, by percolation with 95% hydroethanolic solution. The fractionation of the ethanolic extract was carried out with three different solvents (Hexane, Dichloromethane and Ethyl Acetate). The preliminary analysis of the chemical composition was done by *in vitro* tests, with specific reagents for the different classes of chemical constituents. Quantification of phenolics and total flavonoids was done by spectrophotometry in the visible region. The evaluation of the antioxidant activity was performed by the DPPH free radical sequestration method and by the iron ion reduction method (FRAP). The results of the chemical prospection showed the presence of strong fixed acids, flavonoids, tannins and triterpenoids in the ethanolic extract, being proved by the quantification of total phenolic compounds and flavonoids. The ethanolic extract and ethyl acetate (FAE) and hydroalcoholic fractions (FHA) showed a strong antioxidant activity, with the FAE fraction being the most active, with EC₅₀ of $4.27 \pm 0.016 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The results show that the species studied is rich in phenolic compounds and presents a strong antioxidant activity, presenting great potential for application as a natural antioxidant.

KEYWORDS: Caatinga, medicinal plants, free radicals.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais na cura e tratamento de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana e, atualmente, sua utilização encontra-se em expansão por todo o mundo, representando um importante recurso natural e terapêutico para muitas comunidades e grupos étnicos (SARAIVA et al., 2015; SADAT-HOSSEINI et al., 2017).

No Brasil, a utilização de plantas medicinais e fitoterápicos para o tratamento de doenças, apresenta fundamental influência das culturas indígena, africana e européia (BORDA & MACEDO, 2006). Além dessa influencia étnico-cultural, outro fator que vem contribuindo para a larga utilização de plantas para fins medicinais, é a ampla diversidade de espécies vegetais encontradas no país, que representam cerca de 20% de toda a flora mundial, constituindo uma rica biodiversidade, ainda pouco estudada cientificamente, apresentando grande potencial para obtenção de produtos bioativos (DUTRA et al. 2016).

Em meio às inúmeras espécies vegetais que compõe a flora brasileira, as espécies do gênero *Croton* merecem destaque, pois é considerado o segundo maior gênero da família Euphorbiaceae, com aproximadamente 1200 espécies, podendo encontrar representantes tanto medicinais quanto tóxicos. No Brasil, o gênero *Croton* apresenta aproximadamente 350 espécies, distribuídas em diferentes biomas, destacando-se o cerrado, a caatinga e os campos rupestres (BERRY et al., 2005; SILVA et al., 2010).

Muitas espécies desse gênero produzem óleos essenciais e compostos bioativos que são valorizados por suas características aromáticas e terapêuticas, e que apresentam propriedades farmacológicas já comprovadas cientificamente, como anti-inflamatória, anticancerígena, antioxidante, antimicótica, antibacteriana e antiviral, o que as torna fontes promissoras de substâncias bioativas utilizadas para o tratamento de inúmeras doenças, bem como para a formulação de fármacos, coadjuvantes e inseticidas (ALMEIDA et al., 2013; RAMOS et al., 2013; CARVALHO et al., 2016; CORDEIRO et al., 2016; YAGI et al., 2016).

Os principais metabólitos identificados nas espécies do gênero *Croton* pertencem, principalmente, às classes dos alcaloides, esteroides, terpenoides e

flavonoides, sendo que, normalmente, estes metabólitos são os responsáveis pelas propriedades farmacológicas identificadas nos vegetais, e por sua defesa contra herbívoros e atração dos polinizadores. (BARRETO et al., 2013; NDHLALA et al., 2013; RAMOS et al., 2013; QIU et al., 2016).

Croton argyrophyllus Kunth é uma espécie frequentemente encontrada no bioma Caatinga do Nordeste do Brasil, sendo popularmente conhecida, nesta região, como “velame falso”, “marmeleiro branco” ou ainda “alecrim-de-vaqueiro”. É uma espécie arbustiva, tradicionalmente usada como calmante e no tratamento de doenças cardíacas (ALBUQUERQUE et al., 2007; SILVA et al., 2010).

Estudos realizados já demonstraram que *C. argyrophyllus* produz óleo essencial, apresentando algumas atividades biológicas, como a atividade inseticida sobre larvas e adultos de *Aedes Aegypti* (CRUZ et al., 2017), o efeito anti-inflamatório e antioxidante (RAMOS et al., 2013), o efeito antinociceptivo (RAMOS et al., 2016) e a atividade citotóxica (ARAÚJO et al., 2014). Entretanto, estudos relacionados com a atividade antioxidante e os teores de fenólicos e flavonoides totais dos extratos vegetais ainda não foram encontrados.

A descoberta de novos antioxidantes naturais, obtidos de extratos vegetais, tem sido foco de diversas investigações científicas em todo mundo, especialmente devido ao seu potencial para aplicação farmacológica e no tratamento e prevenção de doenças. Normalmente, os compostos fenólicos estão presentes na maioria das espécies vegetais que inibem a formação de radicais livres, sendo uma das principais classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, e que, geralmente, são representados pelos flavonoides, taninos, cumarinas, ligninas e outros (SOUSA et al., 2007; MORAIS et al., 2009).

De forma geral, os antioxidantes são substâncias capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células, inibindo a produção de espécies altamente reativas, que podem iniciar a oxidação de proteínas, aminoácidos e do ácido desoxirribonucléico (DNA), o que resultaria no envelhecimento e no desenvolvimento de doenças degenerativas, como câncer, catarata, doenças cardiovasculares e disfunções cerebrais (SOUSA et al., 2007; MORAIS et al., 2009).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil fitoquímico e os teores de fenólicos e flavonoides totais presentes no extrato etanólico e frações obtidas dos caules da espécie de *Croton argyrophyllus*, e avaliar sua atividade antioxidante frente ao radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) e através da redução de íons ferro (método FRAP), visando ampliar os conhecimentos sobre as propriedades químicas e farmacológicas da espécie estudada.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Os caules de *C. argyrophyllus* foram coletados no período matutino, no mês de maio/2012, na Floresta Nacional de Contendas do Sincorá, situada no município de Contendas do Sincorá – BA. Exsiccatas do material vegetal foram encaminhadas para o Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS, onde foram analisadas, identificadas e registradas, sob número HUEFS 4662 (S13°55.25' W041°06.88').

Preparação e fracionamento do extrato etanólico

O material vegetal coletado foi previamente selecionado, pesado (1.580 g) e, em seguida, seco em estufa de circulação de ar por 48 horas a uma temperatura de 45°C, apresentando uma perda de umidade de 28,5%. Posteriormente, foi realizada a moagem dos caules em moinho de facas (SOLAB – Mod. 51-037). O material seco e triturado foi submetido à percolação com solução hidroetanólica a 95% até exaustão e, após o término das extrações, o solvente foi concentrado em evaporador rotatório (FISATOM – Mod. 801) sob pressão reduzida a 45°C, obtendo-se o extrato etanólico (EE).

O extrato etanólico foi fracionado por partição líquido-líquido com solventes de polaridades crescentes: hexano, diclorometano e acetato de etila. A partição foi realizada a partir de 40 g do EE diluído em uma solução hidroetanólica a 70%. Iniciou-se o fracionamento do extrato utilizando-se como solvente o hexano (C₆H₁₄), seguido do diclorometano (CH₂Cl₂) e do acetato de etila (C₄H₈O₂), para obterem-se, respectivamente, as frações hexânica (FH), diclorometânica (FD), acetato de etila (FAE) e, o que restou da solução hidroalcoólica, passou a denominar-se fração hidroalcoólico (FHA).

Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica auxilia no conhecimento preliminar dos principais metabólitos presentes em extratos vegetais, garantindo ao pesquisador a adaptação e utilização das melhores técnicas de isolamento e quantificação das substâncias de maior interesse.

Desta forma, a análise preliminar do extrato etanólico dos caules de *C. argyrophyllus*, foi realizada seguindo a metodologia descrita por MATOS (1988), com a finalidade de identificar os seguintes grupos de constituintes químicos: ácidos fixos fortes, alcaloides, antocianinas, antocianidinas, bases quaternárias, catequinas, cumarinas, chalconas, esteroides livres, fenóis, flavonas, flavonóis, flavononóis, flavononas, heterosídeos cianogênicos, leucoantocianidinas, quinonas, resinas, saponinas, taninos, triterpenoides e xantonas.

Determinação de fenóis totais

A determinação do teor de fenólicos totais presentes no EE e frações da espécie em estudo foi feita por meio de espectroscopia na região do visível através do método de Folin-Ciocalteu, seguindo a metodologia descrita por SOUSA et al. (2007), com modificações.

O extrato etanólico e as frações FH, FD e FHA foram diluídos em metanol a uma concentração de 250 µg.mL⁻¹, já a fração acetato de etila (FAE) foi diluída na concentração de 100 µg.mL⁻¹. Em tubos de ensaio, alíquotas de 500 µL de cada amostra foram agitadas com 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 6,0 mL de água deionizada por um minuto; passado este tempo, 2,0 mL de Na₂CO₃ a 15% foram adicionados à mistura e as soluções agitadas por 30 segundos. Em seguida, as soluções tiveram seus volumes acertados para 10,0 mL com água deionizada, sendo posteriormente deixadas em repouso por duas horas ao abrigo da luz. A leitura foi realizada a 750 nm em espectrofotômetro Shimadzu UV mine 1240, tendo como “branco” o metanol e todos os reagentes, menos a amostra.

O teor de fenólicos totais foi determinado por interpolação das absorbâncias das amostras em uma curva analítica construída com soluções padrão de ácido gálico (3,9; 7,8; 15,62; 31,25; 62,5; 125,0 e 250 µg.mL⁻¹) e expressos como mg de

EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. A Equação de regressão linear obtida foi $y = 0,0053x + 0,0294$, e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9961$. Todas as análises foram realizadas em triplicata e em ambiente escuro.

Determinação de flavonoides totais

A concentração dos flavonoides totais foi determinada por ensaio colorimétrico usando cloreto de alumínio como agente cromofórico, de acordo com a metodologia descrita por MARINOVA et al. (2005), com modificações. Para a realização do ensaio, o extrato etanólico e as frações FH, FD e FHA foram diluídos em uma concentração de $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$, já para a fração acetato de etila (FAE) foi utilizada a concentração de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, usando-se metanol como solvente em todas as amostras.

Alíquotas de 0,5 mL de cada amostra foram adicionadas em tubos de ensaio, contendo 4,0 mL de água deionizada. Em seguida, foram acrescentados 0,3 mL de uma solução aquosa de nitrito de sódio (NaNO_2) a 5% e agitados em agitador de tubos. Após cinco minutos, 0,3 mL de solução aquosa de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 10% foram adicionados e as soluções homogeneizadas. Após seis minutos, 2,0 mL de solução aquosa de NaOH a 1,0 M foram adicionados e o volume acertado para 10,0 mL com água deionizada. As soluções foram agitadas e as absorbâncias foram lidas a 510 nm em espectrofotômetro Shimadzu UV mine 1240, tendo como “branco” o metanol e todos os reagentes.

Para determinar o teor de flavonoides construiu-se uma curva analítica com soluções padrão de quercetina (20,0; 40,0; 60,0; 80,0 e $100,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$), sendo as absorbâncias das amostras interpoladas nela. O teor de flavonoides totais foi expresso como mg de EQ (equivalente de quercetina) por g de extrato. A Equação de regressão linear obtida foi $y = 0,0010x - 0,0097$, e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9992$. As análises foram realizadas em triplicata e em ambiente escuro.

Atividade antioxidante pelo método DPPH

A avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) foi determinada seguindo a metodologia descrita por RUFINO et al. (2007), com algumas adaptações, sendo monitorada a capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em sequestrar o radical livre DPPH. O DPPH é um radical estável que possui cor púrpura, e na presença de um antioxidante é reduzido formando uma coloração amarelada, com conseqüente desaparecimento da absorção no comprimento de onda analisado, que pode ser monitorado através do decréscimo das absorbâncias.

As soluções do extrato etanólico e as frações FH, FD e FHE foram diluídas em metanol nas concentrações de 250; 500; 750 e $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, a fração FAC nas concentrações de 50; 100; 200 e $400 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Já os controles positivos butilhidroxitolueno – BHT (50; 100; 150; 200; e $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e quercetina (50; 100; 150; 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Em ambiente escuro foram transferidos 0,1 mL de cada concentração das amostras para tubos de ensaio contendo 3,9 mL de solução metanólica de DPPH a 0,06 mM e as soluções homogeneizadas em agitador de tubos.

O controle negativo foi composto de 0,1 mL de metanol com 3,9 mL da solução de DPPH. O tempo de reação das amostras foi inicialmente determinado por uma cinética de reação, sendo observada a redução das absorbâncias até sua estabilização. O tempo de reação observado para os extratos e o BHT foi de 30 min,

e para a quercetina, de 10 min. Ao término das reações, as leituras foram feitas em espectrofotômetro Shimadzu UV mine 1240 em comprimento de onda de 515 nm, sendo utilizado o metanol como “branco”.

Todas as análises foram realizadas em triplicata e em ambiente escuro. Para a realização dos cálculos, considerar o fator diluição da amostra com a solução de DPPH (40 vezes). Os valores médios das absorvâncias de todas as concentrações testadas foram convertidos em percentual de inibição de atividade antioxidante, determinados pela Equação:

$$\% I = [(ABS\ DPPH - ABS\ Amostra) / ABS\ DPPH] * 100$$

Em que: ABS DPPH é a leitura da absorvância da solução de DPPH puro e ABS Amostra é a leitura registrada para cada amostra após a aplicação do método DPPH.

A concentração efetiva da amostra necessária para reduzir a concentração inicial do radical DPPH em 50% (CE₅₀) foi calculada a partir de uma curva linear, obtida graficamente por plotagem da concentração das amostras em relação ao correspondente efeito de inibição da atividade antioxidante (% I).

Os resultados da avaliação da atividade antioxidante também foram expressos em quantidade de gramas de extrato necessários para reduzir um grama de DPPH, conforme definido por RUFINO et al. (2007). Preparou-se uma curva analítica de DPPH nas seguintes concentrações: 10; 20; 30; 40; 50; e 60 µM, obtendo a equação de regressão linear correspondente a $y = 0,0133x + 0,0037$ e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9996$.

O valor correspondente à metade da absorvância da solução de DPPH puro (0,06 mM) foi substituído na equação do DPPH, para encontrar a concentração em µM de DPPH, correspondente a 50% da concentração inicial do radical e, em seguida, transformado para g de DPPH pela Equação:

$$g\ DPPH = (\mu M\ DPPH / 1.000.000) * 394,3\ (\text{peso molecular do DPPH})$$

Em seguida, o valor de CE₅₀ (µg.mL⁻¹) encontrado anteriormente, é convertido para g/L e dividindo pelo valor encontrado de g de DPPH, obtendo assim, o resultado final expresso em g de extrato / g de DPPH. A atividade antioxidante das amostras foi expressa também pelo índice de atividade antioxidante (IAA) proposto por SCHERER & GODOY (2009). Este índice facilita comparar a força antioxidante de diferentes extratos, e é calculado de acordo com a seguinte equação:

$$IAA = \frac{\text{Concentração inicial de DPPH } (\mu g.mL^{-1})}{CE_{50} (\mu g.mL^{-1})}$$

A concentração do DPPH utilizada no ensaio correspondeu a 24 µg.mL⁻¹ para uma solução de 0,06 mM. A atividade antioxidante é considerada pobre quando o IAA < 0,5, moderada quando o IAA estiver entre 0,5 e 1,0, é forte quando o IAA estiver entre 1,0 e 2,0 e muito forte quando o IAA > 2,0.

Atividade antioxidante pelo método FRAP

A avaliação da atividade antioxidante dos extratos obtidos dos caules da espécie em estudo, foi determinada também pelo método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), seguindo a metodologia descrita por RUFINO et al. (2006), com modificações.

O reagente FRAP é obtido a partir da mistura de 25 mL de solução tampão acetato a 0,3 M, 2,5 mL de uma solução de TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina), com concentração de 10 mM em solução aquosa de HCl a 40 mM e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM, devendo ser usado imediatamente após sua preparação.

Os extratos vegetais (EE, FH, FD, FAC e FHA) e os controles positivos (BHT e quercetina) foram preparados na concentração de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, usando-se metanol como solvente em todas as amostras. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90 μL de cada amostra para tubos de ensaio (em triplicata). Posteriormente, acrescentou-se 270 μL de água deionizada e 2,7 mL do reagente de FRAP. As amostras foram homogeneizadas em agitador de tubos e mantidas em banho-maria a 37 °C por 30 minutos. Após esse tempo foram feitas as leituras das absorbâncias em comprimento de onda de 595 nm, sendo utilizado o reagente de FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro.

A curva de calibração foi preparada com soluções de sulfato ferroso nas concentrações de 500, 1000, 1500 e 2000 μM , seguindo o mesmo procedimento de análises das amostras. Posteriormente, as leituras das absorbâncias foram plotadas no eixo Y e as concentrações de sulfato ferroso (em μM) no eixo X, obtendo-se a Equação da reta $y = 0,0007x - 0,0284$ e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9997$.

Os valores médios das absorbâncias das amostras foram substituídos na equação de regressão linear obtida, para se determinar a capacidade das amostras em reduzir o Fe^{3+} presente na solução a Fe^{2+} , e o resultado equivalente a concentração em μM de $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Posteriormente, o valor encontrado foi convertido em mg de $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ / grama de extrato, e o resultado final expresso em mg de Fe^{2+} / grama de extrato.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato etanólico (EE) dos caules de *C. argyrophyllus* foi obtido com o rendimento de 11,75% e as frações FHA e FAE foram as que apresentaram maior rendimento, correspondendo a 68,2% e 15,5%, respectivamente, a partir do EE (Tabela 1). A prospecção fitoquímica realizada no extrato EE indicou a presença de diferentes classes de metabólitos especializados, apresentando resultados positivos para ácidos fixos fortes, flavonoides, taninos e triterpenoides.

O teor de fenólicos totais (FT) dos extratos foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu e expresso em miligramas de EAG (equivalentes de ácido gálico) por grama (g) de extrato. A fração acetato de etila (FAE) apresentou o maior teor de fenólicos totais ($610,52 \pm 12,43$ mg EAG g^{-1} de extrato), em comparação com as demais amostras (Tabela 1). O extrato etanólico (EE) apresentou teor de FT de $269,72 \pm 6,25$ mg EAG g^{-1} de extrato, seguindo da fração FHA com $226,96 \pm 6,41$ mg EAG g^{-1} de extrato. Os menores teores de FT foram encontrados para as frações FH e FD, com $30,41 \pm 1,05$ e $84,90 \pm 1,37$ mg EAG g^{-1} de extrato, respectivamente.

Com relação aos flavonoides totais, os resultados obtidos foram expressos em miligramas de EQ (equivalentes de quercetina) por grama (g) de extrato, observando-se, também, que o maior teor foi encontrado para a fração acetato de etila (FAE), com $375,98 \pm 6,93$ mg EQ g^{-1} de extratos. As menores concentrações também foram encontradas nos extratos FD e FH, conforme apresentado na Tabela 1.

TABELA 1. Teor de fenólicos totais, flavonoides totais e rendimento do extrato etanólico e frações obtidas dos caules de *Croton argyrophyllus*.

Amostras	Rendimento dos extratos (%)	Fenólicos totais (mg EAG g ⁻¹ de extrato) ± DP	Flavonoides totais (mg EQ g ⁻¹ de extrato) ± DP
EE	11,75	269,72 ± 6,25	98,43 ± 1,39
FH	7,75*	30,41 ± 1,05	18,82 ± 0,69
FD	5,5*	84,90 ± 1,37	65,10 ± 1,38
FAE	15,5*	610,52 ± 12,43	375,98 ± 6,93
FHA	68,2*	226,96 ± 6,41	120,00 ± 1,38

DP (desvio padrão); EE (extrato etanólico); FH (fração hexânica); FD (fração diclorometânica); FAE (fração acetato de etila); FHA (fração hidroalcoólica); *Rendimento das frações obtidas a partir do extrato etanólico dos caules de *C. argyrophyllus*.

Em estudos realizados com 18 extratos de plantas medicinais, MORAIS et al. (2013), encontraram para o extrato etanólico de *Croton zenhtheri* teores de compostos fenólicos correspondente a 120,27 mg EAG g⁻¹ de extrato. SILVA et al. (2016), avaliaram o extrato etanólico obtido das folhas de *Croton argyrophyllodes*, popularmente conhecido como marmeleiro prateado, e encontraram valores de fenólicos e flavonoides totais de 86,4 ± 7,7 mg EAG g⁻¹ de extrato e 37,4 ± 1,1 mg ER g⁻¹ de extrato, respectivamente. Tais resultados são inferiores aos encontrados neste estudo, principalmente quando comparados com os valores encontrados para extrato etanólico e a fração FAE.

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante do extrato e frações obtidos de *Croton argyrophyllus*, pelo método do sequestro de radicais livres DPPH e pelo método FRAP, estão apresentados na Tabela 2. Os resultados são expressos pelos percentuais de inibição de atividade antioxidante (%I), pelos valores de CE₅₀, que equivalem à quantidade de extrato necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50%, e pelos índices de atividade antioxidante (IAA) proposto por SCHERER & GODOY (2009). Já os resultados da atividade antioxidante obtidos pelo método FRAP são expressos em miligramas de Fe⁺² por grama de extrato analisado.

Entre as amostras analisadas, a fração acetato de etila (FAE) apresentou maior atividade antioxidante, com o percentual de inibição de 95,06 ± 0,14% e com um valor de CE₅₀ igual a 4,27 ± 0,016 µg.mL⁻¹, resultados comparáveis aos controles positivos BHT (CE₅₀ 4,19 ± 0,046 µg.mL⁻¹) e quercetina (CE₅₀ 2,05 ± 0,033 µg.mL⁻¹), enquanto o EE e a fração FHA apresentaram maiores valores de CE₅₀, variando de 9,75 ± 0,058 a 10,84 ± 0,041 µg.mL⁻¹, respectivamente. Verificou-se que o potencial redutor destes extratos é muito alto, pois seriam necessários 0,42 ± 0,001 gramas da fração acetato de etila (FAE) para reduzir um grama de DPPH, e que esta elevada atividade antioxidante pode estar relacionada aos altos teores de fenólicos e flavonoides totais presentes nas amostras.

Devido aos baixos percentuais de inibição encontrados para as frações FH (5,31 ± 0,09%) e FD (28,99 ± 0,8%), os valores de CE₅₀, IAA e a quantidade em gramas de extrato por gramas de DPPH, dessas amostras não foram determinados, ficando claro que a polaridade das frações influencia muito no potencial antioxidante.

TABELA 2. Resultados da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP encontrados para o extrato etanólico e frações obtidas dos caules de *Croton argyrophyllus*.

Amostras	DPPH			IAA	FRAP
	Inibição (%) ± DP	CE ₅₀ ± DP (µg.mL ⁻¹)	(g de extrato / g de DPPH)		(mg Fe ²⁺ . g ⁻¹ extrato) ± DP
EE	92,96 ± 0,77	9,75 ± 0,058	0,85 ± 0,005	2,46	26,27 ± 1,63
FH	5,31 ± 0,09	-	-	-	4,65 ± 0,12
FD	28,99 ± 0,8	-	-	-	19,38 ± 0,63
FAE	95,06 ± 0,14	4,27 ± 0,016	0,42 ± 0,001	5,62	118,51 ± 3,12
FHA	91,11 ± 0,08	10,84 ± 0,041	1,05 ± 0,004	2,21	41,33 ± 2,74
Quercetina	95,47 ± 0,56	2,05 ± 0,033	0,20 ± 0,003	11,71	167,87 ± 2,88
BHT	68,48 ± 1,09	4,19 ± 0,046	0,38 ± 0,004	5,73	126,69 ± 1,96

DP (desvio padrão); IAA (Índice de Atividade Antioxidante); - Não calculado (atividade muito baixa); EE (extrato etanólico); FH (fração hexânica); FD (fração diclorometânica); FAE (fração acetato de etila); FHA (fração hidroalcoólica); Controles positivos: BHT (butilhidroxitolueno) e quercetina; Concentrações para determinar o percentual de inibição (%): EE, FH, FD e FHE (1000 ug/mL); FAE (400 ug/mL); BHT (250 ug/mL); Quercetina (200 ug/mL);

Segundo OLIVEIRA et al. (2015) o método DPPH é considerado um dos mais utilizados para avaliar a atividade antioxidante de substâncias puras ou misturas complexas. No entanto, para caracterizar completamente um composto como antioxidante, tal atividade não deve ser baseada em uma única metodologia, sendo necessário a aplicação de outros métodos, como por exemplo, o FRAP (*Ferric-Reducing Ability of Plasma*), o ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*), o TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) e os métodos de peroxidação lipídica.

Deste modo, a avaliação da atividade antioxidante dos extratos também foi feita pelo método FRAP, sendo a capacidade antioxidante medida através do desenvolvimento de coloração azul escura nas soluções, produzida após a redução do íon ferro Fe⁺³ a Fe⁺², devido à presença de compostos antioxidantes nas amostras avaliadas. Portanto, quanto maior o potencial antioxidante dos compostos presentes nas amostras, maior será a produção de íons Fe⁺² na solução.

Através desse método, a fração acetato de etila (FAE) também apresentou maior capacidade antioxidante quando comparada aos demais extratos (118,51 ± 3,12 mg Fe²⁺. g⁻¹ extrato), sendo também comparável ao controle positivo BHT (126,69 ± 1,96 mg Fe²⁺. g⁻¹ extrato) e quercetina (167,87 ± 2,88 mg Fe²⁺. g⁻¹ extrato), demonstrando um comportamento semelhante ao ensaio com o DPPH, e comprovando o potencial redutor dos extratos obtidas dos caules de *Croton argyrophyllus*.

De acordo com SCHERER & GODOY (2009), existe uma dificuldade para comparar o potencial antioxidante entre extratos, devido às diferentes maneiras como os resultados são apresentados, tais como a porcentagem de inibição (%I) ou o valor de CE₅₀, que muda de acordo com a concentração final do DPPH utilizado, pois este método continua sofrendo muitas adaptações ou modificações, e diversos protocolos e procedimentos têm sido relatados. Deste modo, o índice de atividade antioxidante (IAA) proposto pelos referidos autores, busca facilitar a comparação da força antioxidante de diferentes extratos de plantas.

Avaliando os resultados pelo índice de atividade antioxidante (IAA), observa-se que os extratos EE (IAA = 2,46), FAE (IAA = 5,62) e FHA (IAA = 2,21)

apresentaram valores superiores a 2,0 e, que de acordo com a classificação proposta por SCHERER & GODOY (2009), estes valores indicam uma atividade antioxidante muito forte para estes extratos, sendo que a fração FAE iguala-se ao controle positivo BHT (IAA = 5,73), um antioxidante sintético muito conhecido e utilizado industrialmente. Para as frações FH e FD o IAA não foi calculado por apresentarem baixo percentual de inibição.

NDHLALA et al. (2013), encontraram para os extratos brutos obtidos de *Croton gratissimus* e *Croton zambesicus*, valores de CE_{50} correspondentes a 58,47 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 1018,15 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente; já para a fração acetato de etila de *Croton gratissimus* foi encontrado um valor de $CE_{50} = 36,86 \mu\text{g.mL}^{-1}$, apresentando uma boa atividade antioxidante. Aplicando-se a Eq. do IAA proposta por SCHERER & GODOY (2009), e de acordo com a concentração da solução de DPPH (0,05 mM) utilizada pelos autores, pode-se calcular o IAA para os extratos brutos e fração acetato de etila deste estudo, que são correspondentes a 0,337; 0,019 e 0,535, respectivamente, indicando uma moderada atividade antioxidante para a fração acetato de etila de *C. gratissimus* e, de acordo com os autores, tal atividade está relacionada a presença de flavonoides neste extrato. QAISAR et al. (2013), encontraram valores de $CE_{50} = 396,2 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para o extrato metanólico de *C. bonplandianum* e inatividade para a fração diclorometânica. Aplicando a Eq. do IAA, encontra-se o valor de 0,298, indicando uma pobre atividade antioxidante para o extrato metanólico.

A atividade antioxidante de produtos e extratos vegetais geralmente está relacionada à presença de compostos fenólicos, que, por sua vez, vem recebendo muita atenção nos últimos anos, principalmente devido às suas propriedades redutoras (SOUSA et al., 2007). Os extratos obtidos dos caules de *Croton argyrophyllus* apresentam elevados teores de fenólicos e flavonoides totais, observando-se uma correlação positiva entre estas moléculas e a atividade antioxidante das amostras, sendo que a fração acetato de etila (FAE) foi a que apresentou maiores teores de fenólicos e flavonoides totais e uma melhor atividade antioxidante.

No entanto, elevados teores de compostos fenólicos não garantem um efeito pleno dessas substâncias em interromper a cadeia de reações oxidativas, pois a diversidade de substâncias presentes nos extratos pode influenciar na capacidade antioxidante da planta (SOUSA et al., 2007; TLILI et al., 2015). Por exemplo, a triagem fitoquímica realizada no extrato etanólico permitiu detectar diferentes classes de metabólitos, como os compostos fenólicos representados pelos taninos e flavonoides, bem como os ácidos fixos fortes e triterpenoides, que podem influenciar na atividade antioxidante do extrato, produzindo resultados falso positivos.

Dessa forma, o extrato etanólico, por apresentar constituintes químicos diversos, com polaridades distintas, apresentou uma capacidade antioxidante menor em relação à fração acetato de etila (FAE), porém, maior quando comparado às frações FH, FD e FHA. Isso pode ser explicado pelo fato dos compostos fenólicos apresentarem uma maior afinidade por solventes mais polares e, portando, justifica-se o fato da fração FAE ter sido mais eficiente, pois as moléculas polares estão mais puras, e podem reagir mais facilmente, sem a interferência de outras substâncias (NDHLALA et al., 2013). E por apresentar uma concentração majoritária de compostos com capacidade antioxidante, verifica-se a importância de realizar o isolamento e a identificação das substâncias responsáveis por tal ação antioxidante na fração acetato de etila. No entanto, o processo de isolamento e identificação de

amostras sólidas, em geral, é bastante trabalhoso e relativamente caro.

Observa-se também, que os resultados encontrados para fração hidroalcoólica são inferiores aos encontrados para a fração FAE, e equivalentes para o extrato etanólico, sendo este, um indicativo de que o processo de fracionamento do extrato etanólico foi efetivo em isolar os compostos mais ativos na fração acetato de etila, permanecendo na fração FHA os compostos menos ativos e alguns compostos mais polares, com uma boa capacidade antioxidante. No entanto, não se pode descartar a existência de alguma substância com propriedades antioxidantes nas demais frações menos polares (FH, FD), uma vez que, os resultados de todos os ensaios indicam a presença de metabólitos com ação redutora.

Os resultados encontrados nesse trabalho indicam a alta eficiência antioxidante dos extratos obtidos dos caules de *Croton argyrophyllus*, quando comparados com outras espécies do gênero *Croton* e, principalmente, em relação aos controles positivos BHT e quercetina. O BHT é um antioxidante sintético que pode apresentar alguns efeitos tóxicos ao organismo e efeitos indesejáveis nas características dos alimentos. Desta forma, muitas pesquisas têm sido dirigidas no sentido de se encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associação entre eles, visando assim, diminuir sua quantidade nos alimentos (SOUSA et al., 2007).

CONCLUSÃO

Os teores de fenólicos e flavonoides totais avaliados nos extratos e frações obtidos de *Croton argyrophyllus* foram relativamente altos, e estão correlacionados com os valores da atividade antioxidante encontrados para os mesmos. Destaca-se a fração acetato de etila, que apresentou um potencial antioxidante bastante proeminente, comparável à atividade do antioxidante sintético BHT, demonstrando assim, que a espécie em estudo apresenta grande potencial para aplicação como antioxidante natural.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro, e à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) pela disponibilização da infraestrutura para a realização dos trabalhos.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, A. P.; MONTEIRO, J. M.; RAMOS, M. A.; AMORIM, E. L. Medicinal and magic plants from a public market in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, n.1, p.76-91, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.010>>. doi:10.1016/j.jep.2006.09.010

ALMEIDA, T. S.; ROCHA, J. B. T.; RODRIGUES, F. F. G.; CAMPOS, A. R.; COSTA, J. G. M. Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils. **Industrial Crops and Products**, v.44, p.630-633, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.09.010>>. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.09.010

ARAUJO, S. S.; SANTOS, M. I. S.; DIAS, A. S.; FERRO, R. N.; LIMA, E. O.; BARRETO, C. B.; et al. Chemical composition and cytotoxicity analysis of the

essential oil from leaves of *Croton argyrophyllus* kunth. **Journal of Essential Oil Research**, v. 26, n. 6, p. 446-451, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2014.956233>>. doi: 10.1080/10412905.2014.956233

BARRETO, M. B.; GOMES, C. L.; FREITAS, J. V. B.; PINTO, F. C. L.; SILVEIRA, E. R.; GRAMOSA, N. V. Flavonoids and terpenoids from *Croton muscicarpa* (Euphorbiaceae). **Química Nova**, v.36, n.5, p.675-679, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422013000500011>>. doi: 10.1590/S0100-40422013000500011

BERRY P. E.; KENNETH, H. W. J.; VAN, B. E. E.; RIINA R. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotoneae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and *trnL-trn-F* sequence data. **American Journal of Botany**. Estados Unidos, p. 1520-1534, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3732/ajb.92.9.1520>>. doi: 10.3732/ajb.92.9.1520

BORDA, A. M.; MACEDO, M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasileira**, v.20, n.4, p.771-782, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062006000400003>>. doi: 10.1590/S0102-33062006000400003

CARVALHO, K. S.; SILVA, S. L. C.; SOUZA, I. A.; GUALBERTO, S. A.; CRUZ, R. C. D.; SANTOS, F. R.; et al. Toxicological evaluation of essential oil from the leaves of *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* and *Mus musculus*. **Parasitology research**, v.115, n.9, p.3441-3448, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00436-016-5106-2>>. doi: 10.1007/s00436-016-5106-2

CORDEIRO, K. W.; FELIPE, J. L.; MALANG, K. F.; PRADO, P. R.; FIGUEIREDO, P. O.; GARCEZ, F. R.; et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Croton urucurana* Baillon bark. **Journal of ethnopharmacology**, v.183, p.128-135, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.051>>. doi: 10.1016/j.jep.2016.02.051

CRUZ, R. C.; SILVA, S. L. C. E.; SOUZA, I. A.; GUALBERTO, S. A.; CARVALHO, K. S.; SANTOS, F. R.; et al. Toxicological Evaluation of Essential Oil From the Leaves of *Croton argyrophyllus* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and *Mus musculus* (Rodentia: Muridae). **Journal of medical entomology**, p.1-9, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/jme/tjw239>>. doi: 10.1093/jme/tjw239

DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological research**, v.112, p.4-29, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2016.01.021>>. doi: 10.1016/j.phrs.2016.01.021

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F.; ATANASOVA, M. Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, v.40, n.3, p.255-260, 2005. Disponível em:

<<http://dl.uctm.edu/journal/node/j2005-3/Marinova.pdf>>.

MATOS, F. J. A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. 2 ed. Fortaleza: Edições EUFC, 1988. 141p.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S.; COSTA, S. M.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.1B, p.315-320, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200023>>. doi: 10.1590/S0102-695X2009000200023

MORAIS, S. M.; LIMA, K. S. B.; SIQUEIRA, S. M. C.; CAVALCANTI, E. S. B.; SOUZA, M. S. T.; MENEZES, J. E. S. A.; et al. Correlação entre as atividades antiradical, antiacetilcolinesterase e teor de fenóis totais de extratos de plantas medicinais de farmácias vivas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.4, p.575-582, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000400014>>. doi: 10.1590/S1516-05722013000400014

NDHLALA, A. R.; ADEROGBA, M. A.; NEUBE, B.; STADEN, J. V. Anti-oxidative and cholinesterase inhibitory effects of leaf extracts and their isolated compounds from two closely related *Croton* species. **Molecules**, v.18, n.2, p.1916-1932, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/molecules18021916>>. doi: 10.3390/molecules18021916

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.1, p.36-44, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/12_165>. doi: 10.1590/1983-084X/12_165

QAISAR, M. N.; CHADARY, B. A.; UZAIR, M.; HUSSAIN, S. N. Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Capacity of *Croton bonplandianum*. Baill. **American Journal of Plant Sciences**, v.4, p.1709-1712, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2013.49208>>. doi: 10.4236/ajps.2013.49208

QIU, M.; CAO, D.; GAO, Y.; LI, S.; ZHU, J.; YANG, B.; et al. New clerodane diterpenoids from *Croton crassifolius*. **Fitoterapia**, v.108, p.81-86, 2016. Disponível em: <<http://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.11.016>>. doi: 10.1016/j.fitote.2015.11.016

RAMOS, J. M. O.; SANTOS, C. A.; SANTANA, D. G.; SANTOS, D. A.; ALVES, P. B.; TOHMAZZI, S. M. Chemical constituents and potential anti-inflammatory activity of the essential oil from the leaves of *Croton argyrophyllus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.23, n.4, p.644-650, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000045>>. doi: 10.1590/S0102-695X2013005000045

RAMOS, J. M. O.; SANTOS, C. A.; SANTANA, D. G.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, D. A.; ALVES, P. B.; et al. Impact of *Croton argyrophyllus* essential oil on behavioural models of nociception. **Flavour and Fragrance Journal**, v.32, n.1, p.40-45, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/ffj.3343>>. doi: 10.1002/ffj.3343

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PEREZ-JIMÉNEZ, J.; et al. Metodologia científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Comunicado Técnico On line, Embrapa 125**. Fortaleza, CE, 4p, 2006. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/cot_125.pdf>.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PEREZ-JIMÉNEZ, J.; et al. Metodologia científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico On line Embrapa 127**. Fortaleza, CE, 4p, 2007. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Cot_127.pdf>.

SADAT-HOSSEINI, M.; FARAJPOUR, M.; BOROOMAND, N.; SOLAIMANI-SARDOU, F. Ethnopharmacological studies of indigenous medicinal plants in the south of Kerman, Iran. **Journal of Ethnopharmacology**, v.199, p.194-204, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.006>> doi: 10.1016/j.jep.2017.02.006

SARAIVA, M. E.; ULISSES, A. V. R. A.; RIBEIRO, D. A.; OLIVEIRA, L. G. S.; MACÊDO, D. G.; SOUZA, F. F. S.; et al. Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v.171, p.141-153, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.05.034>>. doi: 10.1016/j.jep.2015.05.034

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v.112, p.654-658, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>>. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.06.026

SILVA, J. S.; SALES, M. F.; GOMES, A. P. S.; CARNEIRO-TORRES, D. S. Sinopse das espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasileira**, v.24, n.2, p.441-453, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062010000200015>>. doi: 10.1590/S0102-33062010000200015

SILVA, A. A. S.; MORAIS, S. M.; MARTINS, C. G.; VIEIRA-ARAÚJO, F. M. Anti-leishmanial and antioxidant potential of the ethanol extract of *Croton argyrophyllodes* Muell. Arg. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.13, n.3, p.165-171, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.5216/ref.v13i3.35358>>. doi: 10.5216/ref.v13i3.35358

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. V.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, n.2, p.351-355, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>>. doi: 10.1590/S0100-40422007000200021

TLILI, N.; MEJRI, H.; ANOUER, F.; SAADAoui, E.; KHALDI, A.; NASRI, N. Phenolic profile and antioxidant activity of *Capparis spinosa* seeds harvested from different

wild habitats. **Industrial Crops and Products**, v.76, p.930-935, 2015. Disponível em: <<http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.040>>. doi: 10.1016/j.indcrop.2015.07.040

YAGI, S.; BABIKER, R.; TZANOVA, T.; SCHOHN, H. Chemical composition, antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from aromatic plants growing in Sudan. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v.9, n.8, p.763-770, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.06.009>>. doi: 10.1016/j.apjtm.2016.06.009