



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UnICEUB
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

GABRIELLE MOURA NASCIMENTO
ISADORA MAIA KAVAMOTO

DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS EM EXTRATOS DE
PLANTAS MEDICINAIS

BRASÍLIA

2019



GABRIELLE MOURA NASCIMENTO

ISADORA MAIA KAVAMOTO

**DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS EM EXTRATOS DE
PLANTAS MEDICINAIS**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica
apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e
Pesquisa.

Orientação: Carlos Alberto da Cruz Junior e
Francislete Rodrigues Melo.

BRASÍLIA

2019

AGRADECIMENTOS

Ao coordenador Carlos Alberto Junior pela oportunidade de participar deste projeto.

A professora Francisleite Rodrigues pelo seu ensinamento, incentivo, paciência e orientação durante toda a pesquisa.

Ao pessoal do Labocien, especialmente Diogo e Marivaldo, pela ajuda e disponibilidade.

Ao UniCEUB pelo aprimoramento profissional e pelo incentivo aos alunos na área de pesquisa.

RESUMO

O trabalho teve como objetivo quantificar os compostos fenólicos e atividade antioxidante existentes em extratos oriundos de plantas medicinais, sendo elas a Cáscara Sagrada (*Rhamnus purshiana* D.C.) e carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) DC.). A droga vegetal foi obtida em parceria com a DrogaVet® no Distrito Federal. O material vegetal em pó foi pesado e colocada em etanol 70% em uma proporção de 1:5 m/v. O material foi então colocado em agitação por 7 dias a temperatura ambiente. Os extratos foram utilizados para dosagem de polifenóis através do método Folin e Ciocalteu. A avaliação quantitativa da atividade antioxidante foi determinada por meio de ensaio usando o método de captura de radical livre – ABTS. Observou-se que o conteúdo de polifenóis foi de 9,17mg/mL em relação à curva feita com ácido gálico como padrão para a cáscara sagrada e de 10,82 mg/mL para a carqueja. Em relação à atividade antioxidante, as amostras apresentaram, respectivamente valores de 37,02mM e 30,74mM (cáscara sagrada e carqueja) em relação à curva padrão utilizando trolox. Os resultados obtidos por meio das informações coletadas levam a concluir que extratos hidroalcoólicos de cascara sagrada e carqueja apresenta polifenóis e propriedades antioxidantes similares entre si.

Palavras-Chaves: Antioxidantes. Compostos fenólicos. Plantas medicinais.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Extrato de Cáscara Sagrada.....	11
Figura 2: Extrato de Carqueja.....	11
Figura 3: Espectrofotômetro.....	12
Gráfico 1: Curva padrão polifenóis.....	16
Gráfico 2: Curva padrão antioxidante.....	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Volumes utilizados para curva de calibração.....	12
Tabela 2: Preparo das soluções da curva padrão.....	13
Tabela 3: Leituras das amostras para o preparo da curva padrão.....	17
Tabela 4: Leituras das amostras para o preparo da curva padrão.....	18

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	8
2.1. PLANTAS MEDICINAIS E SEUS METABÓLITOS	8
2.2. DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	9
2.3. CÁSCARA SAGRADA	9
2.4. CARQUEJA.....	10
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
3.1. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DE CÁSCARA E CARQUEJA.....	10
3.2. QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS	11
3.3. DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	12
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4.1. QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS	15
4.2. DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	16
5. CONCLUSÃO	19
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
APENDICE A.....	23
APENDICE B.....	24

1. INTRODUÇÃO

Os radicais livres produzidos no metabolismo fisiológico podem ter sua produção exacerbada em situações de stress oxidativo. Nesse caso, os sistemas de reparo não são suficientes para evitar o dano e morte celular. Para combater esses radicais, compostos fenólicos de plantas com atividade antioxidante podem ser utilizados como tratamento ou prevenção de doenças relacionadas à degeneração celular. O projeto foi baseado no estudo de determinação das quantidades de compostos fenólicos totais e atividades antioxidantes de extratos de plantas que são usadas na medicina tradicional brasileira. As plantas escolhidas para esse estudo foram Cáscara Sagrada (*Rhamnus purshiana*) e Carqueja (*Baccharis trimera* (LESS.) DC.), as quais são utilizadas, principalmente, para tratamento de constipação e diabetes.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Plantas Medicinais e seus metabólitos

Para alguns autores, plantas medicinais são usadas para exercer uma ação terapêutica quando aplicada para uso humano ou animal. Elas podem ajudar o organismo a normalizar as funções fisiológicas prejudicadas, promovem a desintoxicação e rejuvenescimento, e restauram a imunidade enfraquecida. Porém para ser considerada verdadeiramente medicinal, é necessário que sejam caracterizados o seu princípio ativo e que ele seja avaliado farmacologicamente (LORENZI e MATOS, 2002).

Segundo Kumari et al (2016), alguns metabólitos disponíveis nas ervas medicinais têm ações anti-inflamatórias, anticancerígenas, antimicrobianas e antioxidantes. Os metabólitos secundários são substâncias importantes produzidas pelas plantas para sua sobrevivência, e muitas das vezes, são essas substâncias que são essenciais para a produção de fármacos. Os polifenóis são uma classificação fundamental para a elaboração de antioxidantes (SOUZA, 2013).

As atividades antioxidantes vem ganhando espaço nos debates sobre o estresse oxidativo (OS), que nada mais é que um desequilíbrio na produção de radicais livres ou, espécies reativas de oxigênio, como superóxido (O_2^-), hidroxilas (OH) e peroxilas (ROO), e a capacidade do sistema de defesa antioxidante, do organismo, em neutralizá-las e eliminá-las antes que causem sérios danos ao tecido, podendo causar, por exemplo, diabetes, câncer,

parkinson e alzheimer, tanto na população humana, quanto nos animais (KUMARI et al., 2016; DABLA, 2015).

É comum o organismo produzir de forma fisiológica moléculas com radicais livres, sendo a mitocôndria a maior fonte endógena de produção, porém, da mesma forma que podem surgir muito rapidamente, também podem reagir com as células do corpo muito facilmente, acarretando em um ciclo danoso (FARIAS, 2017).

Para o tratamento de estresse oxidativo tem-se no mercado diversos medicamentos sintéticos que demonstram resultados favoráveis para ajudar no tratamento desse balanceamento ineficaz entre a taxa de formação de OS e da taxa de eliminação. Contudo, também foi observado a existência de muitos efeitos colaterais e toxicidade, sendo, necessário a suspensão do fármaco utilizado para que não interferisse na saúde do paciente, por isso, foi preciso criar alternativas para novos medicamentos (KUMARI et al., 2016; DABLA, 2015).

2.2. Determinação de compostos fenólicos e atividade antioxidante

Uma das técnicas analíticas usadas para quantificar o teor de polifenóis é a espectrofotometria. O método de Folin e Ciocalteu é conhecido pela sua facilidade, prático, de baixo custo e rapidez, e é bastante comum usá-lo para a determinação do teor de polifenóis nos frutos (PINTO, 2016).

A captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) é um dos métodos mais utilizados para medir a atividade antioxidante, que pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática. Com essa metodologia, pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (EMBRAPA, 2007).

2.3. Cáscara Sagrada

O gênero *Rhamnus* é bastante rico nessas substâncias, Chen et al (2016), cita que foi possível isolar os flavonóides, antraquinonas e naftalenos. *Rhamnus purshiana*, popularmente conhecida como cascara do sagrado, é uma árvore originalmente do sudoeste do Canadá e do noroeste do Pacífico dos Estados Unidos da América. As partes importantes para a medicina são as cascas dos caules e dos ramos, as quais são comumente usadas como laxativos em casos de constipação, e, para algumas comunidades, usado em tratamento tópicos em casos de prurido (CHEN, SALERI e GUO, 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Nos dias atuais os fitoterápicos provenientes da Cáscara são muito usados em casos de câncer. Os quimioterápicos possuem muitos efeitos colaterais nos pacientes, alguns deles são,

vômitos, diarreias ou constipação. Nesses casos é necessário a administração de laxativos, por isso, médicos optam por opções mais naturais, uma vez que eles apresentam menos efeitos indesejados quando aquecidos de forma correta e armazenados por apenas um ano (FARIAS, 2017).

Entretanto, apesar de ser uma planta que possui sua eficácia comprovada para a medicina, a Farmacopeia Brasileira só a contemplou até 4ª edição, na subsequente ela foi retirada (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

2.4. Carqueja

A *Baccharis trimera* (LESS.) DC., também denominada *Baccharis genistelloides* var. *trimera* (Less.), do gênero *Baccharis* e da família *Asteraceae*, conhecida como Carqueja, é uma planta que em sua composição possui uma boa quantidade de compostos fenólicos e rica em antioxidantes, tais como ésteres do ácido quínico e os flavonoides nepetina, isoquercetina e quercetina - podendo ser encontrada em maçã, brócolis e cebola. Segundo alguns autores, já existem comprovações de que a carqueja possui uma atividade antioxidante in vitro, porém os efeitos in vivo foram poucos estudados (EMBRAPA, 2008; PAIVA, 2015).

Originária da América do Sul, acaba sendo encontrada em quase todo o Brasil, dando preferência para as regiões Sul e Sudeste, em terrenos pedregosos e drenados, crescendo em beiras de estradas; podendo também ser encontrada na Argentina, Paraguai, Bolívia, Chile e México. Está entre as dez espécies de plantas medicinais mais vendidas no país, principalmente no Paraná e por isso é comumente utilizada para ações no sistema digestório, em funções hepáticas e biliares, tendo atividade farmacológica anti-inflamatória e antimutagênica tanto em extrato aquoso quanto alcoólico (etanol). As partes mais utilizadas são as áreas, geralmente as folhas. E a importância da espécie para a medicina popular brasileira incentivou a sua introdução na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) e na Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos do Ministério da Saúde (EMBRAPA, 2016; ANDRÉ, 2014; FERREIRA, 2012).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Preparação dos extratos de Cáscara e Carqueja

As plantas Cáscara Sagrada e Carqueja foram cedidas pela DrogaVet®, já maceradas pela empresa. Sendo 20g de cada droga vegetal utilizadas de cada planta para 100 mL de etanol (70%) para a preparação dos extratos na proporção 1:5 m/v. Os conteúdos foram agitados por sete dias em agitadores orbitais em temperatura ambiente para homogeneização das

substâncias. Posteriormente armazenadas na geladeira e logo depois feita a filtração com papel filtro dos extratos, em que as partes mais sólidas foram retiradas, ficando apenas o líquido do extrato vegetal, que por sua vez, foram aquecidos em mantas aquecedoras entre 40º a 50ºC em monitoramento contínuo, originando vapor, quando o solvente atingiu a temperatura de ebulição, ficando aproximadamente 5 mL do princípio ativo (**Figura 1 e 2**).

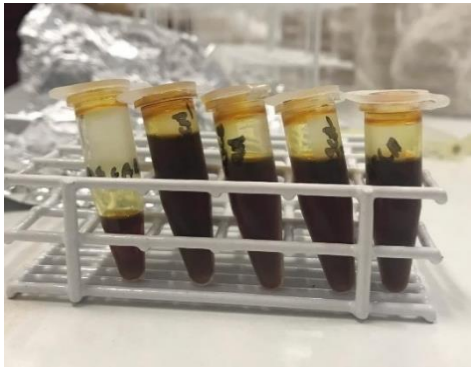


Figura 1: Extrato de Cascara Sagrada.



Figura 2: Extrato de Carqueja.

3.2. Quantificação de polifenóis

Para quantificação de polifenóis foi feito a partir do método Folin e Ciocautau (1927):

1. Preparado a solução de Folin com água destilada (1:3 v/v).
2. Preparado a solução de carbonato de sódio 20%.
3. Os extratos de ambas as plantas foram diluídos em água destilada (Carqueja 1:10 v/v; Cascara Sagrada 1:20 v/v).
4. Colocado 200 microlitros de extrato de cada plantas em tubos de ensaio, em triplicata.
5. Adicionado às soluções e água destilada, foi realizada a leitura de 700 nanômetros, utilizando um branco (apenas as soluções e água destilada) para calibrar o espectrofotômetro (**Figura 3**).
6. As absorbâncias obtidas foram colocadas na curva de calibração.

Preparação da curva de calibração:

1. Preparado a solução estoque de ácido gálico (5 mg de ácido gálico para 100 mL de água destilada).

- Em 18 (triplicatas) balões volumétricos de 10 mL, foram pipetados os volumes listados abaixo da solução mãe, completando com o solvente usado na extração da amostra:

Tabela 1 – Volumes utilizados para curva de calibração.

Concentração	Ácido Gálico	Água destilada	Folin	Carbonato de sódio
Branco	-	1000	1 mL	2 mL
10	200	800	1 mL	2 mL
20	400	600	1 mL	2 mL
30	600	400	1 mL	2 mL
40	800	200	1 mL	2 mL
50	1000	-	1 mL	2 mL

- Foi realizada a leitura em 700 nanômetros no espectrofotômetro Quimis®.



Figura 3: Espectrofotômetro.

3.3. Determinação de atividade antioxidante

A determinação de atividade antioxidante foi realizada a partir do método da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), modificado pela EMBRAPA (2007):

- Preparado da solução estoque ABTS 7Mm (192 mg de ABTS em 50 mL de água destilada).
- Preparado a solução de persulfato de potássio 140 Mm (378,4 mg para 10 mL de água destilada).
- Preparado do Radical ABTS a partir da soluções de estoque ABTS e persulfato de potássio, colocada em vidro âmbar, em temperatura ambiente e deixada no escuro por 16 horas. Podendo ser usado somente no dia da análise.
- Os extratos de ambas as plantas foram diluídos em água destilada (Carqueja 1:10 v/v; Cascara Sagrada 1:20 v/v).

5. Utilizado 30 microlitros dos extratos e 3 mL do radical ABTS (em triplicata) e após 6 minutos, realizada a leitura em 734 nanômetros no espectrofotômetro, utilizando um branco (etanol) para calibrar o espectrofotômetro.
6. As absorbâncias obtidas foram jogadas na curva padrão.

Curva padrão do Trolox:

1. Preparado a solução padrão de trolox 2 mM (25 mg de trolox em álcool etílico e completado o volume para 50 mL em um balão volumétrico com álcool etílico, foi homogeneizado e transferido para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado. Podendo somente ser utilizado no dia da análise.
2. A partir da solução padrão de trolox (2.000 M), preparou-se em balões volumétricos de 1 mL, soluções variando a concentração de 100 M a 1.500 M, conforme a **Tabela 2**.

Tabela 2 – Preparo das soluções da curva padrão.

Solução padrão Trolox (mL)	Álcool etílico (mL)	Concentração final (µl)
0,15	9,5	100
2,5	7,5	500
5	5	1000
7,5	2,5	1500
10	0	2000

3. Em ambiente escuro, foi transferido uma alíquota de 30 µL de cada solução de trolox (100 µM, 500 µM, 1.000 µM, 1.500 µM e 2.000 µM) para tubos de ensaio, misturado com 3,0 mL da solução do radical ABTS e homogeneizado.
4. Foi realizada a leitura em 734 nanômetros e após 6 minutos da mistura, e utilizado álcool etílico como branco para calibrar o espectrofotômetro.
5. A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotar a absorbância no eixo Y e a diluição (mg/L) no eixo X.
6. Em seguida, determinar a equação da reta. Para calcular a AAT, deve-se substituir na equação da reta a absorbância equivalente a 1.000 µM do padrão trolox (Eq. 1).
7. O valor obtido para o termo x corresponde à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 µM de trolox (Eq. 2).

Equação 1:

Absorbância correspondente a 1.000 μM de trolox

$$y = - ax + b$$

onde:

$x = 1.000 \mu\text{M}$ do trolox

$y =$ absorbância correspondente a $1.000 \mu\text{M}$ de trolox

Equação 2:

Cálculo das diluições do extrato (mg/L) equivalente a 1.000 μM de trolox

$$y = - ax + b$$

onde:

$y =$ Absorbância correspondente a $1.000 \mu\text{M}$ de trolox (Equação 1)

$x =$ Diluição da amostra (mg/L) equivalente a $1.000 \mu\text{M}$ de trolox

8. A partir do resultado encontrado (x) na equação 2, dividir por 1.000 para ter o valor em g.
9. O resultado final (Eq. 3) é calculado pela divisão de $1.000 (\mu\text{M})$ pelo valor de $X(\text{g})$ e multiplicado por $1(\text{g})$ para encontrar o valor final (Z) que é expresso em μM trolox / g de fruta (porção comestível).

Equação 3:

Cálculo final expresso em (μM trolox / g)

$$X (\text{g}) = x / 1.000$$

$$Z = 1.000 / X(\text{g}).1$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

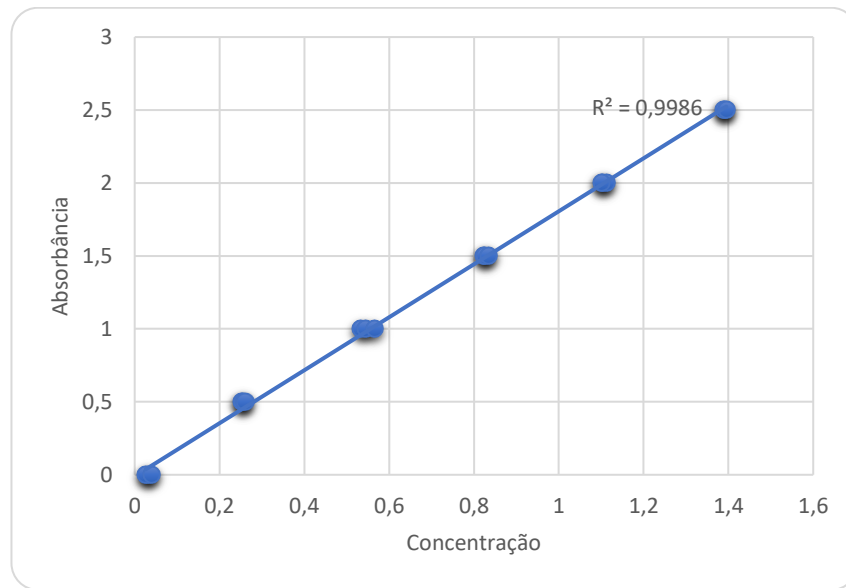
4.1. Quantificação de polifenóis

Para ser possível a mensuração de polifenóis no extrato, foi usado o método de Folin com ácido gálico. Para a calibração da curva, foram utilizados tubos de ensaio denominados “brancos” que serviriam de comparativo para as amostras contendo os extratos vegetais das plantas utilizadas. O ácido gálico utilizado é uma substância fenólica padrão para os estudos de quantificação de polifenóis. Em meio básico, ocorre sua desprotonação que gera ânions. Segundo Rezende (2010), o agente Folin irá ocasionar uma oxirredução nos ânions formados, levando a mudança de cor da substância (**APÊNDICE A**). As substâncias que são formadas e que fazem a modificação do azul tungstênio para uma cor ligeiramente mais transparente são absorvidas $\lambda_{\text{máx}}=700$ nm pelo espectrofotômetro, ou seja, quanto maior a mudança na coloração maior será a quantidade de polifenóis.

Para os extratos foi preciso diluí-los em água destilada. Carqueja sofreu dez vezes uma diluição e a Cáscara Sagrada vinte vezes. A concentração das amostras dos extratos vegetais precisava se manter dentro do limiar da curva padrão, para isso não poderiam estar muito concentradas, o que acarretaria em concentrações elevadas de polifenóis, ou muito diluídas, as quais não poderiam ser quantificadas (REZENDE, 2010).

Para mensuração dos extratos foram feitas amostras em triplicatas. Os resultados das amostras de Cáscara Sagrada foram, respectivamente, 0,253, 0,258 e 0,268. E para Carqueja 0,60, 0,53, 0,64. Desses resultados foram feitas médias com os valores das três amostras, a qual foi subtraída o valor do “branco”, que equivalia à 0,32. Sendo assim o valor final foi estimado em 9,179 mg/mL para a Cáscara e 10,824 mg/mL para Carqueja. Nakamura (2013) utilizando os compostos fenólicos em meio alcalino ($\text{pH} \cong 10$) ajustado com solução de Na_2CO_3 a 10% para avaliar teor de polifenóis em Carqueja (*Baccharis genistelloides* (L) Person), encontrou resultados semelhantes de 12,1 mg ácido gálico/g de material seco, no qual, segundo o autor, as divergências encontradas na mesma espécie ocorre ao fato das plantas terem sido coletadas em regiões geográficas e forma de cultivo diferentes, como tipo de solo e clima do local.

Como demonstrado no **gráfico 1**, o eixo (y) equivale à a absorbância em nano milímetros, e o eixo (x) a concentração em relação ao ácido gálicos de compostos fenólicos em miligramas por litro. As leituras das amostras utilizadas para a confecção da curva padrão estão listadas abaixo na **Tabela 3**.

Gráfico 1 – Curva padrão polifenóis.**Tabela 3** – Leituras das amostras para o preparo da curva padrão.

Concentração Ácido Gálico mg/mL	Absorbância - 700 nm (Folin e Ciocalteu)
0	0,032
0	0,026
0	0,041
0,5	0,252
0,5	0,255
0,5	0,261
1,0	0,534
1,0	0,545
1,0	0,566
1,5	0,824
1,5	0,826
1,5	0,834
2,0	1,104
2,0	1,113
2,0	1,101
2,5	1,391
2,5	1,390
2,5	1,395

4.2. Determinação de atividade antioxidante

Para obtenção da atividade antioxidante dos extratos, o método escolhido foi o ABTS. Essa substância reage ao persulfato de potássio Ihe conferindo uma coloração azul esverdeada. Para a solução padrão foi aplicado a substância Trolox, um antioxidante sintético análogo à vitamina E, (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) o qual serviu

de base comparativa para as análises antioxidantes, podendo ser tanto hidrossolúveis como lipossolúveis. Apesar de não ser um método que seja possível a identificação das moléculas, ele é capaz, segundo Souza (2013), de exercer sua função em diversas faixas de pH, podendo demonstrar como essas atividades se comportam em diferentes meios.

Em meio aquoso o ABTS+ irá reagir com o persulfato, formando a cor. Com a ação do Trolox será possível verificar a mudança de coloração, na medida em que as reações de sequestro dos ânions do ABTS acontecem, inibindo-o, demonstrando a atividade desejada **(APÊNDICE B)**.

Na Cáscara Sagrada e Carqueja os valores obtidos em triplicata foram, respectivamente, 0,286, 0,309, 0,277 e 0,009, 0,005, 0,009. A partir dos dados anteriores foi feita a média dos valores, 37,024 mM para Cáscara e 30,740 mM para Carqueja. Atualmente os trabalhos em relação a atividade antioxidante da Carqueja são adquiridos a base dos óleos essenciais da planta e não do extrato propriamente dito.

O **gráfico 2** apresenta a curva padrão antioxidante, no qual o eixo (y) observa-se a absorbância e o eixo (x) corresponde à amostra em mg/L equivalente a 1000 μ M de trolox, substância padrão. As leituras das amostras utilizadas para a confecção da curva padrão estão listadas na **tabela 4**.

Gráfico 2 – Curva padrão antioxidante.

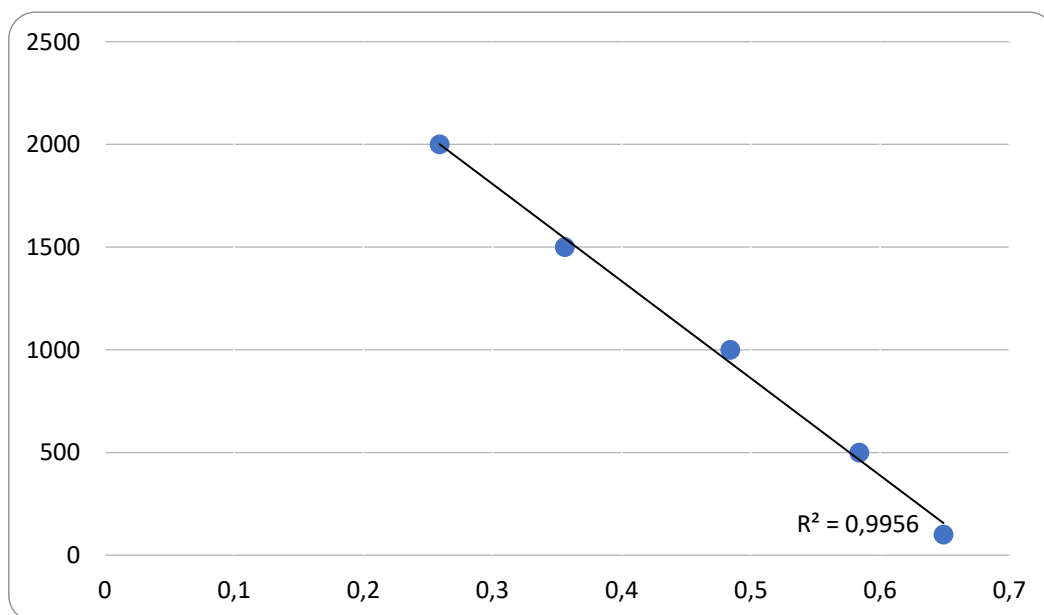


Tabela 4: Leituras das amostras para o preparo da curva padrão.

Concentração Trolox (μM)	Absorbância – 734 nm
100	0,649
500	0,584
1000	0,484
1500	0,356
2000	0,259

5. CONCLUSÃO

Os extratos de plantas de Cáscara Sagrada e Carqueja apresentaram altos teores de polifenóis e atividade antioxidante, elas podem ser então usadas como fitoterápicos para fins medicinais. Ainda são poucos os estudos sobre a determinação de atividade antioxidante sobre a Cáscara Sagrada, necessitando de mais estudos sobre esta planta.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alzira, B. C et al. **Espécies Vegetais indicadas no tratamento do Diabetes**. Revista Eletrônica de Farmácia. vol. 3. 23 - 27, 2008.

Disponível em: <http://formsus.datasus.gov.br/novoimgarq/11451/1625997_163408.pdf>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

ANDRÉ, M. F. Determinação de Compostos Fenólicos em Extrato de Carqueja empregando técnicas Cromatográficas e Eletroforéticas. **Universidade Estadual de Campinas**, 2014.

Disponível em:

<http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/249696/1/Andre_MarceloFabiano_D.pdf>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). **Monografia da espécie *Rhamnus purshiana* (Cáscara Sagrada)**. Brasília, 2014.

Disponível em:

<<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/fevereiro/05/Monografia-Rhamnus.pdf>>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

CHEN, Guilin et al. Analysis of Flavonoids in *Rhamnus davurica* and Its Antiproliferative Activities. **Molecules**. Basiléia, p. 1-14, 2016.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27669205>>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

Congresso Nacional de Iniciação Científica. 13º, Campinas. **Estudo ecotoxicológico do fitoterápico Cáscara do sagrado (*Rhamnus purshiana*) empregando *Daphnia similis* (Cladocera: crustacea)**. Anais do Conic-Semesp. p.1-9, v.3, 2013.

Disponível em: <<http://conic-semesp.org.br/anais/files/2013/trabalho-1000016183.pdf>>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

DABLA, P. K.; SINHA, Nakshi. **Oxidative Stress and Antioxidants in Hypertension—A Current Review**. Current Hypertension Reviews. v. 11, 2015.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26022210>>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

EMBRAPA. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +**. Fortaleza, 2007.

Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Cot_128.pdf>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

_____. **Carqueja**, 2008.

Disponível em:

<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/812815/1/FOL79.pdf>>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

Farias, C. S. Determinação de polifenóis e avaliação da atividade antioxidante de Cáscara Sagrada (*Rhamnus purshiana*) adquirida comercialmente no Distrito Federal, Brasil. Trabalho de Conclusão de Curso. **Universidade Paulista**. 2017.

Ferreira, Pablo de Ataíde. Desenvolvimento de forma farmacêutica sólida à base de *Baccharis trimera* (Less.) DC. para o tratamento da artrite reumatoide. **Universidade Federal de Pernambuco**. Recife, 2012.

Disponível em:

<<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/12533/1/Dissertação%20Pablo%20PPGIT%202012.pdf>>.

Acesso em: 06 de agosto de 2019.

KUMARI, Sima et al. In vitro and In vivo Antioxidant, Anti-hyperlipidemic Properties and Chemical Characterization of *Centella asiatica* (L.) Extract. **Frontiers in Pharmacology**, 2016.

Disponível em:

<https://www.academia.edu/29936997/In_vitro_and_In_vivo_Antioxidant_Anti-hyperlipidemic_Properties_and_Chemical_Characterization_of_Centella_asiatica_L_Extract>.

Acesso em: 06 de agosto de 2019.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. 2002.

NAKAMURA, Tieme et al. Determinação da atividade antioxidante e do teor total de polifenol em amostras de chá de ervas comercializadas em sachets. **ABCS Health Sci**. 2013.

Disponível em: <<https://www.portalnepas.org.br/abcshs/article/view/3/600>>.

Acesso em: 18 de agosto de 2019.

PAIVA, F. A. *Baccharis trimera* protege contra o estresse oxidativo e toxicidade induzida pelo peptídeo β -amilóide no *Caenorhabditis elegans*. **Universidade Federal de Ouro Preto**, 2015.

Disponível em:

<<https://pdfs.semanticscholar.org/4093/f9a21c5636e749e6130d1f0c80597bc31eb2.pdf>>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

PINTO, Edgar. Métodos analíticos na Determinação de Polifenóis em Frutos. **Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto**. Portugal, 2016.

Disponível em: <<http://tmeventos.com.br/frut2016/pdfs/C7EDGARPINTO.pdf>>.

Acesso em: 06 de agosto de 2019.

REZENDE, Larissa Cavalcante. Avaliação da Atividade Antioxidante e Composição Química de seis frutas tropicais consumidas na Bahia. **Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia**. Salvador, 2010.

Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/10639>>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

SCHMIDT, F.B.; MARQUES, L.M.; MAYWORM, M.A.S. Efeito da sazonalidade sobre o potencial antibacteriano de extratos etanólicos de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.10, n.2, p.1-5, 2008.

Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/266138288_Efeito_da_sazonalidade_sobre_o>

potencial_antibacteriano_de_extratos_etanolicos_de_Baccharis_trimera_Less_DC_Asteraceae>.

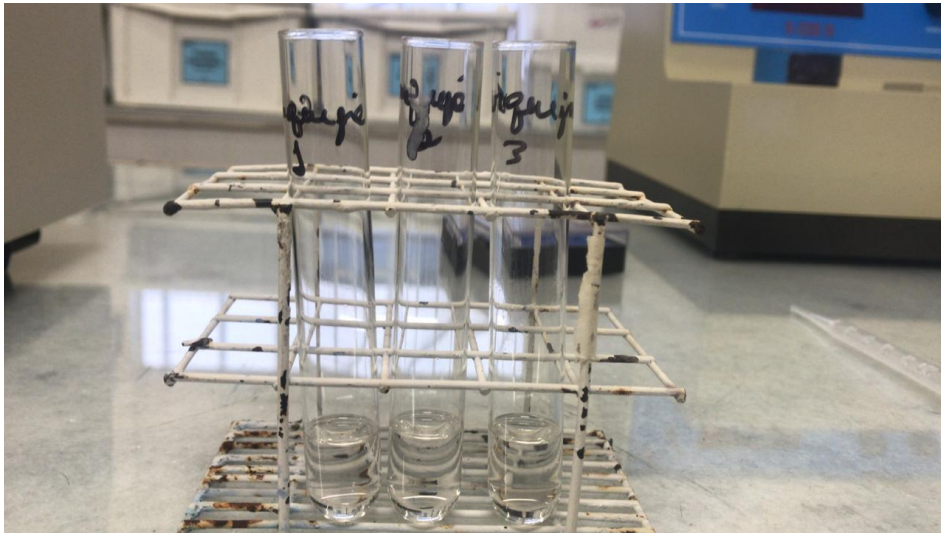
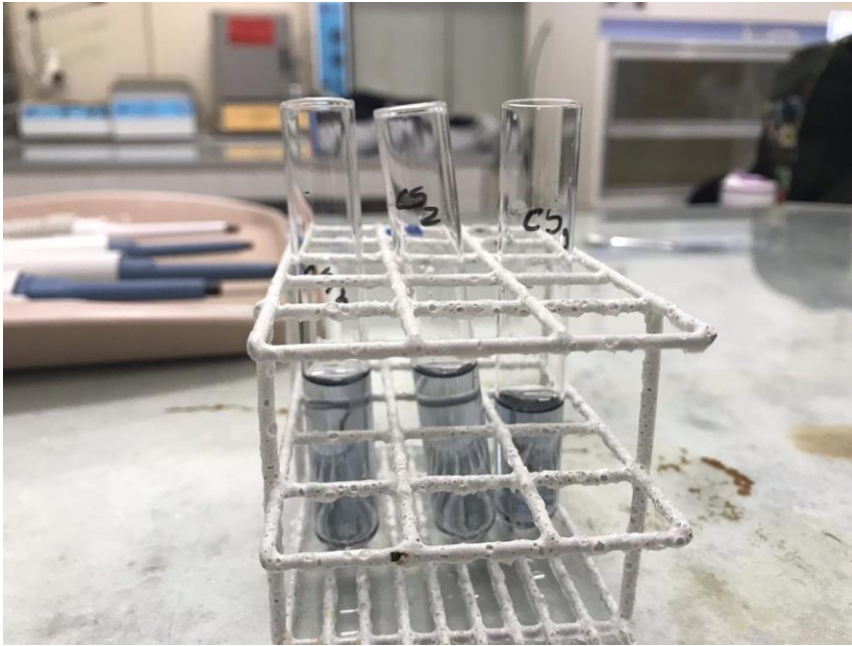
Acesso em: 18 de agosto de 2019.

SOUZA, Wagner. Avaliação da Atividade Antioxidante e Compostos Fenólicos de Extratos Vegetais. **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**. Curitiba, 2013.

Disponível em:

<http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1593/1/CM_COALM_2013_1_10.pdf>.

Acesso em: 04 de agosto de 2019.

APENDICE A – FOTOS DA MUDANÇA NA COLORAÇÃO A PARTIR DO AGENTE FOLIN

APENDICE B – FOTOS DA MUDANÇA NA COLORAÇÃO A PARTIR DA AÇÃO DO TROLOX