

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

AMANDA PACÍFICO DE ASSIS OLIVEIRA

**CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS VEGETAIS DE ESPÉCIES
NATIVAS DO CERRADO E SEU POTENCIAL COMO INIBIDORES DA ENZIMA
MIELOPEROXIDASE**

**PATOS DE MINAS - MG
DEZEMBRO DE 2018**

AMANDA PACÍFICO DE ASSIS OLIVEIRA

**CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS VEGETAIS DE ESPÉCIES
NATIVAS DO CERRADO E SEU POTENCIAL COMO INIBIDORES DA ENZIMA
MIELOPEROXIDASE**

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

**Orientadora: Dra. Joyce Ferreira da
Costa Guerra**

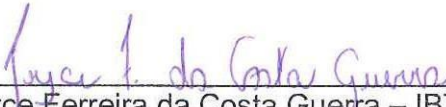
**PATOS DE MINAS - MG
DEZEMBRO DE 2018**

AMANDA PACÍFICO DE ASSIS OLIVEIRA


Capacidade antioxidante de extratos vegetais de espécies nativas do Cerrado e seu potencial como inibidores da enzima mieloperoxidase

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Banca Examinadora:


Dra. Joyce Ferreira da Costa Guerra – IBTEC - UFU
Presidente


Dra. Cristina Ribas Fürstenau – IBTEC - UFU
Membro


Dra. Terezinha Aparecida Teixeira – IBTEC - UFU
Membro

Patos de Minas – MG, 14 de dezembro de 2018

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às minhas mães, Núbia, Emília e Izolina, ao “tio” Edívar e minha irmã Bárbara. A melhor família que Deus poderia me presentear.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Tereza de Calcutá

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida, por ter sido minha rocha e me agraciado com perseverança e propósito para conquistar meus objetivos. Por me encher de coragem em todas as vezes que pensei em desistir e aquecer meu coração em todos os momentos de solidão.

A minha querida mãe, que em meio a toda dificuldade sempre acreditou em mim e me proporcionou todas as oportunidades para os meus estudos além de ter me mostrado que mais importante do que ser melhor que os outros é ser o melhor que você puder ser, sendo sempre meu maior orgulho e exemplo de coragem.

A minha vó e minha madrinha, exemplos de sabedoria que sempre me guiaram com ternura e muito carinho, me ensinando que os sonhos se realizam, quando se tem fé.

Ao meu “tio” Edivar, meu pai que por todos esses anos me encorajou, me deu forças e amor, me mostrando que eu nunca estaria sozinha, que sempre segurou minha mão durante minha caminhada.

A minha pequena Bárbara, que talvez nem imagine mas desde que nasceu é a razão pela qual eu nunca vou desistir de lutar, minha pequena que inspira amor e luz na minha vida.

A minha prima e minha amiga Larissa por terem estado ao meu lado todo o tempo, mesmo distantes, sempre me apoiando e me ajudando nos piores momentos. Agradeço por terem sido meu porto seguro, por todo companheirismo, confiança e amor.

Aos meus amigos Luís Fernando, Itala, Débora Almeida, Débora Maier e Luiza por terem sido minha família quando estive tão longe de casa, por terem me aguentado quando de mau humor e compartilhado comigo os momentos de maiores alegrias também.

A tia Rosana, mulher cheia de luz e força que foi uma mãe para mim desde o início da graduação quando a conheci, que sempre me deu apoio, carinho e conselhos cheios de sabedoria.

Aos amigos que nesses anos de graduação conviveram comigo: Matheus, Leonardo, Rubens, João Lucas, Willow, Isabella, Mikaelle, Beatriz, Eric, Bruna, Talita e Ana Ellize.

Agradeço a minha orientadora e inspiradora Profa. Dra. Joyce Ferreira da Costa Guerra pela paciência, motivação e muita atenção, por me acolher em seu grupo de pesquisa, no qual agradeço a Isabela, Bruno e Vinícius pela disponibilidade em sempre me auxiliar e sanar dúvidas.

Agradeço a Profa. Dra. Cristina Ribas Fürstenau por ter me auxiliado em momentos de grande precisão e por todos seus conselhos.

Agradeço a Profa. Dra. Terezinha Aparecida Teixeira por sua colaboração na coleta e identificação das espécies avaliadas neste estudo, por sua disponibilidade e atenção.

Agradeço aos técnicos dos laboratórios Lucas, Carlinha e Renan por toda paciência e auxílio.

Agradeço a todos os professores do Instituto de Biotecnologia por todos esses anos de ensinamentos e comprometimento.

Agradeço às agências de fomento FAPEMIG e CNPQ pelo apoio financeiro.

Agradeço a Universidade Federal de Uberlândia, pela oportunidade em desenvolver este trabalho.

RESUMO

As espécies vegetais do Cerrado brasileiro representam uma ampla fonte de compostos bioativos com potencial terapêutico. Neste estudo, objetivou-se determinar a concentração de polifenóis, flavonoides, bem como o potencial antioxidante e de inibição da mieloperoxidase (MPO) de extratos aquosos das folhas de cajuí (*Anacardium humile* St. Hill) e bacupari (*Tontelea micrantha*). As espécies foram coletadas em Lagoa Formosa e Patrocínio-MG, respectivamente. O cadastro de acesso ao patrimônio genético para fins de pesquisa científica foi realizado no SisGen (A6A598B). Foram utilizados os extratos aquoso das folhas e o conteúdo de fenólicos e flavonoides foi determinado por método colorimétrico, a capacidade antioxidante *in vitro* através da inibição do radical DPPH (difenilpicrilhidrazil) e a atividade da MPO humana através da cinética de oxidação de guaiacol na presença de peróxido de hidrogênio. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posteriormente analisados pelo teste T de Student. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Não houve diferença significativa entre as concentrações de fenólicos totais entre os extratos aquosos das folhas de cajuí ($363,0 \pm 9,2$ mg/g) e bacupari ($373,5 \pm 16,0$). No entanto, o extrato de bacupari apresentou maior teor de flavonoides ($18,9 \pm 0,3$ e $15,9 \pm 1,8$ mg/g, respectivamente). Ambos os extratos apresentaram grande atividade antioxidante inibindo 89,49 % (cajuí) e 92,1 % (bacupari) do radical DPPH e ainda apresentaram potencial de inibição da MPO de maneira dose dependente. Estes dados fornecem subsídio para futuros estudos de bioprospecção.

Palavras-chave: *Anacardium humile*. Antioxidantes. Cerrado. Mieloperoxidase. *Tontelea micrantha*.

ABSTRACT

*The plant species from the Brazilian Cerrado vegetation represent a broad source of bioactive compounds with therapeutic potential. In this study, we aimed to determine the concentration of polyphenols, flavonoids, as well as the antioxidant potential and inhibition of myeloperoxidase (MPO) of aqueous extracts from cashew leaves (*Anacardium humile* St. Hill) and bacupari (*Tontelea micrantha*). The species were collected in Lagoa Formosa and Patrocínio-MG. The registration access to genetic heritage, for the purpose of scientific research, was made in SisGen (A6A598B). Aqueous extracts of the leaves were used and the content of phenolics and flavonoids were determined by colorimetric method, the antioxidant in vitro through inhibition of the DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) radical and human MPO activity through the kinetics of guaiacol oxidation in the presence of hydrogen peroxide. The data were submitted to the normality test of Shapiro-Wilk and later by Student's T- test. The differences that were considered significant were those where p-value < 0.05. There were no significant differences in the total phenolics' concentration between the aqueous extracts of the leaves of (363.0 ± 9.2 mg / g) and bacupari (373.5 ± 16.0). However, the bacupari extract was higher in flavonoids (18.9 ± 0.3 and 15.9 ± 1.8 mg / g, respectively). Both extracts presented high antioxidant activity, inhibiting 89.49% (cajuí) and 92.1% (bacupari) of DPPH's radical, and yet presented potential inhibition of MPO in a dose-dependent manner. These data provide subsidy to future bioprospecting studies.*

Keywords: *Anacardium humile. Antioxidants. Myeloperoxidase. Tontelea micrantha. Cerrado.*

LISTA DE ABREVIATURAS

CAT: catalase

DPPH•: (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

EAG: equivalentes de ácido gálico

EQ: equivalentes de quercetina

ERO: espécies reativas de oxigênio

GPX: glutationa peroxidase

H₂O₂: peróxido de hidrogênio

HDL: lipoproteínas de alta densidade

HO•: radical hidroxil

HOCl: ácido hipocloroso

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LDL: lipoproteínas de baixa densidade

MPO: mieloperoxidase

NADPH: nicotinamida adenina dinucleotideo fosfato

O₂•-: ânion superóxido

SOD: superóxido dismutase

TROLOX: ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Delimitação dos Biomas Brasileiros	15
Figura 2- Cajui, <i>Anacardium humile</i> ST. Hill	18
Figura 3 - Bacupari, <i>Tontelea micranta</i>	19
Figura 4 - Atividade Catalítica da Enzima Mieloperoxidase	22
Figura 5 – Mieloperoxidase	24
Figura 6 - Concentração de Polifenóis para cajuí e bacupari	29
Figura 7 - Concentração de Flavonoides para cajuí e bacupari	31
Figura 8 - Inibição do radical DPPH•	32
Figura 9 - Potencial de inibição do extrato de Cajuí sobre a mieloperoxidase	34
Figura 10 - Potencial de inibição do extrato de Bacupari sobre a mieloperoxidase	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 O Cerrado	14
2.2 Cajuí (<i>Anacardium humile</i>)	17
2.3 Bacupari (<i>Tontelea micrantha</i>).....	18
2.4 Estresse Oxidativo e defesas antioxidantes	20
2.5 Mieloperoxidase.....	22
2.5.1 Mecanismo de catálise	22
2.5.2 Constituição molecular.....	23
2.5.3 Patologias	24
3 OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo Geral	26
3.2 Objetivos Específicos.....	26
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Coleta das amostras e preparo do extrato aquoso	26
4.2. Determinação de compostos fenólicos totais.....	27
4.3 Determinação de flavonoides.....	27
4.4 Determinação da capacidade antioxidante in vitro contra o radical DPPH•	27
4.5 Ensaio de inibição da mieloperoxidase.....	28
4.6 Análise Estatística.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 Determinação de polifenóis totais	28
5.2 Determinação de flavonoides.....	30
5.3 Capacidade antioxidante in vitro contra o radical DPPH•	31
5.4 Ensaio com MPO	34
6 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um vasto patrimônio natural expresso por sua extensão continental, a variedade de ecossistemas, por sua imensa biodiversidade e endemismo das espécies biológicas e seu patrimônio genético. O Cerrado é o 2º maior bioma brasileiro e considerado um dos *hotspots* mundiais quando se trata da conservação da biodiversidade (ALMEIDA et al., 1987).

A biodiversidade do Cerrado, representa uma fonte valiosa de moléculas biologicamente ativas. Dentre elas destacam-se os metabólitos secundários de plantas que geralmente possuem estrutura complexa, baixo peso molecular, e atividades biológicas marcantes, sendo classificados como alcalóides e compostos nitrogenados relacionados, terpenóides e compostos fenólicos (FOGLIO et al., 2006).

Os compostos fenólicos são considerados os mais importantes devido a sua ação antioxidante demonstrada *in vitro* e *in vivo*, e portanto podem atenuar o estresse oxidativo, desencadeado quando há um desequilíbrio entre os sistemas de defesa antioxidante e a formação e neutralização de espécies reativas de oxigênio (ERO), as quais exercem papel central na patogênese de diversas doenças humanas como, diabetes mellitus, doença hepática gordurosa não alcoólica, doenças cardiovasculares, dentre outras.

Uma das vias para formação de ERO é a cadeia respiratória mitocondrial, onde aproximadamente 5 % do oxigênio não é reduzido à água e ocorre inicialmente a formação do superóxido (WINTERBOURN et al., 2000). Uma outra via possível para formação de ERO é decorrente da ação do sistema imunológico contra patógenos invasores, que atua inicialmente com os neutrófilos que possuem elevados níveis de mieloperoxidase (MPO), que juntamente com a NADPH oxidase contribui para a formação dessas espécies. As ERO, devido a sua reatividade e instabilidade, quando produzidas em excesso, podem causar dano oxidativo em biomoléculas, como proteínas, lipídios e DNA (ARNHOLD, 2004).

Considerando este contexto, investigou-se neste trabalho o conteúdo de polifenóis, capacidade antioxidante e o potencial inibidor da enzima MPO *in vitro* de duas espécies nativas do Cerrado, utilizadas como plantas medicinais, *Anacardium humile* (cajuí) e *Tontelea micrantha* (bacupari).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O Cerrado

O Cerrado, dentre os biomas brasileiros é o segundo maior, ultrapassado em área apenas pela Amazônia (figura 1). Representa 21 % do território nacional, sendo que, aproximadamente metade de seu território é completamente ocupado por atividades rentáveis à população (BOURLAG, 2002). É um conjunto de ecossistemas como savanas, matas, campos e matas de galeria, presentes no Brasil Central. Apresenta um clima estacional composto por período chuvoso, entre outubro e março e seco entre abril e setembro (EITEN, 1997).

Nesse contexto, o Cerrado é considerado uma das mais ricas savanas do mundo, apresentando uma flora com mais de 11.627 espécies vasculares, o que soma aproximadamente 30 % da biodiversidade brasileira e 5% da mundial (MENDONÇA et al., 2008).

O estudo de Machado (2004), a partir de imagens geradas pelo satélite MODIS em 2002 apontou que cerca de 55 %, o que é equivalente a 880.000 km² do território desse bioma, já foi desmatado ou transformado devido as atividades humanas. As taxas anuais de desmatamento também são mais elevadas no Cerrado: entre os anos de 1970 e 1975, o desmatamento médio no Cerrado foi de 40.000km² por ano – 1,8 vezes a taxa de desmatamento da Amazônia durante o período 1978–1988 (KLINK e MOREIRA, 2002).

Figura 1- Delimitação dos Biomas Brasileiros



Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 2012.

Considerando esta situação, foi necessária a criação de um Programa de conservação e uso sustentável para o Cerrado, o que representou a diferença entre continuar a ser tratado como área de exploração desordenada ou como região de grande importância ambiental, social e econômica, merecedora de atenção pública e política mais permanente (MAGALHÃES et al., 2005).

O Programa Nacional de Conservação e Uso Sustentável do Bioma Cerrado – Programa Cerrado Sustentável, formalmente instituído por meio do Decreto 5.577, de 2005, veio com o objetivo de promover a conservação, a recuperação e o manejo sustentável de ecossistemas naturais, bem como a valorização e o reconhecimento de suas populações locais, buscando condições para reverter os impactos sócio ambientais negativos no bioma Cerrado. Foram adotadas estratégias com objetivos de curto e longo prazo: uso sustentável da biodiversidade, gestão dos recursos hídricos, comunidades tradicionais e agricultores familiares, sustentabilidade da agricultura, pecuária e silvicultura, monitoramento e controle, legislação, planejamento integrado. Englobando também ações de caráter emergencial, procurando controlar a degradação socioambiental e promover a recuperação do bioma (MAGALHÃES et al., 2005).

Este Programa tem atuado em complementariedade com o Código Florestal vigente, devido a diferença com que este último trata os biomas brasileiros, pois enquanto é exigido que apenas 20 % da área dos estabelecimentos agrícolas sejam preservadas como reserva legal no Cerrado, nas áreas de floresta tropical na Amazônia esse percentual sobe para 80 %. As transformações ocorridas no Cerrado também trouxeram grandes danos ambientais como fragmentação de habitats, extinção da biodiversidade, invasão de espécies exóticas, erosão dos solos, poluição de aquíferos, degradação de ecossistemas, alterações nos regimes de queimadas, desequilíbrios no ciclo do carbono e possivelmente modificações climáticas regionais (MACHADO et al., 2004). Além dos aspectos ambientais, o Cerrado tem grande importância social. Muitas populações sobrevivem de seus recursos naturais, incluindo etnias indígenas, quilombolas, raizeiros, ribeirinhos dentre outras que, juntas, fazem parte do patrimônio histórico e cultural brasileiro, e detêm um conhecimento tradicional de sua biodiversidade (DIAS, 2017).

As espécies vegetais do Cerrado destacam-se pelo seu uso medicinal. No Brasil, as plantas já eram utilizadas com esta finalidade pelos índios antes da colonização, esses passaram seus conhecimentos para os colonizadores, contribuindo para a disseminação do seu uso tornando-as amplamente utilizadas na medicina caseira (VIEIRA, 1994). Mais de 220 espécies do Cerrado têm uso medicinal dentre as espécies mais utilizadas destacam-se: *Anacardium humile* (cajuí), *Baccharis trimera* (carqueja), *Banisteriopsis argyrophylla* (cipó-prata), *Bauhinia holophylla* (unha-de-vaca), *Bidens pilosa* (picão), *Brosimum gaudichaudii* (mamacadela), *Cayaponia tayuya* (taiuiá), *Caryocar brasiliense* (pequi), *Croton antisiphiliticus* (canela-de-perdiz), *Dorstenia brasiliensis* (carapiá), *Herreria salsaparilha* (salsaparilha), *Heteropteris anceps* (guiné-do-campo), *Jacaranda decurrens* (carobinha), *Lychnophora pinaster* (arnica), *Mikania smilacina* (guaco), *Rudgea viburnoides* (bugre), *Smilax campestris* (japocanga), *Strychnos brasiliensis* (quina-cruzeiro), *Strychnos pseudo-quina* (quina-mineira), *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão), *Tontelea micranta* (bacupari) e *Vernonia polyanthes* (assapeixe) (VIEIRA, 1994; VILA VERDE, 2003; DIAS e LAUREAN, 2010).

As plantas medicinais têm ampla utilização popular, podemos citar aplicações para diabetes, colesterol alto, arteriosclerose, dores estomacais, diarreias, febres, má circulação do sangue, secreções urinárias, cicatrização, úlceras, problemas de fígado, regulação do ciclo menstrual, hemorroidas, sífilis, doenças venéreas,

hematomas, hemorragias, contusões, paralisias, afecções da pele, dores lombares, para anestesiar. As principais formas de utilização das plantas são os chás ou infuso (VIEIRA, 1994). Assim, devido a ampla diversidade de metabólitos secundários com diferentes atividades biológicas e a ampla utilização popular destas espécies, é de fundamental importância o aprofundamento dos estudos para investigação de propriedades farmacológicas e toxicidade.

2.2 Cajuí (*Anacardium humile*)

O gênero *Anacardium* pertence à família *Anacardiaceae*. Sua taxonomia atual é constituída por cerca de 10 espécies. Entre as várias espécies existentes, as designadas como cajuí merecem atenção especial. Cajuí é uma terminologia usada para descrever espécies do gênero *Anacardium* que apresentam castanha e pedúnculo pequenos. É uma planta nativa que apresenta grande dispersão na região dos cerrados, das regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (CARBAJAL, 2003).

Agostini-Costa et al. (2003) ao realizar a descrição de espécies de *Anacardium*, classificou como cajuí (castanha + pedúnculo) as espécies: *A. amilcarianum*, *A. giganteum*, *A. humile*, *A. microcarpum*, *A. nanum* e *A. pumilum*.

O cajuí, de maneira geral, apresenta sabor, cor e forma bem característicos. A castanha, o fruto verdadeiro, é muito pequena em relação ao pedúnculo frutífero que apresenta casca rica em taninos, porém ambos são aproveitados. O pseudofruto pode ser consumido *in natura* ou na produção de doces, temperos e bebidas. As espécies de cajuí são ainda utilizadas para fins medicinais como antioxidantes (CAVALCANTE, 2002)

A espécie *Anacardium humile* St. Hill (figura 2) apresenta pedúnculos com compostos fenólicos, vitamina C, minerais como cálcio, ferro, fósforo, teores consideráveis de açúcares e baixos valores de pH (3,28-3,77), demonstrando também um grande potencial nutricional o que eleva o aproveitamento desse cajuzinho do Cerrado pela indústria processadora de frutos (ALMEIDA, 2009).

Essa espécie ainda não é domesticada, e sua exploração dá-se exclusivamente pelo extrativismo, onde não há estratégias de conservação o que pode levar à perda de variabilidade genética, deste modo, os estudos devem ser ampliados, principalmente, quanto sua caracterização, cultivo, conservação,

e beneficiamento, já que se trata de uma atividade potencialmente geradora de renda (RUFINO et al., 2007).

A utilização na medicina popular da espécie *A. Humile* é demonstrada no Tratado das Plantas Medicinais Mineiras, Nativas e Cultivadas (GRANDI, 2014), livro baseado em entrevistas com mais de 80 raizeiros de Minas Gerais e levantamento bibliográfico de plantas medicinais utilizadas no estado. Vila Verde *et al.*, (2003) realizaram um levantamento na cidade de Mossâmedes (GO) das espécies amplamente utilizadas como plantas medicinais pela população local, no qual as folhas da espécie *A. humile* foram citadas no tratamento de inflamações ovarianas. Na medicina popular essa espécie também apresenta aplicações como: cautério, nas afecções da pele, contra diarreia, contra tosse e para baixar o teor de glicose em diabéticos (LORENZI e MATOS, 2002).

Figura 2 - Cajui, *Anacardium humile* ST. Hil



Fonte: <https://florabrasileira.wordpress.com/2011/11/21/anacardium-humile-a-st-hil/>

2.3 Bacupari (*Tontelea micrantha*)

O bacupari é o nome mais multígeno da fruticultura brasileira, havendo pelo menos 30 frutos diferentes denominados assim pela população. Pertence à família *Celastraceae*, que inclui árvores, arbustos ou lianas, com aproximadamente 50 gêneros e 1000 espécies. No Brasil ocorrem 19 gêneros e cerca de 130 espécies. Possui distribuição tropical e subtropical (SOUZA et al., 2012).

Algumas das espécies descritas na literatura: *Garcinia gardneriana*, *G. brasiliensis*, *G. cochinchinensis*, *G. humilis*, *G. xanthochymus*, *G. pedunculata*, *G. xanthochymus*, *G. morella*, *G. cambogia*, *G. hombroniana*, *G. atroviridis*, *G. parvifolia*, *Rheedea gardneriana*, *Salacia crassifolia*, *Cheiloclinium cognatum*, *Parinari campestris* e *Tontelea micrantha*. Algumas conhecidas popularmente por bacupari ou bacopari, baacuri-mirim, bacoparé, bacopari-miúdo, bacuri-miúdo, escropari, limãozinho, mangostão-amarelo, remelento, cascudo e saputá.

A espécie em estudo neste trabalho, *T. micrantha* (figura 3) é encontrada principalmente em matas no Cerrado. Os frutos dessa espécie podem ser consumidos *in natura* ou na forma de sucos. É um arbusto de 30 a 80 cm de altura, quando no campo, prostrado (com ramos deitados) que apresenta distribuição espacial agregada. Frutifica nos meses de fevereiro a maio, produzindo frutos que apresentam cerca de 20 a 30 % de polpa translúcida, adocicada e refrescante, envolvendo as sementes (MEIRELLES e LUÍS, 1995)

Figura 3 - Bacupari, *Tontelea micrantha*



Fonte: <http://static1.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Celastraceae.htm>

Os frutos de bacupari, apresentam a textura de casca, desde lisa até rugosa, com variação de cor de amarelo a alaranjado-escuro e formato periforme até arredondado. Encontraram peso de frutos que variam de 30 a 80 gramas (SILVA et al., 2002).

Os extratos alcoólicos da casca e do caule subterrâneo de *T. micrantha* são utilizados para tratamento de problemas renais. O óleo extraído de suas sementes é

um potente anti-inflamatório e representa uma fonte significativa de renda para as pessoas que vivem nessas áreas (DIAS e LAUREAN, 2010).

Representantes da família *Celastraceae* estão bem conhecidas na medicina popular por suas propriedades farmacológicas, especialmente espécies do gênero *Maytenus* usadas no tratamento de úlceras gástricas. *Cheiloclinium* e *Salacia* também compreendem espécies que foram examinadas na busca de compostos bioativos com atividades analgésica e anti-inflamatória ou para o controle do diabetes (SHARMA et al., 2014).

Considerando as espécies descritas, o *C. cognatum* e a *P. campestris* possuem indicação etnofarmacológica bem definida. A primeira como anti-inflamatória, a segunda como anti-séptica. Outras propriedades são atribuídas popularmente a estas espécies, tais como: digestiva, cicatrizante, anestésica local e abortiva (SCHENKEL, 2007).

Entre as classes de substâncias químicas isoladas dos frutos estão os flavonoides (BOTTA et al., 1984) e benzofenonas (NEVES et al., 2007), das raízes, xantonas (MORTON, 1987) e das folhas, flavonoides e benzofenonas, apontadas como responsáveis pela atividade antioxidante e antiinflamatória (SOUZA et al., 2007).

2.4 Estresse Oxidativo e defesas antioxidantes

Devido às descobertas sobre os efeitos prejudiciais no organismo causados pela produção excessiva de ERO, o interesse pelo estudo de antioxidantes tem sido cada vez maior. Essas espécies são produzidas naturalmente no organismo pois a oxidação é parte essencial da vida aeróbica e do metabolismo (HALLIWELL, 2000).

As principais ERO distribuem-se em dois grupos, os radiculares: hidroxila ($\text{HO}\cdot$), superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$), peroxila ($\text{ROO}\cdot$) e alcoxila ($\text{RO}\cdot$); e os não-radicalares: oxigênio, peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso (HOCl) (FINKEL, T. e HOLBROOK, 2000).

As ERO estão relacionadas a diversas atividades fisiológicas como na fagocitose, sinalização intercelular, produção de energia, regulação do crescimento celular e na síntese de substâncias biológicas importantes para sobrevivência. Porém, seu excesso gera efeitos deletérios, devido ao dano oxidativo em proteínas, ácido desoxirribonucleico (DNA), fosfolípídeos e membranas celulares o que pode

gerar perda de atividade enzimática, dificuldades no transporte ativo através das membranas celulares, citólise, mutações no DNA e morte celular (JENKINS, 1993). Assim as ERO exercem papel central na patogênese de diversas doenças, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (GUTTERIDGE, 1993). São exemplos dessas patologias: artrite, choque hemorrágico, doenças cardiovasculares, catarata, disfunções cognitivas, e câncer (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).

Dessa forma é de fundamental importância que exista um equilíbrio entre a formação e remoção dessas ERO no organismo, para que assim os processos metabólicos dependentes das mesmas continuem ocorrendo de maneira adequada para manutenção da fisiologia celular (JENKINS, 1993). Quando há um desequilíbrio decorrente do aumento da geração de espécies oxidantes ou da diminuição dos antioxidantes endógenos, haverá um estado pró-oxidante que favorecerá a ocorrência de lesões oxidativas em macromoléculas e estruturas celulares, inclusive podendo resultar na morte celular. Este tipo de lesão oxidativa é definida como estresse oxidativo (GUTTERIDGE, 1993).

Segundo Halliwell (2000) “antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo”.

As defesas antioxidantes contra a ação das ERO podem ser adquiridas na dieta (exógenas) ou endógenas (BABIOR; 1997), as quais são divididas em enzimáticas e não enzimáticas. A exemplo de antioxidantes enzimáticos temos a superóxido dismutase (SOD) que converte o ânion superóxido em H_2O_2 , que por vez é neutralizado pela ação da catalase (CAT) ou glutathione peroxidase (GPX) (FINKEL, T. e HOLBROOK, 2000).

Os antioxidantes não enzimáticos são de baixo peso molecular, a exemplo da dos peptídeos de histidina, proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina), ácido dihidrolipóico. Entre os antioxidantes exógenos destacam-se o α -tocoferol (vitamina-E), β -caroteno (pro-vitamina-A), ácido ascórbico (vitamina-C), e compostos fenólicos, principalmente da classe dos flavonoides (LUPULESCU, 1993).

Os polifenóis, metabólitos secundários de plantas, são antioxidantes mais efetivos que as vitaminas C e E, pois apresentam estrutura ideal para o sequestro de radicais. Sua estrutura está diretamente correlacionada com sua atividade antioxidante e pode ser determinada por cinco fatores: estabilidade do radical flavonil, reatividade frente a outros antioxidantes, reatividade como agente doador,

capacidade de quelar metais de transição e solubilidade e interação com as membranas (CAO; SOFIC e PRIOR, 1997).

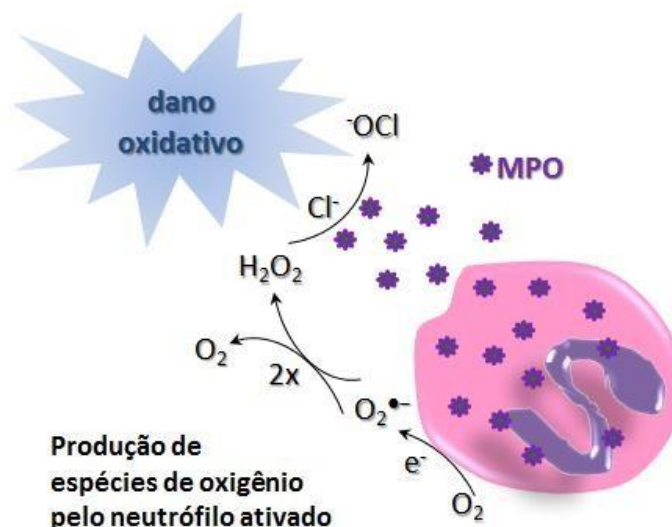
2.5 Mieloperoxidase

A primeira linha de defesa do organismo no combate contra agentes xenobióticos em processos infecciosos são os neutrófilos. A intervenção é feita a partir de um ataque de enzimas hidrolíticas e proteínas bactericidas responsáveis pela destruição dos microrganismos invasores. Essas enzimas que são liberadas estão, inicialmente, armazenadas em grânulos nesses linfócitos. Os grânulos azurófilos apresentam níveis elevados de MPO, pertencente à família das peroxidases, que atua juntamente com a NADPH oxidase contribuindo para a formação de ERO (ARNHOLD, 2004).

2.5.1 Mecanismo de catálise

No esquema a seguir (figura 4) estão representadas as reações catalisadas inicialmente pela MPO que utiliza o H_2O_2 para oxidar o íon cloreto a HOCl (CAPELLÈIREBLANDIN, 1998). Nesse processo o H_2O_2 é utilizado como doador de hidrogênio. A MPO também pode catalisar a oxidação de doadores não específicos de elétrons, tais como o guaiacol (MERRILL, 1980).

Figura 4 - Atividade Catalítica da Enzima Mieloperoxidase



A partir das reações representadas na imagem, são formados $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 e $HOCl$ que são oxidantes microbicidas que combatem os patógenos, mas que também provocam inúmeros danos e estão envolvidos no desenvolvimento de alguns quadros patológicos e injúria celular. O $O_2^{\bullet-}$ produzido não possui uma atividade bactericida direta e a sua maioria é convertida a H_2O_2 por dismutação espontânea ou através de uma reação catalisada pela enzima SOD (MATHYHARTERT et al., 1997).

O H_2O_2 em altas concentrações apresenta uma atividade bactericida bem determinada, portanto esta função se deve a ação de oxidantes secundários produzidos a partir do $O_2^{\bullet-}$. O H_2O_2 , embora não seja definido como radical livre por não apresentar elétrons desemparelhados em sua última camada, está envolvido na produção do HO^{\bullet} que não é facilmente removido e por isso se torna tão importante as atividades das enzimas CAT e da GPX na conversão do H_2O_2 em agentes mais estáveis. Ele também é altamente tóxico para as células, porque consegue atravessar as camadas lipídicas podendo reagir com membranas biológicas (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Os íons cloreto são oxidados pela MPO na presença de H_2O_2 resultando na formação do $HOCl$. Esse ácido é o mais abundante oxidante gerado no sangue (LAPENNA; CUCCURULLO, 1996), capaz de atacar as biomoléculas do organismo além de conseguir gerar outras ERO instáveis como o oxigênio singlete e o radical hidroxil (WEISS, 1989; LAPENNA e CUCCURULLO, 1996).

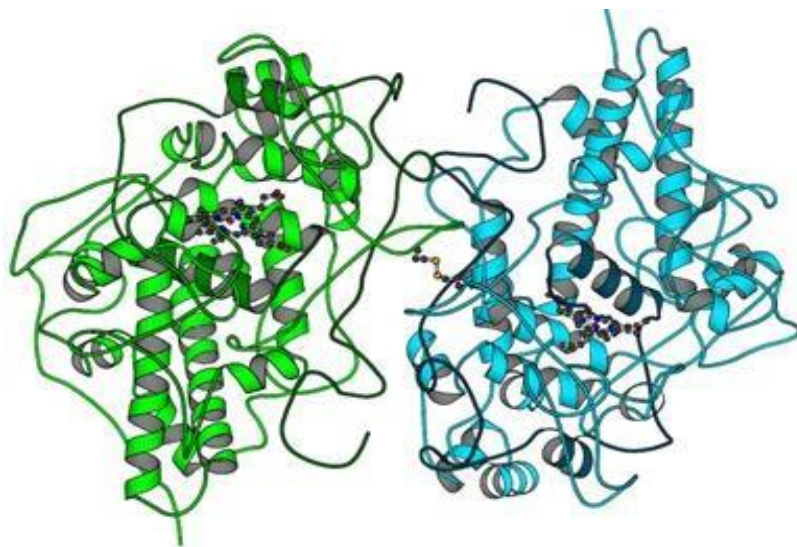
2.5.2 Constituição molecular

A MPO é uma proteína catiônica pois possui resíduos de arginina. Atua em pH fisiológico de aproximadamente 7,4 com ponto isoelétrico (pI) maior do que 11. Tendo caráter catiônico ela se liga a ânions e também a moléculas apolares como os fosfolipídeos, constituintes da membrana celular (WEISS, 1989).

Esta enzima está incluída na família das peroxidases, presente nos grânulos azurófilos de neutrófilos e corresponde a cerca de 5 % da massa seca total desses anticorpos (ZUURBIER et al., 1992). É uma heme proteína glicosilada de cerca de 144 KDa,, que é liberada no fagossomo quando bactérias são fagocitadas e representam aproximadamente 25 % das proteínas de neutrófilos neste vacúolo (WINTERBOURN, 2013).

Sua estrutura é constituída por duas cadeias idênticas unidas por ponte dissulfeto. Cada subunidade apresenta uma cadeia leve e uma cadeia pesada (figura 5). Ambas as subunidades apresentam um grupamento heme, sendo que estes trabalham independentemente na oxidação de íons cloreto. Sua estrutura é caracterizada por três ligações covalentes – duas ligações éster (Asp260 e Glu408) e uma tioéter (Met409), entre a porção de proteína e o grupo heme, as quais permitem a estabilidade da estrutura (ARNHOLD, 2010).

Figura 5- Mieloperoxidase



Fonte: <http://www2.iq.usp.br/docente/flaviam/>

2.5.3 Patologias

O sistema imunológico humano é fundamental para garantir a sobrevivência do organismo, combatendo processos infecciosos por patógenos que o invadem, porém a forma de se eliminar esses microrganismos depende também de enzimas, como a MPO, que estão envolvidas na formação de ERO que são perigosas devido a sua reatividade e vêm sendo correlacionadas com o surgimento de processos degenerativos de inflamações crônicas e envolvidas em quadro patológicos como câncer, diabetes, aterosclerose, asma, diabetes (FERREIRA; MATSUBARA, 1997), enfisema, doença respiratória aguda, injúria por reperfusão e artrite reumatóide (BABIOR, 2000).

Com esses dados é possível visualizar o grande impacto que o desequilíbrio na liberação de MPO no organismo pode causar, pois, conseqüentemente, com o aumento de sua disponibilidade no sangue mais radicais livres serão produzidos.

A MPO está envolvida, por exemplo, na aterogênese pois desencadeia uma modificação oxidativa de lipoproteínas humanas, sendo portanto diretamente relacionada com a origem e progressão da aterosclerose (SHAO, B. e ODA, M.N. *et al.*.2006).

De acordo com SHAO *et al.* (2006) que realizou um estudo em humanos com lesões ateroscleróticas isolando suas lipoproteínas de baixa densidade (LDL), a partir desse isolamento constatou-se a presença de um aminoácido, 3-clorotirosina, resultante de um processo oxidativo do HOCl, já descrito como produto da reação catalisada pela MPO. Dessa forma pode se verificar o grau de envolvimento da MPO no desenvolvimento da aterosclerose e conseqüentemente em suas complicações como a trombose.

O metabolismo do colesterol também pode ser alterado a partir de reações envolvendo a MPO. Como mencionado, o HOCl oxida as LDL e conseqüentemente partículas aterogênicas são formadas e induzem uma alteração funcional nas lipoproteínas de alta densidade (HDL) que pode afetar o transporte do colesterol, fosfolípidos e outras moléculas lipofílicas, por meio de um transportador ativo de membrana, do interior para a superfície celular das paredes arteriais, permitindo que o colesterol se acumule mais facilmente nas células (LORIA *et al.*, 2008, BORATO *et al.*, 2016; SONG *et al.*, 2015).

Considerando a participação da MPO no dano oxidativo celular, estratégias que visam a identificação de substâncias capazes de antagonizar espécies reativas produzidas por esta enzima tais como, os antioxidantes naturais, são de extrema relevância devido ao seu potencial farmacológico de modulação da resposta inflamatória e no combate a diferentes patologias (VELLOSA, 2005).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Determinar a capacidade antioxidante em extratos de folhas das espécies nativas do Cerrado *A. humile* e *T. micrantha*, respectivamente, cajuí e bacupari e também avaliar seu potencial como inibidores da enzima MPO.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar as concentrações de polifenóis totais e de flavonoides;
- Avaliar o potencial antioxidante contra o radical DPPH•;
- Investigar o potencial dos extratos como inibidoras da enzima MPO *in vitro*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta das amostras e preparo do extrato aquoso

As folhas das espécies investigadas no presente estudo *A. humile* (cajuí) e *T. micrantha* (bacupari) foram coletadas nas regiões de Lagoa Formosa (18°40'24.6"S 46°27'00.7"W) e Patrocínio (18°55'48"S 46°57'36"W) respectivamente, no mês de março de 2018. O cadastro de acesso ao patrimônio genético para fins de pesquisa científica foi realizado no SisGen com certificado A6A598B.

As folhas foram congeladas à temperatura de -80°C, liofilizadas e então trituradas em moinho de facas. Para a obtenção dos extratos, as amostras foram diluídas em água destilada na proporção de 1:10, a 72°C por 10 minutos em banho maria. Então, resfriou-se os extratos para posterior filtração a vácuo, liofilização e armazenamento a 4 °C.

4.2. Determinação de compostos fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu como descrito por GEORGE *et al.* (2005). Neste método o reagente de Folin Ciocalteu, se reduz ao oxidar os compostos fenólicos, produzindo compostos de cor azul que absorvem no comprimento de onda de 760nm. Para construção da curva padrão foi utilizada solução de ácido gálico. Os valores de fenólicos totais são expressos como equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico em 100g de extrato). Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

4.3 Determinação de flavonoides

O conteúdo de flavonoides totais foi determinado pelo método colorimétrico descrito por Hossain & Rahman (2011). Este método se baseia no uso do cloreto de alumínio, uma vez que o cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonoides, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção. Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonoides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos. A quercetina foi utilizada como flavonoide padrão para a construção da curva de calibração. Após, realizou-se a leitura da absorbância na faixa de 415 nm. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

4.4 Determinação da capacidade antioxidante in vitro contra o radical DPPH•

A capacidade antioxidante dos extratos foi determinada por método colorimétrico previamente descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). Este método se baseia na transferência de elétrons para o radical DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) em solução de metanol.

A atividade antioxidante foi determinada através da redução de absorbância do radical DPPH a 515 nm e o percentual de inibição foi determinado de acordo com a seguinte equação, onde A indica absorbância:

$$\% \text{ de inibição do radical DPPH} = \frac{(A_{515} - A_{515})}{A_{515}} \times 100$$

4.5 Ensaio de inibição da mieloperoxidase

O ensaio foi realizado em uma cubeta para espectrofotômetro, onde foram adicionados tampão fosfato de potássio (50 mM, pH = 7,4), guaiacol (70 mM), os extratos e MPO. A reação enzimática foi iniciada com a adição de peróxido de hidrogênio na concentração de 0,0017 % e logo realizou-se a primeira leitura da absorbância em 470 nm. O primeiro ensaio foi realizado para determinar a cinética da enzima MPO sem nenhum extrato (branco). Em seguida, foram realizadas determinações na presença dos extratos de cajuí e bacupari, nas concentrações de 0,1 ug/ml, 1 ug/ml e 10 ug/ml. A quercetina foi utilizada como controle positivo. Os resultados foram comparados frente a diferentes concentrações das substâncias testadas por meio da construção de gráficos que correlacionam concentração versus resposta. Esse ensaio tem como princípio a oxidação do guaiacol na presença de peróxido de hidrogênio.

4.6 Análise Estatística

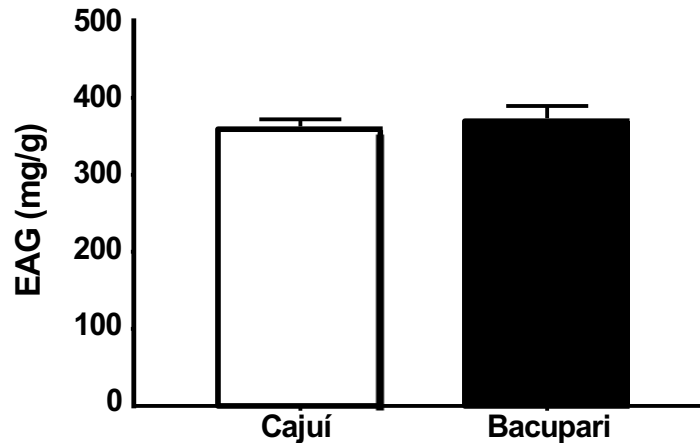
Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posteriormente analisados pelo teste T de Student. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando o *software* GraphPad Prism 8.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação de polifenóis totais

Neste teste o extrato de bacupari apresentou concentração de $373,53 \text{ mg/g} \pm 16,03$ enquanto que a concentração para o cajuí foi de $363,01 \text{ mg/g} \pm 9,21$ (figura 6).

Figura 6 - Concentração de polifenóis para cajuí e bacupari. Concentração de fenólicos totais nos extratos aquosos das folhas de cajuí e bacupari. Os dados estão representados como média \pm desvio padrão e expressos em Equivalentes de ácido gálico EAG. As análises foram realizadas em triplicata.



Santos *et al.* (2018) também utilizando o método Folin-Ciocalteu, determinaram o teor de fenóis totais em diversas espécies, tendo destaque a folha de *A. occidentale* L. por apresentar 274 mg EAG/g de extrato, conteúdo inferior ao extrato aquoso de *A. humile* analisado no presente estudo.

Os resultados da triagem fitoquímica realizada por BESSA *et al.* (2013) no extrato etanólico de *A. othonianum* (cajuzinho-do-cerrado ou cajuí) também indicou presença de saponinas, fenóis e taninos sendo estas substâncias encontradas em espécies da família *Anacardiaceae* (ROCHA *et al.*, 2011).

Os compostos fenólicos têm uma imensa variedade de aplicações dentro dos usos medicinais (SANTOS *et al.*, 2003). Dentre as propriedades atribuídas a estes compostos destacam-se ação antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana. Sendo a última identificada em espécies da família *Celastraceae* (SILVA *et al.* 2011), utilizadas para tratar inflamação renal (PANSERA *et al.* 2003). Estas informações podem justificar a utilização em tratamentos de infecções renais da *T. micrantha* (DIAS e LAUREANO 2010).

No estudo de Farinazzi-Machado *et al.* (2017) identificou-se que na polpa e nas folhas da *G. cochinchinensis* Choisy as concentrações de polifenóis foram maiores se comparadas as outras espécies do gênero *Garcinia*.

Em extratos de *G. brasiliensis* foram encontrados $343,98 \pm 4,8$ mg ácido gálico.g-1 em extrato aquoso, e $159,85 \pm 7,9$ mg ácido gálico.g-1 em extrato

etanólico (NAVES, 2014), concentrações inferiores às encontradas no presente estudo ($373 \text{ mg/g} \pm 16$), evidenciando que a espécie *T. micrantha* pode representar uma boa fonte de compostos bioativos, quando comparado as outras espécies de bacupari.

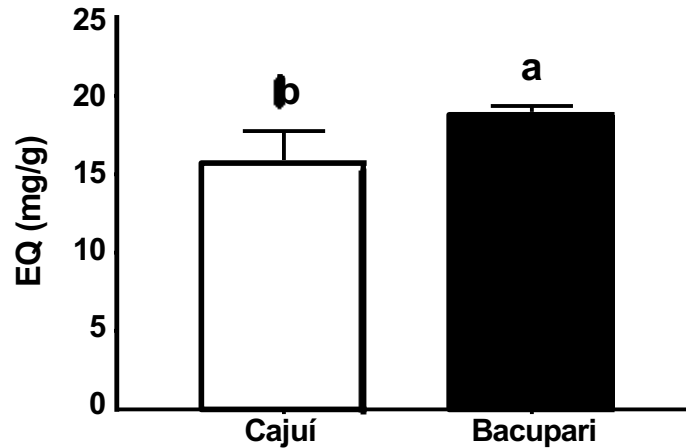
São diversos os fatores que podem afetar a produção de metabólitos secundários, e um dos principais é a sazonalidade que interfere tanto na quantidade como também na natureza de alguns constituintes ativos das plantas, o que altera a caracterização de uma mesma planta que foi coletada em diferentes épocas do ano. Outros fatores relevantes são o estágio de desenvolvimento da planta, disponibilidade de nutrientes, poluição atmosférica e também a incidência de radiação ultravioleta (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

5.2 Determinação de flavonoides

O extrato de bacupari apresentou maior concentração de flavonoides totais, $18,99 \text{ mg/g} \pm 0,38$ enquanto que a concentração para o extrato de cajuí foi de $15,92 \text{ mg/g} \pm 1,84$, conforme demonstrado na figura 7.

O resultado encontrado no estudo de Baptista (2018) em 1 mL de amostra de compostos flavonoides para *A. microcarpum* foi $0,29 \text{ mg ER g}^{-1}$ de extrato enquanto que no trabalho de Rocha (2011) foi encontrado $3,12 \pm 0,7 \text{ mg/100g}$ de flavonoides no extrato aquoso de frutos de *A. humile*.

Figura 7 - Concentração de flavonoides para cajuí e bacupari. Concentração de flavonoides totais nos extratos aquosos das folhas de cajuí e bacupari. Os dados estão representados como média \pm desvio padrão. As diferentes letras representam diferença significativa entre as médias para $p < 0,05$. Os resultados estão expressos em miligramas de equivalentes de quercetina (EQ) por grama de amostra. As análises foram realizadas em triplicata.



Analisando os resultados obtidos para o bacupari, Botta *et al.* (1984) em seus estudos com a espécie *G. gardneriana* identificou principalmente nas folhas, flavonoides como os biflavonóides volkensiflavona, I3-naringenina-II8-eriodictiol, fukugetina (moreloflavona).

Os extratos analisados no presente trabalho apresentaram altas quantidades de flavonoides totais comparados a outras espécies consultadas nos estudos citados. Até o momento não foi realizada caracterização fitoquímica da espécie *T. micrantha* para comparações.

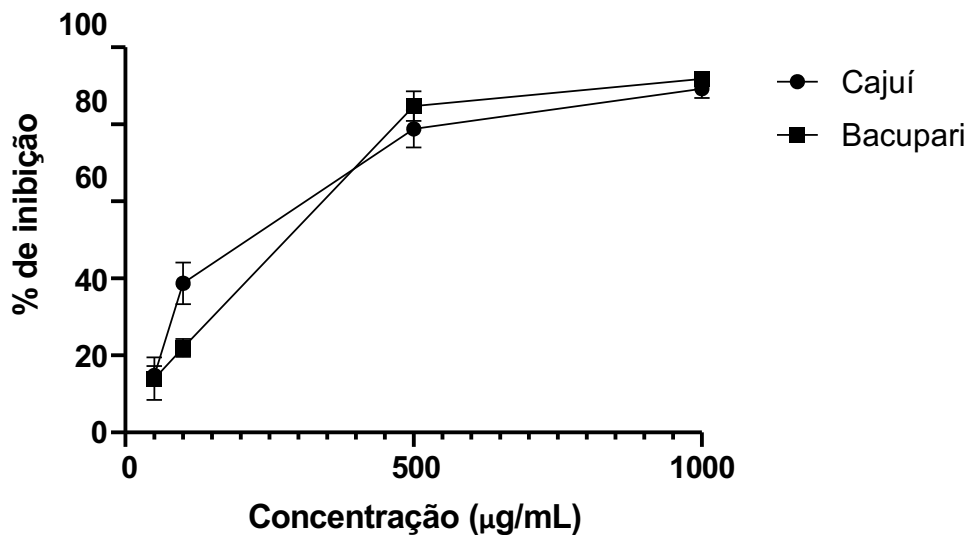
5.3 Capacidade antioxidante in vitro contra o radical DPPH•

O radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH•) tem sido muito usado para avaliar a capacidade de antioxidantes naturais em sequestrar radicais livres. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar, o DPPH•, de coloração púrpura e que absorve em um comprimento de onda de 517 nm, é reduzido formando (DPPH•), de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante (quantidade de DPPH• consumida pelo antioxidante) ou sequestradora de radicais e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional. Este é um dos

métodos mais usados para verificar a capacidade antioxidante (OLIVEIRA et al., 2009).

Comparando-se atividade de varredura do radical DPPH• dos extratos estudados, ambos apresentaram alta atividade antioxidante inibindo 89,4 % e 92,1 % do radical DPPH• para cajuí e bacupari, respectivamente (figura 8). O antioxidante de referência, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (TROLOX) apresentou percentual de inibição entre 26 % na concentração de 50 µg/mL a 81 % na concentração de 200 µg/mL.

Figura 8 - Inibição do radical DPPH•. Percentual de inibição do radical DPPH• pelos extratos aquosos das folhas de cajuí e bacupari nas concentrações de 50, 100, 500 e 1000µg/mL. Os resultados estão expressos como média desvio padrão. As análises foram realizadas em triplicata.



Comparativamente, Broinizi *et al.* (2008) avaliaram a atividade antioxidante *in vitro* do extrato hidro alcoólico, a partir do bagaço de pedúnculo de caju, que apresentou efetiva atividade de varredura do radical DPPH•, principalmente na maior concentração (1000 µg/mL), com percentual de inibição em torno de 95 %. É provável que esta atividade efetiva de sequestro de radicais livres esteja correlacionada à quantidade elevada de compostos fenólicos, bem como os ácidos fenólicos com atividade antioxidante presentes no bagaço de pedúnculo de caju CCP-76 já quantificados e identificados por Andrade-Wartha (2007).

Mahattanatawee *et al.* (2006) verificaram correlação positiva ($r = 0,96$) entre a atividade antioxidante em sistema DPPH• e o teor elevado de compostos fenólicos

totais de goiaba vermelha e carambola, sugerindo que estas substâncias, provavelmente, sejam contribuintes significativos na capacidade antioxidante em extratos de frutas.

Além disso, Broinizi *et al.* (2007) verificaram 88 e 95 % de atividade de varredura do radical DPPH• numa concentração de 0,5 mg de extrato aquoso e alcoólico, respectivamente, do bagaço de pedúnculo de caju CCP-76, e aos encontrados por Andrade-Wartha (2007) com 94 % de atividade de varredura do radical DPPH• na concentração de 0,4 mg de extrato alcoólico do pedúnculo de caju CCP-76 antes de passar por melhoramento.

E ainda, de acordo com Santos *et al.* (2018) a atividade antioxidante da folha, casca e pseudofruto maduro e verde da espécie *A. occidentale*, testada nas seguintes concentrações (100; 200; 300; 400 e 500 µg.mL⁻¹), destacou-se a folha por apresentar 80,43 % de atividade antioxidante na concentração de 500 µg.mL⁻¹. Valores semelhantes ao observado no presente estudo nesta concentração.

Enquanto que Farinazzi-Machado *et al.* (2017) em testes para avaliação da capacidade antioxidante dos frutos do bacupari encontraram um percentual de sequestro do radical DPPH• estatisticamente maior à atividade antioxidante das folhas. Estes dados corroboram com o estudo de Ibrahim *et al.* (2015) que observaram maior concentração de compostos fenólicos nas folhas quando comparadas aos frutos da *G. mangostana* (0,2501 mg.g⁻¹ de ácido gálico e 0,0202 mg.g⁻¹ de ácido gálico, respectivamente), e, no entanto, a atividade antioxidante dos frutos foi maior que das folhas (93,33 % e 89,45 %, respectivamente).

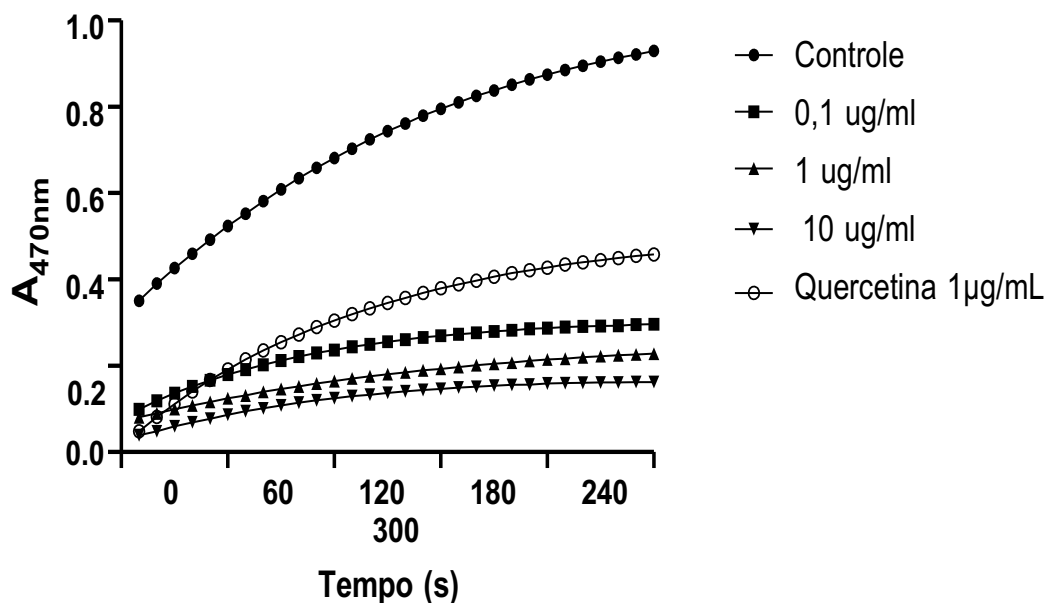
Recente estudo mostrou que as folhas maduras de *G. atroviridis* apresentaram alta atividade antioxidante (92,34 %), seguida de folhas mais jovens (80,70 %) determinadas por DPPH (NURSAKINAH *et al.*, 2012). Ali Hassan *et al.* (2013) observaram atividade antioxidante entre 67,9 % e 85,4 % nos extratos aquoso e 80 % metanol de frutos frescos da *G. parvifolia*.

Atualmente, é difícil comparar, baseando-se na literatura científica, a atividade antioxidante de diferentes amostras, devido aos autores utilizarem diferentes diluições das amostras para a realização da análise, diferentes tipos de solventes e métodos para a obtenção dos resultados, visto que cada amostra apresenta um poder antioxidante e comporta-se de forma diferente em cada tipo de análise (COUTO, 2010).

5.4 Ensaio com MPO

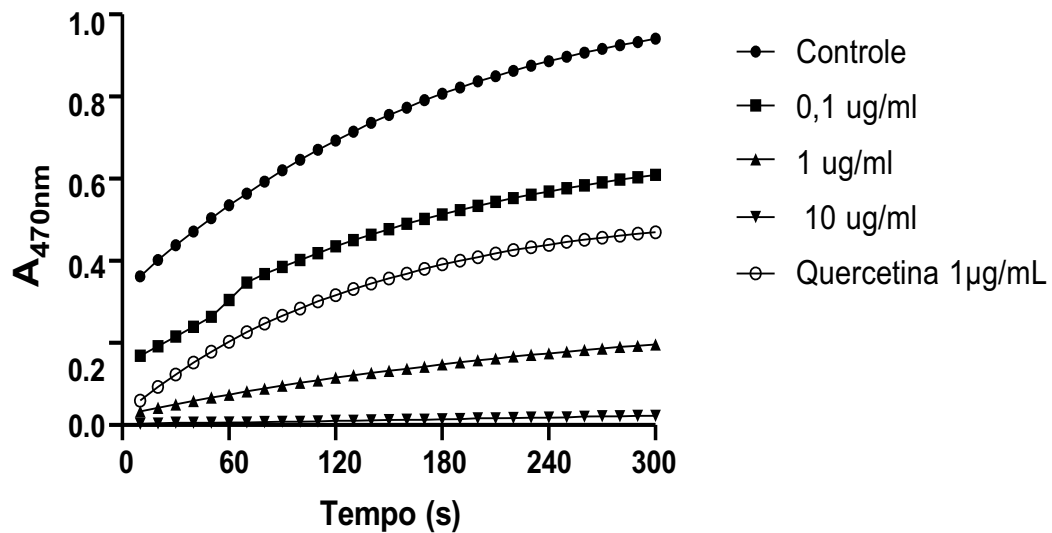
A cinética da atividade enzimática da MPO foi determinada de modo a avaliar o potencial inibitório dos extratos estudados. O extrato de cajuí (*A. humile*), demonstrou uma atividade inibitória em todas as concentrações utilizadas de maneira dose dependente, 64,3; 74,6 e 81,7 % de inibição nas concentrações de 0,1; 1 e 10 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente de forma mais expressiva que o flavonoide padrão quercetina, utilizado como controle positivo na mesma concentração (figura 9).

Figura 9 - Potencial de inibição do extrato de cajuí sobre a mieloperoxidase. Cinética de oxidação do guaiacol pela mieloperoxidase em tampão fosfato de potássio, pH 7,4 a 25 °C na ausência (controle) ou presença do extrato aquoso das folhas de cajuí (0,1, 1 e 10 $\mu\text{g/ml}$). A quercetina, um flavonoide isolado, foi usada como controle positivo. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 470nm em intervalos de 10 segundos durante cinco minutos.



O extrato de bacupari (*T. micrantha*) também apresentou forte inibição da oxidação do substrato guaiacol pela MPO como demonstrado abaixo (figura 10), inibindo 43,0; 86,2 e 98,9 % da atividade enzimática. Sendo este efeito também maior do que o da quercetina na mesma concentração.

Figura 10 - Potencial de inibição do extrato de bacupari sobre a mieloperoxidase. Cinética de oxidação do guaiacol pela mieloperoxidase em tampão fosfato de potássio, pH 7,4 a 25 °C na ausência (controle) ou presença do extrato aquoso das folhas de bacupari (0,1, 1 e 10 ug/ml). A quercetina, um flavonoide isolado, foi usada como controle positivo. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 470nm em intervalos de 10 segundos durante cinco minutos.



Nos estudos de Regasini *et al.* (2008) foi isolado um derivado de kaempferol inibidor de mieloperoxidase, nomeadamente pteroginósido, a partir de frutos de *Pterogyne nitens*, juntamente com seis flavonóis conhecidos, kaempferol, afzelin, kaempferitrin, quercetina, isoquercetrina e rutina. Todos os flavonóis foram selecionados para identificar metabólitos secundários como potenciais inibidores da MPO, e em concentrações de 0,50-50 nM, quercetina, isoquercitrina e rutina exibiram fortes efeitos inibitórios com valores de IC50 de $1,22 \pm 0,01$ ug/ml, $3,75 \pm 0,02$ ug/ml e $3,60 \pm 0,02$ ug/ml, respectivamente. Pode-se observar que as concentrações que apresentaram potencial inibidor foram muito baixas, em torno de 1 a 4 ug/ml, dados que corroboram com este estudo, analisando-se que a concentração de 1 ug/ml dos extratos de cajuí e bacupari já apresentou alto potencial inibidor.

Enquanto que nos estudos de Velloso (2005) foram avaliados extratos ou moléculas dos vegetais: *Pterogyne nitens*, *Maytenus ilicifolia*, *Maytenus aquifolium*, *Salacia campestris*, *Piper gaudichaudianum*, *Piper crassinervium* e *Piper aduncum* com o objetivo de avaliar a inibição da MPO. Observou-se um grande potencial das

plantas estudadas como fonte de compostos com ação antioxidante. Além disso, identificou-se a existência de possíveis inibidores da MPO nos diferentes vegetais estudados, destacando-se quercetina (IC₅₀=1,35 µg/mL), fração hexano-acetato de etila do extrato da *M. aquifolium* (IC₅₀=1,5 µg/mL), extrato bruto etanólico da casca da raiz da *M. ilicifolia* (IC₅₀=2,2 µg/mL), fração hidroalcoólica do extrato da *M. aquifolium* (IC₅₀=3,1µg/mL), fração butanólica do extrato do caule de *P. nitens* (IC₅₀=6,4 µg/mL) e extrato bruto etanólico da casca da raiz da *S. campestris* (IC₅₀=8,9 µg/mL).

O maior potencial de inibição da MPO observado no extrato de bacupari em relação ao de cajuí pode ser devido a maior concentração de flavonoides no mesmo, uma vez que existe correlação direta entre essa concentração e a inibição da enzima, identificando, dessa forma, um forte potencial farmacológico desses compostos devido ao fato de que a MPO gera espécies reativas que causam injúria celular e dano tecidual (VELLOSA, 2005). Essa ação também pode estar relacionada com a utilização medicinal de ambas as espécies em infecções.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir deste trabalho demonstram que ambas as espécies investigadas apresentam alto teor de compostos bioativos, atividade antioxidante e potencial como inibidores da MPO. Sendo que o extrato aquoso das folhas de bacupari apresentou maior conteúdo de flavonoides totais e maior potencial de inibição da MPO em relação ao extrato das folhas de cajuí nas concentrações de 1 ug/ml e 10 ug/ml. Assim, em conjunto esses dados fornecem subsídio para futuros estudos de bioprospecção, investigação de potencial farmacológico além de contribuir para valorização da biodiversidade do Cerrado.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI-COSTA, T. S.; LIMA, A.; LIMA, M. V. **Determinação de taninos em pedúnculo de caju: método da vanilina versus método do butanol ácido.** Química Nova, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 763-765, 2003.

ALI HASSAN, S. H. A.; FRY, JR.; ABU BAKAR, M. F. **Phytochemicals Content, Antioxidant Activity and Acetylcholinesterase Inhibition Properties of Indigenous Garcinia parvifolia Fruit.** BioMed Research International, London, v. ID 138950, Oct. 2013.

ALMEIDA, L. S. B., MURATA, R. M., YATSUDA, R., SANTOS, M. H., NAGEM, T. J., KOO, H. & ROSALEN, P. L. **Antimicrobial activity of Rheedia brasiliensis and 7-epiclusianone against Streptococcus mutans.** Phytomedicine, 15(10): 886-891, 1987.

ALMEIDA, S. P., PROENÇA C. E. B. **Cerrado: espécies vegetais úteis.** CNPAC–Embrapa. Planaltina, DF. 464 p, 2009.

ANDRADE-WARTHA, E.R.S. **Capacidade antioxidante in vitro do pedúnculo de caju (Anacardium Occidentale L.) e efeito sobre as enzimas participantes do sistema antioxidante de defesa do organismo animal.** São Paulo, 111p. [Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, 2007.

ARNHOLD, J. **Free radicals – Friends or foes? Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase.** Biochemistry, v.69, p. 4-9, 2004.

ARNHOLD, J.; FLEMMIG, J. **Human myeloperoxidase in innate and acquired immunity.** Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 500, n. 1, p.92-106, ago. 2010.

ATIVIDADE CATALÍTICA DA ENZIMA MIELOPEROXIDASE. Disponível em <<http://www2.iq.usp.br/docente/flaviam/>> Acesso em: 3 de novembro de 2018.

BABIOR, B. M. **NADPH Oxidase: an Update.** Blood, v. 93, p. 1464-76, 2000.

BABIOR, B. M. **Superoxide: two edged sword** *Braz. J. Med. Biol. Res.* 30, 141, 1997.

BACUPARI, *Tonthelea micrantha* Disponível em <<http://static1.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Celastraceae.htm>> Acesso em: 3 de novembro de 2018.

BAPTISTA, Anderson Barbosa. **Extrato De Folhas De Caju (*Anacardium occidentale* L.) e de Cajuí (*Anacardium Microcarpum* D.): Prospecção Fitoquímica, Atividade Antioxidante, Antimicrobiana e Antiinflamatória, in vitro E In Vivo.** 2018. 100 f. Tese (Doutorado) - Curso de Nutrição, Ufv, Viçosa, 2018.

BESSA, N.G.F. **Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins.** Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, p.692-707, 2013.

BORATO, D. **Biomarkers in Obesity: Serum Myeloperoxidase and Traditional Cardiac Risk Parameters.** Exp Clin Endocrinol Diabetes, v. 124, n. 01, p.49-54, 21 jan. 2016.

BORLAUG, N.E. **Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead.** In: R. Bailey (ed.). Global warming and other eco-myths. pp. 29-60. Competitive Enterprise Institute, Roseville, EUA, 2002.

BOTTA, B., MAC-QUHAE, M. M., DELLE MONACHE, G., DELLE MONACHE, F., DEMELLO, J. F. **Chemical investigation of the genus *Rheedia*. V: Biflavonoids and xanthochymol.** Journal of Natural Products, v. 47, p.1053, 1984.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E., BREST, C. **Use of free radical method evaluate antioxidant activity.** Lebensm.-Wiss. Technol., v.28, n.1, p.25-30, 1995.

BROINIZI, P.R.B. **Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poliinsaturados em ratos.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, v. 44, n. 4, p.774-781, 2008.

BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; NOVOA, A.J.V.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. **Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.).** Ciênc. Technol. Aliment., v.27, n.4, p.902-908, 2007.

CAO, G. H.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L. **Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships**. Free Radical Biology & Medicine v. 22, p. 749-760, 1997.

CAPEILLÈRE-BLANDIN, C. **Oxidation of guaiacol by myeloperoxidase: a twoelectron-oxidized guaiacol transient species as a mediator of NADPH oxidation**. Biochemical Journal, v. 336, p. 395-404, 1998.

CARBAJAL, A. C. R.; SILVA JÚNIOR, N. **Castanha de caju: recomendações práticas para a melhoria da qualidade**. Fortaleza: Sebrae-CE/Embrapa Agroindústria Tropical, 16p, 2003.

CAVALCANTE, R.; JOLY C. **The conservation of the Cerrado**. In: P.S. Oliveira & R. J. Marquis (eds.). The Cerrado of Brazil. Ecology and natural history of a neotropical savanna. pp. 351-367. Columbia University Press, New York, 2002.

COUTO, M. ; BRAZZACA, S. L. **Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, p.15-19, 2010.

DIAS, B.F.S. **Áreas Protegidas no Cerrado Brasileiro**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, 2017.

DIAS, J. E.; LAUREANO, L. C. **Farmacopéia popular do cerrado**. Goiânia: Articulação Pacari, 352p, 2010.

EITEN, G. **Delimitação do conceito de Cerrado**. Arquivos do Jardim Botânico, Rio de Janeiro 21: 125-134, 1977.

FARINAZZI-MACHADO, F. M. V.; BARBALHO, S.; GUIGUER, E. L.; MARINELLI, P. S.; ISHIDA, I. B.; VIEITES, R. L.; GROppo, M. **Phytochemical Screening of the Fruit of *Garcinia cochinchinensis* Choisy**. International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology, Kancheepuram, v. 3, n. 7, p. 81-89, Jul. 2016.

FARINAZZI-MACHADO, Flavia Maria Vasques et al. **Compostos fenólicos e atividade antioxidante in vitro dos frutos e folhas da *garcinia cochinchinensis choisy***. Energ. Agric., Botucatu, [s.l.], v. 32, n. 4, p.393-400, 2017.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. **Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo.** Revista da Associação Médica Brasileira, v. 43, p. 61-68, 1997.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. **Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Ageing.** Nature, 408, 239-247, 2000.

FOGLIO M.A.; QUEIROGA C.L.; SOUSA I.M.O. **Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar.** In: Construindo a História dos Produtos Naturais. Mult Rev Interd UNICAMP. UNICAMP. 2006.

FLORA BRASILEIRA (2011) Disponível em
<<https://florabrasileira.wordpress.com/2011/11/21/anacardium-humile-a-st-hil/>>
Acesso em: 3 de novembro de 2018.

GEORGE, S.; BRAT, P.; ALTER, P.; AMIOT, M. J. **Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products.** J. Agric. Food Chem., v. 53, p. 1370-1373, 2005.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P.. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários.** Química Nova, Ribeirão Preto, p.374-381, 2007.

GRANDI, T. S. M. **Tratado das plantas medicinais** [recurso eletrônico]: mineiras, nativas e cultivadas /– 1. Ed. – Dados eletrônicos. – Belo Horizonte: Adaequatio Estúdio, 2014.

GUTTERIDGE, J.M.C. **Lipid peroxidation: some problems and concepts.** In Halliwell B (ed): Oxygen radicals and tissue injury. Proceedings of a Brook Lodge Symposium; Apr 27-29, 1993.

HALLIWELL B. **Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies? How far have we come?** Am J Clin Nutr. 72(5):1082-7, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in Biology and Medicine.** Clarendon Press, Oxford, 1989. In: LAPENNA, D. and CUCCURULLO, F. Hypochlorous acid and its pharmacological antagonism: an update picture. General Pharmacology, v.27, p. 1145-1147, 1999.

HOSSAIN, M. A.; RAHMAN, S. M. **Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple.** Food Research International , v. 44, n. 3, p. 672-676, 2011.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2002). Disponível em <<https://cnae.ibge.gov.br/en/component/content/94-7a12/7a12-vamos-conhecer-o-brasil/nosso-territorio/1465-ecossistemas.html?Itemid=101>> Acesso em: 3 de novembro de 2018.

IBRAHIM, U, K.; HUSIN, A. S. M.; SALLEH, RUZITAH M. **Analysis of Antioxidant Activity and Total Phenolic Content in Garcinia mangostana using Response Surface Methodology.** Advanced Materials Research, Zug, v. 1113, p. 217-222, 2015.

JENKINS, R.R.; GOLDFARB, A. **Introduction: oxidant stress, aging and exercise.** Medicine & Science in Sports & Exercise, Madison, v.25, p.210-12, 1993.

KLINK, C.A.; MOREIRA A.G. **Past and current human occupation and land-use.** In: P.S. Oliveira & R.J. Marquis (eds.). The Cerrado of Brazil. Ecology and natural history of a neotropical savanna. pp. 69-88. Columbia University Press, New York, 2002.

LAPENNA, D.; CUCCUROLLO, F. **Hypochlorous acid and its pharmacological antagonism: an update picture.** Geneneral Pharmacology, v. 27, p. 1145-1147, 1996.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LORIA, V. et al. **Myeloperoxidase: A New Biomarker of Inflammation in Ischemic Heart Disease and Acute Coronary Syndromes.** Mediators of Inflammation, p.1-4, 2008.

LUPULESCU, A. **The role of vitamins A, β -carotene, E and C in cancer cell biology.** International Journal for Vitamin and Nutrition Research, Bern, v.63, n.3, p.3- 14, 1993.

MACHADO, R. B. et al. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro.** Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional, Brasília, DF, 2004.

MAGALHÃES, L. E. **Programa Nacional de Conservação e Uso Sustentável do Bioma Cerrado: Programa Cerrado Sustentável.** São Paulo, 2005. 56 p.

MAHATTANATAWEE, K.; MANTHEY, J.A.; TALCOTT, S.T.; GOODNER, K.; BALDWIN, E.A. **Total antioxidant activity and fiber content of select Floridagrown tropical fruits.** J. Agric. Food Chem., v.54, n.19, p.7355-7363, 2006.

MATHY-HARTERT, M.; BOURGEOIS, E.; GRULKE, S.; DEBY-DUPONT, G.; CAUDRON, I.; DEBY, C.; LAMY, M.; SERTEYN, D. **Purification of myeloperoxidase from equine polymorphonuclear leucocytes.** Canadian Journal of Veterinary Research, v. 62, p. 127-132, 1997.

MEIRELLES, M. L. et al. **Padrões espaciais de árvores de um cerrado em Brasília.** Revista Brasileira de Botânica, 18:182-89, 1995.

MENDONÇA, R. et al. **Flora vascular do Cerrado.** In: S. Sano & S. Almeida (eds.). Cerrado. Ambiente e flora. pp. 288-556. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa - Cerrados, Planaltina, Brasil, 2008.

MERRILL, D. P. **Purification of human myeloperoxidase by concanavalin A-Sepharose affinity chromatography.** Preparative Biochemistry, v. 10, p. 133-150, 1980.

MORTON, J. **Bakupari.** In: MORTON, J.F. (Ed.). Fruits of warm climates. Miami: (s.n.). p.309-310, 1987.

NAVES, V. M. L. **Caracterização química e biológica in vitro de extratos de Garcinia brasiliensis e avaliação do seu perfil de permeação cutânea em formulações dermatológicas.** 89f. Dissertação. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL, Alfenas, MG, 2014.

NEVES, J.S., COELHO, L.P., CORDEIRO, R.S., VELOSO, M.P., SILVA, P.M.R., SANTOS, M.H. & MARTINS, M.A. **Antianaphylactic properties of 7-epiclusianone, a tetraprenylated benzophenone isolated from Garcinia brasiliensis.** Planta Med., 73(7): 644-649, 2007.

NURSAKINAH, I.; ZULKHAIRI, H. A.; NORHAFIZAH, M.; HASNAH, B.; ZAMREE, M. S.; FARRAH, S.; RAZIF, D.; HAMZAH, F. H. **Nutritional content and in vitro antioxidant potential of Garcinia atroviridis (Asam gelugor) leaves and fruits.** Malaysan Journal of Nutrition, Kuala Lumpur, v. 18, n. 3, p. 363- 71, 2012.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA E. J. H.; TREVISAN M. T. S. **Fontes vegetais naturais de antioxidantes**. Quim. Nova, 32 (3), p. 689-702, 2009.

PANSERA, M. R.; ATTI-SANTOS, A.C.; SERAFINI, L.A.; CASSEL, E. **Supercritical extraction of tannin with co-solvents**. IV Encontro Brasileiro de Fluidos Supercríticos em Salvador-Bahia. 42, 2003

REGASINI, L. O. et al. **Flavonols from Pterogyne nitens and their evaluation as myeloperoxidase inhibitors**. Elsevier, São Paulo, v. 69, p.1739-1744, 2008.

ROCHA, M. S. **Compostos bioativos e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do cerrado piauiense**. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

ROCHA, W. S. et al. **Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado**. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - Sp, p.1215-1221, 18 ago. 2011.

RUFINO, M. S. M.; CORRÊA, M. P. F.; BARROS, L. de M.; ALVES, R. E.; LEITE, L. A. de S. **Suporte Tecnológico para a Exploração Racional do Cajuzeiro**. 1. ed. Fortaleza, CE: Embrapa Agroindústria Tropical, 30p, 2007.

SANTOS, G. M. dos; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M. de; COSTA, J. M. C. da C.; FIGUEIREDO, R. W. de; PRADO, G. M. do. **Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (Euterpe oleracea Mart)**. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, Caracas, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2003.

SANTOS, J. A. S. et al. **Estudo do potencial antioxidantes da Anacardium Occidentales L. e determinação de seus compostos fenólicos**. Santana do Ipanema/al., Maceió, p.455-474, 2018.

SCHENKEL, E. P. et al. Saponinas. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosman, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. 6. Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1104p, 2007.

SHAO B.; ODA M.N., et. al.. **Myeloperoxidase Impairs ABCA1-dependent Cholesterol Efflux through Methionine Oxidation and Site-specific Tyrosine Chlorination of Apolipoprotein A-I.** Journal of biological chemistry, v.281, n.14, p.9001-9004, 2006.

SHARMA, A.; JOSEPH, G. S.; SINGH, R. P. **Antioxidant and antiplatelet aggregation properties of bark extracts of Garcinia pedunculata and Garcinia cowa.** Journal of Food Science and Technology, Mysore, v. 51, n. 1626, p. 1-6, Aug. 2014.

SILVA, F.C., DUARTE, L.P., SILVA, G.D.F., FILHO, S.A.V., LULA, I.S., TAKAHASHI, J.A., SALLUM, W.S.T. **Chemical constituents from branches of Maytenus gonoclada (Celastraceae) and evaluation of antimicrobial activity.** Brazilian Journal of Chemistry Society, v. 22, n. 5, p. 943-949, 2011.

SILVA, J.M.C. da & J.M. BATES. **Biogeographic patterns and conservation in the South American Cerrado: a tropical savanna hotspot.** BioScience 52: 225-233, 2002.

SONG, Ping et al. **Association of Plasma Myeloperoxidase Level with Risk of Coronary Artery Disease in Patients with Type 2 Diabetes.** Disease Markers, v. 2015, p.1-5, 2015.

SOUZA, K.R.D.; MARTINS, F.T.; SOUZA, T.C.; DORIGUETTO, A.C.; MOREIRA, M.E. C.; BARBOSA, L.C.A. & SANTOS, M.H. **Anti-inflammatory and antioxidant activities of Rheedea brasiliensis fruit peel essential oil and relationships with its chemical composition.** In: 30^a. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Águas de Lindóia - SP, 31 de maio a 03 de junho de 2007. Anais... Águas de Lindóia, PN-272. 2007.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia Ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III.** [S.l. : s.n.] 2012.

VELLOSA, José Carlos Rebuglio. **Avaliação da capacidade antioxidante de extratos vegetais de plantas brasileiras e sua contribuição ao estudo de inibição da enzima mieloperoxidase.** 2005. 130 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Análises Clínicas, Unesp, Araraquara, 2005.

VERDE, G. M. V. et al. **Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossamedes (GO).** Revista Brasileira de Farmacognosia, Goiânia, p.64-66, 2003.

VIEIRA, R.F. **Coleta e conservação de recursos genéticos de plantas medicinais**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA E TERAPIAS NATURAIS, 1., Brasília. Trabalhos...São Paulo: Instituto Médico Seraphis, 1994. p.44-49, 1994.

WEISS, S. J. **Tissue destruction by neutrophils**. The New England Journal of Medicine, v. 320, p. 365-376, 1989.

WINTERBOURN C.C.; VISSERS M.C.M., et. al. **Myeloperoxidase**. Current Opinion in Hematology v.7, p.53-58, 2000.

WINTERBOURN, C. C.; KETTLE, A. J. **Redox reactions and microbial killing in the neutrophil phagosome**. Antioxidants e Redox Signaling, v. 18, n. 6, p. 642-660, 2013.

ZUURBIER, K. W; VAN DEN BERG, J. D.; VAN GELDER, B. F.; MUIJSERS, A. O. **Human Hemi-myeloperoxidase. Initial chlorinating activity at neutral ph, compound II and III formation, and stability towards hypochlorous acid and high temperature**. European Journal of Biochemistry, v. 205, p. 737-742, 1992.
