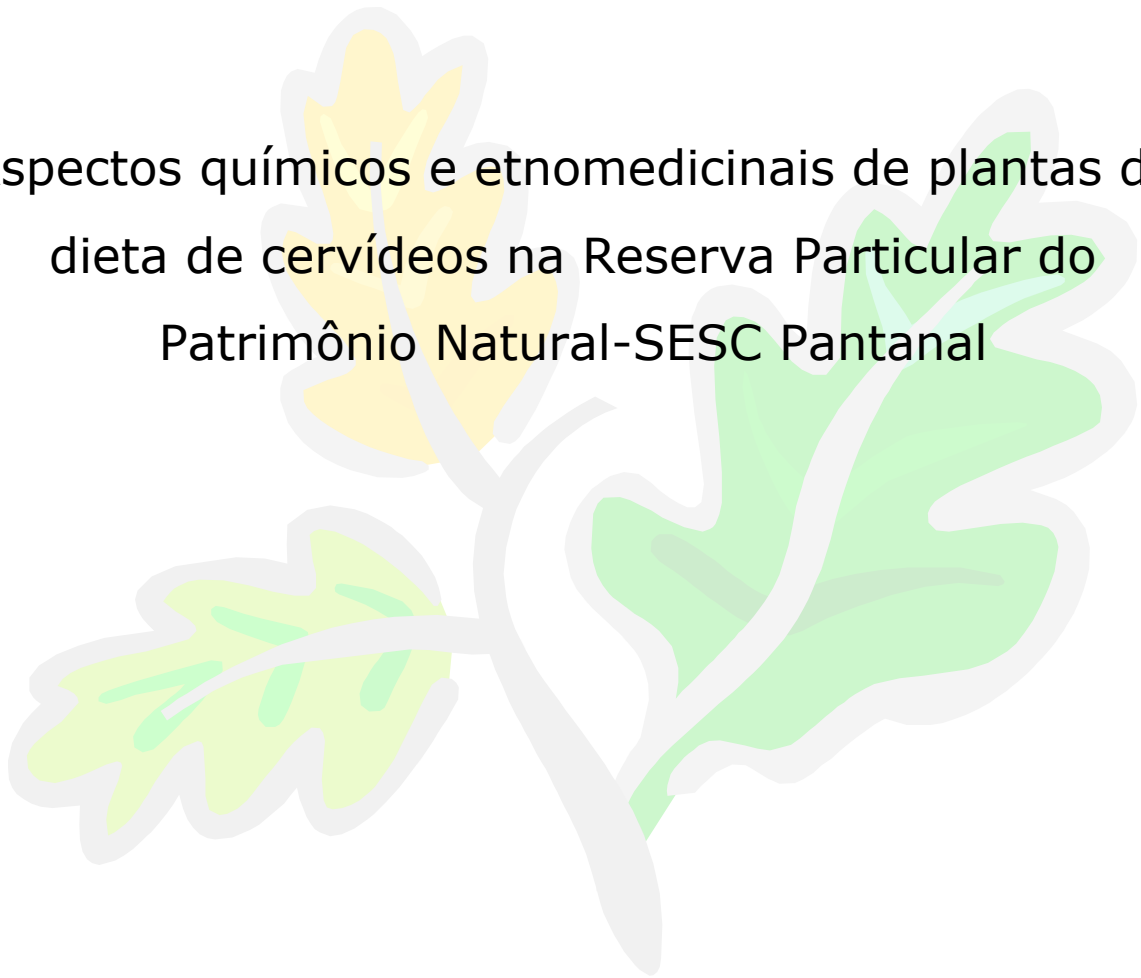


Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais

TESE DE DOUTORADO

Aspectos químicos e etnomedicinais de plantas da
dieta de cervídeos na Reserva Particular do
Patrimônio Natural-SESC Pantanal



DANIELA BARROS DE OLIVEIRA

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

NÚCLEO DE PESQUISAS DE PRODUTOS NATURAIS

“Aspectos químicos e etnomedicinais de plantas da dieta de cervídeos na Reserva Particular do Patrimônio Natural-SESC Pantanal”

DANIELA BARROS DE OLIVEIRA

Tese submetida ao Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos à obtenção do grau de Doutor em Ciências.

APROVADO POR:

Profa. Dra. : _____
Sônia Soares Costa

Prof. Dr. : _____
Luiz Flamarion Barbosa de Oliveira

Profa. Dra. : _____
Gilda Guimarães Leitão

Prof. Dr. : _____
José Paz Parente

Profa. Dra. : _____
Ana Luíza Palhares de Miranda

Profa. Dra. : _____
Maria Fernanda Santos Quintela da Costa Nunes

Suplente: _____
Profa. Dra. Ana Paula de Almeida

Suplente: _____
Profa. Dra. Débora Henrique da Silva Anjos

Rio de Janeiro, 20 de maio de 2005.

**Aspectos químicos e etnomedicinais de plantas da dieta
de cervídeos na Reserva Particular do Patrimônio
Natural-SESC Pantanal**

DANIELA BARROS DE OLIVEIRA

NÚCLEO DE PESQUISAS DE PRODUTOS NATURAIS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
2005

FICHA CATALOGRÁFICA

De Oliveira, Daniela Barros

“Aspectos químicos e etnomedicinais de plantas da dieta de cervídeos na Reserva Particular do Patrimônio Natural-SESC Pantanal”

Rio de Janeiro – NPPN, UFRJ – 2005.

Tese: Doutor em Ciências / Química de Produtos Naturais

1. Pantanal
2. Cervídeos
3. Plantas da Dieta
4. Atividade antioxidante
5. CLAE

6. Fenóis
7. Taninos
8. *Brachiaria humidicola*
9. Flavonóides
10. Tese

I – Universidade do Rio de Janeiro

II - Título

TESE APRESENTADA COMO UM DOS REQUISITOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS, DESENVOLVIDA SOB A ORIENTAÇÃO DA PROFESSORA SÔNIA SOARES COSTA NO NÚCLEO DE PESQUISAS DE PRODUTOS NATURAIS (NPPN) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO (UFRJ), EM 2005.

*A Deus por não ter deixado que me faltassem
força, coragem, esperança e sobretudo fé
para lutar em todos os momentos de minha vida...*

*AO MEU QUERIDO PAI, AMADO, VITORIOSO E DE QUEM MUITO ME ORGULHO,
QUE SEMPRE ME ENTENDEU E ACOMPANHOU
INCENTIVANDO TODOS OS MEUS*

projetos de vida...

em memória

*ÀS MINHAS QUERIDAS MÃE E IRMÃ TÃO
AMADAS, MARAVILHOSAS E COMPANHEIRAS,
QUE POR MUITAS VEZES TROCARAM DE PAPÉIS PARA*

incentivarem as minhas realizações...

AGRADECIMENTOS

- À professora Sônia Soares Costa por ter me orientado com muita dedicação, paciência e compreensão durante o desenvolvimento desta tese.
- A todos os professores do NPPN que colaboraram com a minha formação.
- Ao professor Luiz Flamarion Barbosa de Oliveira do Museu Nacional-UFRJ e sua equipe, em especial aos biólogos Anieli Moretti Manço e José Luis Passos Cordeiro, pela colaboração preciosa no início deste trabalho e, sobretudo, pela coleta de grande parte do material vegetal.
- Ao Dr. Leopoldo Garcia Brandão (Serviço Social do Comércio-SESC) pelo apoio financeiro ao projeto que deu origem a esta tese.
- À professora Raquel Negrelle e a Dra. Solange Zaniolo (Universidade Federal do Paraná) pela identificação botânica.
- À professora Ana Luíza Palhares de Miranda (Faculdade de Farmácia-UFRJ) e sua equipe pela realização dos ensaios antioxidantes e, em especial, Jorge Luiz Mendonça Tributino.
- À professora Gilda Guimarães Leitão (NPPN-UFRJ) e sua equipe, em especial, ao aluno de Iniciação Científica Tarcizio José dos Santos Filho pela ajuda na realização dos ensaios do teor de taninos.
- À professora Patrícia Fernandes (Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas-UFRJ) e sua equipe, em especial, Fabíola Ribeiro Martins que realizou os testes farmacológicos (analgesia e inflamação) *in vivo*.
- Ao professor Carlos Roland Kaiser pela realização de alguns espectros de RMN no Instituto de Química-UFRJ.
- Ao Dr. Walter B. Mors por sua generosa ajuda na elaboração do *Abstract* desta tese.
- Aos guarda-parques do Posto São Luiz da RPPN-SESC Pantanal pela disponibilidade e pelo interesse.
- À professora Russolina Benedeta Zingali (Instituto de Bioquímica Médica-UFRJ) e à técnica de laboratório Ana Lucia de Oliveira Carvalho pela utilização do aparelho de CLAE e o liofilizador.
- À professora Sônia Ubatuba pela constante disponibilidade manifesta ao longo deste trabalho.
- Ao Francisco de Assis Vieira dos Santos (Central Analítica-NPPN) pela realização dos espectros de RMN e seriedade com o trabalho.
- À amiga Dra. Ana Paula de Almeida que muito contribui para o meu aprimoramento, pelo espírito de solidariedade e amizade.

- Ao grande amigo e doutorando Zenildo Buarque de Moraes que está sempre presente incentivando e ajudando em meu crescimento.
- Aos colegas Kelly Cristina Gallan de Moura, Alcides J. M. da Silva, Guilherme Veloso, Jorge Luis de Oliveira e Marina Junqueira pelas inúmeras gentilezas e as palavras de auxílio e conforto.
- À minha amiga do laboratório e doutoranda Silvana Daflón Castricini pelo seu olhar meigo, palavras carinhosas e a grande disponibilidade.
- Às queridas amigas “gêmeas” e doutorandas Giany Oliveira de Melo e Michele Frazão Muzitano pela ajuda durante grande parte deste trabalho e pelas conversas informais que com certeza nos tornaram mais próximas.
- À querida amiga doutoranda do laboratório Gracilene Santos.
- Aos queridos mestrandos Maria Fernanda Paresqui e Douglas Chaves que, de certa forma, me ajudaram em muitas decisões.
- Aos queridos estagiários do laboratório H1-013 no NPPN que fazem ou fizeram parte desta família e que certamente contribuem para um clima harmonioso.
- Aos funcionários do NPPN pelas gentilezas.
- À querida Amanda Silva Lemos que muito contribui desde o início da escrita deste trabalho de tese.
- À toda minha família e ao meu querido e amado amigo e cunhado Márcio Assaid Mansur que tentaram tornar a vida um pouco mais doce e menos tensa neste momento tão importante e decisivo.
- À Coordenação de Ensino de Pós-Graduação do NPPN pelo apoio prestado.
- A todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, o meu sincero agradecimento.

ÍNDICE GERAL

Lista de Abreviaturas	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
APRESENTAÇÃO DO ESTUDO	1
OBJETIVOS	3
INTRODUÇÃO: Hábitos Alimentares de Cervídeos na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN)-SESC Pantanal	5
1.0- O Pantanal	6
1.1- A RESERVA PARTICULAR DO PATRIMÔNIO NATURAL (RPPN)- SESC PANTANAL E O ESTUDO DE SUA BIODIVERSIDADE	7
1.2- CERVÍDEOS	11
2.0- PLANTAS DA DIETA DE CERVÍDEOS NA RPPN-SESC PANTANAL	17
2.1- FONTES VEGETAIS E SUA IMPORTÂNCIA PARA A SAÚDE	19
3.0- AÇÃO ANTIOXIDANTE (AÇÃO REDUTORA DE RADICAIS LIVRES)	20
4.0- ATUAÇÃO DE RADICAIS LIVRES OXIDANTES EM PROCESSOS INFLAMATÓRIOS	24
5.0- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO I: Aspectos Etnomedicinais de Plantas Presentes na Dieta	29
1.0- Benefícios de uma Dieta Rica em Vegetais e Frutas	30
2.0- Uso na Medicina Popular Brasileira	34
3.0- Conclusões	48
4.0- Referências Bibliográficas	49
CAPÍTULO II: Atividade Antioxidante dos Extratos das Plantas Pertencentes à Dieta	52
1.0- Preparação dos Extratos das Plantas da Dieta	53
2.0- Atividade Sequestradora de Radicais Livres (Atividade Antioxidante ou Atividade Redutora)	57

2.1- ENSAIOS ANTIOXIDANTES	59
2.2- Purificação dos Extratos mais Ativos por meio de Partições com Solventes Orgânicos	64
3.0- CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DE EXTRATOS E FRAÇÕES	68
<u>4.0- Atividade Antioxidante das Partições mais Ativas dos Extratos das plantas frente ao Radical Livre 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH)</u>	77
<u>5.0- Análise e Dosagem de Taninos e Fenóis Totais dos Extratos das Plantas da Dieta com maior Atividade Antioxidante</u>	95
5.1- Método para Dosagem de Taninos Gálicos	97
5.2- Método para Dosagem de Taninos Condensados	98
5.3- Método para Dosagem de Fenóis Totais	99
<u>6.0- Avaliação dos Extratos mais Ativos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)</u>	104
7.0- Conclusões	117
8.0- Referências Bibliográficas	118
CAPÍTULO III: Estudo Fitoquímico e a Atividade Antioxidante de Extratos de <i>Brachiaria humidicola</i> (Rend. Schweich)	124
1.0- A Importância Econômica da Família Poaceae	125
2.0- <i>A Família Poaceae no Brasil</i>	127
3.0- Forrageiras para Pastagem	128
4.0- Estudos Anteriores de plantas da Família Poaceae	129
4.1- <i>Flavonóides isolados de espécies da família Poaceae</i>	131
4.2- OUTROS FENÓLICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA POACEAE	133
5.0- Aspectos de <i>Brachiaria humidicola</i> e a sua Aplicação na Pecuária	134
6.0- Estudos químicos Anteriores de Espécies do Gênero <i>Brachiaria</i>	137
7.0- Extração de <i>B. humidicola</i>	139
7.1- FRACIONAMENTO QUÍMICO	156
7.2- Extração e Isolamento	158

7.3- Atividade Antioxidante de Kaempferitrina Isolada de <i>Brachiaria humidicola</i>	173
8.0- Conclusões	176
9.0- Referências Bibliográficas	177
ANEXO 1	184
Referências Bibliográficas	202
Conclusões Finais	204

LISTA DE ABREVIATURAS

RPPN	Reserva Particular do Patrimônio Natural
BH1	<i>Brachiaria humidicola</i> coletada em dezembro de 2000 (período úmido)
BH2	<i>Brachiaria humidicola</i> coletada em junho de 2001 (período seco)
BH3	<i>Brachiaria humidicola</i> coletada em dezembro de 2001 (período úmido)
BH4	<i>Brachiaria humidicola</i> coletada em junho de 2002 (período seco)
BH5	<i>Brachiaria humidicola</i> coletada em fevereiro de 2003 (período úmido)
BHT	2,6-di-(<i>tert</i> -butil)-4-metilfenol
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DMSO-d₆	D6 Hexadeuteriodimetil-sulfóxido
DPPH	1,1-difenil-2-picril-hidrazil
EtOH	Etanol
Hz	Hertz
MeOH	Metanol
n-BuOH	n-butanol
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN de ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN de ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
SESC	Serviço Social do Comércio
UV	Ultravioleta

Resumo

Esta tese teve como enfoque o estudo de plantas componentes da dieta de dois cervídeos ameaçados de extinção no país, os veados campeiros (*Ozotoceros bezoarticus* L. 1758) e os cervos-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus* Illger 1815), repertoriadas em um levantamento realizado na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN)-SESC Pantanal, situada no Mato Grosso.

Das 21 plantas (dicotiledôneas e monocotiledôneas), seis delas são utilizadas no país como forrageiras e 14 pertencem a gêneros com espécies medicinais. Uma única espécie apresenta uso ornamental.

As espécies vegetais *Andira cuyabensis* (Fabaceae), *Cecropia pachystachya* (Cecropiaceae), *Desmodium distortum* (Fabaceae), *Lippia alba* (Verbenaceae), *Phyllanthus amarus* (Euphorbiaceae), *Polygonum acuminatum* (Polygonaceae) e *Vernonia scabra* (Asteraceae) possuem uma importância na medicina popular brasileira, para o tratamento de processos inflamatórios, de uma maneira geral.

Com o objetivo de investigar eventuais efeitos benéficos para aqueles cervídeos no consumo dessas plantas, os extratos aquosos obtidos das partes vegetais coletadas na RPPN foram avaliadas quanto à atividade antioxidante frente ao radical livre 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH). Destacaram-se os extratos de *Andira cuyabensis*, *Cecropia pachystachya*, *Ludwigia nervosa*, *Phyllanthus amarus*, *Polygonum acuminatum*, *Sebastiania corniculata* e *Rynchanthera novemnervia* que apresentaram uma importante atividade antioxidante. Os teores de taninos nos extratos dessas sete plantas foram avaliados e os valores observados não permitem correlacioná-los, de maneira direta, com a atividade antioxidante.

A gramínea *Brachiaria humidicola* (Poaceae) foi selecionada para um estudo fitoquímico mais aprofundado, por se tratar da planta mais disponível nos habitats freqüentados pelos cervídeos na região delimitada para estudo na RPPN-SESC Pantanal.

As características dos infusos de diferentes partidas de *B. humidicola* (Poaceae) - coletadas em estações secas e úmidas - avaliadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência mostraram a presença de ácido gálico e ácido ferúlico, duas substâncias fenólicas antioxidante.

Os extratos de *B. humidicola* mostraram atividades antioxidantes moderadas, compatíveis com aquelas relatadas para outras gramíneas. Adicionalmente, foi evidenciada, em trabalhos prévios, a atividade antiinflamatória e analgésica para o extrato desta planta. Com base nestes dados, não é possível correlacionar, diretamente, a atividade antioxidante com a atividade antiinflamatória.

Neste trabalho, foi isolado o flavonóide kaempferitrina (kaempferol-3-O- α -ramnosídeo-7-O- α -ramnosídeo) do infuso de *B. humidicola*. Este é o primeiro relato para esta classe de substância no gênero *Brachiaria* e na família Poaceae. Este flavonóide também mostrou atividade antioxidante frente ao radical DPPH.

O uso contínuo de plantas medicinais pelos cervos-do-pantanal e veados-campeiros pode ser considerado benéfico à saúde destes animais.

Palavras-chave: cervídeos, Pantanal, plantas da dieta, etnomedicina, CLAE, atividade antioxidante, taninos, fenóis, *Brachiaria humidicola*, ácido gálico, ácido ferúlico, flavonóides, kaempferitrina, atividade analgésica e antiinflamatória.

Abstract

The present investigation is an approach to the study of plants which are part of the diet of two deer threatened with extinction in Brazil, the pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus* L. 1758) and the marsh deer (*Blastocerus dichotomus* Illger 1815), as recorded in a recent survey conducted in a private forest reserve in the state of Mato Grosso (Reserva Particular de Patrimônio Natural - RPPN- SESC Pantanal).

Of the 21 species investigated (dicotyledons and monocotyledons), six are used as pasture and 14 belong to genera traditionally used in medicine. Only one is used as an ornamental.

The species *Andira cuyabensis* (Fabaceae), *Cecropia pachystachya* (Cecropiaceae), *Desmodium distortum* (Fabaceae), *Lippia alba* (Verbenaceae), *Phyllanthus amarus* (Euphorbiaceae), *Polygonum acuminatum* (Polygonaceae), and *Vernonia scabra* (Asteraceae) are used by the Brazilian population as medicinal in inflammatory processes in general.

With the objective of investigating possible beneficial effects for the deer which consume these plants, the aqueous extracts obtained from the collected parts at RPPN were examined as to their antioxidant activity towards the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH). Outstanding were the extracts of *Andira cuyabensis*, *Cecropia pachystachya*, *Ludwigia nervosa*, *Phyllanthus amarus*, *Polygonum acuminatum*, *Sebastiania corniculata*, and *Rhynchathera novemnervia*, which showed the best antioxidant activity. The tannin content of the extracts of these seven plants was evaluated; the observed values could not be directly correlated with the antioxidant activity.

The grass *Brachiaria humidicola* (Poaceae), being the most readily available plant in the habitats frequented by the mentioned deer within the boundaries of the area destined for study in RPPN-SESC Pantanal, was selected for a more detailed phytochemical investigation.

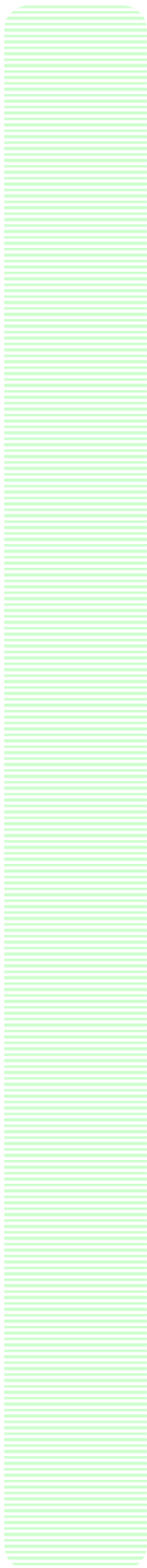
The characteristics of different infusions of *B. humidicola* – collected in dry and wet seasons - examined by HPLC - showed the presence of gallic acid and ferulic acid, two phenolic antioxidant substances.

The extracts of *B. humidicola* showed moderate antioxidant activity, compatible with that reported for other grasses. Moreover, previous investigations had shown anti-inflammatory and analgesic activity for the extract of this plant. It was not possible to correlate directly these the two activities on hand of these data.

From the infusions of *B. humidicola* the flavonoid kaempferitrin (kaempferol-3-*O*- α -rhamnoside-7-*O*- α -rhamnoside) was isolated in this investigation. This is the first report of this class of substance in the genus *Brachiaria* and in the family Poaceae. This flavonoid also showed antioxidant activity towards the DPPH radical.

The continuous consumption of medicinal plants by pampas deer and marsh deer could be beneficial to the health of these animals.

Key words: cervine, deer, Pantanal, diet plants, ethnomedicine, HPLC, antioxidant activity, tannins, phenols, *Brachiaria humidicola*, gallic acid, ferulic acid, flavonoids, kaempferitrin, antinociceptive and anti-inflammatory activity.



Apresentação do Estudo



Esta tese possui um enfoque interdisciplinar e pretende contribuir com o conhecimento sobre os potenciais efeitos benéficos de metabólitos secundários presentes nas plantas consumidas por veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus* L. 1758) e dos cervos-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus* Illger 1815) na RPPN (Reserva Particular do Patrimônio Natural do SESC) no Pantanal (MT).

Os resultados deste estudo estão organizados em partes: uma introdução geral, três capítulos, um anexo e as conclusões finais.

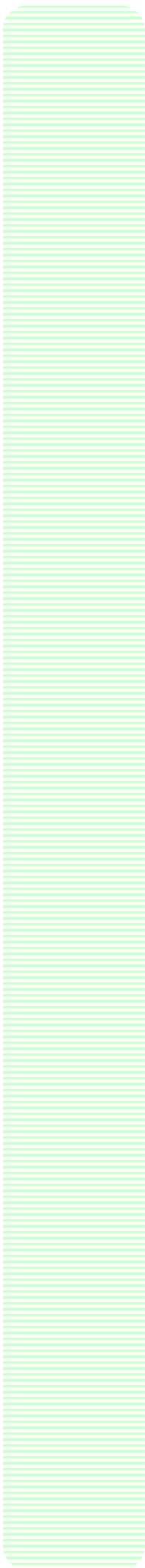
Inicialmente encontram-se as informações gerais sobre o Pantanal e sua biodiversidade. Depois, um breve histórico sobre os cervídeos, um inventário de plantas consumidas pelos veados-campeiros e cervos-do-pantanal na RPPN-SESC Pantanal e por fim, o objetivo do estudo.

O capítulo I foi dedicado ao estudo da aplicação das plantas componentes da dieta dos cervídeos na etnomedicina e etnoveterinária no Brasil, tendo como base relatos publicados em livros e artigos.

No capítulo II são apresentados e discutidos os resultados das análises dos extratos das plantas da dieta por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Também se encontram os resultados da triagem dos extratos em ensaio antioxidante e da avaliação do conteúdo fenólico dos extratos que mostraram um melhor perfil antioxidante.

No capítulo III estão apresentados os resultados obtidos no estudo da gramínea *Brachiaria humidicola*, um dos itens da dieta dos cervídeos, com reconhecida importância na pecuária do país.

Cada capítulo é encerrado com as conclusões, seguidas das referências bibliográficas. As figuras, gráficos, tabelas e legendas encontram-se no decorrer dos seus respectivos textos. No final deste trabalho de tese se encontram as conclusões finais.



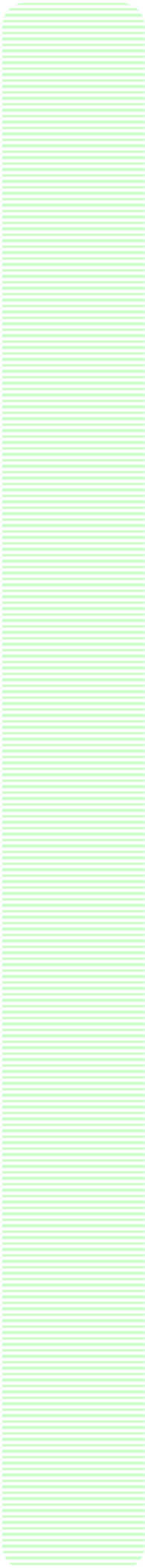


Objetivos





Levando-se em consideração o enfoque interdisciplinar deste trabalho de tese, os objetivos foram:

1. Avaliar a relevância das diferentes plantas da dieta dos cervídeos com relação a um potencial efeito benéfico para a saúde dos animais.
2. Investigar a presença de substâncias fenólicas nas plantas da dieta daqueles animais.
3. Avaliar um possível efeito benéfico destes metabólitos para os animais quanto à atividade antioxidante.
4. Estudar a composição química da gramínea *Brachiaria humidicola* com enfoque em substância fenólicas e avaliar a atividade antioxidante.



***Hábitos Alimentares de
Cervídeos na Reserva Particular
do Patrimônio Natural (RPPN)
-SESC Pantanal e
Coleta de Plantas***



Introdução Geral

1.0- O PANTANAL

O Pantanal mato-grossense é a maior planície de inundação contínua do planeta, coberta por vegetação predominantemente aberta. Este ecossistema é formado por terrenos em grande parte arenosos, cobertos de diferentes fisionomias devido à variedade de microrrelevos e regimes de inundação (Silva & Abdon, 1998).

Constitui um dos mais importantes berços da natureza do Brasil. Fica localizado na bacia hidrográfica do Rio Paraguai, a segunda maior do país, após a bacia do rio Amazonas. Em sua área, reúne o ecossistema Cerrado e Chaco e parte das campos Amazônica e Atlântica, que garantem ao local biodiversidade fantástica (Silva & Abdon, 1998).

A riqueza da região é um recurso natural imenso, sendo à base da criação de gado (pastagens nativas) e da alimentação de animais silvestres, além de constituir um banco genético de espécies forrageiras, medicinais, apícolas, madeireiras e ornamentais a serem racionalmente exploradas (Santos *et al.*, 2003).

Nos últimos anos, houve desmatamentos de áreas de cordilheiras (cordões arenosos naturais, não inundáveis e cobertos por cerrado) para implantação de pastagens cultivadas com espécies africanas, geralmente *Brachiaria decumbens*, *B. humidicola* e/ou *B. brizantha*. Recentemente, com a aquisição de terras por grupos de empresários, áreas de campo nativo também estão sendo utilizadas para plantio dessas espécies (Santos *et al.*, 2003).

1.1- A Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN)- SESC Pantanal e o Estudo de sua Biodiversidade

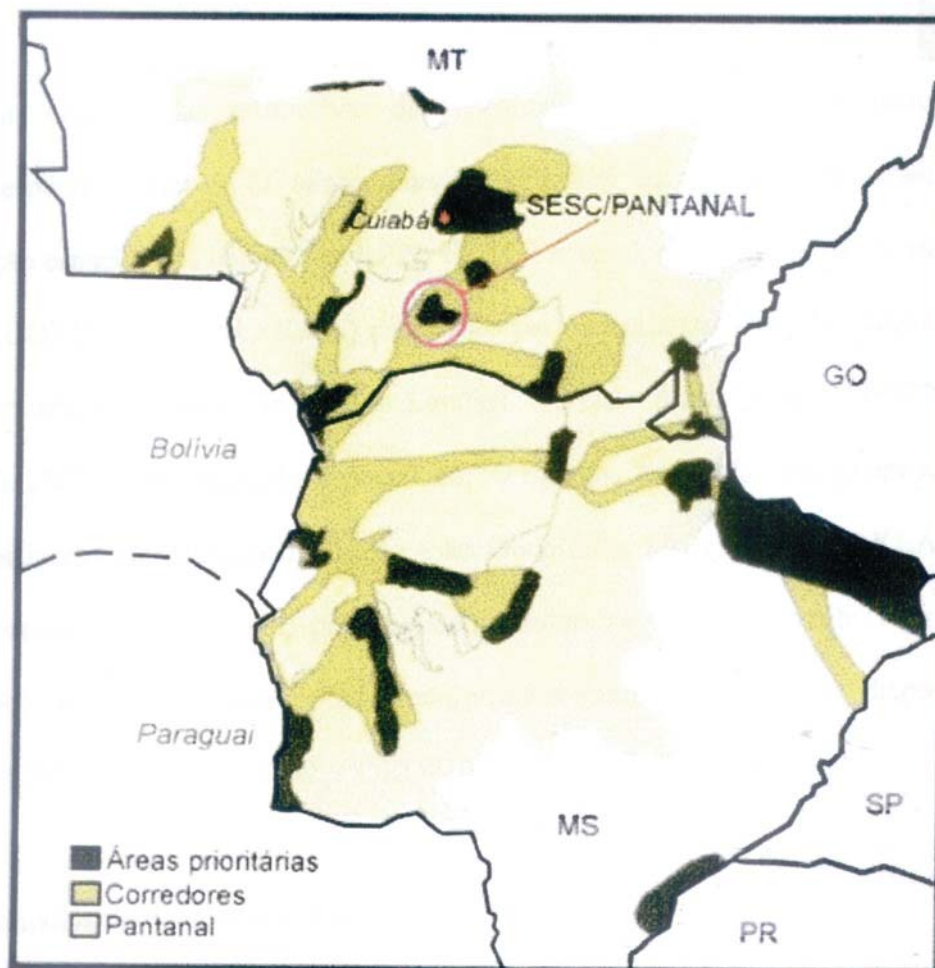
Em 1996, o Serviço Social do Comércio (SESC) iniciou a compra de antigas fazendas de gado desativadas, entre os rios Cuiabá e São Lourenço, no município de Barão de Melgaço (Mato Grosso). Seu interesse era formar a Estância Ecológica SESC Pantanal que, em 1997, foi reconhecida como Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) (SESC Pantanal, 2004).

Desde então, sintonizado na crescente preocupação da sociedade com a qualidade de vida em sua mais ampla acepção, o SESC passa a integrar a temática ambiental ao conjunto de seus programas e atividades. Desta forma, exorta e posiciona o Brasil para o esforço nacional em defesa do meio ambiente (SESC Pantanal, 2004).

O município de Barão de Melgaço é uma cidade portuária às margens dos rios Cuiabá e São Lourenço, onde hoje se localiza a RPPN (figura 1) e situa-se em uma das subdivisões delimitadas no Pantanal, conhecido como Pantanal de Barão de Melgaço.

A Reserva Particular do Patrimônio Natural do SESC possui 106.664 mil hectares e sua área é administrada segundo o Plano de Manejo elaborado pela ONG Funatura. Sua paisagem predominante é o cerrado, seguido de campo amazônica e chaco, apresentando rica fauna e flora, inclusive espécies animais ameaçadas, como a arara-azul, o tamanduá-bandeira, a ariranha, a onça, o veado-campeiro e o cervo-do-pantanal. Sua criação aumentou em um terço a área preservada do Pantanal do Mato Grosso (SESC Pantanal, 2004).

Na tentativa de melhor executar o manejo adequado da RPPN, o SESC foi buscar parcerias com pesquisadores de universidades e outras instituições. Assim, a Reserva conta com sete Postos de Proteção Ambiental e acomodação para pesquisadores (SESC Pantanal, 2004).

Figura 1: Localização da RPPN-SESC Pantanal no Mato Grosso

Manço, 2004

As pesquisas patrocinadas pelo SESC estão buscando informações não só para obter os conhecimentos indispensáveis para a gestão ambiental da reserva, mas também para possibilitar projetos de desenvolvimento sustentável nos municípios do entorno: Barão de Melgaço e Poconé.

Os vários trabalhos desenvolvidos focalizam diferentes temas de pesquisa na área da ecologia, biologia da flora e da fauna da Reserva, e clima, em parceria com Universidades e outras Instituições.

No ano de 2001 foi criada uma parceria entre o SESC, o Museu Nacional da UFRJ e o Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN-UFRJ), visando conhecer os hábitos alimentares dos veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus* L. 1758) e dos cervos-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus* Illger 1815).

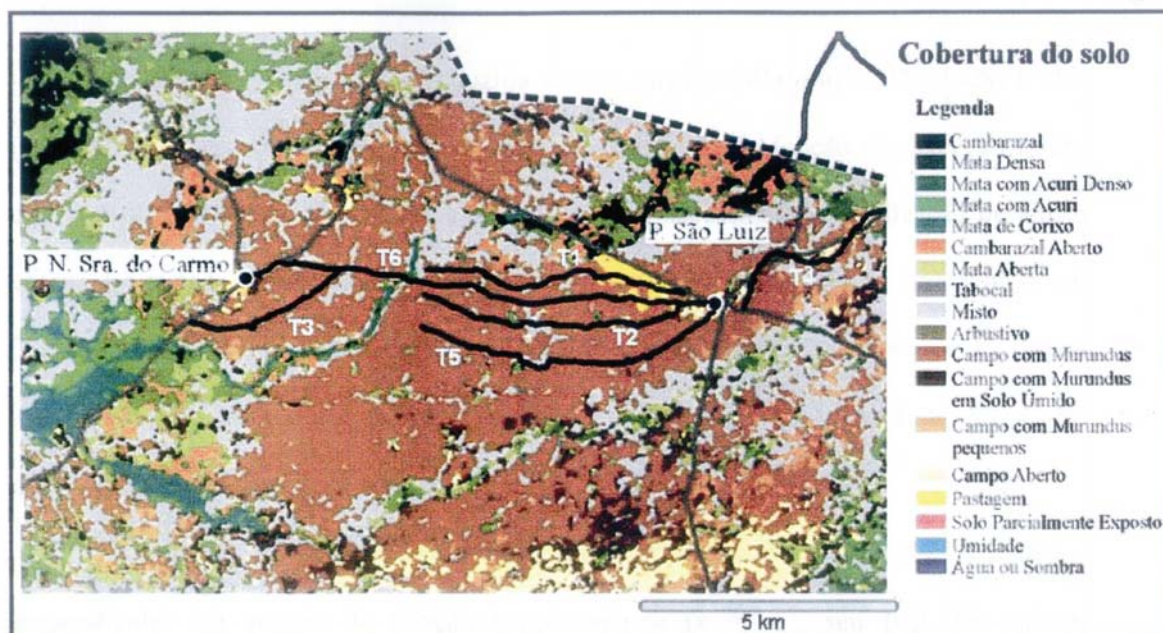
Os cervídeos *Ozotoceros bezoarticus* são caçados há milhares de anos por sua carne e por seu chifre (utilizado como troféu). Atualmente, muitas espécies foram domesticadas para o aproveitamento de ambos (carne e chifre). Algumas têm sido introduzidas para caça em numerosos países fora de seus *habitats* originais, causando um impacto negativo nas espécies nativas (Manço, 2005).

Com a finalidade de conhecer os hábitos alimentares dos cervídeos, foi aprovado pelo SESC o projeto intitulado "PERFIL QUÍMICO E POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES DE SUBSTÂNCIAS POTENCIALMENTE ENVOLVIDAS NA SELEÇÃO E MECANISMO DE DEFESA NAS RELAÇÕES UNGULADO-PLANTA NA RPPN-SESC PANTANAL", de autoria dos professores Dra. Sônia Soares Costa (Laboratório de Produtos Naturais, NPPN/UFRJ) e Dr. Luiz Flamarion Barbosa de Oliveira (Seção de Mastozoologia, Museu Nacional/ UFRJ).

Para a realização do projeto foi delimitada uma região de 6.661,233 ha na RPPN, no entorno da estrada que liga os Postos N.S^{RA}. do Carmo e São Luiz (figura 2).

A cobertura do solo na RPPN-SESC é bastante diversificada. Pode-se observar vegetações do tipo cambarazal, mata, arbustiva, campo para pastagem, porém na área escolhida para estudo, como se pode observar na figura 2, a vegetação predominante é a de campo com murundus.

Figura 2: Mapa da RPPN-SESC Pantanal



Manço, 2004.

A primeira etapa do projeto consistiu na observação da atividade de forrageamento dos animais na região de estudo. As plantas utilizadas na alimentação dos cervos-do-pantanal e veados-campeiros foram repertoriadas pelos biólogos Aniela Moretti Manço, na ocasião mestranda no Museu Nacional, e José Luis Passos Cordeiro, doutorando no Centro de Ecologia -Laboratório de Geoprocessamento (UFRGS), ambos sob a orientação do Prof. Luiz F. B. Oliveira.

Em uma segunda etapa, foi feita a classificação botânica das espécies vegetais pelas Dras. Solange Zaniolo e Raquel Negrelle (Laboratório Oikos, Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná, UFPR).

A parte química deste trabalho, realizada no Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais e o estudo farmacológico de uma das plantas da dieta realizado pela então aluna de mestrado Fabiola Ribeiro Martins, sob a orientação da Prof. Patrícia Dias Fernandes (Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ), constituem a terceira etapa do projeto.

Ainda com relação à parte química, é importante acrescentar que as análises de dosagem de fenóis totais e taninos foram realizadas com a supervisão da Profa.

Gilda Guimarães Leitão (NPPN, UFRJ) e colaboração do graduando Tarcizio José dos Santos Filho (Curso de Farmácia, UFRJ). Na realização dos ensaios antioxidantes contamos com a colaboração da equipe da professora Ana Luiza Palhares Miranda (Lassbio, Faculdade de Farmácia, UFRJ).

1.2 - Cervídeos:

Os cervídeos são mamíferos ruminantes que pertencem à ordem Artiodactyla, subordem Ruminantia, Infra-ordem Pecora e família Cervidae (Duarte, 1997).

Nas figuras 3 e 4 estão representados um veado-campeiro e um cervo-do-pantanal, respectivamente, em atividade de forrageamento.

Figura 3: Foto do veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*)



Foto cedida pelo Prof. L. F. B. Oliveira

Figura 4: Foto do cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*)



Foto cedida pelo Prof. L. F. B. Oliveira

A família Cervidae é composta por 16 gêneros e 43 espécies viventes. Os representantes desta família são amplamente distribuídos, mas estão ausentes na África sub-sahariana, Antártica, Austrália e Nova Zelândia. Nessas duas últimas regiões estão presentes por introdução (Manço, 2004).

O veado macho destaca-se da fêmea por possuir geralmente chifres em forma de galhos e por ser também de maior tamanho. São animais difíceis de serem vistos na natureza, principalmente dentro do campo, pois evitam bastante o homem. Quase todas as espécies estão ameaçadas de extinção, uma vez que seus *habitats* estão diminuindo e são muito caçados (Manço, 2004). No Brasil, pode-se encontrar 8 espécies (tabela 1), sendo que as espécies do gênero *Mazama* são muito semelhantes entre si (Duarte, 1997).

Tabela 1: Espécies de cervídeos encontradas no Brasil

Espécie	Nome Popular
<i>Blastocerus dichotomus</i>	Cervo-do-pantanal
<i>Ozotoceros berzoaticus</i>	Veado-campeiro, Rabo-branco.
<i>Odocoileus virginianus</i>	Veado-galheiro
<i>Mazama gouazoubira</i>	Veado-catingueiro, Veado-pardo.
<i>Mazama americana</i>	Veado-mateiro
<i>Mazama nana</i>	Veado-bororó-do-sul, Pororoça.
<i>Mazama bororo</i>	Bororó-de-São Paulo
<i>Mazama rondoni</i>	Veado-roxo, Foboca.

Duarte, 1997.

Os cervídeos ocupam *habitats* variados, incluindo campos, regiões pantanosas, savanas, regiões áridas e montanhas. São *grazers* (pastadores) ou *browsers* (consumidores de monocotiledôneas e folhas de dicotiledôneas) (Manço, 2004).

Em geral, 10% da produção de plantas terrestres são consumidos por herbívoros. Os mamíferos ungulados representam um grupo variado de herbívoros, no qual se incluem os veados-campeiros e os cervos-do-pantanal.

E um relato na literatura foi verificado a presença de diferentes famílias de plantas na composição relativa (%) da dieta dos cervos-do-pantanal, durante os períodos úmido e seco, no Pantanal (Duarte, 1997). Esse estudo foi baseado em informações obtidas da observação direta dos cervídeos em atividade de forrageamento, além da análise de material fecal dos mesmos (tabela 2).

Tabela 2: Famílias de plantas consumidas por cervos-do-pantanal nos períodos úmido e seco no Pantanal

Família	Período Úmido (percentual)	Período Seco (percentual)
Monocotiledôneas		
Alismataceae	9,45	8,38
Cyperaceae	5,68	5,55
Maranthaceae	8,64	7,11
Poaceae	25,73	23,84
Pontederiaceae	11,46	13,30
Dicotiledôneas		
Acanthaceae	1,03	1,64
Apocynaceae	0,08	0,00
Chrysobalanaceae	0,52	1,55
Leguminosae	12,04	10,18
Limnocharitaceae	4,74	4,45
Nymphaeaceae	12,22	13,42
Onagraceae	5,75	7,92
Total	100,00	100,00

Duarte (1997)

De acordo com a tabela 2, pode-se observar que fazem parte da dieta desses animais 5 famílias de monocotiledôneas e 7 de dicotiledôneas, sendo que as monocotiledôneas possuem um papel mais representativo na dieta. Dentre estas, as gramíneas, presentes mais abundantemente na alimentação desses animais, independente da estação do ano.

Este mesmo autor relata que em Ibera (Argentina) foram repertoriados alguns componentes da dieta dos cervos-do-pantanal. Dentre as espécies consumidas estão as monocotiledôneas *Hydrocotyle verticillata*, *Luziola peruviana*, *Pontederia cordata*, pertencentes à família Poaceae, e as dicotiledôneas, *Ludwigia peruviana* (Onagraceae), *Ludwigia serica*, *Mikania micrantha* (Asteraceae) e *Thalia geniculata* (Marantaceae).

Em um estudo realizado por Silva & Mauro (2002), no Pantanal (período seco), observa-se que fazem parte da dieta dos cervos-do-pantanal principalmente as leguminosas arbustivas, como as espécies *Aeschynomene* sp e *Discolobium pulchellum*, além de aquáticas, como a espécie *Nymphaea* sp. Esses mesmos autores

relatam que a dieta dos veados-campeiros é, basicamente, constituída por gramíneas de pequeno porte.

As observações de Batzli (1994) mostraram que a interação dos mamíferos herbívoros com as plantas utilizadas em sua alimentação ocorre através do direcionamento pela quantidade e qualidade de planta consumida.

O valor nutritivo, a capacidade digestiva, o sistema anti-herbivoria de defesa das plantas e a sua variação sazonal influenciam a seleção dos itens da dieta dos herbívoros. Ou seja, os animais selecionam as espécies vegetais com base na interação entre a estrutura das plantas e a qualidade foliar (Santos *et al.*, 2003). O conjunto dessas informações auxilia os pesquisadores na investigação e no entendimento deste assunto. Entretanto, muito deve ainda ser feito nesta direção (Engle, 2002).

Pesquisas sobre os hábitos alimentares de chimpanzés mostraram que o uso da espécie *Vernonia amygdalina* poderia estar associado aos possíveis efeitos de seus componentes como agentes antiparasitários (Koshimizu *et al.*, 1994).

Huffman (2003) relata que espécies vegetais utilizadas por chimpanzés e gorilas como agentes antiparasitários também são consumidas por elefantes na África (espécie *Entada schefferi*), por lobos na América do Sul (espécie *Solanum lycocarpum*), e dentre outros, rinocerontes na Ásia (espécie *Ceriops candoleana*).

O cultivo de plantas surgiu há mais ou menos 10 mil anos e junto com a agricultura veio a domesticação de animais. Dessa forma, os seres humanos passaram a ter mais opções para obtenção de carne, couro, leite, etc.

A utilização empírica das plantas pelo homem na busca de alívio para seus problemas de saúde é tão antiga quanto a humanidade. O efeito terapêutico comprovado de algumas dessas plantas vem contribuindo para intensificação dos estudos de caráter interdisciplinar, visando o conhecimento da natureza química das substâncias ativas e da sua atuação em diferentes modelos de ensaios biológicos.

O homem também utiliza plantas para tratar doenças de animais domésticos, principalmente em comunidades rurais. Alguns agentes patológicos (bactérias, fungos e, entre outros, os vírus) que podem provocar doenças nos seres humanos, também ocasionam grandes prejuízos à pecuária, pois além de afetarem a produtividade do rebanho (custos devidos aos tratamentos veterinários), retardam o crescimento do animal podendo levá-lo à morte (Byavu *et al.*, 2000).

A gastroenterite aguda (GEA), por exemplo, causada por vírus (adenovírus, rotavírus e reovírus) e bactérias, é uma doença que acomete homens e animais, constituindo um importante problema sanitário a nível mundial nos países subdesenvolvidos, onde atinge um índice de 30 a 40% de contaminações por estes agentes (Claver, 2000).

Segundo Lans *et al.* (2001), as plantas contêm substâncias químicas que podem explicar seu uso com sucesso na etnomedicina e na etnoveterinária. Algumas destas substâncias podem influenciar o sistema imune, melhorando a defesa do organismo, ou ainda, agir diretamente contra agentes causadores de doenças parasitárias e infecciosas.

2.0 PLANTAS DA DIETA DE CERVÍDEOS NA RPPN-SESC PANTANAL

Foram coletadas 21 plantas de diversas famílias, após a observação direta das atividades de forrageamento de cervos-do-pantanal e veados-campeiros, durante diferentes estadas na RPPN.

O Centro-Oeste brasileiro apresenta clima caracterizado por invernos secos (estação seca) e verões chuvosos (estação úmida) (Manço, 2004). Assim, as plantas foram coletadas nas estações: seca (junho) e úmida (dezembro). A tabela 3 mostra as espécies consumidas por esses cervídeos, a parte do vegetal consumida, a data de coleta de cada espécie vegetal e seu respectivo número de exsicata.

Dentre as plantas consumidas pelos cervídeos, a espécie *Brachiaria humidicola* foi a escolhida para um estudo fitoquímico mais aprofundado, pois esta gramínea está presente nos *habitats* selecionados pelos cervos-do-pantanal e veados-campeiros, tanto na estação seca quanto na úmida. Isto leva a crer que esta gramínea possua uma importância significativa na alimentação desses animais.

Tabela 3: Plantas que compõem a dieta de veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*) e cervos-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) na RPPN-SESC Pantanal

Espécie vegetal	Parte do vegetal consumida		Data de coleta/ Exsicata
	<i>O. bezoarticus</i>	<i>B. dichotomus</i>	
Dicotiledônea	<i>O. bezoarticus</i>	<i>B. dichotomus</i>	
<i>Andira cuyabensis</i> Bth. (Fabaceae)	Frutos	n.o.	Jun/2002; UPCB 48067
<i>Cecropia pachystachya</i> Trec. (Cecropiaceae)	Folhas	Folhas jovens	Jun/2002, HNUP 2076
<i>Desmodium distortum</i> (Aubl.) J. F. Macbr. (Fabaceae)	n.o.	Folhas jovens e raízes	Dez/2001, UPCB 48065
<i>Discolobium pulchellum</i> Benth. (Fabaceae)	n.o.	Caule, folhas jovens e raízes	Jun/2002, UPCB 48069
<i>Lippia alba</i> (Mill.) N. E. Brown. (Verbenaceae)	Partes aéreas	Partes aéreas	Jun/2002, UPCB 48064
<i>Ludwigia nervosa</i> (Poir.) Hara (Onagraceae)	Folhas	Folhas	Dec/2001
<i>Melochia villosa</i> (Mill.) Faw et R. (Sterculiaceae)	Caules, folhas e raízes	Caules, folhas e raízes	Dez/2001, UPCB 47445
<i>Mimosa debilis</i> H&B.ex. Willd. (Mimosaceae)	Raízes, folhas e frutos	n.o.	Dez/2001, UPCB 47549
<i>Mimosa xanthocentra</i> Mart. (Mimosaceae)	Raízes e frutos	Raízes e frutos	Dez/2001, UPCB 48062

<i>Pavonia angustifolia</i> Bth. (Malvaceae)	n.o.	Caule, folhas e flores	Jun/2002, UPCB 48070
<i>Phyllanthus amarus</i> Schum. et Thon. (Euphorbiaceae)	Partes aéreas	n.o.	Dez/2001, UPCB 48068
<i>Polygonum acuminatum</i> H.B.K. (Polygonaceae)	n.o.	Caule e folhas	Jun/2002, UPCB 48071
<i>Sabicea aspera</i> Aubl. (Rubiaceae)	n.o.	Raízes e folhas jovens	Jun/2002, UPCB 48066
<i>Sebastiania corniculata</i> (Vahl) Pax. (Euphorbiaceae)	Caule, folhas e flores	n.o.	Dez/2001
<i>Sida santaremensis</i> Mont. (Malvaceae)	n.o.	Caule, folhas, raízes e flores	Jun/2002, UPCB 48060
<i>Rynchanthera novemnervia</i> DC. (Melastomataceae)	n.o.	Folhas e flores	Jun/2002, UPCB 49264
<i>Vernonia scabra</i> Pers. (Asteraceae)	n.o.	Caules, raízes e folhas jovens	Jun/2002, UPCB 46141
Monocotiledôneas	<i>O. bezoarticus</i>	<i>B. dichotomus</i>	
<i>Axonopus purpusii</i> (Mez) Chase (Poaceae)	Caules, folhas e inflorescências.	n.o.	Jun/2002, UPCB 48072
<i>Brachiaria humidicola</i> (Rend.) Schweich (= <i>B. dictyoneura</i>) (Poaceae)	Partes aéreas	Partes aéreas	Dez/2001, UPCB 48061
<i>Brachiaria</i> sp (Poaceae)	Partes aéreas	n.o.	Dez/2001
<i>Oryza latifolia</i> Desv. (Poaceae)	n.o.	Folhas	Jun/2002, UPCB 46145

Obs.: A cor cinza claro indica que estas espécies vegetais estão em processo de identificação botânica. A simbologia n.o. → não observado

2.1 Fontes Vegetais e sua Importância para a Saúde

As plantas têm sido uma fonte de substâncias farmacologicamente ativas para o homem desde tempos antigos (Girre, 2001). Uma parcela considerável dos medicamentos atuais contém substâncias de origem natural ou proveniente de modificação estrutural (semi-sintéticas).

Uma das estratégias mais utilizadas na pesquisa de novas substâncias bioativas de origem vegetal potencialmente úteis na obtenção de fármacos, consiste em selecionar para estudo plantas empregadas na medicina popular por uma determinada comunidade (critérios de etnobotânica/etnomedicina) (Huffman, 2003; Kamath *et al.* 2004; Awika & Rooney, 2004). Esta abordagem certamente aumenta a probabilidade do isolamento de substâncias bioativas e com maior margem de segurança.

Em geral, estas substâncias fazem parte do sistema de defesa das plantas e são conhecidas como metabólitos secundários. Pertencem a diversas classes químicas e são provenientes de diferentes vias biossintéticas. Dentre elas, podem ser citados alcalóides, terpenos taninos, cumarinas, estilbenos, ésteres de ácidos cinâmicos e flavonóides. A grande maioria contém em suas estruturas pelo menos um núcleo fenólico.

O efeito benéfico dessas plantas aos seres humanos e animais que delas fazem uso pode se manifestar de várias maneiras, aumentando a resistência às infecções viróticas e/ou bacterianas, funcionando como antiinflamatórios ou ainda como analgésicos (Moure *et al.*, 2001).

Na presente tese, as substâncias fenólicas são alvo de interesse, pois tais substâncias fazem parte do mecanismo de proteção da planta ao ataque de predadores contra a herbivoria. Muitos desses metabólitos possuem uma gama variada de atividades biológicas, como por exemplo: contra infecções provocadas por bactérias, fungos e vírus.

3.0- AÇÃO ANTIOXIDANTE (AÇÃO REDUTORA DE RADICAIS LIVRES)

O oxigênio é o elemento mais abundante da biosfera. O oxigênio molecular corresponde atualmente a cerca de 20% do ar atmosférico, sendo sua principal fonte o processo fotossintético. As oxidações biológicas realizadas através do oxigênio molecular representam a principal fonte de energia utilizada pela grande maioria de plantas e animais.

Tanto através da produção biológica de oxigênio pelo processo fotossintético como através da utilização do mesmo pela respiração mitocondrial em plantas e animais, as reações bioquímicas se desenvolvem de tal maneira que geram produtos secundários, na ordem de 2% dos produtos finais (H_2O e CO_2).

Estes intermediários da redução parcial de oxigênio são conhecidos como espécies reativas do oxigênio (ERO) e são mais reativos do que o oxigênio molecular (Yunes & Calixto, 2001). Estas ERO são: radical ânion superóxido (O_2^-); peróxido de hidrogênio (H_2O_2); íon hidroxila ($\cdot OH$) e o radical peroxil (ROO^\cdot).

Segundo Huang *et al.* (2005), quimicamente os antioxidantes podem ser conceituados como substâncias capazes de retardarem a oxidação de outras. Essas reações químicas podem ocorrer de duas formas:

1) Transferência de hidrogênio

Este método está baseado em uma reação competitiva, se utiliza um gerador de radicais livres sintético e uma molécula com capacidade antioxidante;

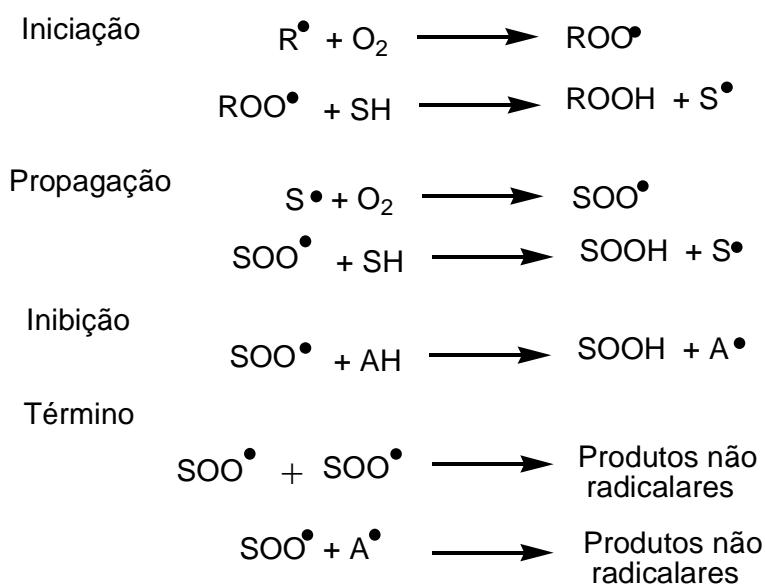
2) Transferência de elétrons

Este método envolve reações de oxi-redução, se utiliza uma matriz (padrão) que monitora a reação e indica o final da mesma.

Essas reações ocorrem em 4 etapas distintas. A primeira etapa (iniciação) é aquela que se observa a formação do radical oxigenado (peroxil- ROO^\cdot), seguida da transferência de hidrogênio do substrato (SH) para este radical. A etapa de propagação consiste na reação do substrato oxigenado e radicalar (SOO^\cdot) com outras moléculas de substrato no meio, e têm-se como resultado um substrato radicalar.

A terceira etapa consiste na reação do substrato oxigenado e radicalar (SOO^\bullet) com a espécie considerada com antioxidante (AH). A espécie antioxidante deverá doar hidrogênio para a espécie radicalar SOO^\bullet , o radical formado (A^\bullet) deverá ser mais estável do que a espécie SOO^\bullet . Para finalizar, as moléculas restantes de SOO^\bullet reagirão entre si, obtendo-se como produto substâncias não radicalares (esquema 1).

Esquema 1: Etapas das reações químicas entre um substrato (SH) e uma substância antioxidante (AH)



Os efeitos deletérios associados à constante formação dos radicais livres oriundas da presença e utilização do oxigênio nos tecidos podem vir a formar o que se chama de estresse oxidativo. Assim, entende-se que o estresse oxidativo pode ser causado por um aumento na geração de radicais livres oxigenados ou diminuição das defesas antioxidantes, inclusive para o sistema imunológico. O acúmulo de espécies reativas de oxigênio causa danos à estrutura das biomoléculas de DNA, lipídios, carboidratos e proteínas, além de outros componentes celulares (Pietta, 2000).

As plantas, ao longo do tempo evolutivo, bem como os organismos animais, foram dotados de distintas defesas antioxidantes (DA) para compensar esses efeitos deletérios (Yunes & Calixto, 2001). Dentro da fisiologia das plantas, as suas DA podem ser afetadas por inúmeros fatores, tais como intensa iluminação, deficiência mineral, vento, seca, oscilações de temperatura e dentre outros, a sazonalidade. Segundo

Yunes & Calixto (2001), as plantas assemelham-se aos animais quanto às suas DA, por exemplo, face ao consumo de O₂ e seu decréscimo durante o envelhecimento.

Nos últimos anos, tem sido despertado um grande interesse para o papel de espécies reativas do oxigênio (ERO) na etiologia de várias doenças (Halliwell, 1987). Segundo Halvorsen *et al.* (2002), existe um consenso geral, no qual foi implementado que as doenças degenerativas, crônicas (como o câncer), coronarianas, além da obesidade, diabetes, hipertensão, catarata, inflamações e infecções, podem ser ocasionadas pelo estresse oxidativo.

Os componentes bioativos de plantas utilizadas na medicina tradicional ou ainda na alimentação, podem estar protegendo os indivíduos contra doenças em que o mecanismo de estresse oxidativo esteja implicado (Aruoma, 2004).

Para reduzir o risco do desenvolvimento desses problemas de saúde, recomenda-se uma dieta rica em vegetais e frutas, tendo em vista que as espécies vegetais possuem substâncias capazes de seqüestrar radicais livres e assim, atuarem como antioxidantes (Halvorsen *et al.*, 2002).

Estudos anteriores mostram que, de fato, dietas ricas em frutas e vegetais protegem seres humanos contra doenças cardiovasculares e outras patologias. Substâncias fenólicas, como flavonóides e fenilpropanóides, presentes nesses alimentos, podem exercer um papel protetor importante. Os flavonóides que ocorrem na forma livre ou glicosilada, contêm hidroxilas fenólicas capazes de reduzir radicais oxidantes (Rice-Evans *et al.*, 1996).

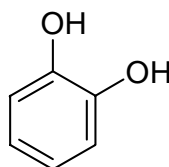
Ainda segundo Rice-Evans *et al.* (1996), os antioxidantes vegetais são de origem muito variada. Mas indubitavelmente, os flavonóides constituem o grupo mais representativo encontrado, com elevada diversidade de formas. Além dos flavonóides, outras substâncias fenólicas, como os ésteres fenólicos (Bors & Michel, 1999) e taninos (Yokozawa *et al.*, 1998), além da vitamina C, vitamina E e uma variedade de mais de mil tipos de carotenóides descritos em plantas também chama a atenção (Aruoma, 2004).

Além destes, também existem os terpenóides, cumarinas, saponinas, curcuminas, dentre outros que apresentam esta atividade (Manach *et al.*, 1999; Chen & Ho, 1997; Rice-Evans *et al.*, 1996).

As propriedades antioxidantes dos flavonóides têm atraído atenção para a área da nutrição preventiva, pois eles protegem os constituintes alimentares contra o dano oxidativo e podem também contribuir para a prevenção de importantes patologias, como doenças cardiovasculares, envelhecimento, cânceres e outros (Yunes & Calixto, 2001).

Em uma pesquisa realizada por Amié *et al.* (2003), 29 flavonóides foram avaliados quanto a sua capacidade seqüestradora de radicais livres. Destes, 16 apresentaram alta atividade. Segundo esses mesmos autores, para que uma substância seja considerada ativa como seqüestrador de radicais livres, é necessário que possua esqueleto semelhante ao do catecol (figura 5).

Figura 5: Estrutura do catecol



A literatura relata que o uso de antioxidantes sintéticos tem trazido pontos negativos para a saúde e algumas restrições têm sido observadas para sua utilização. Sendo assim, a busca de antioxidantes naturais tem sido incrementada (Koleva *et al.*, 2002).

Alguns estudos têm privilegiado a importância dos antioxidantes na dieta humana, porém pouco tem sido feito com relação à dieta de animais, sobretudo os de vida silvestre. Entretanto, alguns esforços têm sido feitos nesta direção.

Segundo um estudo realizado por Slifka *et al.* (1999), observou-se um acúmulo diferenciado entre animais silvestres quanto ao nível de carotenóides no plasma sanguíneo. Neste mesmo trabalho, os cervídeos pastadores examinados mostraram baixa ou nenhuma concentração de carotenóides, apesar da ingestão desses nutrientes na dieta.

A investigação do impacto de antioxidantes na redução do estresse oxidativo e conseqüentemente as implicações para prevenção de doenças é o enfoque principal deste trabalho de tese.

4.0- ATUAÇÃO DE RADICAIS LIVRES OXIDANTES EM PROCESSOS INFLAMATÓRIOS

Nos processos inflamatórios o estresse oxidativo causado pelos radicais livres se encontram aumentados. Tendo em vista esse aspecto, existe uma busca intensa por substâncias que possuam a capacidade de atuarem como redutoras das espécies radicalares geradas no organismo.

De acordo com Middleton & Kandaswami (1992), algumas substâncias de origem fenólica são capazes de atuar como antioxidantes e têm importante papel como antiinflamatórias. Considerando-se que em processos inflamatórios ocorre uma produção excessiva de radicais oxidantes, tornou-se relevante neste estudo a avaliação da atividade antioxidante dos extratos das plantas consumidas pelos cervos-do-pantanal e veados-campeiros na RPPN.

A reação de oxidação é influenciada pela temperatura, luz, ar, propriedades físicas e químicas dos agentes envolvidos, ou ainda, dos iniciadores da oxidação, que podem gerar efeitos deletérios ao organismo, promovendo um acúmulo de radicais livres e, conseqüentemente, um estado de inflamação mais exacerbado (Koleva *et al.*, 2002).

A dor é um componente importante dos processos inflamatórios. A percepção da dor, envolve a participação de mecanismos periféricos através da excitação de fibras aferentes nociceptivas ou mecanismos centrais.

A percepção da dor inflamatória periférica é formado por tecidos que podem ser ativados por estímulos térmicos, mecânicos, elétricos ou químicos, relacionados a danos tissulares causando a resposta inflamatória (Vanderlinde, 1999).

O desenvolvimento de novas drogas permitirá a obtenção de analgésicos sem os resultados centrais dos agentes opióides ou efeitos como o da depressão respiratória, da dependência, da disforia, das náuseas e da sedação (Vanderlinde, 1999).

5.0 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- AMIÉ, D.; DAVIDOVIÉ-AMIÉ, D.; BESLO, D. & TRINAJSTIÉ, N. 2003. Structure-radical scavenging activity relationships of Flavonoids. *Croatia Chemical Acta*, **76**: 55-61.
- ARUOMA, O.I. 2004. Antioxidant and neuroprotective potentials of traditional medicine and food plant extracts. *Free Radical Biology and Medicine*, **36**: S34-S34.
- AWIKA, J.M. & ROONEY, L.W. 2004. *Sorghum* phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, **65**: 1199-1221.
- BATZLI, G.O. 1994. Special Feature: Mammal-Plant Interactions. *Journal of Mammalogy* **75**: 813-815.
- BORS, W. & MICHEL, C. 1999. Antioxidant capacity of flavonols and gallate esters: pulse radiolysis studies. *Free Radical Biology & Medicine*, **27**: 1413-1426.
- BYAVU, N.; HENRARD, C.; DUBOIS, M. & MALAISSE, F. 2000. Phytothérapie traditionnelle des bovins dans les élevages de la plaine de la Ruzzi. *Biothechnologie, Agronomie, Societé et Environnement*, **4**: 135-156.
- CHEN, J.H. & HO, CHI-TANG. 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**: 2374-2378.
- CLAVER, S.F.; BLAY, E.V.; MITRE, R.M.; SUÁREZ-VARELA, M.M.M. & GONZÁLES, A.L. 2000. Enfermedades parasitarias de origen alimentario más frecuentes en España: incidencia y comparación con las de origen vírico y bacteriano. *Ars Pharmaceutica*, **41**: 293-305.
- DUARTE, J.M.B. 1997. Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos Blastocerus, Ozotoceros e Mazama. *Jaboticaba/ FUNEP* -238p.
- ENGLE, C.R. 2002. Acknowledging the potential role of animal self-medication. From Powell et al. (eds), UK Organic Reserarch: Prodeedings of the COR Conference, 26-28th March 2002. *Aberystwyth*, 355-358.
- GIRRE, L. 2001. Lês plantes et les médicaments. *Delachaux et Niestlé, Lausanne (Switzerland)-Paris (France)*, P.11-23.

-
- HALLIWELL, B. 1987. Oxidants and human disease: some new concepts. *The FASEB Journal*, **1**: 358-364.
- HALVORSEN, B.L.; HOLTE, K.; MYHRSTAD, M.C.W.; BARIKMO, I.; HVTTUM, E.; REMBERG, S.F.; WOLD, A.B.; HAFFNER, K.; BAUGEROD, H.; ANDERSEN, L.F.; MOSKAUG, J.O.; JACOBS JR., D.R. & BLOMHOFF, R. 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*, **132**: 461-471.
- HUANG, D.; BOXIN, O. & PRIOR, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 1841-1856.
- HUFFMAN, M. A. 2003. Animal self-medication and ethno-medicine: exploration and exploitation of the medicinal properties of plants. *Proceedings of the Nutrition Society*, **62**: 371-381.
- KAMATH, V.G.; CHANDRASHEKAR, A. & RAJINI, P.S. 2004. Antiradical properties of sorghum (*Sorghum bicolor* L. (Moench) flour extracts. *Journal of Cereal Science*, **40**: 283-288.
- KOLEVA, I.I.; VAN BEEK, T.A.; LINSSEN, J.P.H.; De GROOT, A. & EVSTATIEVA, LN. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, **13**: 8-17.
- KOSHIMIZU, K.; OHIGASHI, H. & HUFFMMAN, M.A. 1994. Use of *Vernonia amygdalina* by wild chimpanzee: possible roles of its bitter and related constituents. *Physiology Behavior*, **56**: 1209-1216.
- LANS, C.; HARPER, T.; GEORGES, K. & BRIGEWATER, E. 2001. Medicinal and ethnoveterinary remedies of hunters in Trinidad. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **1**:10.
- MANACH, C.; TEXIER, O.; MORAND, C.; CRESPIY, V.; RÉGÉRAT, F.; DEMIGNÉ, C. & RÉMÉSY, C. 1999. Comparison of the bioavailability of quercetin and catechin in rats. *Free Radical Biology & Medicine*, **27**: 1259-1266.
- MANÇO, A.M. 2004. Veados campeiros (*Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeos,1758) (Mammalia: Cervidae) no Nordeste do Pantanal do Mato Grosso (RPPN SESC Pantanal), barão de Melgaço MT: Densidade, Tamanho Populacional e Uso dos Habitats. *Museu Nacional da UFRJ*, 59. **Tese de Mestrado**.

- MIDDELTON JR, E. & KANDASWAMI, C. 1992. Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. *Biochemical Pharmacology*, **43**: 1167-1179.
- MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.J. & PARAJO, J.C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, **72**: 145-171.
- PIETTA, P.G. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**: 1035-1042.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J. & PAGANGA, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, **20**: 933-956.
- SANTOS, S.A.; COSTA, C.; POTT, A. ; CRISPIM, S.M.A.; SORIANO, B.M.A.; ALVAREZ, J.M. & ORTIZ, A.G. 2003. Grau de Preferência e Índice de Valor Forrageiro das Pastagens Nativas Consumidas por Bovinos no Pantanal. *Embrapa*, **49**: 1-44.
- SESC PANTANAL- Estância Ecológica 2004. *Rio de Janeiro: SESC, Departamento Nacional. 96p.*
- SILVA, J.S.V. & ABDON, M.M. 1998. Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas sub-regiões. *Pesquisas Agropecuária Brasileira*, **33**: 1703-1711.
- SILVA, M.P. & MAURO, R. 2002. Utilización de pasturas nativas por mamíferos herbívoros en el Pantanal. *Archivos de Zootecnia*, **51**: 161-173.
- SLIFKA, K.A.; BOWEN, P.E.; STACEWICZ-SAPUNTZAKIS, M. & CRISSEY, S.D. 1999. A survey of serum and dietary carotenoids in captive wild animals. *Journal of Nutrition*, **129**: 380-390.
- VANDERLINDE, F.A. 1999. Mecanismos envolvidos com a Atividade anticiceptiva do Extrato Aquoso de uma Fração Purificada e Compostos Terpenóides obtidos das Casca do Cróton cajucara Benth (sacaca). *Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina*, 117. **Tese de Doutorado.**
- YOKOZAWA, T.; DONG, E.; NAKAGAWA, T.; KASHIWAGI, H.; NAKAGAWA, H.; TAKEUCHI, S. & CHUNG, H.Y. 1998. *In vitro* and *in vivo* studies on the radical-scavenging activity of tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 2143-2150.

YUNES, R.A. & CALIXTO, J.B. 2001. Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal. UNESC. *Chapecó. Ed. Argos* - 523p.



***Aspectos Etnomedicinais de
Plantas Presentes na Dieta***



Capítulo I

1.0- BENEFÍCIOS DE UMA DIETA RICA EM VEGETAIS E FRUTAS

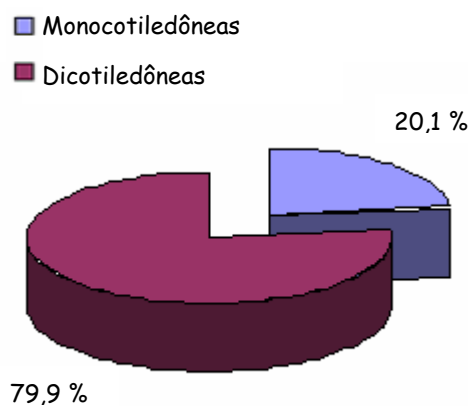
Os metabólitos secundários presentes nos alimentos vegetais na dieta humana previnem doenças e estimulam o bem estar. Desta forma, contínuos esforços têm sido feitos em todo o mundo por pesquisadores com o intuito de estudar as influências das composições químicas das frutas e vegetais (Kris-Etherton *et al.*, 2002, Singh *et al.*, 2002).

O efeito protetor contra várias doenças tem sido atribuído a um largo e extenso grupo de substâncias antioxidantes, como a vitamina C, β -caroteno e outros carotenóides, seguidos de flavonóides e fenilpropanóides (Rice-Evans *et al.*, 1996; Scalbert & Williamson, 2000).

Pouco se sabe sobre os possíveis efeitos benéficos de metabólitos não nutricionais ingeridos na dieta. Assim, são mínimos os dados que permitem avaliar a influência da composição química das plantas ingeridas na dieta de animais sobre a saúde dos mesmos (Cousins & Huffman, 2002).

São raros os dados sobre a composição da dieta de cervos-do-pantanal e veados-campeiros, especialmente os que habitam o Pantanal do Mato Grosso (Tomas & Salis, 2000).

A relação das espécies vegetais consumidas por esses animais está apresentada na tabela 3, na Introdução Geral deste trabalho. Foram inventariadas 21 espécies vegetais como parte da dieta de cervos-do-pantanal e veados-campeiros. Integram a dieta 13 famílias de plantas que são agrupadas em monocotiledôneas e dicotiledôneas (figura 1). As 21 plantas pertencentes à dieta desses animais, pertencem a 19 gêneros botânicos diferentes.

Figura 1: Percentual das monocotiledôneas e das dicotiledôneas presentes na dieta

A tabela abaixo mostra a principal forma de vida dessas plantas e, além disso, os nomes populares mais comumente empregados.

Tabela 1: Característica botânica e nome popular das espécies vegetais pertencentes à dieta dos cervos-do-pantanal e veados-campeiros

Espécie vegetal/ Gêneros	Nome Popular	Forma de Vida	Referência
Dicotiledônea			
<i>Andira</i>			
<i>A. cuyabensis</i>	Angelim	Arbórea	Corrêa, 1984.
<i>Cecropia</i>			
<i>C. pachystachya</i>	Embaúba	Arbórea	Lorenzi, 2000
<i>Desmodium</i>			
<i>D. distortum</i>	Carrapicho	Arbustiva	Lorenzi, 2000
<i>Discolobium</i>			
<i>D. pulchellum</i>	Cortiça	Arbustiva	Pott & Pott, 2000.
<i>Lippia</i>			
<i>L. alba</i>	Erva-cidreira	Subarbustiva	Lorenzi, 2000
<i>Ludwigia</i>			
<i>L. nervosa</i>	Cruz-de-malta	Subarbustiva	Lorenzi, 2000
<i>Melochia</i>			
<i>M. villosa</i>	Guanchuma	Herbácea ou sub-lenhosa	Lorenzi, 2000.
<i>Mimosa</i>			
<i>M. debilis</i>	Dormideira	Subarbustiva	Lorenzi, 2000.
<i>M. xanthocentra</i>	Dorme-dorme	Subarbustiva	Lorenzi, 2000

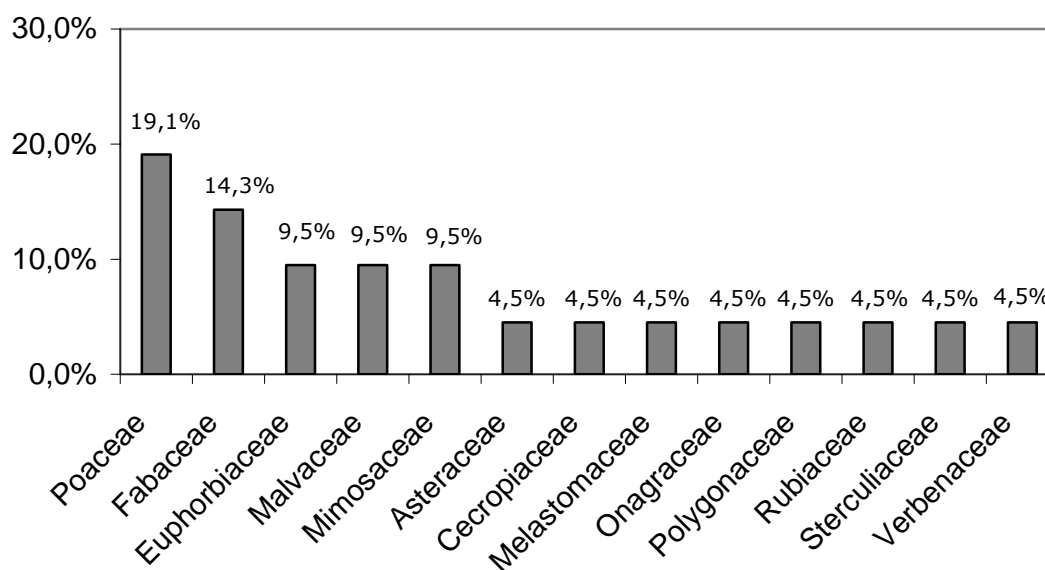
<i>Pavonia</i>			
<i>P. angustifolia</i>	Malva	Subarbustiva	Lorenzi, 2000.
<i>Phyllanthus</i>			
<i>P. amarus</i>	Quebra-pedra	Herbácea	Lorenzi, 2000
<i>Polygonum</i>			
<i>P. acuminatum</i>	Erva-de-bicho-peluda	Herbácea	Lorenzi, 2000.
<i>Sabicea</i>			
<i>S. aspera</i>	Sabicea	Arbustiva	Pott & Pott, 1994.
<i>Sebastiania</i>			
<i>S. corniculata</i>	Guanchuma-de-chifre	Subarbustiva	Lorenzi, 2000.
<i>Sida</i>			
<i>S. santaremensis</i>	Guanchuma-amarela	Subarbustiva	Lorenzi, 2000
<i>Rynchanthera</i>			
<i>R. novemnervia</i>	São-joãozinho	Arbustiva	Corrêa, 1984.
<i>Vernonia</i>			
<i>V. scabra</i>	Assapeixe	Arbustiva sedosa	Lorenzi, 2000.
Monocotiledôneas			
<i>Axonopus</i>			
<i>A. purpusii</i>	Capim	Herbácea	Lorenzi, 2000.
<i>Brachiaria</i>			
<i>B. humidicola</i>	Braquiária	Herbácea	Lorenzi, 2000.
<i>Brachiaria</i> sp	Braquiária	Herbácea	Lorenzi, 2000.
<i>Oryza</i>			
<i>O. latifolia</i>	Trevo	Herbácea	Lorenzi, 2000.

A área escolhida para estudo na RPPN-SESC é formada por um mosaico vegetal, o que permite perceber a existência de uma relativa diversidade para a forma de vida dessas plantas, que podem ser arbóreas, herbáceas, arbustivas ou subarbustivas.

Espécies da família Poaceae (quatro espécies) foram as mais representativas, seguidas da família Fabaceae (três espécies). As famílias Euphorbiaceae, Malvaceae e Mimosaceae contribuem, cada uma, com duas espécies. As famílias Asteraceae, Cecropiaceae, Melastomaceae, Onagraceae, Rubiaceae, Sterculiaceae e Verbenaceae contribuem apenas com uma espécie. Assim, a família Poaceae é aquela que possui a maior contribuição (19,1%). Em seguida, se encontra a família Fabaceae (14,3%) e a terceira posição ocupada pelas famílias Euphorbiaceae, Malvaceae e Mimosaceae, que possuem uma contribuição em torno de 9,5%.

As espécies vegetais pertencentes às famílias Asteraceae, Cecropiaceae, Melastomaceae, Onagraceae, Polygonaceae, Rubiaceae, Sterculiaceae e Verbenaceae são aquelas que apresentam menor contribuição (4,5%) (figura 2).

Figura 2: Riqueza de espécies nas famílias de fontes vegetais pertencentes à dieta



2.0- USO NA MEDICINA POPULAR BRASILEIRA

Esta tese enfoca as propriedades etnomedicinais de plantas componentes da dieta dos veados-campeiros e dos cervos-do-pantanal. Para o levantamento bibliográfico foram utilizados como fontes livros que relatassem o uso dos itens da dieta no Brasil:

1. O Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas (Corrêa, 1984);
2. O livro Medicinal Plants of Brazil escrito pelos Drs. Mors, Rizzini & Pereira (2000);
3. Dois livros sobre as espécies vegetais do Pantanal escritos por Pott & Pott, 1994 (Plantas do Pantanal) e Pott & Pott, 2000 (Plantas aquáticas do Pantanal);
4. O livro Plantas medicinais na Amazônia, de autoria de Dr. Berg, 1993;
5. O livro escrito por Martins, Castro & Dias, intitulado Plantas Medicinais, 1995.

Além destes, também foram utilizados artigos e uma apresentação em simpósio neste levantamento:

6. Cerrado: espécies vegetais úteis (Almeida *et al.*, 1998);
7. A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology and therapeutic potential (Calixto *et al.*, 1998);
8. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande-Minas Gerais (Rodrigues & Carvalho, 2001);
9. O gênero *Phyllanthus* L. (Euphorbiaceae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil (Torres *et al.*, 2003);
10. O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae - Euphorbiaceae Juss.) no bioma Caatinga do estado de Pernambuco - Brasil (Silva & Sales, 2004);
11. A etnobotânica da Morraria Momoso do Pantanal de Mato Grosso (Schwenk & Silva, 1998).

Surpreendentemente, a maioria das plantas consumidas por esses cervídeos pertence a gêneros que possuem numerosas espécies vegetais utilizadas na medicina popular no Brasil, contra infecções e sintomas inflamatórios, segundo informações relatadas por Branch & Silva, 1983; Corrêa, 1984; Berg, 1993; Pott & Pott, 1994; Martins *et al.*, 1995; Almeida *et al.*, 1998; Calixto *et al.*, 1998; Schwenk & Silva, 1998; Mors *et al.*, 2000; Pott & Pott, 2000; Rodrigues & Carvalho, 2001; Torres *et al.*, 2003 e Silva & Sales, 2004. Estes dados estão descritos na tabela 2.

Dos 19 gêneros botânicos pertencentes à dieta de cervos-do-pantanal e veados-campeiros, existem 13 com uso na medicina popular brasileira.

O gênero *Andira* contribui com 17 espécies vegetais e possui 35 usos medicinais. As espécies deste gênero possuem citações para o emprego contra parasitas e vermes, em sua grande maioria (Almeida *et al.*, 1998; Corrêa, 1984; Mors *et al.*, 2000 e Pott & Pott, 1994).

Para o gênero *Cecropia* são observadas apenas cinco espécies vegetais medicinais, porém apresentam cerca de 25 usos na medicina popular. Além disto, verifica-se que essas espécies possuem um leque de usos medicinais bastante amplo. (Berg, 1993; Branch & Silva, 1983; Corrêa, 1984; Martins *et al.*, 1995; Mors *et al.*, 2000; Pott & Pott, 1994 e Rodrigues & Carvalho, 2001).

São observados sete espécies medicinais para o gênero *Desmodium* e um total de 16 indicações medicinais. As espécies deste gênero possuem maior emprego contra doenças genitais (Corrêa, 1984; Mors *et al.*, 2000; Pott & Pott, 1994 e Rodrigues & Carvalho, 2001).

O gênero *Lippia* contribui com um total de 11 espécies e 31 utilizações, de uma maneira geral. As espécies deste gênero são comumente utilizadas na medicina popular brasileira como purgativa, vomitivo, emenagoga, tônica, adstringente, antidiabética, laxativa, depurativa, emoliente e ainda contra amenorréia, dismenorréia, difteria, doenças respiratórias, hemorróidas e picada de cobras (Branch & Silva, 1983; Corrêa, 1984; Martins *et al.*, 1995; Mors *et al.*, 2000 e Pott & Pott, 1994).

Para o gênero *Ludwigia* é observado o mesmo número de espécies contribuintes do gênero *Desmodium* (sete espécies). A grande maioria das indicações populares para as espécies de *Ludwigia* está relacionada a doenças de pele (Mors *et al.*, 2000 e Pott & Pott, 2000).

O gênero *Mimosa* é aquele que possui o maior número de espécies com uso na medicina popular (23 espécies) e o maior número de utilizações (63). Todavia, o maior número de usos está ligado às doenças respiratórias e às atividades purgativa, vomitivo, emenagoga, tônica, adstringente, antidiabética, laxativa, depurativa, emoliente, amenorréica, dismenorréica, diftérica e contra o veneno da picada de cobras (Corrêa, 1984 e Mors *et al.*, 2000).

Uma única espécie foi repertoriada para o gênero *Pavonia*. A espécie em questão é utilizada na etnomedicina para tratamento de doenças respiratórias (Rodrigues & Carvalho, 2001).

O gênero *Phyllanthus* possui 15 espécies vegetais utilizadas na etnomedicina, com um uso total bastante expressivo (54). Indubitavelmente, essas espécies possuem maior contribuição contra os problemas urinários (Branch & Silva, 1983; Corrêa, 1984; Martins *et al.*, 1995; Mors *et al.*, 2000; Pott & Pott, 1994; Silva & Sales, 2004; Calixto *et al.*, 1998 e Torres *et al.*, 2003).

O gênero *Polygonum* possui 10 espécies vegetais utilizadas na etnomedicina. A variedade de utilização dessas espécies é bastante expressiva. Os relatos totalizam cerca de 63 usos. Isso indica que esse gênero é o mais representativo em termos de usos das espécies vegetais, pois se pode notar que são cerca de seis empregos diferentes na medicina popular brasileira para cada planta relatada. A maior indicação de tais espécies se dá contra parasitas e vermes (Corrêa, 1984; Martins *et al.*, 1995; Mors *et al.*, 2000 e Pott & Pott, 2000).

O gênero *Sabicea* possui duas espécies utilizadas na medicina popular. A utilização tem destaque contra diarreias e infecções genitais (Almeida *et al.*, 1998; e Rodrigues & Carvalho, 2001).

Com relação ao gênero *Sebastiania* foram verificados três espécies com emprego principalmente contra infecções genitais e doenças de pele (Corrêa, 1984 e Mors *et al.*, 2000).

Os gêneros *Sida* e *Vernonia* contribuem com 11 e 8 espécies medicinais, respectivamente. As espécies destes gêneros são mais utilizadas contra doenças respiratórias (Corrêa, 1984; Martins *et al.*, 1995; Mors *et al.*, 2000; Pott & Pott, 1994 e Rodrigues & Carvalho, 2001).

As aplicações terapêuticas na medicina popular no Brasil para as plantas da dieta de cervos-do-pantanal e dos veados-campeiros na RPPN-SESC Pantanal estão detalhadas na tabela 2.

Foram utilizadas letras para designar os tipos de utilização na etnomedicina. Tem-se então para infecções genitais (IG), problemas urinários (PU), doenças respiratórias (DR), reumatismo e contusões (R/C), doenças de pele (DP), hemorragia e hemoptise (H/H), dor e febre (D/F), diarreia (D), problemas gástricos (P/G), hepatite (H), parasitas e vermes (P/V), hemorróidas (HM), outros usos (OU) e número de usos e espécies (NU).

Os outros usos (OU) correspondem aos efeitos purgativos, vomitivo, emenagogo, tônico, adstringente, antidiabético, depurativo e emoliente. Além disso, algumas espécies vegetais podem ser utilizadas contra amenorréia, dismenorréia, difteria e em casos de picada de cobras.

Tabela 2: Uso etnomedicinal de espécies vegetais dos gêneros botânicos da dieta de cervos-do-pantanal e veados-campeiros na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN/ SESC-Pantanal)

GÊNERO/ ESPÉCIE	IG	PU	DR	R/C	DP	H/H	D/F	D	P/G	H	P/V	HM	OU	NU
Andira														
<i>A. amazonum</i>	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>A. anthelmia</i>	-	-	-	-	f	-	-	-	-	-	f	-	-	2
<i>A. anthelmintica</i>	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	d	-	d	3
<i>A. araroba</i>	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	d	-	d	3
<i>A. aubletti</i>	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	d	2
<i>A. cuyabensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	h	-	d, h.	-	-	2
<i>A. fraxinifolia</i>	-	-	-	-	f	-	-	-	-	-	d, f	-	d	3
<i>A. humilis</i>	-	-	-	-	f	-	-	-	-	-	a, d	-	a	3
<i>A. inermis</i>	-	-	-	-	h	-	-	-	-	-	d, f, h.	-	d, f, h.	3
<i>A. legalis</i>	-	-	-	-	f	-	-	-	-	-	f	-	-	2
<i>A. paniculata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	1
<i>A. parvifolia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	1
<i>A. retusa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	c, f	-	d, f	-	-	2
<i>A. spectabilis</i>	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	1
<i>A. spinulosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	1
<i>A. stipulacea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	1
<i>A. vermifuga</i>	-	-	-	-	f	-	-	-	d	-	d, f	-	d	4
														35
Cecropia														
<i>C. hololeuca</i>	d, f	d, f	d, f	-	-	-	-	d, f	-	-	-	-	d, f	5
<i>C. leucocoma</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	c, f.	-	-	-	-	1
<i>C. pachystachya</i>	h, i.	h, i.	h, i	-	h	-	-	h	-	-	-	-	h	6
<i>C. palmata</i>	b, f.	f	e	-	b, f	b, f	-	b, f.	-	-	-	-	b, e, f.	7
<i>C. peltata</i>	-	d	d	-	d	-	-	d	-	-	d	-	d, f	6
														25
Desmodium														
<i>D. axillare</i>	d, f	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	f	2
<i>D. adscendens</i>	-	i, j.	i	-	-	-	-	i	i	-	-	-	j	5
<i>D. barbatum</i>	d, h.	h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>D. distortum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	h	1
<i>D. incanum</i>	d, i	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>D. triflorum</i>	d, f	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	d, f	4
<i>D. uncinatum</i>	-	-	-	-	i	-	-	-	-	-	-	-	-	1
														16

GÊNERO/ ESPÉCIE	IG	PU	DR	R/C	DP	H/H	D/F	D	P/G	H	P/V	HM	OU	NU
Lippia														
<i>L. alba</i>	-	-	e, h	h	-	-	-	-	c, d, e, f, h	-	-	-	d, e, f, h	4
<i>L. asperifolia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	d	2
<i>L. citriodora</i>	-	d	d	-	-	-	d	-	d	-	-	-	d	5
<i>L. gratissima</i>	-	f	f	-	-	-	f	-	f	-	-	-	-	4
<i>L. lupulina</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	i	1
<i>L. lycioides</i>	-	d	d	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	4
<i>L. macrophylla</i>	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	2
<i>L. microphylla</i>	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	1
<i>L. montevidensis</i>	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>L. pseudo-thea</i>	-	-	d	d	-	-	-	-	d	-	-	-	-	3
<i>L. sidoides</i>	-	-	-	-	e	-	-	-	e	-	e	-	e	4
														31
Ludwigia														
<i>L. helminorrhiza</i>	-	-	-	-	f, g	f, g	-	f, g	-	-	-	-	-	3
<i>L. lagunae</i>	-	-	-	-	g	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>L. leptocarpa</i>	-	-	-	-	g	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>L. longifolia</i>	-	-	-	-	g	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>L. peruviana</i>	-	-	-	-	f	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>L. repens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	f	1
<i>L. suffruticosa</i>	-	-	-	-	g	-	f	-	f	-	-	-	-	3
														11
Mimosa														
<i>M. adherens</i>	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>M. alba</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	1
<i>M. barbadetiman</i>	d	-	-	-	d	d	-	d	d	-	-	-	d	6
<i>M. bimucronata</i>	-	-	d, f.	-	-	-	d, f.	-	-	-	-	-	-	2
<i>M. caesalpiniaefolia</i>	-	-	d, f.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>M. cavenia</i>	-	d	d	d	d	-	d	d	d	-	d	-	d	9
<i>M. cochliocarpus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	1
<i>M. colubrina</i>	d	-	d	-	-	d	-	-	-	-	-	-	d	4
<i>M. entada</i>	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	d	2
<i>M. guyanensis</i>	d	-	-	-	d	d	-	d	d	-	-	-	d	6
<i>M. invisá</i>	-	d, f	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>M. lebeck</i>	-	-	-	-	d	-	-	d	-	-	-	-	d	3
<i>M. macroloba</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	d	2
<i>M. malacocentra</i>	-	-	-	f	f	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>M. niopo</i>	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>M. pectinata</i>	-	-	-	-	d	d	-	-	d	-	-	-	-	3
<i>M. pellita</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	1
<i>M. pendula</i>	-	-	-	-	d	-	-	-	d	-	-	d	-	3
<i>M. pudica</i>	d, f	-	-	d, f	d, f	-	-	-	-	-	d	-	d, f	5
<i>M. pulcherrima</i>	d	-	-	-	d	d	-	d	d	-	-	-	d	6

GÊNERO/ESPÉCIE	IG	PU	DR	R/C	DP	H/H	D/F	D	P/G	H	P/V	HM	OU	NU
Mimosa														
<i>M. unguiscati</i>	d	-	-	-	d	-	d	-	d	-	-	-	-	4
<i>M. velloziana</i>	f	-	-	f	f	-	-	-	-	-	-	-	f	4
<i>M. verrucosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	f	1
														69
Pavonia														
<i>P. hastata</i>	-	-	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
														1
Phyllanthus														
<i>P. acidus</i>	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	2
<i>P. acutifolius</i>	-	d, f.	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	d	3
<i>P. amarus</i>	-	h, k, l, m.	-	-	-	-	-	l	-	l	-	-	k, l	4
<i>P. caroliniensis</i>	-	l	-	-	-	-	-	l	-	l	-	-	l	4
<i>P. conami</i>	-	d, f	-	-	-	-	-	-	-	-	d, f	-	d, f	3
<i>P. corcovadensis</i>	-	d, l	-	-	-	-	-	l	-	l	-	-	l	4
<i>P. diffusus</i>	-	f	-	-	-	-	-	-	-	d, f	-	-	-	2
<i>P. fraternus</i>	-	l	-	-	-	-	-	l	-	l	-	-	l	4
<i>P. niruri</i>	l	c, d, e, f, h, l, m.	l	-	d	-	d, e, f.	l	d, e.	d, f, l	f	-	d, e, f, l.	10
<i>P. nobilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d, f.	1
<i>P. orbiculatus</i>	-	h, j	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. sellowianus</i>	-	f, l	-	-	-	-	-	l	-	l	-	-	l	4
<i>P. stipulatus</i>	-	l	-	-	-	-	-	l	-	l	-	-	l	4
<i>P. tenellus</i>	-	f, l, m	-	-	-	-	-	l	-	l	-	-	l	4
<i>P. urinaria</i>	-	l	-	-	-	-	-	l	-	l	-	-	l	4
														54
Polygonum														
<i>P. acetosaefolium</i>	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	2
<i>P. acre</i>	d	d, e.	-	d, e.	d, e.	-	d, e.	d, e.	d, e.	-	d, e.	d, e.	d, e.	10
<i>P. acuminatum</i>	-	f, g.	-	d, f, g	g	-	g	d, f, g	g	-	d, f, g	d, f, g	d, g.	9
<i>P. arborescens</i>	d	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	d	3
<i>P. hispidum</i>	-	g	-	-	g	-	-	-	g	-	g	-	-	4
<i>P. hydropiperoides</i>	g	f, g	-	f, g	g	-	g	g	g	-	g	g	g	10
<i>P. meissnerianum</i>	-	g	-	-	g	-	-	-	-	-	g	g	-	4
<i>P. punctatum</i>	f, g	f, g	-	f, g	f, g	-	f, g	f, g	f, g	-	f, g	f, g	g	10
<i>P. spectabile</i>	f, g	g	g	g	f, g	-	g	g	g	-	f, g	f, g	-	10
<i>P. stypticum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	1
														63
Sabicea														
<i>S. amazonensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	c	-	-	-	-	-	1
<i>S. cana</i>	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	i	2
														3

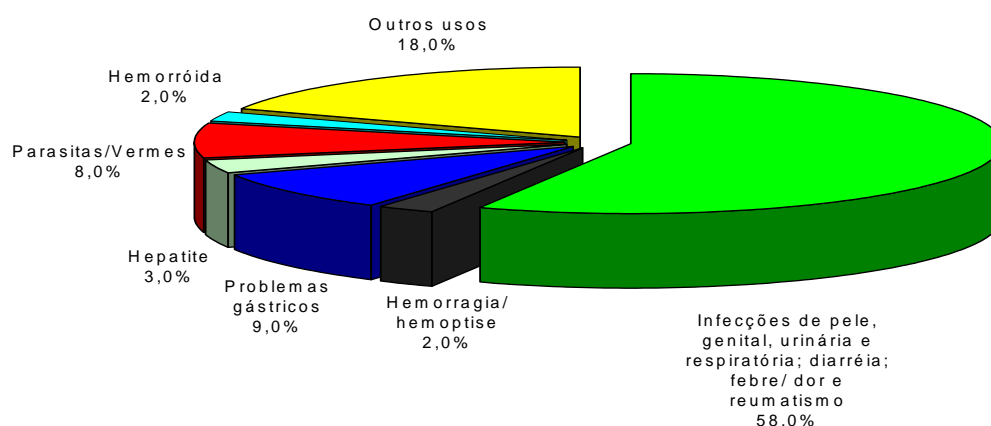
GÊNERO/ESPÉCIE	IG	PU	DR	R/C	DP	H/H	D/F	D	P/G	H	P/V	HM	OU	NU
Sebastiania														
<i>S. klotzschiana</i>	f	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>S. macrocarpa</i>	f	-	-	-	d, f	-	-	-	-	-	-	-	d, f.	3
<i>S. pontamophila</i>	f	-	-	-	f	-	-	-	-	-	-	-	f	3
														7
Sida														
<i>S. acuta</i>	-	-	-	-	-	-	d, f.	-	d, f	-	-	d, f	-	3
<i>S. americana</i>	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>S. angustifolia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	d, f	-	-	-	-	1
<i>S. carpinifolia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	f	1
<i>S. erecta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	1
<i>S. hirta</i>	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>S. macrodon</i>	d, f	-	-	-	d, f	-	-	-	f	-	-	-	-	3
<i>S. micrantha</i>	-	-	d, f.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>S. purpurascens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	1
<i>S. rhombea</i>	-	d, f	d	-	d, f	-	-	d, f	-	-	-	-	d	5
<i>S. rhombifolia</i>	-	-	d	-	-	-	f	-	-	-	-	-	d, f	3
														21
Vernonia														
<i>V. barbata</i>	-	-	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>V. condensada</i>	-	e	-	-	-	-	e	e	h	-	-	-	e	5
<i>V. ferruginea</i>	h	a, h, i.	h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a, h, i.	4
<i>V. missionis</i>	-	-	-	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>V. polyanthes</i>	-	-	e, h.	-	-	e	i	-	-	-	-	-	-	3
<i>V. rotundifolia</i>	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>V. scabra</i>	-	-	h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d, h.	2
<i>V. scorpioides</i>	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	1
														18

Obs. IG (infecções genitais); PU (problemas urinários); DR (doenças respiratórias); R/C (reumatismo/contusões); DP (doenças de pele); H/H (hemorragia/hemoptise); D/F (dor/febre); D(diarréia); P/G (problemas gástricos); H (hepatite); P/V (parasitas/vermes); HM (hemorróidas); OU (outros usos); NU (número de usos/espécies). Espécies que compõe a dieta de cervos-do-pantanal e de veados-campeiros. Outros usos: purgativo, vomitivo, emenagogo, tônico, adstringente, antidiabético, depurativo, emoliente, amenorréico, dismenorréico, diftérico e em casos de picada de cobras.(a) Almeida *et al.*, 1998; (b) Berg, 1993; (c) Branch & Silva, 1983; (d) Corrêa, 1984; (e) Martins *et al.*, 1995; (f) Mors *et al.*, 2000; (g) Pott & Pott, 2000; (h) Pott & Pott, 1994; (i) Rodrigues & Carvalho, 2001; (j) Schwenk & Silva, 1998; (k) Silva & Sales, 2004; (l) Calixto *et al.*, 1998; (m) Torres *et al.*, 2003.

As plantas pertencentes aos gêneros *Axonopus*, *Brachiaria*, *Discolobium*, *Melochia* e *Oryza* parecem ter uso principalmente como forrageiras (Allem & Valls, 1987). Nenhuma utilização medicinal foi encontrada para esses gêneros na literatura citada. O gênero *Rynchanthera* possui espécies utilizadas como ornamentais devido à beleza de suas flores (Corrêa, 1984).

A figura 3 mostra o percentual das aplicações medicinais de plantas pertencentes aos gêneros da dieta de cervos-do-pantanal e veados-campeiros na RPPN-SESC Pantanal.

Figura 3: Aplicações na etnomedicina de plantas pertencentes aos gêneros da dieta de cervos-do-pantanal e veados-campeiros na RPPN-SESC Pantanal.



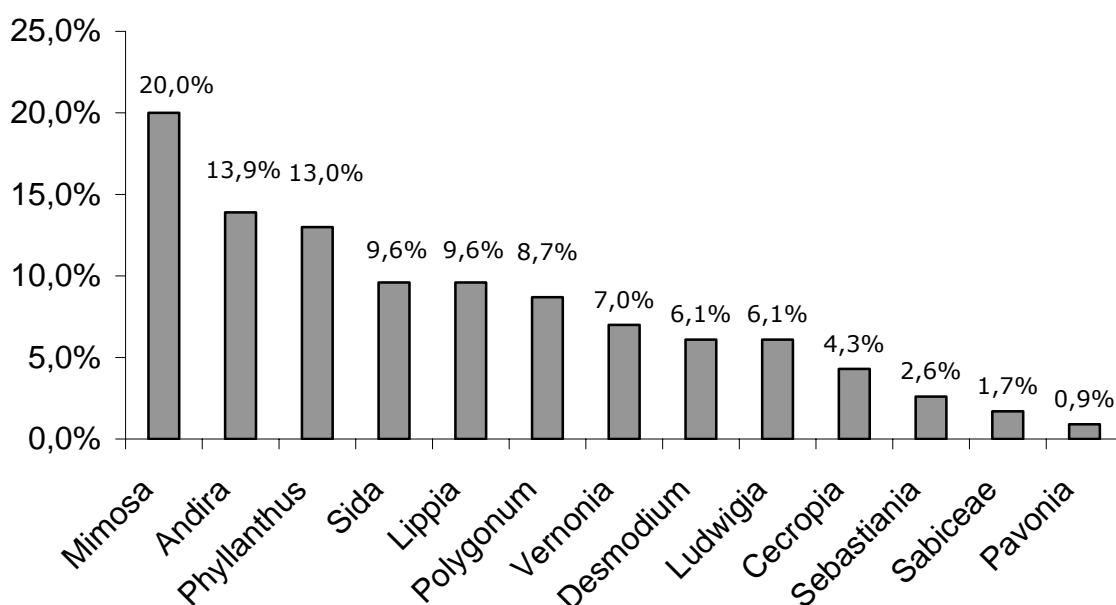
Obs.: Almeida *et al.*, 1998; Berg, 1993; Branch & Silva, 1983; Corrêa, 1984; Martins *et al.*, 1995; Mors *et al.*, 2000; Pott & Pott, 2000; Pott & Pott, 1994; Rodrigues & Carvalho, 2001; Schwenk & Silva, 1998; Silva & Sales, 2004; Calixto *et al.*, 1998; Torres *et al.*, 2003.

Verifica-se, em termos quantitativos, que o maior número de usos medicinais dessas plantas está relacionado a problemas de pele, genitais, urinários, pulmonares, febre e dor, reumatismo etc. Estes usos perfazem 58,0%. Nota-se que cerca de 18,0% estão relacionados às atividades purgativa, vomitivo, emenagoga, tônica, adstringente, antidiabética, laxativa, depurativa, emoliente, amenorréica, dismenorréica, diftérica e antipeçonhenta.

Os usos relacionados aos problemas gástricos e contra os parasitas intestinais contribuem com 9,0% e 8,0%, respectivamente. Apenas 3,0% dos usos medicinais estão relacionados à hepatite. E finalizando, em menor percentual, estão as atividades contra hemorragias/hemoptises (2,0%) e hemorróidas (2,0%).

A figura 4 mostra a contribuição, em percentagem, dos gêneros da dieta dos cervos-do-pantanal e dos veados-campeiros na RPPN-SESC Pantanal quanto ao uso na etnomedicina.

Figura 4: Contribuição na etnomedicina dos gêneros pertencentes à dieta dos cervos-do-pantanal e dos veados-campeiros na RPPN-SESC Pantanal.



O gênero *Mimosa* (23 espécies) é o mais representativo quanto ao número de espécies utilizadas na etnomedicina (20,0%). Seguido dos gêneros *Andira* (17 espécies) e *Phyllanthus* (15 espécies), com percentuais de 13,9% e 13,0%.

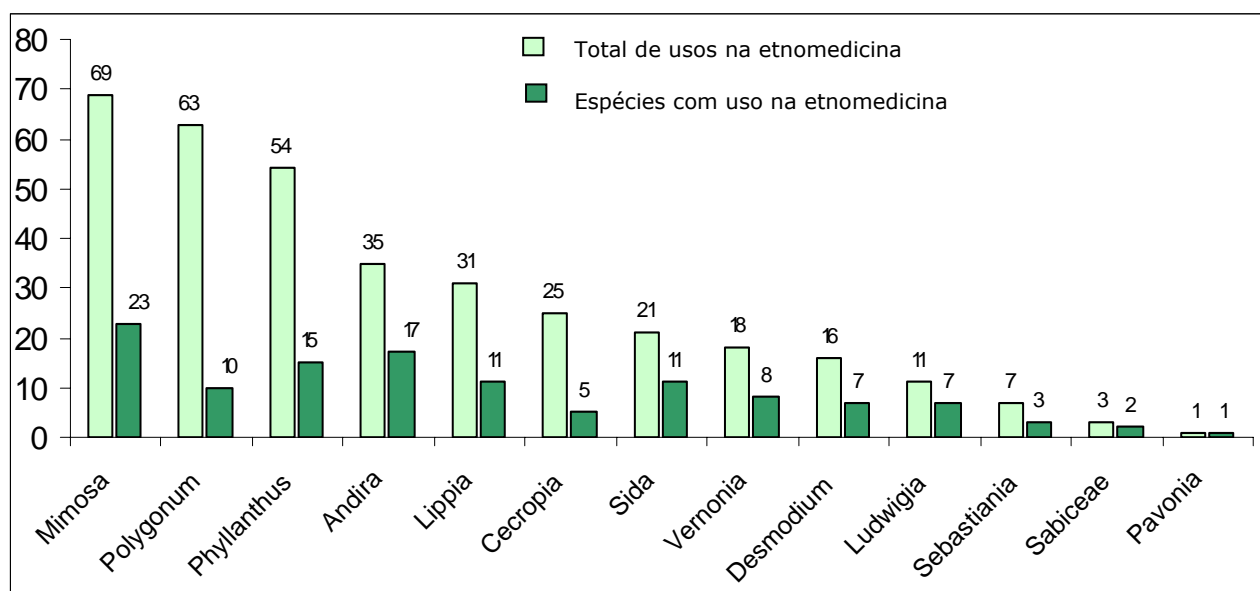
Os gêneros *Sida* e *Lippia* (11 espécies) contribuem igualmente com 9,6%. Os gêneros *Polygonum* (10 espécies) e *Vernonia* (oito espécies) contribuem com 9,0% e 7,0%, respectivamente.

Minoritariamente, observam-se os gêneros *Desmodium* e *Ludwigia* (sete espécies cada um) com 6,1% e *Cecropia* (cinco espécies) com 4,3%. Verificam-se ainda os gêneros *Sabicea* e *Sebastiania* com duas e 3 espécies, respectivamente, correspondendo a 2,6% e 1,7%. E por fim, com uma contribuição inferior a 1,0%, o gênero *Pavonia*, representado por uma única espécie.

Os números mais altos de aplicações na etnomedicina foram atribuídos aos gêneros *Mimosa* (69), *Polygonum* (63), *Phyllanthus* (54), *Andira* (35), *Lippia* (31) e *Cecropia* (25), seguidos de *Sida* (21), *Vernonia* (18), *Desmodium* (16), *Ludwigia* (11), *Sebastiania* (7), *Sabiceae* (3) e *Pavonia* (1) (figura 5).

Levando-se em consideração o número de espécies vegetais medicinais para cada gênero e o número de usos etnomedicinais, o gênero *Polygonum* pode ser considerado como um dos mais importante para a dieta dos cervos-do-pantanal e dos veados-campeiros.

Figura 5: Representatividade dos gêneros botânicos da dieta dos cervídeos e os números de espécies com uso na etnomedicina no Brasil



As espécies de *Polygonum* (10 espécies/63 usos) possuem um amplo uso em etnomedicina (Corrêa, 1984; Martins *et al.*, 1995; Mors *et al.*, 2000; Pott & Pott, 2000). O mesmo pode ser observado para os gêneros *Cecropia* (cinco espécies/25 usos) e *Phyllanthus* (15 espécies/54 usos). Ou seja, esses gêneros também possuem importância marcada na etnoveterinária, com cerca de cinco e 4 utilizações respectivamente para cada espécie desses gêneros.

Os outros gêneros *Lippia* (três usos por cada espécie), *Andira*, *Desmodium*, *Ludwigia*, *Sabicea*, *Sebastiania*, *Sida* e *Vernonia* (dois usos por cada espécie), e *Pavonia* (um uso por cada espécie), contribuem minoritariamente quanto ao uso por espécie no levantamento realizado na etnoveterinária brasileira.

Como foi dito anteriormente existem 13 gêneros medicinais na dieta dos cervos-do-pantanal e veados-campeiros na RPPN-SESC Pantanal. Entretanto, apenas sete plantas consumidas por estes animais são espécies medicinais.

A tabela 3 mostra as propriedades etnomedicinais das sete plantas consumidas por cervos-do-pantanal e veados-campeiros RPPN-SESC Pantanal.

Tabela 3: Espécies vegetais pertencentes à dieta de cervos-do-pantanal e veados-campeiros na RPPN-SESC Pantanal com utilização na medicina popular brasileira

Espécies	Uso na Etnomedicina [#]
<i>Andira cuyabensis</i>	Vermífugo, ^e , digestivo ^e .
<i>Cecropia pachystachya</i>	Diurético, bronco dilatador ^e , antitussígeno ^{e, g} , antiasmático, contra doenças coronarianas, cicatrizantes, antierisipela, contra doenças oculares, antidiabético, antidiarréico, antileucorréico ^e , antiblenorrágico ^g .
<i>Desmodium distortum</i>	Cicatrizante de picada de cobra ^e
<i>Lippia alba</i>	Sudorífero ^{d, e} , antiespasmódico ^{b, c, d} , estomáquico ^{b, c, d, e} , emenagogo ^{b, d} , sedativo, antiinsônia, antiasmático ^{c, e} , carminativo, digestivo ^c , estimulante da menstruação, laxativo, analgésico intestinal, estimulante do sistema circulatório, anti-reumático ^e .
<i>Phyllanthus amarus</i>	Eliminador de pedras nos rins ^{a, e, i, i} , diurético ⁱ , antiácido-úrico ^e , antiinfecção urinária ^{h, i} , abortivo ^h , antiinfecção intestinal, antidiabéticos e anti-hepatite B ^a
<i>Polygonum acuminatum</i>	Antiparasitário, antidisentérico, antiartrite ^{d, f} , anti-hemorróida ^{s, d, f} , adstringente, estimulante de apetite ^f , refrigerante, antileucorréico, antigonorréico, contra problemas de úlcera, antierisipela, cicatrizante, febrífugo.
<i>Vernonia scabra</i>	Antitussígeno, antigripal ^e , estimulante, contra doenças oculares ^{b, e} .

^aCalixto *et al.*, 1998; ^bCorrêa, 1984; ^cMartins *et al.*, 1995; ^dMors *et al.*, 2000; ^ePott & Pott, 1994;

^fPott & Pott, 2000; ^gRodrigues & Carvalho, 2001; ^hSilva & Sales, 2004; ⁱTorres *et al.*, 2003.

A tabela acima indica que um terço das 21 plantas da dieta dos cervos-do-pantanal e veados-campeiros na RPPN-SESC Pantanal é utilizado na medicina popular brasileira (sete espécies vegetais). Entretanto, 28,6% das plantas da dieta pertencem a gêneros empregados na etnoveterinária brasileira.

Observa-se que outros animais, além dos primatas não humanos, agem de maneira seletiva com relação aos alimentos, similar àquela observada para humanos. Um exemplo disso está no suprimento de uma dieta baseada em plantas pelos primatas (não humanos), apresentando sucesso direcionado para o isolamento de substâncias antimalariais de chimpanzés (Krief *et al.*, 2004).

No momento, os estudos sobre a automedicação de animais são quase que exclusivamente limitados a gorilas e chimpanzés (Cousins & Huffman, 2002; Huffman, 2003), mas, poderiam ser extremamente vantajosos para outros animais, em especial, cervos-do-pantanal e veados-campeiros. Entretanto, no projeto "PERFIL QUÍMICO E POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES DE SUBSTÂNCIAS POTENCIALMENTE ENVOLVIDAS NA SELEÇÃO E MECANISMO DE DEFESA NAS RELAÇÕES UNGULADO-PLANTA NA RPPN-SESC PANTANAL", não foi avaliado o critério de seleção das espécies vegetais. Sendo assim, não existem dados que nos permitam sugerir um uso intencional dessas plantas medicinais por parte dos veados-campeiros e cervos-do-pantanal.

3.0- CONCLUSÕES

O conhecimento sobre os hábitos alimentares dos veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*) e dos cervos-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) nos conduziu a avaliar o potencial efeito benéfico dos itens da dieta. Os resultados obtidos acima baseados no levantamento realizado na literatura nos permitem concluir:


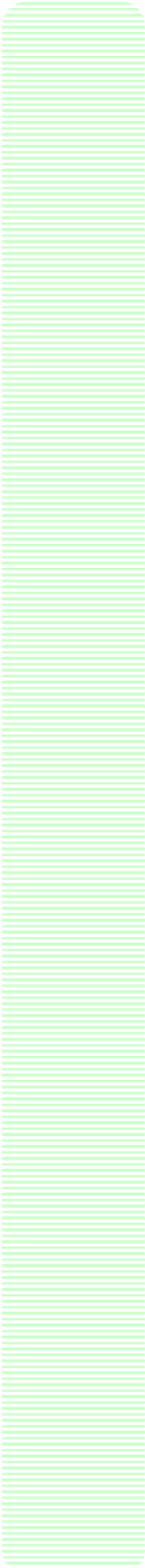
1. A partir das 21 plantas repertoriadas, seis plantas são utilizadas como forrageira e 14 plantas pertencem a gêneros com espécies medicinais. Além disto, foi observado que uma única espécie apresenta uso ornamental.
2. As 21 plantas coletadas perfazem um total de 13 famílias e 19 gêneros de plantas, sendo que destes, existem 13 gêneros com usos medicinais no Brasil.
3. Das 14 plantas pertencentes a gêneros com espécies medicinais, sete plantas da dieta são espécies medicinais (53,8%) e 6 são plantas pertencentes a gêneros botânicos medicinais (46,2%) no Brasil.
4. As espécies vegetais *Andira cuyabensis* (Fabaceae), *Cecropia pachystachya* (Cecropiaceae), *Desmodium distortum* (Fabaceae), *Lippia alba* (Verbenaceae), *Phyllanthus amarus* (Euphorbiaceae), *Polygonum acuminatum* (Polygonaceae) e *Vernonia scabra* (Asteraceae) possuem uma importância na medicina popular no Brasil e podem estar contribuindo benéficamente para a saúde desses animais na RPPN-SESC Pantanal.

4.0- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


- ALLEM, A.C. & VALLS, J.F.M. 1987. Recursos forrageiros nativos do Pantanal Mato-grossense. *Embrapa Cenargen, Brasília*.
- ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M. & RIBEIRO, J.F. 1998. Cerrado: espécies vegetais úteis. *Embrapa - CPAC, Planaltina, DF*.
- BERG, M.E. VAN DEN. 1993. Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático. *Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Brazil*.
- BRANCH, L.C. & SILVA, M.F. 1983. Folk medicine of Alter do Chão, Pará, Brazil. *Acta Amazônica*, **13**: 737-797.
- CALIXTO, J.B., SANTOS, A.R.S., CECHINEL FILHO, V. & YUNES, R.A. 1998. A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology and therapeutic potential. *Medicinal Research Reviews*, **18**: 225-258.
- CORRÊA, M.P. 1984. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal; *Imprensa Nacional, Rio de Janeiro*.
- COUSINS, D. & HUFFMAN, M.A. 2002. Medicinal properties in the diet of gorillas: an ethno-pharmacological evaluation. *African Study Monographs*, **23**: 65-89.
- HUFFMAN, M.A. 2003. Animal self-medication and ethno-medicine: exploration and exploitation of the medicinal properties of plants. *Proceedings of the Nutrition Society*, **62**: 371-381.
- KRIEF, S.; MARTIN, M.T.; GRELLIER, P.; KASENENE, J. & SEVENET, T. 2004. Novel antimalarial compounds isolated in a survey of self-meditative behavior of wild chimpanzees in Uganda. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48**: 3196-3199.
- KRIS-ETHERTON, P.M., HECKER, K.D., BONANOME, A., COVAL, S.M., BINKOSKI, A.E., HILPERT, K.F., GRIEL, A.E. & ETHERTON, T.D. 2002. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine*, **113**: 71-88.

-
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C. & DIAS, J.E. 1995. Plantas Medicinais. *Universidade Federal de Viçosa, Brazil*.
- MORS, W.B.; RIZZINI, C.T. & PEREIRA, N.A. 2000. Medicinal Plants of Brazil. *Algonac, Michigan*.
- POTT, A. & POTT, V.J. 1994. Plantas do Pantanal. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, CPAP, Distrito Federal*.
- POTT, V.J. & POTT, A. 2000. Plantas aquáticas do Pantanal. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, CPAP, Distrito Federal*.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J. & PAGANGA, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, **20**: 933-956.
- RODRIGUES, V.E.G. & CARVALHO, D.A. 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande-Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, **25**: 102-123.
- SCALBERT, A. & WILLIAMSON, G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, **130**: 2073S-2085S.
- SCHWENK, L.M. & SILVA, C.J. 1998. A etnobotânica da Morraria Momoso do Pantanal de Mato Grosso. *III Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do pantanal. Os Desafios do Novo Milênio. De 27 a 30 de 2000. Corumbá-Ms, 1-27*.
- SILVA, M.J. & SALES, M.F. 2004. O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae - Euphorbiaceae Juss.) no bioma Caatinga do estado de Pernambuco - Brasil. *Rodriguésia*, **55**: 101-126.
- SINGH, R.B., DUBNOV, G., NIAZ, M.A., GHOSH, S., SINGH, R., RASTOGI, S.S., MANOR, O., PELLA, D. & BERRY, E.M. 2002. Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary artery disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Contra doenças coronárias Study): a randomized single-blind trial. *Lancet*, **360**: 1455-1461.
- TOMAS, W.M. & SALIS, S.M. 2000. Diet of marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in the Pantanal wetland, Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, **35**: 165-172.

TORRES, D.S.C.; CORDEIRO, I. & GIULIETTI, A.M. 2003. O gênero *Phyllanthus* L. (Euphorbiaceae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, **17**: 265-278.



***Atividade Antioxidante
dos Extratos das
Plantas Pertencentes à Dieta***



Capítulo II

1.0- PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DAS PLANTAS DA DIETA

Segundo Labadie *et al.* (1989), um dos pré-requisitos na pesquisa de plantas utilizadas na medicina tradicional é observar o modo de preparação que contenha os constituintes ativos, assim como as condições de sua biodisponibilidade. Considerações sobre o material coletado (parte da planta), sua conservação, pré-tratamento, método de extração e dosagem devem ser avaliadas a fim de se comprovar o uso terapêutico dessas preparações medicinais de uso popular.

Dependendo do solvente utilizado (aquoso ou orgânico) pode-se extrair substâncias de diferentes classes químicas. Por esta razão a atividade biológica também varia com o tipo de extrato (Simões *et al.*, 1999). Neste trabalho optou-se por um processo de extração aquoso por duas razões:

- 1- A população emprega, geralmente, as plantas medicinais sob forma de chás e decoctos;
- 2- As plantas são digeridas pelos cervídeos em meio aquoso.

Desta forma, as espécies vegetais da dieta dos veados-campeiros e dos cervos-do-pantanal foram submetidas ao processo de extração por decocção 10% (p/v) em aquecimento por 10 minutos em água fervente (Simões *et al.*, 1999). A opção por este método se deve também ao fato de que durante a fervura as células vegetais se rompem gerando maior massa de extrato. O esquema 1 sumariza o processo de extração realizado.

A espécie *Axonopus purpusii* (Poaceae) não foi estudada, pois não havia massa vegetal suficiente.

Na tabela 1 são mostrados os rendimentos obtidos nas extrações por decocção partindo de 100 g de planta seca.

Esquema 1: Processo de decocção das plantas da dieta

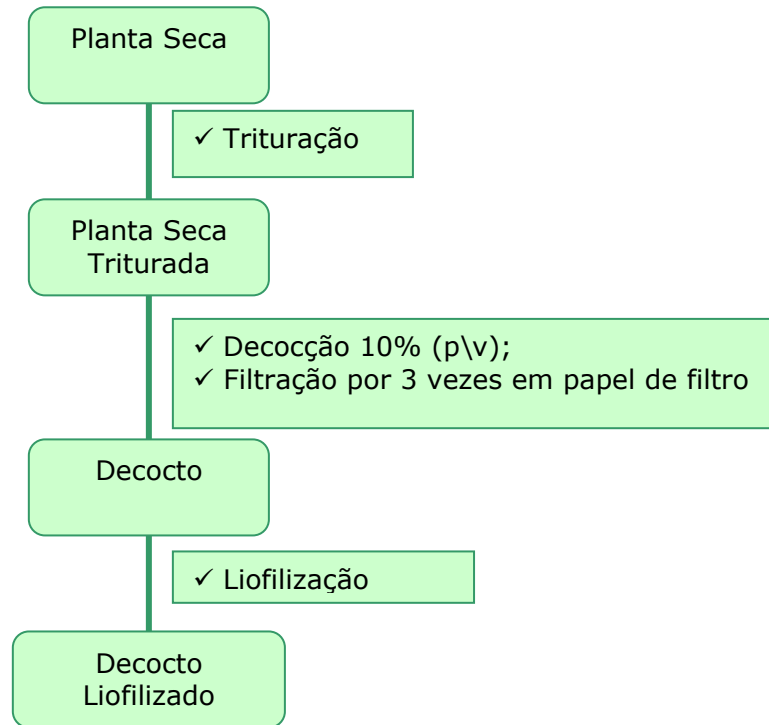


Tabela 1: Parte vegetal utilizada e o rendimento dos extratos das plantas da dieta de cervídeos na RPPN-SESC Pantanal

Espécies Vegetais	Parte Utilizada-Rendimento dos Extratos (%)
Dicotiledôneas	
<i>Andira cuyabensis</i>	Folhas - 7,0
<i>Cecropia pachystachya</i>	Folhas - 13,4
<i>Desmodium distortum</i>	Folhas e caule - 14,1
<i>Discolobium pulchellum</i>	Folhas e caule - 12,5
<i>Lippia alba</i>	Folhas e caule - 9,9
<i>Ludwigia nervosa</i>	Folhas e caule - 15,2
<i>Melochia villosa</i>	Folhas e caule - 6,2
<i>Mimosa debilis</i>	Folhas e caule - 4,6
<i>Mimosa xanthocentra</i>	Folhas e caule - 9,3
<i>Pavonia angustifolia</i>	Folhas e caule - 2,8
<i>Phyllanthus amarus</i>	Folhas, flores e caule - 11,3
<i>Polygonum acuminatum</i>	Folhas e caule - 4,3
<i>Sabicea aspera</i>	Folhas, flores e caule - 9,3
<i>Sebastiania corniculata</i>	Folhas e caule - 16,6
<i>Sida santaremensis</i>	Folhas, flores e caule - 5,3
<i>Rynchanthera novemnervia</i>	Folhas - 7,2
<i>Vernonia scabra</i>	Folhas - 15,0
Monocotiledôneas	
<i>Brachiaria humidicola</i>	Folhas e caule - 4,4
<i>Brachiaria sp</i>	Folhas e caule - 5,8
<i>Oryza latifolia</i>	Folhas e caule - 11,5

De acordo com os dados mostrados na tabela acima, as plantas fornecem extratos com diferentes rendimentos.

Para o grupo das plantas dicotiledôneas, as extrações a partir de folhas e caules mostraram o maior rendimento, sendo que, para a planta *Sebastiania corniculata* observou-se o maior rendimento (16,6%). O menor rendimento foi observado na extração da espécie *Pavonia angustifolia* (2,8%).

Os rendimentos das folhas de *Vernonia scabra* (15,0%) e *Cecropia pachystachya* (13,4%) também foram representativos, o que corresponde à metade daqueles observados para *Andira cuyabensis* e *Rynchanthera novemnervia*. Já os rendimentos de *Andira cuyabensis* e *Rynchanthera novemnervia* foram cerca de 50% menores.

Quanto maior o rendimento, maior será a concentração das substâncias polares, fenólicas (alvo de estudo nesta tese) ou não, contidas nestes extratos aquosos.

2.0- ATIVIDADE SEQÜESTRADORA DE RADICAIS LIVRES (ATIVIDADE ANTIOXIDANTE OU ATIVIDADE REDUTORA):

A atividade antioxidante ou seqüestradora de radicais livres é uma ação redutora. Existem diferentes métodos que podem estar avaliando a capacidade seqüestradora de radicais livres de extratos de plantas, frações enriquecidas em determinados metabólitos ou ainda, substâncias puras.

Para ilustrar serão apresentados três métodos de avaliação da atividade seqüestradora de radicais livres usados rotineiramente em laboratório:

1. BHCT = clareador do β -caroteno;
2. HS-GC = cromatografia em fase gasosa estática de "headspace" ;
3. DPPH = 1,1-difenil-2-picril-hidrazil.

Segundo Koleva *et al.* (2002), no teste chamado de clareador do β -caroteno (BCBT), a substância é considerada como bom antioxidante quando ocorre diminuição da coloração amarela intensa do β -caroteno. Este método é utilizado em ensaios antioxidantes para diferentes substâncias (Von Gadow *et al.*, 1997; Abdalla *et al.*, 1999).

O método de cromatografia em fase gasosa estática de "headspace" (HS-GC) também é utilizado para ensaios antioxidantes (Koleva *et al.*, 2002). Essa técnica consiste em quantificar as substâncias voláteis formadas durante a decomposição do peróxido. Essa técnica é utilizada para diferentes tipos de substâncias (Abdalla *et al.*, 1999; Abdalla & Roozen, 1999; Roeding-Penman & Gordon, 1998);

O método de DPPH detecta o seqüestro de radicais livres, ou seja, a capacidade de redução do radical livre por parte de uma determinada substância ou substrato e é independente da polaridade do substrato (Koleva *et al.*, 2002). A tabela 2 sumariza as comparações entre os 3 métodos apresentados acima.

Tabela 2: Comparações entre os métodos de DPPH, HS-GC e BCBT.

Vantagens	Limitações
DPPH	
Muito rápido, sensível, simples, reprodutível, reagentes comuns, amostra independe da polaridade das amostras e não há necessidade de tratamento prévio das amostras.	Não específica a espécie seqüestradora de radicais livres.
HS-GC	
Sensível, específico e reprodutível.	Lento, requer instrumentos específicos e oxidação preliminar das amostras antes da análise cromatográfica.
BCBT	
Relativamente rápido, sensível, não requer equipamento especial, reagentes comuns, não requer tratamento prévio das amostras.	Depende da polaridade da amostra, a reprodutibilidade depende das variáveis experimentais, as propriedades químicas e físicas dos componentes podem afetar a atividade antioxidante.

Koleva *et al.*, 2002. DPPH = 1,1-difenil-2-picril-hidrazil; HS-GC = cromatografia em fase gasosa estática de "headspace" e o BHCT = clareador do β -caroteno.

2.1- Ensaios Antioxidantes

2.1.1-Descrição da Técnica:

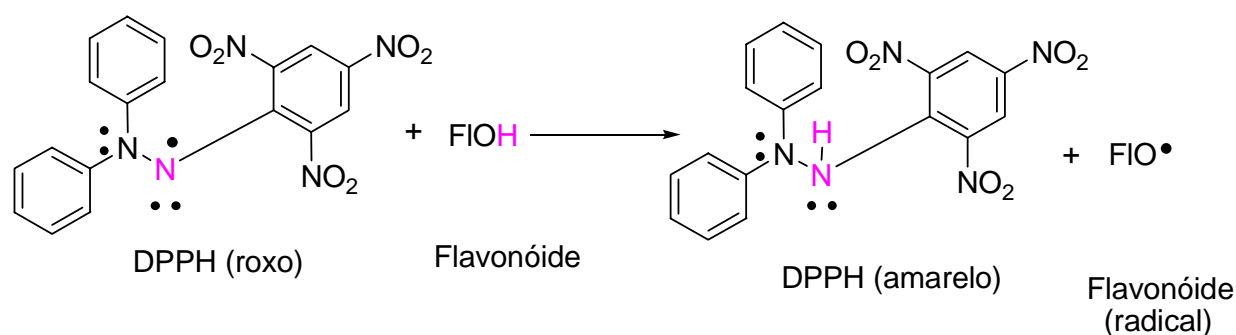
Neste trabalho de tese o método de DPPH foi o utilizado. Essa técnica consiste em adicionar 1ml do extrato (aquoso), em concentrações que variam de 0,1 - 1000 $\mu\text{g/ml}$. A este será adicionado 1 ml de uma solução etanólica de DPPH (0,1 mM). A reação se processará em 1h à temperatura ambiente.

Imediatamente, a absorção do DPPH será verificada em 515 nm em um espectrofotômetro UV-Vis (os experimentos foram realizados em triplicata).

A atividade seqüestradora de radicais livres de cada extrato será expressa pela relação da absorção de DPPH, baseado na solução de DPPH ausente do extrato (controle negativo) e uma solução de um padrão de substância aromática (controle positivo), o 2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol (BHT). Posteriormente, será calculado o percentual seqüestrador de radicais livres (PS%) e expresso como descrito por Tait *et al.*, 1996.

Na figura 1 pode-se observar uma representação da reação entre o DPPH e a amostra de interesse, que no caso está representado por um flavonóide.

Figura 1: Reação entre o DPPH e a amostra de interesse



Amié *et al.*, 2003

Segundo Huang *et al.* (2005), as reações com o DPPH envolvem a transferência de hidrogênio. Entretanto, esses mesmos autores relatam que um fator determinante para a velocidade de reação consiste na transferência de elétrons para o DPPH. A abstração do átomo de hidrogênio do grupo FIOH pelo DPPH, provém de uma reação secundária, pois ocorre muito lentamente em solventes protonados como o metanol e etanol.

2.1.2- Atividade Antioxidante dos Extratos de Plantas da Dieta:

A tabela abaixo mostra os resultados dos decoctos das plantas da dieta submetidas aos ensaios antioxidantes em três concentrações distintas. Vale ressaltar que os testes foram realizados em triplicata e aqui estão apresentadas as médias aritméticas.

Tabela 3: Atividade antioxidante dos extratos das espécies vegetais da dieta e do padrão fenólico 2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol (BHT)

Espécies Vegetais	Concentrações		
	1000 µg/ml (%)	100 µg/ml (%)	10 µg/ml (%)
<i>Andira cuyabensis</i>	92,3	58,8	48,7
<i>Brachiaria</i> sp	72,0	72,9	0,0
<i>Cecropia pachystachya</i>	94,6	67,3	49,7
<i>Desmodium distortum</i>	69,7	43,1	0,0
<i>Discolobium pulchellum</i>	68,6	66,7	0,0
<i>Lippia alba</i>	84,6	69,4	0,0
<i>Ludwigia nervosa</i>	95,4	95,9	56,5
<i>Melochia villosa</i>	74,3	75,0	0,0
<i>Mimosa debilis</i>	80,9	83,9	0,0
<i>Mimosa xanthocentra</i>	80,5	81,4	0,0
<i>Oryza latifolia</i>	87,1	73,4	6,6
<i>Pavonia angustifolia</i>	85,0	68,9	0,0
<i>Phyllanthus amarus</i>	95,9	96,0	68,0
<i>Polygonum acuminatum</i>	92,3	58,8	48,7
<i>Rynchanthera novemnervia</i>	95,7	77,5	75,5
<i>Sabicea aspera</i>	86,2	70,0	11,2
<i>Sebastiania corniculata</i>	95,4	96,5	65,3
<i>Sida santaremensis</i>	74,5	74,3	0,0
<i>Vernonia scabra</i>	80,4	65,0	18,1
Padrão fenólico: 2,6-di-(<i>tert</i> -butil)-4-metilfenol (BHT)			
BHT	100,0	52,1	43,6

Obs.: As espécies vegetais marcadas com a cor azul são as mais ativas.

Os valores observados para *Brachiaria humidicola* serão apresentados e discutidos no capítulo III.

Pode-se notar que todos os decoctos das plantas acima listadas possuem atividade seqüestradora de radicais livres nas duas concentrações mais elevadas (1000 e 100 µg/ml).

A espécie vegetal *Desmodium distortum* foi a única que apresentou atividade seqüestradora de radicais livres menor do que o padrão BHT na concentração de 100 µg/ml.

Apenas os decoctos das espécies *Andira cuyabensis*, *Cecropia pachystachya*, *Ludwigia nervosa*, *Phyllanthus amarus*, *Polygonum acuminatum*, *Rynchanthera novemnervia* e *Sebastiania corniculata* (7 espécies), apresentaram atividade significativa (> 40%) na concentração mais baixa (10 µg/ml). Desta forma, essas espécies foram avaliadas em duas outras concentrações mais baixas (1 µg/ml e 0,1 µg/ml), a fim de se avaliar o perfil seqüestrador de radicais livres desses extratos (tabela 4).

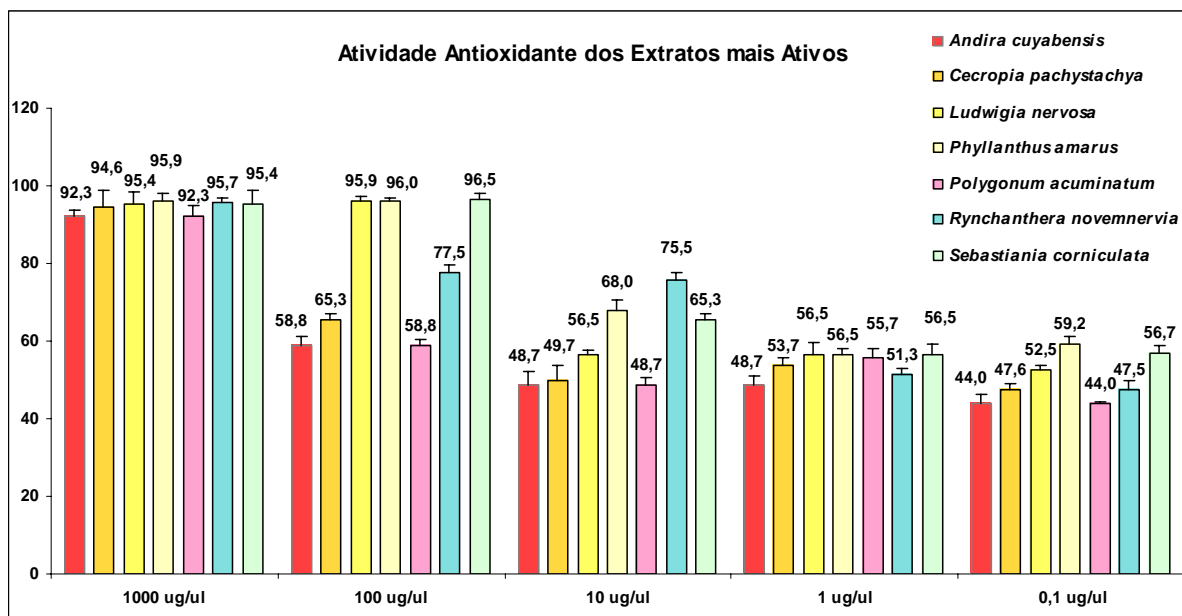
Tabela 4: Atividade antioxidante dos 7 extratos mais ativos das espécies vegetais da dieta comparadas com o padrão fenólico BHT

Espécies Vegetais	Concentrações				
	1000 µg/ml (%)	100 µg/ml (%)	10 µg/ml (%)	1 µg/ml (%)	0,1 µg/ml (%)
<i>Andira cuyabensis</i>	92,3	58,8	48,7	48,7	44,0
<i>Cecropia pachystachya</i>	94,6	67,3	49,7	53,7	47,6
<i>Ludwigia nervosa</i>	95,4	95,9	56,5	56,5	52,5
<i>Phyllanthus amarus</i>	95,9	96,5	68,0	62,7	59,2
<i>Polygonum acuminatum</i>	92,3	96,0	48,7	55,7	44,0
<i>Rynchanthera novemnervia</i>	95,7	77,5	75,5	51,3	47,5
<i>Sebastiania corniculata</i>	95,4	75,5	65,3	56,5	56,7
BHT	100,0	52,1	43,6	32,6	21,0

Obs.: BHT [2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol]

Todos os extratos permanecem ativos na concentração mais baixa (0,1 µg/ml) e todos possuem melhor atividade, que o padrão BHT nas concentrações de 100 a 0,1 µg/ml. A figura abaixo mostra que a resposta é concentração dependente para os extratos quanto a sua capacidade seqüestradora de radicais livres.

Figura 2: Relação dose dependente mais ativos comparados com o padrão 2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol (BHT)



A comparação dos sete extratos revela que estes podem ser separados em grupos de acordo com as semelhanças observadas:

1. grupo I → extratos com melhor atividade (*Polygonum acuminatum*, *Phyllanthus amarus* e *Ludwigia nervosa*);
2. grupo II → extratos com atividade pouco menos pronunciada do que o grupo I na concentração de 100 µg/ml (*Rynchanthera novemnervia* e *Sebastiania corniculata*);
3. grupo III → extratos muito semelhantes entre si em todas as concentrações testadas (*Cecropia pachystachya* e *Andira cuyabensis*) e mostram atividade ligeiramente inferior ao grupo II a partir da concentração de 100 µg/ml.

O teste seqüestrador de radicais livres pelo DPPH mostrou que cerca de 35% dos extratos de plantas (7 espécies vegetais) mantém uma significativa atividade antioxidante na menor diluição (0,1 µg/ml).

Quatro das sete plantas que exibem alta atividade seqüestradora de radicais livres pertencem a gêneros com reconhecida utilização na medicina popular no Brasil (capítulo I): *Andira*, *Cecropia*, *Phyllanthus* e *Polygonum*. As quatro espécies *Andira cuyabensis*, *Cecropia pachystachya*, *Phyllanthus amarus* e *Polygonum acuminatum* são utilizadas na medicina popular no Brasil (tabela 5).

Tabela 5: Propriedades etnomedicinais das espécies vegetais com importância reconhecida na medicina popular brasileira e que apresentam alta atividade como seqüestradoras de radicais livres

Espécies	Uso na Etnomedicina [#]
<i>Andira cuyabensis</i>	Vermífugo, ^e , digestivo ^e .
<i>Cecropia pachystachya</i>	Diurético, antitussígeno ^{e, g} , antiasmático, contra doenças coronarianas, cicatrizantes, antierisipela, contra doenças oculares, antidiabético, antidiarréico, antileucorréico ^e , antiblenorrágico ^g .
<i>Phyllanthus amarus</i>	Eliminador de pedras nos rins ^{a, e, i, i} , diurético ⁱ , antiácido-úrico ^e , antiinfecção urinária ^{h, i} , abortivo ^h , antiinfecção intestinal, antidiabético e anti-hepatite B ^a .
<i>Polygonum acuminatum</i>	Antiparasitário, antidisentérico, antiartrite ^{d, f} , anti-hemorróida ^{s, d, f} , adstringente, estimulante de apetite ^f , refrigerante, antileucorréica ^d , antigonorréico, antiulcera, antierisipela, cicatrizante, febrífuga.

Obs.: ^aCalixto *et al.*, 1998; ^bCorrêa, 1984; ^cMartins *et al.*, 1995; ^dMors *et al.*, 2000; ^ePott & Pott, 1994; ^fPott & Pott, 2000; ^gRodrigues & Carvalho, 2001; ^hSilva & Sales, 2004; ⁱTorres *et al.*, 2003

2.2- Purificação dos Extratos mais Ativos por meio de

Partições com Solventes Orgânicos

Os extratos aquosos das espécies vegetais mais ativas no ensaio antioxidante foram submetidos ao processo de precipitação com etanol. Este é um procedimento comum adotado pela equipe da Dra. Sônia Soares Costa, com o objetivo de separar as moléculas de maior peso molecular (macromoléculas) daquelas de menor peso molecular (Schmourlo, 2005).

O precipitado (PPT) encerra as macromoléculas, como as proteínas, os taninos e os polissacarídeos. As moléculas de menor peso molecular, tais como os flavonóides e os ácidos fenólicos, permanecem no sobrenadante (S) e são as de interesse nesta tese.

Uma alíquota dos extratos foi separada para realização deste processo. A amostra foi solubilizada em volume conhecido de água. Em seguida, foi adicionado igual volume de etanol (ETOH).

Essas misturas foram deixadas em repouso em geladeira por 48 horas e posteriormente, centrifugadas em temperatura ambiente e separados os sobrenadantes dos precipitados. Estes foram colocados em banho-maria (50° C) para evaporação do etanol residual.

O esquema 2 mostra o processo de fracionamento inicial do decocto. A tabela 6 sumariza os rendimentos desta técnica aplicada aos extratos com maior atividade antioxidante.

Esquema 2: Fracionamento dos extratos

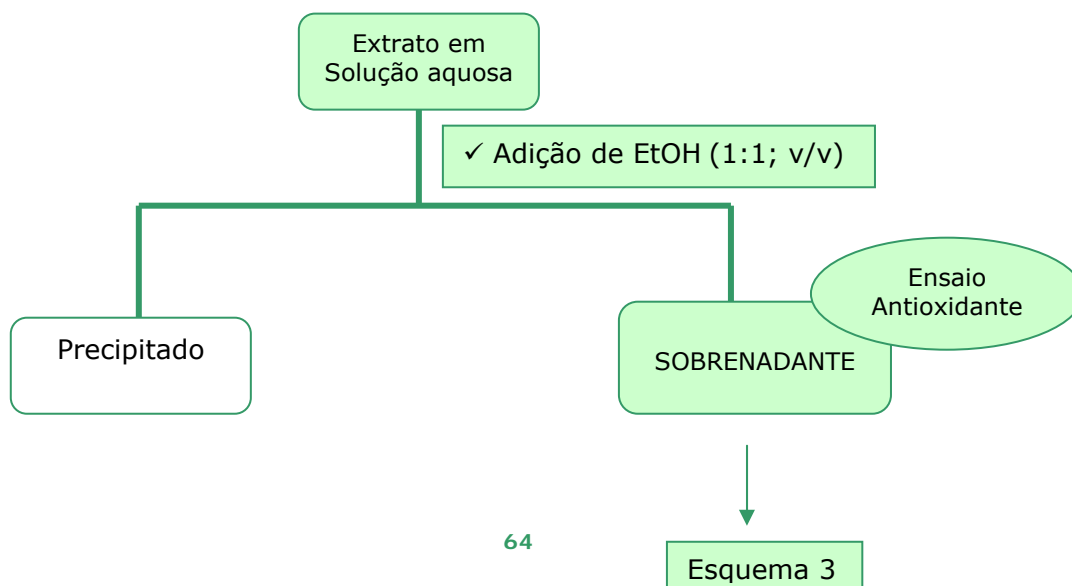


Tabela 6: Rendimento do processo de precipitação dos extratos com maior atividade antioxidante

Extratos Aquosos	Massa (mg)	Precipitado (PPT) Rendimento (%)	Sobrenadante (S) Rendimento (%)
<i>Andira cuyabensis</i>	350,7	7,3	92,7
<i>Cecropia pachystachya</i>	249,9	15,5	84,5
<i>Ludwigia nervosa</i>	1084,7	12,6	87,4
<i>Phyllanthus amarus</i>	480,8	13,8	86,2
<i>Polygonum acuminatum</i>	994,6	37,4	62,6
<i>Rynchanthera novemnervia</i>	505,4	35,6	64,4
<i>Sebastiania corniculata</i>	664,4	24,4	75,6

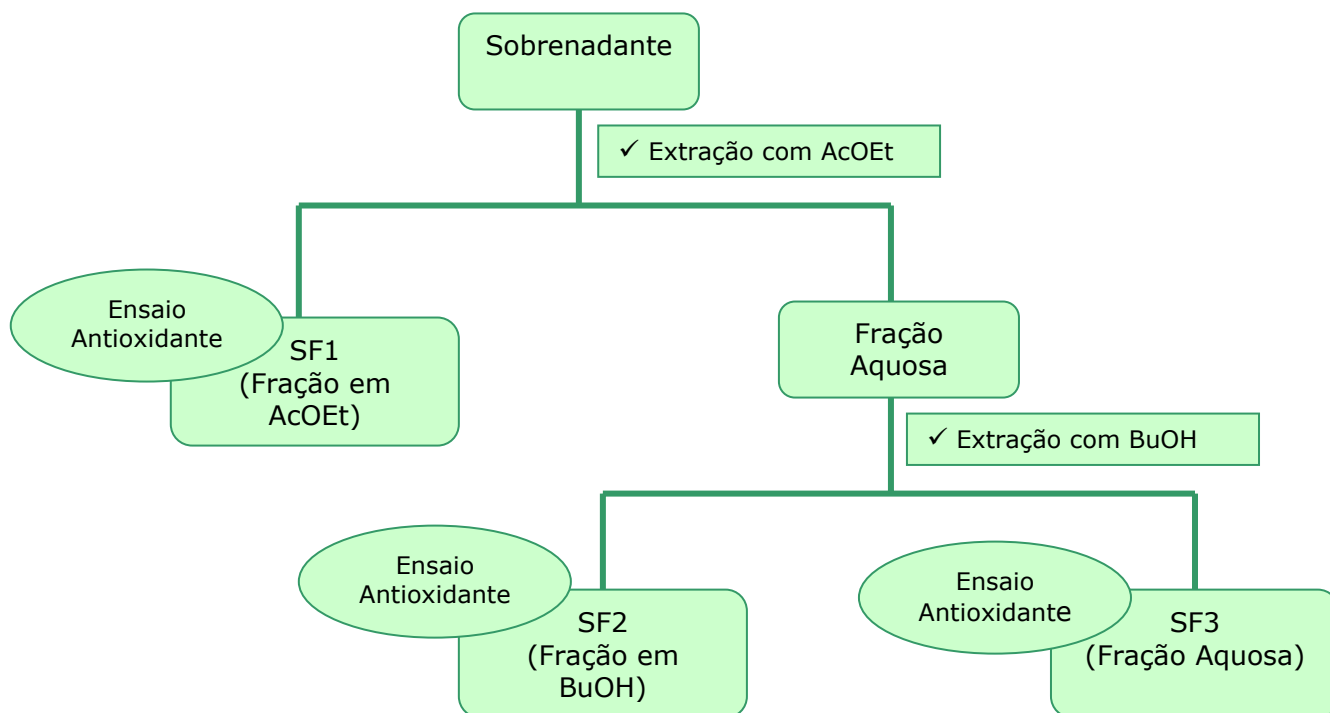
Obs.: Os rendimentos foram todos aproximados

Pode-se observar pelos rendimentos acima que o extrato da espécie *Andira cuyabensis* é aquele que apresenta menor concentração das macromoléculas, pois possui o menor percentual de precipitado (7,3%).

Os extratos das espécies *Polygonum acuminatum*, *Rynchanthera novemnervia* e *Sebastiania corniculata* foram os que apresentaram maior quantidade de micromoléculas no sobrenadante. Enquanto, que os extratos de *Cecropia pachystachya*, *Ludwigia nervosa* e *Phyllanthus amarus* possuem rendimento em torno de 80% para o sobrenadante.

Alíquotas dos sobrenadantes das espécies vegetais foram avaliadas no ensaio de atividade antioxidante e posteriormente foram submetidas ao processo de partição com solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade (esquema 3) (Simões *et al.*, 1999):

Esquema 3: Partição dos sobrenadantes dos extratos com maior atividade antioxidante



- ✓ Acetato de Etila (AcOEt) → extração das substâncias de polaridade mediana (por ex. flavonóides, cumarinas) existentes no sobrenadante (S). As frações em acetato de etila obtidas foram codificadas SF1;
- ✓ Álcool butílico (BuOH) → extração das substâncias mais polares (por ex. flavonóides glicosilados) existentes no sobrenadante (S). As frações em butanol obtidas foram codificadas SF2;
- ✓ As frações aquosas resultantes das partições (chamada de Fração Aquosa 3; SF3) encerram as substâncias muito polares, que não foram extraídas por nenhum dos dois solventes orgânicos utilizados. Após a retirada dos solventes residuais por evaporação, as frações aquosas foram liofilizadas.

As frações orgânicas foram, primeiramente, secas com sulfato de sódio (Na_2SO_4) para retirada da água residual das partições e filtradas em algodão.

As frações foram evaporadas até a completa secura, ressuspensas em água e posteriormente liofilizadas para quantificação e o rendimento da partição (tabela 7).

Tabela 7: Rendimento do processo de partição

Extratos Aquosos	Sobrenadante (S) (mg)	SF1 (mg)	SF2 (mg)	SF3 (mg)	Rendimento (%)
<i>Andira cuyabensis</i>	305,7	16,1	48,8	121,3	92,3
<i>Cecropia pachystachya</i>	190,3	1,6	19,3	47,4	96,6
<i>Ludwigia nervosa</i>	826,8	170,2	175,8	428,7	93,7
<i>Phyllanthus amarus</i>	414,3	36,4	61,0	198,4	95,2
<i>Polygonum acuminatum</i>	575,4	1,6	14,6	47,4	100,0
<i>Rynchanthera novemnervia</i>	305,7	24,1	39,1	246,9	95,6
<i>Sebastiania corniculata</i>	430,5	17,9	38,5	108,9	91,8

Obs.: Massa (mg) SF1- Acetato de Etila (AcOEt); Massa (mg) SF2- Álcool butílico (Butanol - BuOH); Massa (mg) SF3- frações aquosas resultantes das partições

Os processos de partição para todas as plantas mostraram bons rendimentos. Todas as etapas das partições dos extratos mais ativos foram acompanhadas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD).

3.0- CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DE EXTRATOS E FRAÇÕES (PARTIÇÕES)

A cromatografia é um processo físico-químico de separação dos componentes de uma mistura de substâncias, no qual o fluxo do solvente promove a separação dos componentes da mistura num meio poroso.

Esta distribuição se dá entre duas fases que estão em contato íntimo, onde uma delas permanece estacionária e a outra se move através da mesma. Através da relação gerada entre fase estacionária/substâncias/fase móvel consegue-se uma separação mais efetiva dos componentes da mistura.

Existem diversas modalidades de cromatografia, tais como: partição, troca iônica, filtração molecular e adsorção (Simões *et al.*, 1999).

Neste trabalho foi utilizada a técnica de cromatografia por adsorção. Placas cromatográficas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20). Foram cortadas na medida de 5 cm de comprimento e as aplicações das amostras feitas a aproximadamente 0,7 cm acima da borda do inferior da placa e cerca de 0,5 cm de distância das bordas laterais. A técnica de CCD foi usada para avaliação das substâncias fenólicas constituintes dos extratos em comparação com padrões.

As substâncias pertencentes a um extrato podem ser visualizadas por CCD diretamente, através de luz ultravioleta (UV) e exposição de vapores de amônia, ou através de reagentes cromogênicos. Assim, para a detecção dos flavonóides podem ser utilizados os reagentes gerais para fenóis, como cloreto férrico, vanilina, sulfato cérico e outros em meio ácido (Simões *et al.*, 1999).

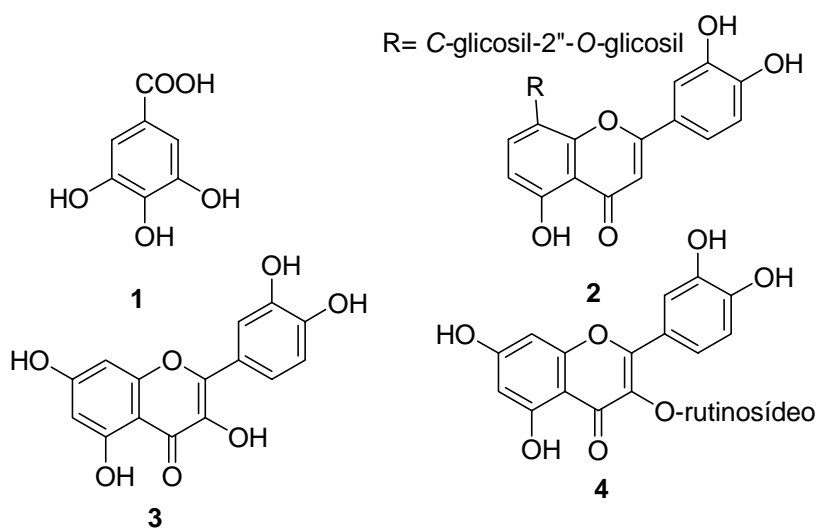
O sistema de solvente utilizado para eluição cromatográfica por CCD foi BAW (8:1:1) (*n*-butanol/ácido acético glacial/água destilada), como reveladores foram utilizados a luz ultravioleta (UV) (254 e 332 nm) e como revelador químico o sulfato cérico.

Todas as amostras de decoctos foram aplicadas na concentração de 6 mg/ml (p/v) e os padrões com esqueleto fenólico nas concentrações de 1 mg/ml. Todas as amostras foram aplicadas com volume de 20 µl (m= 120 µg) (cromatogramas não apresentados).

Foram utilizados quatro padrões fenólicos nessas análises. Os fatores de referência (R_f) estão indicados abaixo, assim como, a coloração observada sob a luz UV e após revelação com sulfato cérico para cada substância:

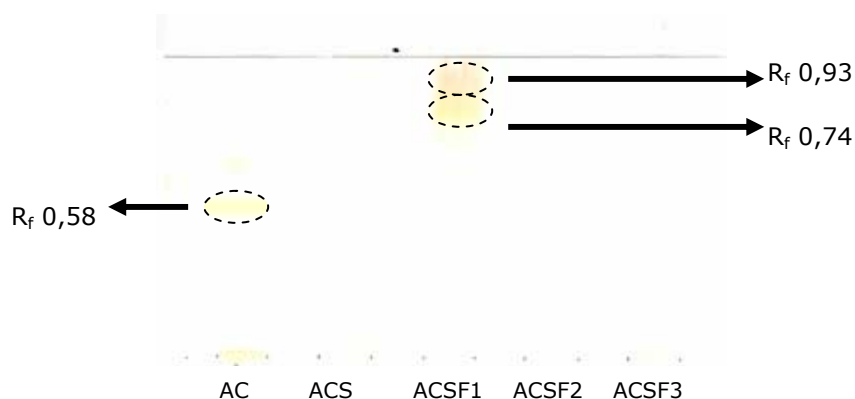
- 1) -ácido gálico (padrão Vetec): este é um ácido fenólico que faz parte do metabolismo de estresse de plantas (R_f 0,86; UV= azul; cinza);
- 2) -2''-O- β -glucosilvitexina (Laboratório NPPN): trata-se de uma flavona glicosilada (R_f 0,56; UV= roxa; amarela);
- 3) -quercetina (doação do Prof. Nuno A. Pereira, Depto. de farmacologia-UFRJ): esta substância é um flavonol (R_f 0,89; UV= roxa; amarela);
- 4) -rutina (doação UFRJ): trata-se um flavonol diglicosilado na posição 3 da quercetina (R_f 0,58; UV= amarela fluorescente; amarela).

Estes padrões foram utilizados para direcionar as análises por CCD, uma vez que esses representam substâncias comumente presentes nas plantas.



Na tentativa de se avaliar o perfil cromatográfico da espécie *A. cuyabensis*, o extrato (decocto), o sobrenadante e as frações (SF1; SF2 e SF3) foram submetidos à Cromatografia em Camada Delgada (figura 3).

Figura 3: Cromatograma em camada delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Andira cuyabensis* após revelação com sulfato cérico.



Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: solução de sulfato cérico; AC (decocto); ACS (sobrenadante); ACSF1 (fração em acetato de etila); ACSF2 (fração em butanol) e ACSF3 (fração aquosa).

No sistema de solventes utilizado verifica-se que a concentração de substâncias fenólicas no extrato bruto é muito baixa, porém é possível observar uma mancha característica para flavonóides, cujo R_f está em torno de 0,58 e a revelação sob luz UV apresenta coloração amarela.

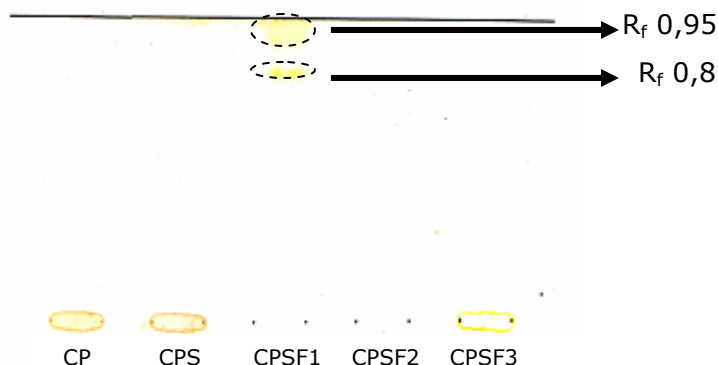
O local de aplicação da amostra (R_f= 0) apresentou coloração amarela, indicando a presença de substâncias fenólicas muito polares.

Esta mancha majoritária observada em AC (R_f 0,58) pode representar um conjunto de substâncias. Este fato indica que esta mancha pode ter sido desmembrada em outras, visto o que foi observado na fração ACSF1 (fração em acetato de etila). Pode-se notar que na fração ACSF1 (fração em acetato de etila) existem duas manchas compatíveis para flavonóides (R_f 0,74 e R_f 0,93), entretanto, nenhuma mancha característica para essa classe de substâncias foi verificada para ACSF2 (fração em butanol).

Na fração ACSF3 (fração aquosa) não se observou nenhuma mancha compatível com flavonóides de R_f mais alto. A mancha de R_f zero foi concentrada nesta fração.

O mesmo procedimento adotado acima foi realizado em *C. pachystachya*, para avaliação do perfil cromatográfico da espécie. O extrato (decocto), o sobrenadante e as frações (CPSF1; CPSF2 e CPSF3) foram submetidas a CCD (figura 4).

Figura 4: Cromatograma em camada delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Cecropia pachystachya* após revelação com sulfato cérico.



Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: solução de sulfato cérico; CP (decocto); CPS (sobrenadante); CPSF1 (fração em acetato de etila); CPSF2 (fração em butanol) e CPSF3 (fração aquosa).

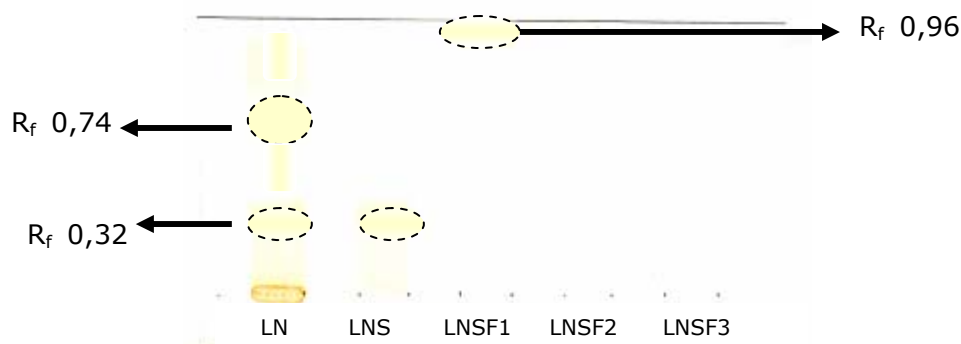
No sistema de solventes utilizado verifica-se que a concentração de substâncias fenólicas é muito baixa no extrato da planta (CP), porém é possível observar duas manchas características para substâncias fenólicas na fração em acetato de etila (CPSF1) e cujos R_f estão em torno de 0,8 e 0,95, que sob revelação de luz UV apresentam coloração azul.

Pode-se notar que a mancha amarela (R_f zero) após revelação com sulfato cérico, que se encontra tanto no extrato (CP) quanto no sobrenadante (CPS), está presente na fração CPSF3 (fração aquosa), o que indica a existência de substâncias muito polares.

Nas frações CPSF2 (fração butanólica) e CPSF1 (fração em acetato de etila) não são observadas manchas R_f zero, o que significa que o processo de partição foi eficiente na separação das substâncias muito polares.

As amostras de decocto, sobrenadante e das frações (LNSF1; LNSF2 e LNSF3) da espécie *Ludwigia nervosa* foram submetidas a CCD (figura 5).

Figura 5: Cromatograma em camada delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Ludwigia nervosa* após revelação com sulfato cérico.



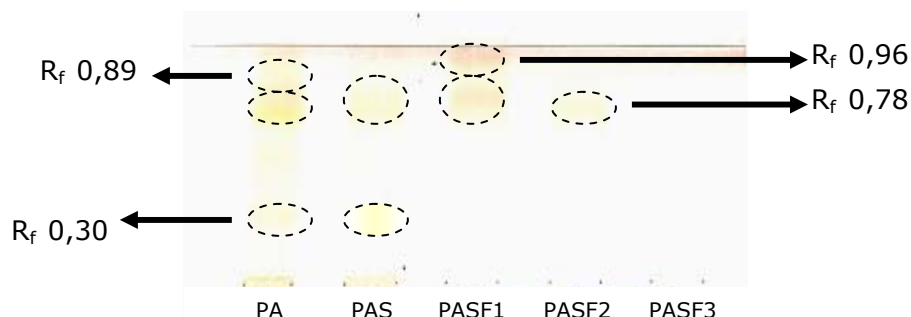
Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: solução de sulfato cérico; LN (decocto); LNS (sobrenadante); LNSF1 (fração em acetato de etila); LNSF2 (fração em butanol) e LNSF3 (fração aquosa).

Para o decocto de *L. nervosa* (LN) no sistema de solventes utilizado, observa-se um arraste ligeiramente amarelado, entretanto são detectadas duas manchas majoritárias (R_f 0,32 e 0,74, ambas apresentam cor roxa, quando reveladas sob luz UV). A fração LNS apresentou uma substância com características fenólicas com mesmo R_f 0,32, que o observado no extrato.

As frações LNSF2 (butanólica) e LNF3 (aquosa) não apresentaram manchas características para flavonóides, entretanto, foi possível observar uma mancha compatível com flavonóides não glicosilados para a fração em acetato de etila (LNSF1) e cujo R_f está em torno de 0,96 e sob revelação da luz UV apresenta coloração azul.

O perfil cromatográfico do extrato (decocto-PA), o sobrenadante (PAS) e as frações (PASF1; PASF2 e PASF3) da espécie *P. amarus* também foram avaliados por CCD (figura 6).

Figura 6: Cromatograma em camada delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Phyllanthus amarus* após revelação com sulfato cérico.



Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: solução de sulfato cérico; PA (decocto); PAS (sobrenadante); PASF1 (fração em acetato de etila); PASF2 (fração em butanol) e PASF3 (fração aquosa).

No sistema de solventes utilizado, verifica-se que existem três (R_f 0,30; 0,78 e 0,89, as três manchas apresentam coloração roxa, quando reveladas sob luz UV) manchas majoritárias características de substâncias fenólicas na amostra referente ao decocto (PA).

Observam-se duas manchas características para flavonóides (R_f 0,30 e 0,78) no sobrenadante (PAS). A fração em acetato de etila (PASF1) apresenta uma mancha com mesmo R_f (0,78) daquela observada para o decocto e para o sobrenadante. Nesta mesma fração existe uma outra mancha (R_f 0,96, sob luz UV apresenta coloração azul), com características apolares (possivelmente flavonóides não glicosilados).

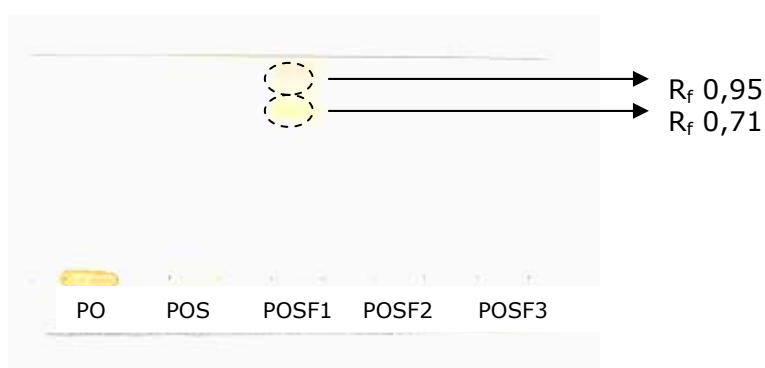
Para a fração butanólica (PASF2) nota-se uma substância com mancha característica de flavonóides com R_f (0,78), igual ao observado nas amostras do decocto (PA), no sobrenadante (PAS) e na fração em acetato de etila (PASF1).

A figura abaixo mostra o perfil em CCD do decocto da espécie *Polygonum acuminatum*. Pode-se notar que os flavonóides presentes em *P. acuminatum* são minoritários. Entretanto, verifica-se duas manchas majoritárias e características para essa classe de substâncias na fração em acetato de etila (POSF1). Estas manchas sob revelação de luz UV apresentam coloração roxa.

Esse fato indica que o processo de partição foi eficiente, tendo sido concentrados na fração em acetato de etila (POSF1) os flavonóides de *P. acuminatum*.

Nenhuma mancha para flavonóides foi observada no sobrenadante ou nas frações butanólica (POSF2) e aquosa (POSF3).

Figura 7: Cromatograma em camada delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Polygonum acuminatum* após revelação com sulfato cérico.



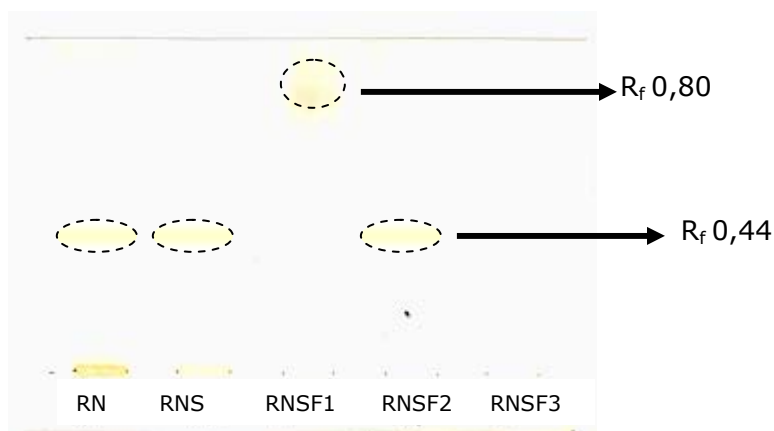
Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: solução de sulfato cérico; PO (decocto); POS (sobrenadante); POSF1 (fração em acetato de etila); POSF2 (fração em butanol) e POSF3 (fração aquosa).

A figura 8 mostra que existem 2 manchas majoritárias características para flavonóides no extrato da espécie *Rynchanthera novemnervia* (RN). Uma delas possui R_f 0,44 (apresenta coloração amarela quando revelada sob luz UV). Esta mancha pode ser observada no decocto (RN), no sobrenadante (RNS) e na fração butanólica (RNSF2). Este fato indica que o butanol foi capaz de extrair um flavonóide bastante polar do sobrenadante sem deixar traços desta substância na fração aquosa final (RNSF3).

O processo de partição foi efetivo, pois se pode verificar por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) que existe uma mancha com características para flavonóides, cujo R_f está em torno de 0,80 (se observa coloração azul quando revelada sob luz UV) na fração em acetato de etila (RNSF1). Este fato significa que esta substância aparentemente inexistente no decocto (RN) foi concentrada na fração em acetato de etila (RNSF1).

Nenhuma mancha correspondente a flavonóides foi detectada na fração aquosa (RNSF3).

Figura 8: Cromatograma em camada delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Rynchanthera novemnervia* após revelação com sulfato cérico.

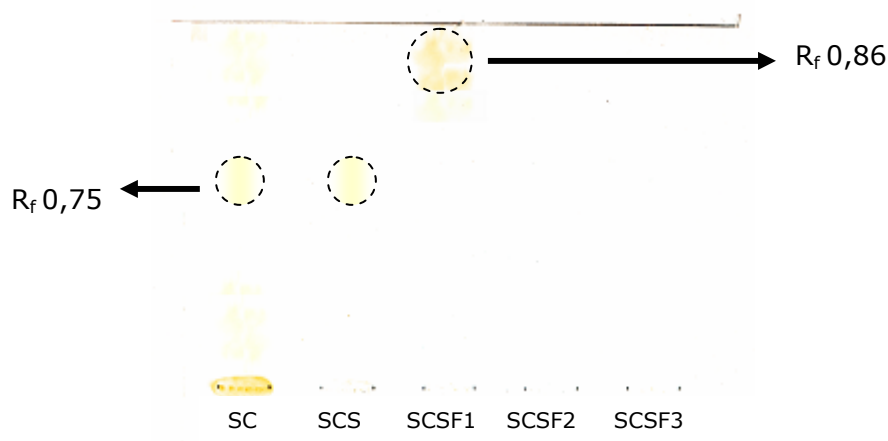


Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: solução de sulfato cérico; RN (decocto); RNS (sobrenadante); RNSF1 (fração em acetato de etila); RNSF2 (fração em butanol) e RNSF3 (fração aquosa).

Na figura 9, pode-se avaliar o perfil de *Sebastiania corniculata* com base no cromatograma. Esta espécie também se mostra pobre em flavonóide, tendo sido observada apenas uma mancha com características para flavonóides (R_f 0,75 quando revelada sob luz UV e se observa coloração roxa). Verifica-se que este valor de R_f está presente no sobrenadante (SCS).

Na fração em acetato de etila (SCSF1) observa-se a existência de uma mancha majoritária (R_f 0,86) característica de substâncias fenólicas e se observa coloração azul, quando revelada sob luz UV.

Figura 9: Cromatograma em camada delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Sebastiania corniculata* após revelação com sulfato cérico.



Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: solução de sulfato cérico; SC (decocto); SCS (sobrenadante); SCSF1 (fração em acetato de etila); SCSF2 (fração em butanol) e SCSF3 (fração aquosa).

Observa-se que todos os cromatogramas em CCD para os extratos brutos das plantas apresentados acima existe uma mancha na origem (R_f zero), esta mancha indica que existem substâncias muito polares.

Quando o processo de partição foi realizado, no sobrenadante verifica-se a ausência, ou ainda, uma mancha menos concentrada na origem (R_f zero). Este fato é marcante principalmente para *Andira cuyabensis*, *Ludwigia nervosa*, *Phyllanthus amarus* e *Polygonum acuminatum*.

4.0- ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS PARTIÇÕES DOS EXTRATOS MAIS ATIVOS DAS PLANTAS FRENTE AO RADICAL LIVRE 1,1-DIFENIL-2-PICRIL-HIDRAZIL (DPPH).

O sobrenadante e as frações SF1 (fração em acetato de etila); SF2 (fração em álcool butílico) e SF3 (frações aquosas resultantes das partições) dos extratos das espécies vegetais *Andira cuyabensis*, *Cecropia pachystachya*, *Ludwigia nervosa*, *Phyllanthus amarus*, *Polygonum acuminatum*, *Sebastiania corniculata* e *Rynchanthera novemnervia* foram submetidos aos ensaios antioxidantes frente ao radical DPPH.

A tabela 8 mostra o percentual de atividade antioxidante do sobrenadante.

Tabela 8: Atividade antioxidante dos sobrenadantes dos extratos mais ativos das plantas, obtidos após precipitação etanólica e do padrão fenólico BHT.

Espécies Vegetais	Atividade Antioxidante (%)				
	Concentrações				
	1000 µg/ml	100 µg/ml	10 µg/ml	1 µg/ml	0,1 µg/ml
<i>A. cuyabensis</i>	89,8	74,0	49,8	18,8	17,5
<i>C. pachystachya</i>	87,6	74,5	41,1	17,1	16,8
<i>L. nervosa</i>	90,3	76,8	76,1	31,6	13,9
<i>P. acuminatum</i>	86,9	77,1	37,8	14,5	13,5
<i>P. amarus</i>	90,3	89,3	81,9	34,6	25,6
<i>R. novemnervia</i>	91,9	85,1	82,7	27,3	18,2
<i>S. corniculata</i>	90,9	90,0	70,7	25,2	14,8
BHT	100,0	52,1	43,6	32,6	21,0

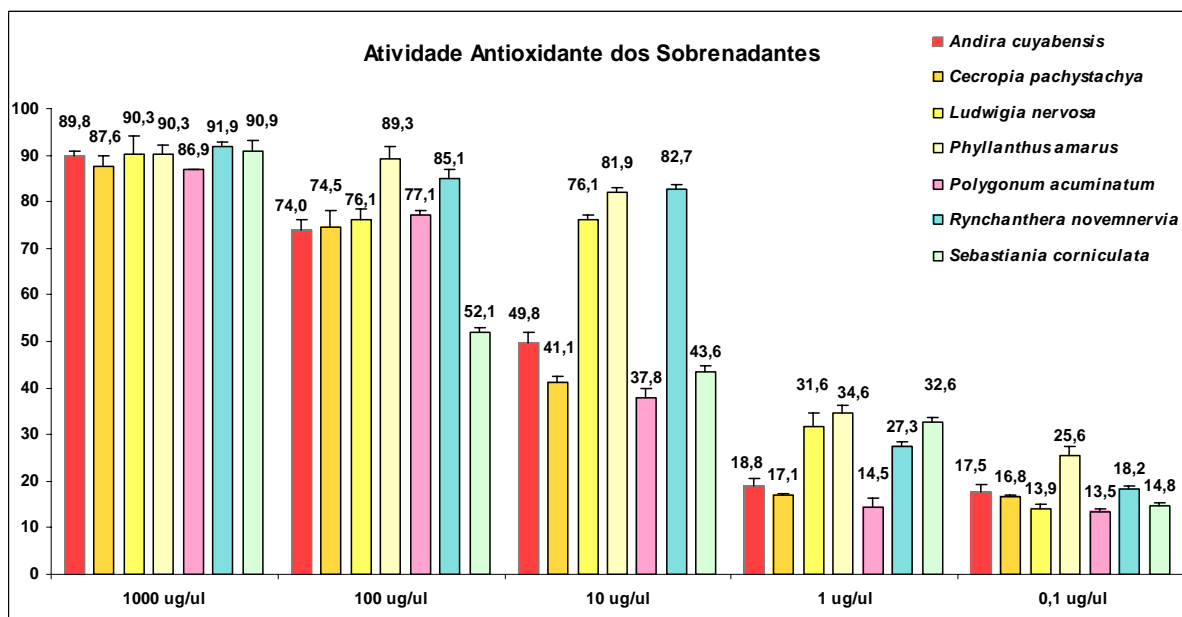
Obs.: A cor azul indica que o sobrenadante dos extratos da espécies *P. amarus*, *R. novemnervia* e *S. corniculata* são os mais ativos. BHT [2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol]

Pode-se verificar que os sobrenadantes dos extratos das espécies vegetais *A. cuyabensis*, *C. pachystachya*, *L. nervosa*, *P. amarus*, *P. acuminatum*, *S. corniculata* e *R. novemnervia* mantiveram a atividade antioxidante evidenciada para os extratos brutos, embora em percentuais de atividade mais baixos.

Os sobrenadantes dos extratos das espécies *P. amarus*, *R. novemnervia* e *S. corniculata* são os mais ativos. Esses sobrenadantes permanecem muito ativos (maiores ou iguais a 70,0%) até a concentração de 10 µg/ml.

Apenas o sobrenadante da espécie *P. amarus* permaneceu ativo na concentração mais baixa (0,1µg/ml) e próximo ao observado para o padrão BHT (2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol). A figura 10 mostra a curva de atividade para as espécies testadas em distintas concentrações.

Figura 10: Atividade antioxidante do sobrenadante dos extratos mais ativos das plantas e do padrão fenólico BHT



Obs.: BHT (2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol)

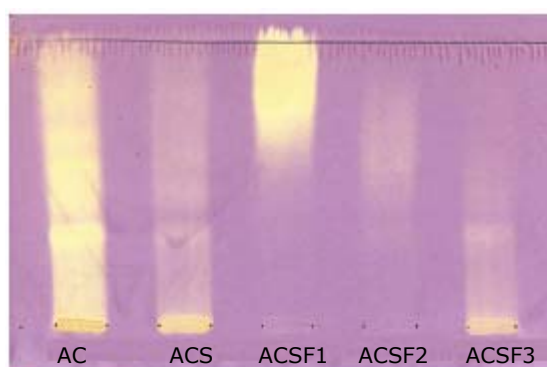
Os extratos e suas partições das sete planta mais ativas também foram avaliados quanto à capacidade seqüestradora de radicais livres por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando amostras na concentração de 6 mg/ml (aplicação de 120 µg).

Seguindo o procedimento utilizado por Cavin *et al.* (1998), o decocto, o sobrenadante e as frações do processo de partição das espécies vegetais mais ativas foram submetidas à revelação com DPPH. Este procedimento foi realizados após todas as amostras dos extratos e frações das plantas mais ativas serem avaliados por Cromatografia em Camada Delgada e reveladas com sulfato cérico.

O sulfato cérico revela em amarelo as substâncias fenólicas (Simões *et al.*, 1999). Já o DPPH revela em amarelo qualquer substância capaz de reduzi-lo (Cavin *et al.*, 1998). Portanto, para esta revelação as manchas são mais numerosas e até mais intensas com o DPPH.

Nesta metodologia as amostras foram avaliadas apenas de forma qualitativa quanto ao perfil antioxidante por CCD. Esse processo consiste em borrifar os cromatogramas com a solução de 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) e após 10 minutos de espera, para que a placa seque a temperatura ambiente, observam-se manchas amarelas que correspondem às substâncias capazes de seqüestrar os radicais livres (figura 11) (Cavin *et al.*, 1998). O fundo lilás corresponde à superfície onde o DPPH permaneceu intacto.

Figura 11: Cromatografia em Camada Delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Andira cuyabensis* reveladas com 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).

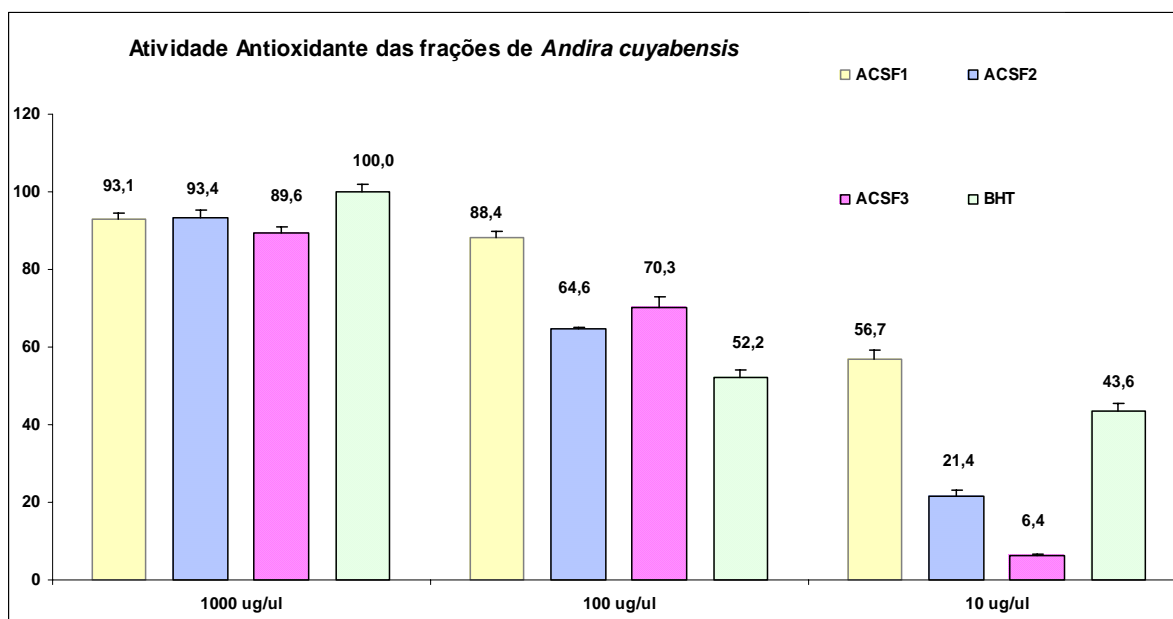


Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).; AC (decocto); ACS (sobrenadante); ACSF1 (fração em acetato de etila); ACSF2 (fração em butanol) e ACSF3 (fração aquosa).

Verifica-se que o decocto possui atividade antioxidante, representada pelo arraste amarelo. Este fato indica que existe um conjunto de substâncias que podem estar atuando como redutoras dos radicais livres. O sobrenadante e as frações ACSF2 e ACSF3 possuem coloração menos intensa, o que indica que são menos ativas.

Os flavonóides observados na fração ACSF1 (figura 3) parecem ser os responsáveis pela atividade observada nesta fração. ACSF1 apresentou melhor atividade na concentração mais baixa avaliada (10 μ g/ml) do que o decocto e o sobrenadante de *A. cuyabensis*. Esse fato indica que a partição efetuada para essa espécie concentrou as substâncias ativas na fração em acetato de etila (ACSF1).

A figura 12 mostra a atividade antioxidante frente ao DPPH (*in vitro*) das frações ACSF1 (fração em acetato de etila), ACSF2 (fração em álcool butílico) e ACSF3 (fração aquosa resultante das partições) do extrato da espécie vegetal *A. cuyabensis*.

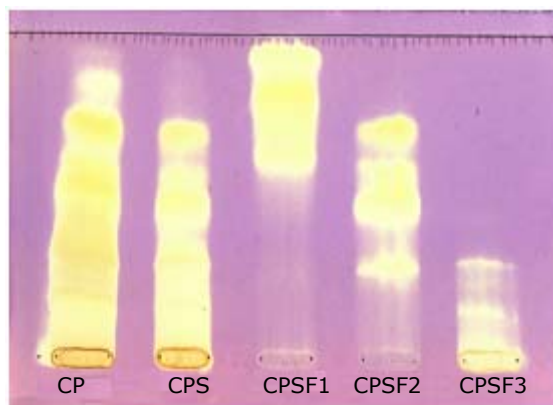
Figura 12: Atividade antioxidante das frações de *Andira cuyabensis*

Obs: ACSF1 (fração em acetato de etila); ACSF2 (fração em álcool butílico); ACSF3 (fração aquosa resultante das partições) e BHT [2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol].

A figura acima mostra que todas as frações de *A. cuyabensis* são ativas, porém ACSF1 (fração em acetato de etila) foi aquela que apresentou melhor perfil de atividade, seguida pelas frações butanólica (ACSF2) e aquosa (ACSF3) quando comparada com padrão BHT (2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol).

O mesmo procedimento adotado para a espécie *A. cuyabensis* foi realizado com o extrato de *C. pachystachya*. A CCD foi revelada com solução de 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) e observou-se manchas amarelas que correspondem às substâncias capazes de sequestrar os radicais livres (figura 13).

Figura 13: Cromatografia em Camada Delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Cecropia pachystachya* reveladas com 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).

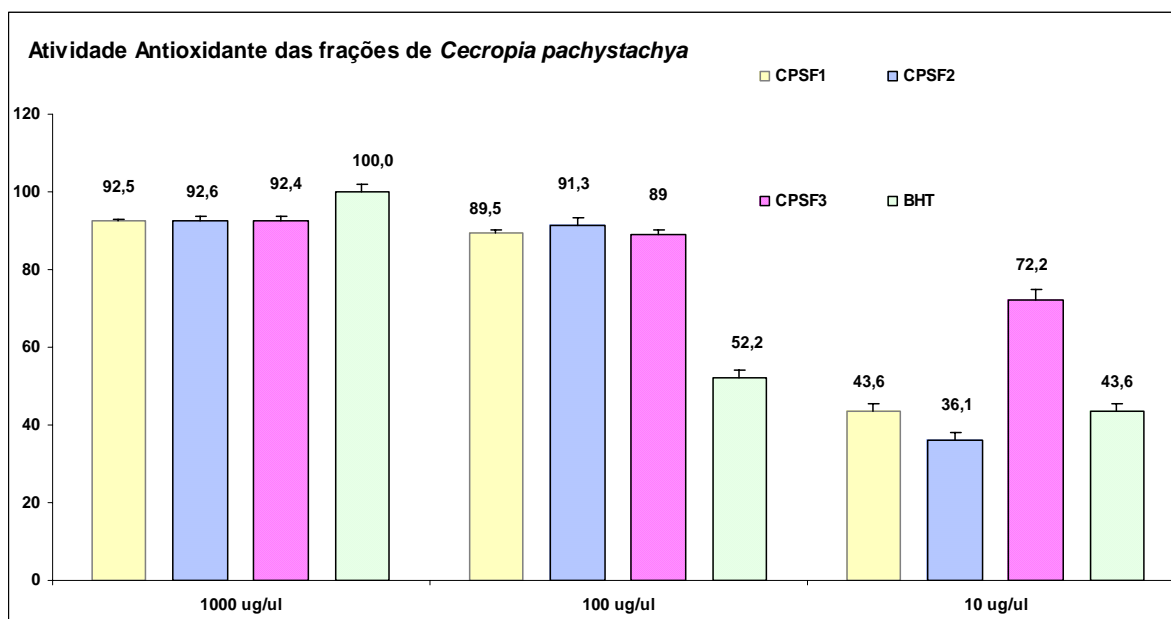


Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).; CP (decocto); CPS (sobrenadante); CPSF1 (fração em acetato de etila); CPSF2 (fração em butanol) e CPSF3 (fração aquosa).

O cromatograma exposto acima mostra que são várias as substâncias que podem estar atuando como seqüestradoras de radicais livres tanto no decocto (CP), quanto no sobrenadante (CPS). Este fato é evidenciado pelo arraste observado em ambas as amostras.

Como essa técnica é apenas qualitativa, a partição do sobrenadante foi eficiente no que se refere à separação das substâncias por polaridade e além disto, nota-se que todas as frações são ativas neste modelo.

A figura 14 mostra o percentual de atividade antioxidante frente ao DPPH (*in vitro*) das frações CPSF1 (fração em acetato de etila), CPSF2 (fração em álcool butílico) e CPSF3 (fração aquosa resultante das partições) do extrato da espécie vegetal *C. pachystachya*.

Figura 14: Atividade antioxidante das frações de *Cecropia pachystachya*

Obs: CPSF1 (fração em acetato de etila); CPSF2 (fração em álcool butílico); CPSF3 (fração aquosa resultante das partições) e BHT [2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol].

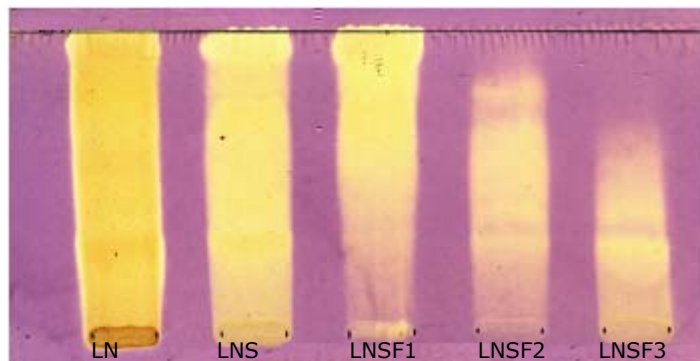
A figura acima mostra que mesmo na concentração mais baixa (10 µg/ml), as amostras testadas possuem atividade seqüestradora de radicais livres quando comparadas ao padrão fenólico BHT.

Nota-se que todas as frações de *C. pachystachya* foram ativas, ou seja, não existem diferenças significativas para as frações CPSF1, CPSF2 e CPSF3. Porém a fração aquosa (CPSF3) foi aquela que apresentou melhor atividade na concentração mais baixa. Isto indica que as substâncias mais ativas devem ser muito polares.

A placa de CCD do extrato e das frações de *Ludwigia nervosa* foi revelada com solução de 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) (figura 15).

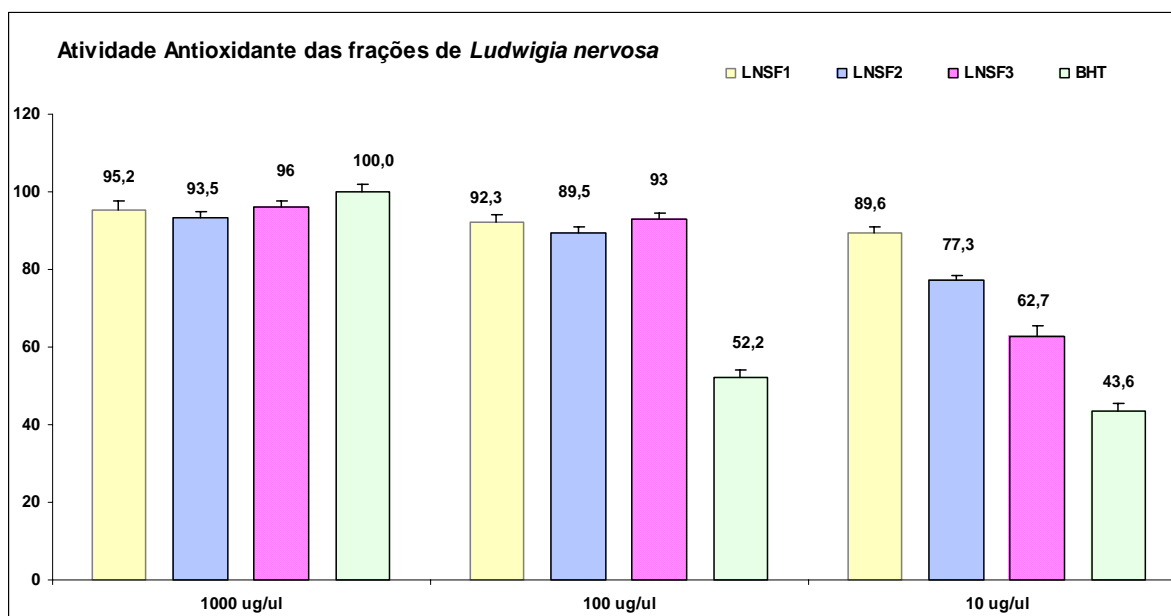
Verifica-se a existência de um arraste amarelo em todas as amostras: decocto (LN), sobrenadante (LNS), fração em acetato de etila (LNSF1), fração butanólica (LNSF2) e a fração aquosa (LNSF3). Estes arrastes correspondem às substâncias que são capazes de seqüestrar os radicais livres (figura 15).

Figura 15: Cromatografia em Camada Delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Ludwigia nervosa* revelada com 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).



Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH); LN (decocto); LNS (sobrenadante); LNSF1 (fração em acetato de etila); LNSF2 (fração em butanol) e LNSF3 (fração aquosa).

Na figura 16 observa-se o perfil de atividade antioxidante frente ao DPPH (*in vitro*) das frações LNSF1 (fração em acetato de etila), LNSF2 (fração em álcool butílico) e LNSF3 (fração aquosa resultante das partições) do extrato da espécie vegetal *L. nervosa*.

Figura 16: Atividade antioxidante das frações de *Ludwigia nervosa*

Obs: LNSF1 (fração em acetato de etila); LNSF2 (fração em álcool butílico); LNSF3 (fração aquosa resultante das partições) e BHT [2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol].

Pode-se observar que na concentração mais alta (1000 µg/ml), todas as frações de *L. nervosa* possuem atividade antioxidante muito próximas do padrão. Entretanto, nas outras duas concentrações (100 e 10 µg/ml), as frações (LNSF1, LNSF2 e LNSF3) são mais ativas do que o padrão BHT (2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol).

Nota-se que todas as frações de *L. nervosa* foram ativas, porém a fração em acetato de etila (LNSF1) foi aquela que apresentou melhor atividade na concentração mais baixa (10 µg/ml).

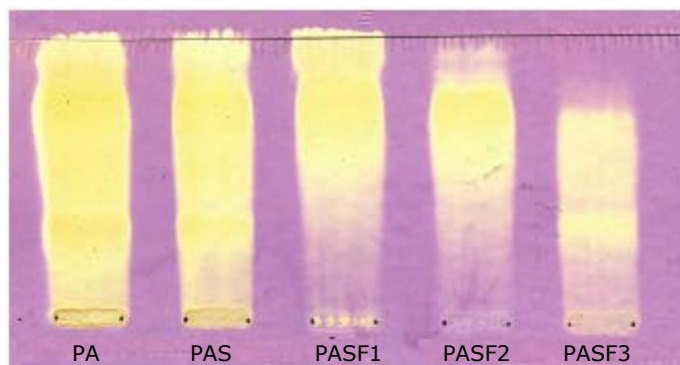
Estes resultados são coerentes com aqueles observados para os ensaios realizados em CCD e revelados com DPPH (figura 15). Todas as amostras apresentam um arraste, o que indica que todas as amostras possuem ação redutora dos radicais livres.

Os perfis observados para as amostras de *L. nervosa* são semelhantes ao observado para as amostras provenientes de *P. amarus*. Pode-se notar que o decocto (PA), o sobrenadante (PAS) e todas as frações: em acetato de etila (PASF1), fração em butanol (PASF2), a aquosa (PASF3), apresentam atividade antioxidante.

Para todas essas amostras foram observadas as existências de arraste em CCD revelada com DPPH (figura 17). O arraste não permite detectar o R_f de uma única

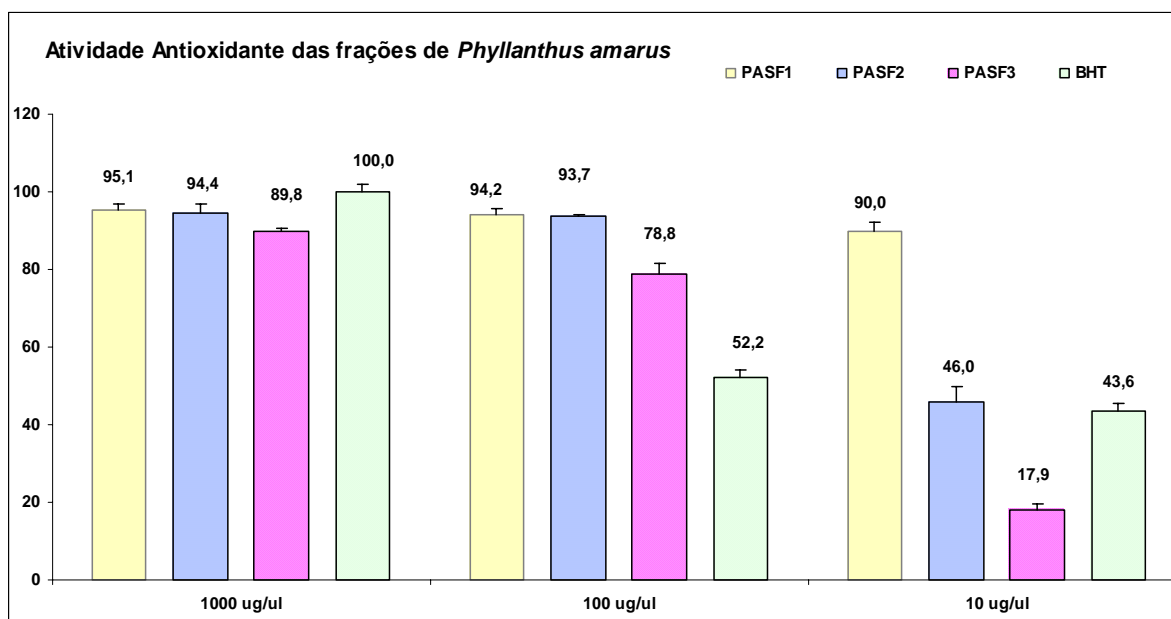
substância, mas sim, que existem substâncias capazes de estarem atuando como sequestradoras de radicais livres.

Figura 17: Cromatografia em Camada Delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Phyllanthus amarus* reveladas com 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).



Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH); PA (decocto); PAS (sobrenadante); PASF1 (fração em acetato de etila); PASF2 (fração em butanol) e PASF3 (fração aquosa).

Na figura 18 observa-se o percentual de atividade antioxidante frente ao DPPH (*in vitro*) das frações PASF1 (fração em acetato de etila), PASF2 (fração em álcool butílico) e PASF3 (fração aquosa resultante das partições) do extrato da espécie vegetal *P. amarus*.

Figura 18: Atividade antioxidante das frações de *Phyllanthus amarus*

Obs: PASF1 (fração em acetato de etila); PASF2 (fração em álcool butílico); PASF3 (fração aquosa resultante das partições) e BHT [2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol].

Todas as frações de *P. amarus* (PASF1, PASF2 e PASF3) na concentração de 100 µg/ml possuem atividade antioxidante maiores do que o padrão BHT (2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol).

Nota-se que todas as frações de *P. amarus* foram ativas, porém a fração em acetato de etila (PASF1) foi aquela que se manteve ativa em torno de 90% na concentração mais baixa (10 µg/ml).

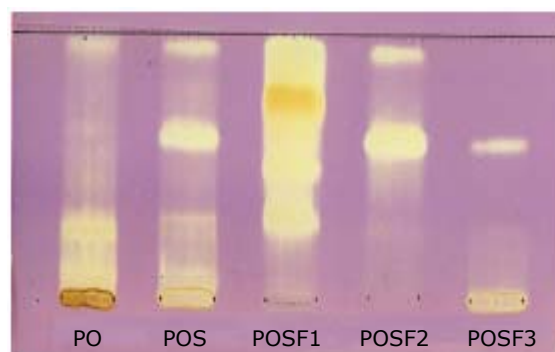
A espécie *P. acuminatum* apresenta também atividade antioxidante para o decocto (PO), o sobrenadante (POS) e todas as frações: em acetato de etila (POSF1), fração em butanol (POSF2) e a aquosa (POSF3).

Diferentemente ao observado para as outras espécies anteriormente apresentadas, *P. acuminatum* mostra que a atividade seqüestradora de radicais livres parece estar mais evidente na fração em acetato de etila (POSF1) (figura 19).

Dessa forma, conclui-se que o processo de partição foi efetivo por ter concentrado as substâncias mais ativas na fração em acetato de etila (POSF1). Ou seja, esta é a fração que apresenta maior concentração de substâncias com capacidade seqüestradoras de radicais livres.

Para as frações POSF2 (fração butanólica) e POSF3 (fração aquosa) observa-se apenas algumas manchas referentes às substâncias que atuam como antioxidante.

Figura 19: Cromatografia em Camada Delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Polygonum acuminatum* reveladas com 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).

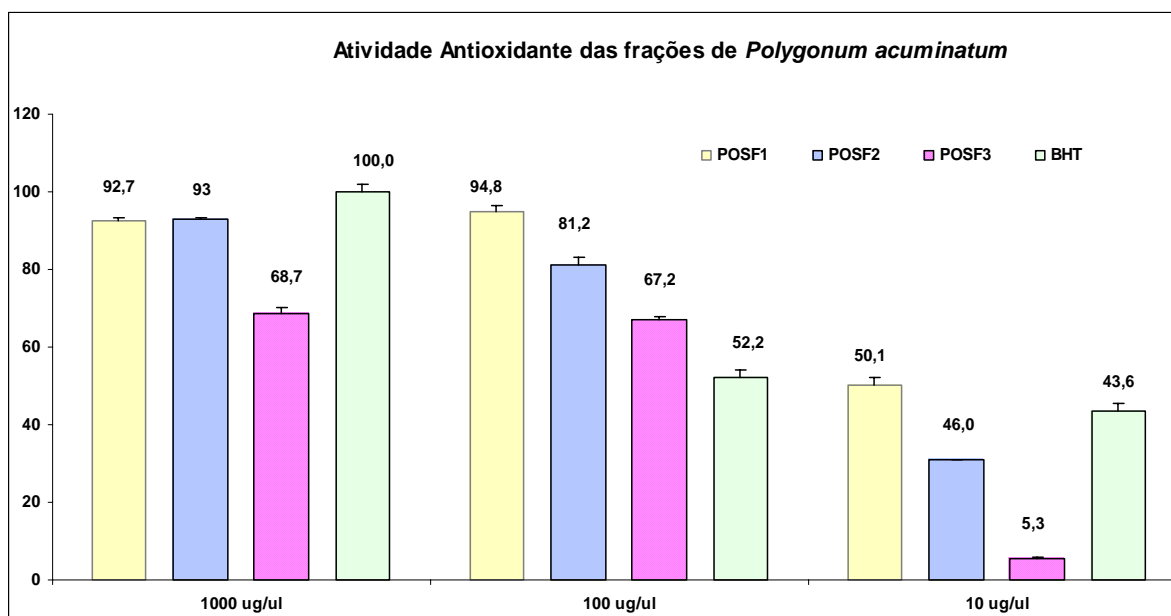


Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH); PO (decocto); POS (sobrenadante); POSF1 (fração em acetato de etila); POSF2 (fração em butanol) e POSF3 (fração aquosa).

A figura 20 mostra a atividade seqüestradora de radicais livres da espécie *P. acuminatum* frente ao DPPH (*in vitro*). Todas as frações (POSF1, POSF2 e POSF3) na concentração de 100 μ g/ml possuem atividade antioxidante maiores do que o padrão BHT (2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol). Além disto, pode-se observar que a fração em acetato de etila (POSF1) é aquela que apresenta maior percentual de atividade seqüestrante de radicais livres.

A fração butanólica (POSF2) também apresenta atividade, porém inferior àquela observada para a fração em acetato de etila. Todavia, a fração aquosa apresenta apenas atividade nas duas concentrações mais altas (1000 μ g/ml e 100 μ g/ml).

Estes resultados corroboram com o perfil qualitativo observado anteriormente para os ensaios em CCD revelados com DPPH (figura 19).

Figura 20: Atividade antioxidante das frações de *Polygonum acuminatum*

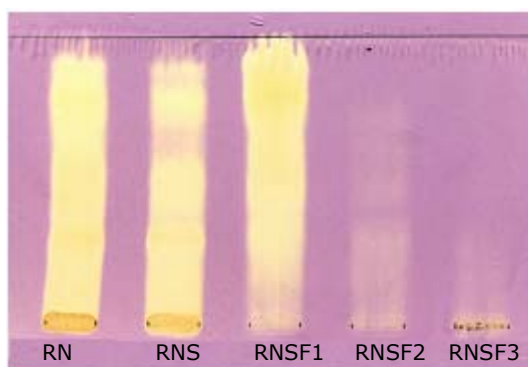
Obs: POSF1 (fração em acetato de etila); POSF2 (fração em álcool butílico); POSF3 (fração aquosa resultante das partições) e BHT [2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol].

Para a espécie *R. novemneria* foi possível observar que o decocto (RN), o sobrenadante (RNS) e a fração em acetato de etila (RNSF1) apresentaram atividade mais pronunciada como sequestradores de radicais livres (figura 21).

Os perfis das três amostras citadas acima são muito semelhantes entre si. Assim, supõe-se que o processo de partição (uso de solventes orgânicos de polaridade crescente) permitiu que a separação das substâncias responsáveis pela atividade antioxidante avaliada no decocto (RN) fossem concentradas na fração em acetato de etila (RNSF1).

As frações butanólica (RNSF2) e aquosa (RNSF3) mostraram atividade sequestradora de radicais livres menos pronunciada.

Figura 21: Cromatografia em Camada Delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Rynchanthera novemnervia* reveladas com 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).

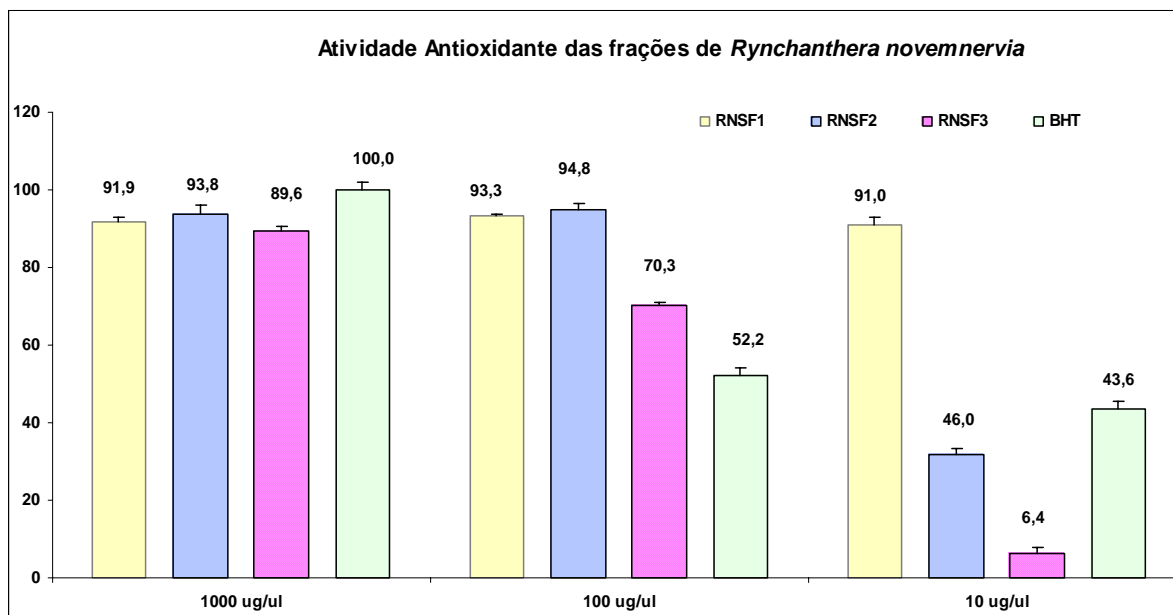


Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH); RN (decocto); RNS (sobrenadante); RNSF1 (fração em acetato de etila); RNSF2 (fração em butanol) e RNSF3 (fração aquosa).

Pode-se notar que a atividade antioxidante de *R. novemnervia* frente ao DPPH (*in vitro*) está presente em todas as frações da espécie (figura 22). O mesmo perfil observado anteriormente para *P. acuminatum* é verificado para esta espécie. Ou seja, na segunda concentração (100 μ g/ml) as frações são mais ativas do que a atividade antioxidante do padrão BHT (2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol).

A fração em acetato de etila (RNSF1) foi aquela que apresentou maior atividade, seguida da fração butanólica (RNSF2) e posteriormente, a fração aquosa (RNSF3).

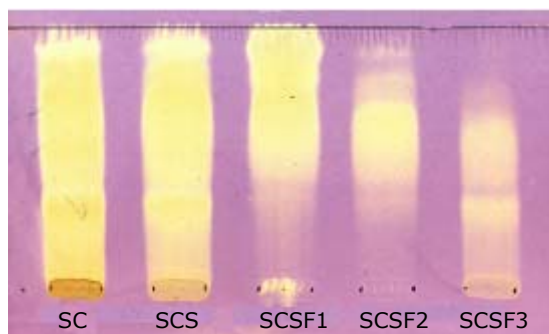
Esse fato indica que o processo de partição privilegiou que as substâncias de menor polaridade fossem concentradas na fração em acetato de etila (RNSF1). Esta é a fração mais ativa e este fato corrobora com os resultados obtidos anteriormente (figura 21). Além disso, observa-se que na concentração mais baixa (10 μ g/ml) da fração aquosa (RNSF3), houve perda de atividade.

Figura 22: Atividade antioxidante das frações de *Rynchanthera novemnervia*

Obs: RNSF1 (fração em acetato de etila); RNSF2 (fração em álcool butílico); RNSF3 (fração aquosa resultante das partições) e BHT [2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol].

A espécie *S. corniculata* apresenta atividade antioxidante tanto no decocto (SC) como no sobrenadante (SCS) e nas frações em acetato de etila (SCSF1), em butanol (SCSF2) e na aquosa (SCSF3) (figura 23).

Figura 23: Cromatografia em Camada Delgada do extrato (decocto), sobrenadante e frações de *Sebastiania corniculata* reveladas com 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).



Obs.: C= 6 mg/ml; Aplicação de 20 μ l; Cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ em Al, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20); sistema de solvente BAW (3:1:1) butanol (3 ml); ácido acético glacial (1 ml) e água destilada (1 ml); Revelador: 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH); SC (decocto); SCS (sobrenadante); SCSF1 (fração em acetato de etila); SCSF2 (fração em butanol) e SCSF3 (fração aquosa).

Na figura acima, se pode verificar a existência de arraste intenso no decocto (SC) e no sobrenadante (SCS) em toda placa, o que mostra que são várias as substâncias que podem estar contribuindo como antioxidantes.

As frações de *S. corniculata* possuem atividade seqüestradora de radicais livres frente ao DPPH (*in vitro*) em todas as concentrações (figura 24). Entretanto, a concentração de 100 μ g/ml é aquela que possui atividade antioxidante mais alta do que o padrão BHT para todas as frações (SCSF1, SCSF2 e SCSF3) da planta.

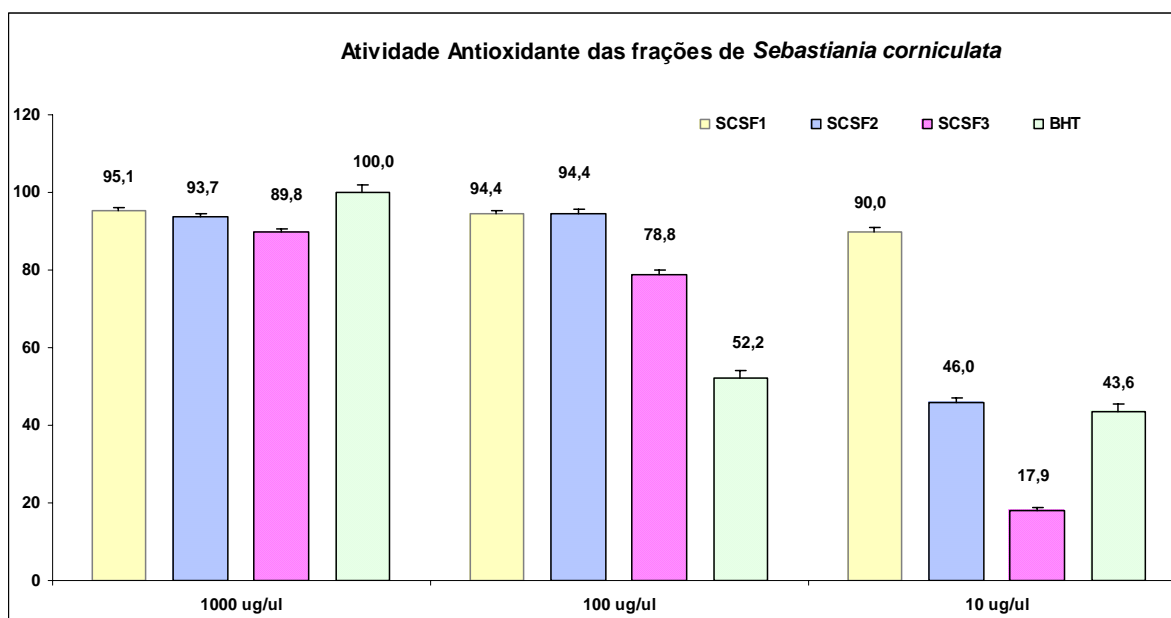
Para as frações acetato de etila (SCSF1), butanólica (SCSF2) e aquosa (SCSF3), se observa que existem zonas de arraste. A partição proporcionou a separação das substâncias por polaridade, ou seja, agrupou-as com características semelhantes.

O perfil de atividade observado para a espécie *Sebastiania corniculata* é semelhante ao verificado anteriormente para a espécie *Rynchanthera novemnervia* (figura 22).

A fração em acetato de etila (SCSF1) foi aquela que apresentou maior atividade, seguida da fração butanólica (SCSF2), que na concentração mais baixa (10 μ g/ml) nota-se que a atividade cai pela metade (45,9%). Posteriormente, tem-se a fração aquosa (SCSF3).

Esse fato indica que o processo de partição privilegiou que as substâncias mais ativas fossem concentradas na fração em acetato de etila (SCSF1) (figura 24).

Figura 24: Atividade antioxidante das frações de *Sebastiania corniculata*



Obs: SCSF1 (fração em acetato de etila); SCSF2 (fração em álcool butílico); SCSF3 (fração aquosa resultante das partições) e BHT [2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol].

Os radicais livres do oxigênio (RLO) são espécies oxidantes em inúmeros processos patológicos como as inflamações (Blake *et al.*, 1987; Rice-Evans & Diplock, 1993; Young & Woodside, 2001). A busca de novos agentes com esta finalidade faz com que novas pesquisas sejam realizadas. Partindo deste princípio, algumas plantas utilizadas na medicina popular contra infecções e inflamações inibem a produção de importantes mediadores inflamatórios e podem estar agindo como antioxidantes (Fang & Liu, 2002).

Sabe-se que substâncias fenólicas possuem habilidade sequestradora de radicais livres, como os flavonóides ou outros derivados de fenilpropanóides. Estas substâncias são largamente encontradas no reino vegetal e reequilibram o balanço de radicais livres do oxigênio (Pietta, 2000; Fang & Liu, 2002).

Alguns esforços nesta direção têm mostrado, por exemplo, que o extrato de *P. amarus* possui efeito protetor do contra os prejuízos da radiação nas células e que nas inflamações gástricas tem recentemente sido estudado (Raphael *et al.*, 2002; Kiemer *et al.*, 2003; Raphael & Kuttan, 2003; Kumar & Kuttan, 2004).

Os resultados aqui apresentados em conjunto com os já existentes demonstram que a atividade antioxidante de *C. pachystachya* justifica seu uso na medicina popular Paraguaia (Velazquez et al., 2003).

Nenhum relato foi observado para a atividade antioxidante ou antiinflamatória para as espécies *Andira cuyabensis*, *Ludwigia nervosa*, *Polygonum acuminatum*, *Rynchanthera novemnervia* e *Sebastiania corniculata*.

A atividade antioxidante aliada à atividade antimicrobiana foi reportada para duas espécies do gênero *Polygonum* (Ip et al., 1997; Chen et al., 1999; Ryu et al., 2002; Yildirim et al., 2003).

Considerando-se especificamente as sete plantas mais ativas com melhor potencial antioxidante presentes neste estudo: *Andira cuyabensis*, *Cecropia pachystachya*, *Ludwigia nervosa*, *Phyllanthus amarus*, *Polygonum acuminatum*, *Rynchanthera novemnervia* e *Sebastiania corniculata*. A ocorrência de flavonóides foi descrita para *P. amarus* (Calixto et al., 1998). Existem relatos sobre a presença de flavonóides em espécies do gênero *Andira* (Kraft et al., 2000), *Ludwigia* (Averett et al., 1990), *Polygonum* (Peng et al., 2003) e *Sebastiania* (Penna et al., 2001).

Outros fenilpropanóides, como estilbenos glicosídicos, são conhecidos por apresentarem uma importante atividade antioxidante para a espécie *Polygonum multiflorum* (Ryu et al., 2002).

Um efeito benéfico como a atividade antiinflamatória foi relatada para duas das sete espécies reportadas na medicina popular: *Cecropia pachystachya* (Hikawczuk et al., 1998) e *Phyllanthus amarus* (Kiemer et al., 2003; Raphael & Kuttan, 2003). As correntes pesquisas avaliam o efeito antioxidante das substâncias na dieta humana (Kris-Etherton et al., 2002; Singh et al., 2002; Go et al., 2003), porém alguns esforços para um melhor entendimento sobre os metabólitos não nutricionais na dieta de animais silvestres têm sido feitos.

Alguns resultados interessantes têm sido publicados nesta área, como estudos sobre o metabolismo de carotenóides e a vitamina A como agentes antioxidante para animais silvestres (Slifka et al., 1999). Algumas atenções também têm sido focadas sobre o retinol e ésteres (Ghebremeskel & Williams, 1988; Flurer & Schweigert 1990).

A partir da observação de primatas se alimentando de espécies vegetais, foi verificado que uma substância antimalarial foi isolada (Krief *et al.*, 2004). Outros trabalhos também relatam o uso de espécies vegetais pelos chimpanzés e gorilas (Cousins & Huffman, 2002; Huffman, 2003).

Segundo Kaur & Kapoor (2002), os antioxidantes naturais comumente encontrados em fontes vegetais são o ácido ascórbico (vitamina C), os carotenóides, os fenóis simples, os flavonóides, além dos polifenóis, como taninos gálicos e taninos condensados.

Mediante ao exposto acima e com a finalidade de se tentar avaliar qual classe de substâncias fenólicas que poderia estar atuando benéficamente, os extratos das plantas mais ativas foram submetidos à análise e dosagem de taninos e fenóis totais.

5.0- ANÁLISE E DOSAGEM DE TANINOS E FENÓIS TOTAIS DOS EXTRATOS DAS PLANTAS DA DIETA COM MAIOR ATIVIDADE ANTIOXIDANTE:

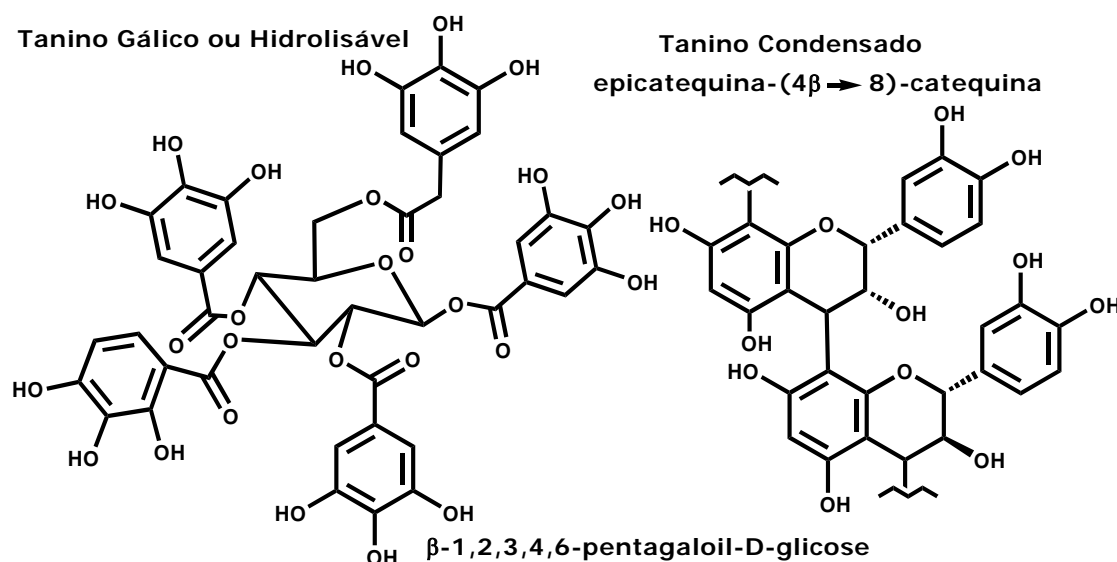
As análises de taninos e fenóis totais foram realizadas sob a supervisão da Professora Gilda Leitão.

Apenas os extratos das espécies que apresentaram atividade seqüestradora de radicais livres na concentração mais baixa (0,1µg/ml) foram submetidas a este ensaio, além de *Brachiaria humidicola* que foi a espécie escolhida para um estudo fitoquímico mais aprofundado (capítulo III).

Alguns alimentos possuem uma adstringência decorrente da presença natural dos taninos e além disto, existe uma grande variedade de taninos. Os taninos são substâncias fenólicas classificadas em condensados (proantocianidinas) ou hidrolisáveis (taninos gálicos) (figura 25) (Agostini-Costa, 2003):

1. Taninos hidrolisáveis são ésteres de ácido gálico;
2. Taninos condensados são polímeros de flavonóides, cujos monômeros são unidos por ligação carbono-carbono.

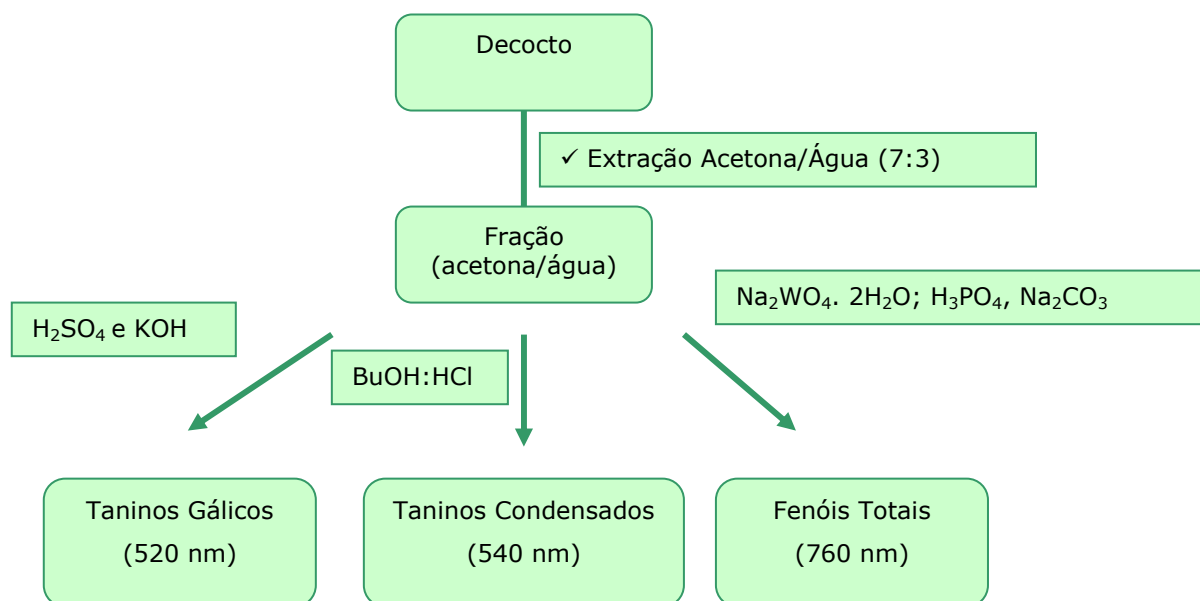
Figura 25: Exemplo de estrutura de um tanino gálico e de um tanino condensado



Simões *et al.*, 1999

O processo de extração dos taninos e fenóis utilizados neste estudo está mostrado no esquema a seguir.

Esquema 4: Esquema do processo de extração de taninos e fenóis totais utilizados neste estudo



5.1.- Método para Dosagem de Taninos Gálicos

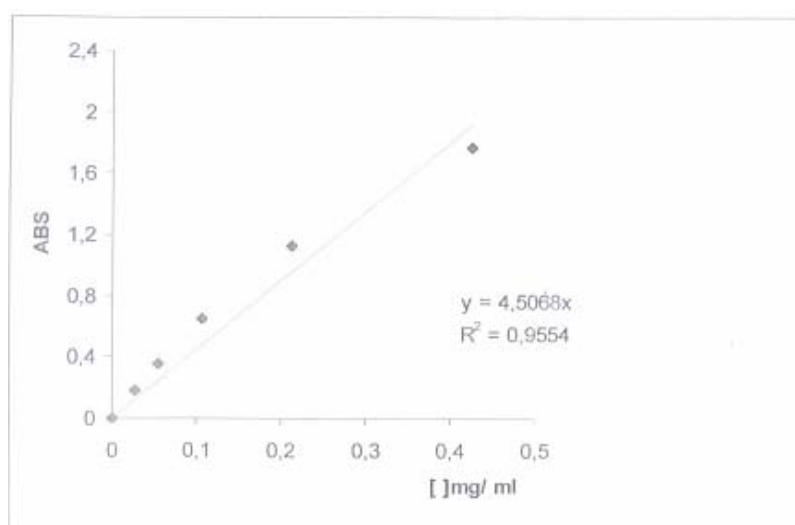
Estas análises foram baseadas no método utilizado por Moreira (2000). Este método consiste na dosagem de taninos gálicos partindo-se de uma amostra seca. A amostra seca (500 mg) foi extraída com 4 X 5 ml de solução de acetona/ água (7:3). As porções foram unidas em balão volumétrico e o volume completado para 25 ml (Moreira, 2000).

Após essa etapa, deu-se início à fase da hidrólise, que consiste em tomar 1ml do extrato em um tubo de vidro com rosca e adicionar 5 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1M. Em seguida, o ar foi expulso do tubo pela passagem de uma corrente de nitrogênio e o tubo vedado. Procedeu-se o aquecimento em banho-maria a 95°C por 24 horas (Moreira, 2000).

A segunda etapa consistiu em retirar o tubo do aquecimento e aguardar o resfriamento do mesmo. O conteúdo do tubo foi transferido para um balão de 10 ml e completado o volume. Uma alíquota de 1 ml foi transferida para um balão de 10 ml. Após a adição de 1,5 ml de solução de rodanina, aguardou-se por um período de 5 min. Antes da adição de 3 ml de hidróxido de potássio (KOH) 0,5M. O volume foi completado com água. As amostras positivas desenvolveram coloração vermelha-rósea. As amostras foram feitas em triplicata. O branco foi preparado adicionando-se 1 ml do hidrolizado a 3 ml de KOH 0,5 M (Moreira, 2000).

As absorvâncias das amostras foram lidas a 520 nm após 5-10 minutos. A cubeta de referência continha apenas água (Moreira, 2000).

O ácido gálico foi utilizado como padrão. Dessa forma as soluções foram preparadas em metanol (MeOH), nas seguintes concentrações finais: 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4 mg/ml. A figura 26 mostra a curva-padrão (Moreira, 2000).

Figura 26: Curva-padrão para dosagem de taninos gálicos

5.2- Método para Dosagem de Taninos Condensados:

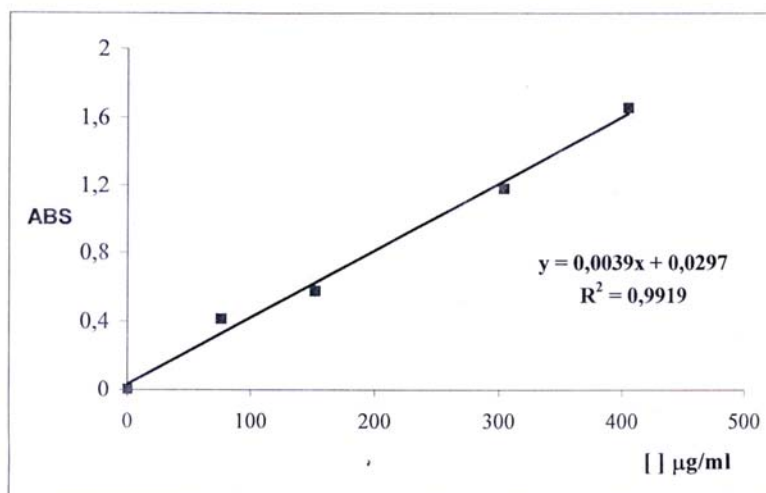
Este método se baseia no princípio de oxirredução e vem sendo extensivamente empregado na determinação quantitativa de taninos.

A amostra seca (500 mg) foi extraída com 4 X 5 ml de solução de acetona/água (7:3). As porções foram unidas em balão volumétrico e o volume completado para 25 ml (Moreira, 2000).

A etapa seguinte, consistiu em tomar 1 ml do extrato e transferir para tubo de vidro com rosca. Adicionou-se 4 ml de solução de butanol (BuOH) em ácido clorídrico (HCl) 5%. Procedeu-se o aquecimento em banho-maria a 95°C por 2 horas (Moreira, 2000).

As amostras positivas desenvolveram coloração vermelha ou violácea. O branco foi preparado adicionando-se 4 ml de solução de HCl (5%) em butanol a 1 ml da amostra (Moreira, 2000).

As absorbâncias das amostras foram lidas a 540 nm após 5-10 minutos. A cubeta de referência continha solução ácida de butanol (Moreira, 2000). A figura 27 mostra a curva-padrão para dosagem de taninos condensados.

Figura 27: Curva-padrão para dosagem de taninos condensados

5.3- Método para Dosagem de Fenóis Totais:

A amostra seca (500 mg) foi extraída com 4 X 5 ml de solução de acetona/água (7:3). As porções foram unidas em balão volumétrico e o volume completado para 25 ml (Moreira, 2000).

Inicialmente foram preparadas as soluções de Folin-Denis e carbonato de sódio seguindo o protocolo:

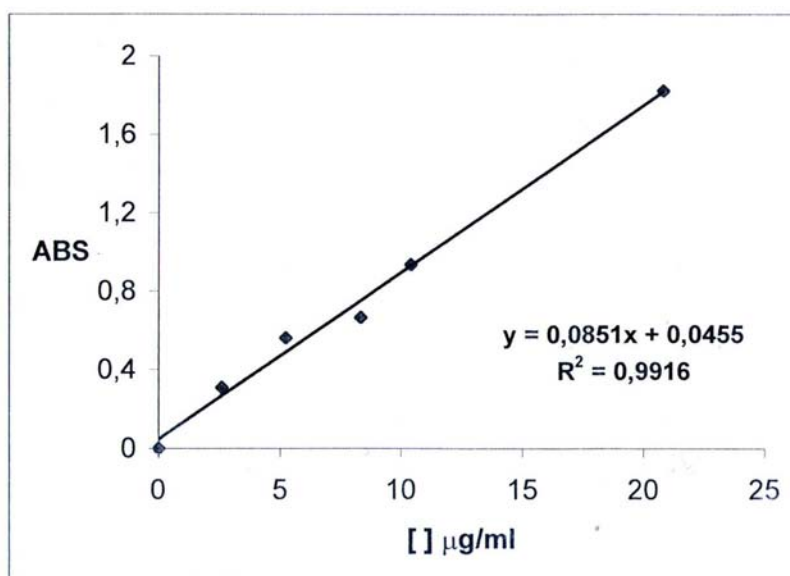
1. Para o preparo da solução de Folin-Denis adicionou-se 100 g de tungstato de sódio ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 20 g de ácido fosfomolibdico e 50 ml de ácido fosfórico (H_3PO_4) em 750 ml de água destilada. Esta foi submetido ao refluxo por 2 horas. A solução foi resfriada e diluída à 1000ml de água destilada (Moreira, 2000);
2. Para o preparo da solução de carbonato de sódio adicionou-se 35 g de carbonato de sódio (Na_2CO_3) anidro em 100 ml de água destilada. Este foi dissolvido a 70-80 °C e deixado em repouso por 12 horas. A solução saturada foi semeada com um cristal de carbonato de sódio hidratado e por fim foi filtrada em lã de vidro (Moreira, 2000).

A etapa seguinte consistiu na reação do reagente de Folin-Denis com os extratos das amostras. Para isto, foi transferido 0,5 ml de extrato preparado em balão volumétrico de 10 ml, adicionou-se 0,5 ml de reagente de Folin-Denis e 3 ml de água destilada. A solução ficou em repouso por 1 hora (Moreira, 2000).

Posteriormente foi adicionado 1ml da solução de carbonato de cálcio saturada. As amostras positivas desenvolveram coloração azul intensa. Completou-se o volume com água destilada e procedeu-se com leitura em espectrofotômetro a 760 nm. A água destilada foi utilizada como referência (Moreira, 2000).

Segundo Moreira (2000), a curva-padrão para esse ensaio foi baseada no preparo das soluções aquosas contendo ácido tânico nas seguintes concentrações finais 20,8; 10,4; 8,32; 5,2; 2,6 $\mu\text{g/ml}$ (figura 28).

Figura 28: Curva-padrão do ácido tânico



A tabela abaixo sumariza os resultados obtidos das análises de taninos condensados, fenóis totais e taninos gálicos.

Tabela 9: Dados obtidos nas análises de taninos condensados, fenóis totais e taninos gálicos dos extratos das sete espécies mais ativas.

Espécies	Taninos Condensados (%)	Taninos Gálicos (%)	Fenóis Totais (%)
<i>A. cuyabensis</i>	43,8	Não detectados	12,5
<i>C. pachystachya</i>	5,7	Não detectados	10,4
<i>L. nervosa</i>	5,5	3,4	22,6
<i>P. amarus</i>	8,5	2,1	26,1
<i>P. acuminatum</i>	4,1	Não detectados	6,5
<i>R. novemnervia</i>	1,0	Não detectados	14,5
<i>S. corniculata</i>	1,1	1,1	15,8

Os resultados acima expostos mostram que o decocto da espécie *A. cuyabensis* é aquele que possui a maior concentração de taninos condensados. As espécies *L. nervosa* e *P. amarus* são as que apresentam maior concentração em termos de fenóis totais 22,6% e 26,1%, respectivamente.

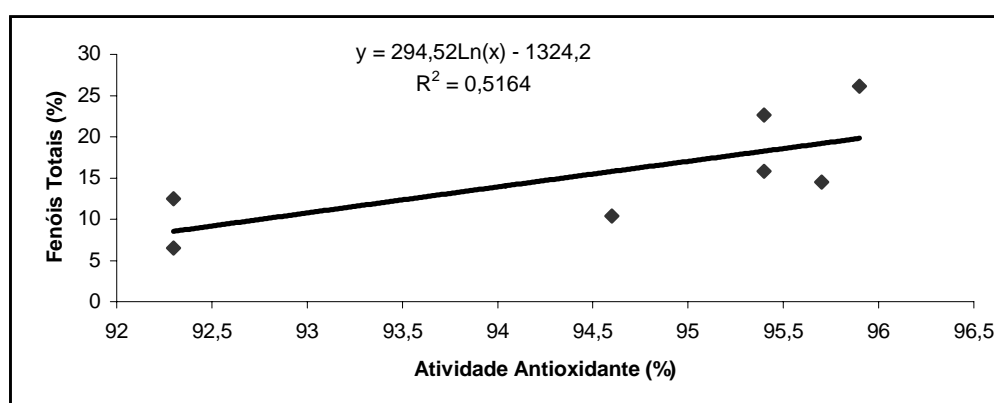
De acordo com um trabalho realizado por Kaur & Kapoor (2002), algumas espécies vegetais (monocotiledôneas e dicotiledôneas) foram avaliadas quanto ao teor de fenóis totais e a concentração dos mesmos varia de 6,8 a 40%. Este fato indica que as 7 espécies pertencentes a dieta possuem teores semelhantes aos observados naquele trabalho.

O tipo de extração pode ser um fator limitante para a observação do conteúdo fenólico das plantas (Agostini-Costa *et al.*, 2003). Talvez, este fato possa ter influenciado na detecção dos taninos gálicos nas espécies *A. cuyabensis*, *C. Pachystachya*, *P. acuminatum* e *R. novemnervia*, além do baixo teor encontrado para os extratos das plantas *L. nervosa*, *P. amarus* e *S. corniculata*.

Correntemente, utiliza-se o parâmetro *in vitro* para determinar da atividade antioxidante de uma espécie vegetal e com base neste dado, prever eventuais efeitos benéficos para a saúde (Akiwa & Rooney, 2004). Esses mesmos autores relatam que algumas espécies podem apresentar uma forte correlação entre a atividade antioxidante e o conteúdo fenólico.

Dessa forma, foi feita uma correlação entre os teores de fenóis totais (figura 29a) e taninos condensados (figura 29b), uma vez que estes estão presentes em nos decoctos das sete plantas com a atividade antioxidante observada na concentração mais alta (1000 µg/ml).

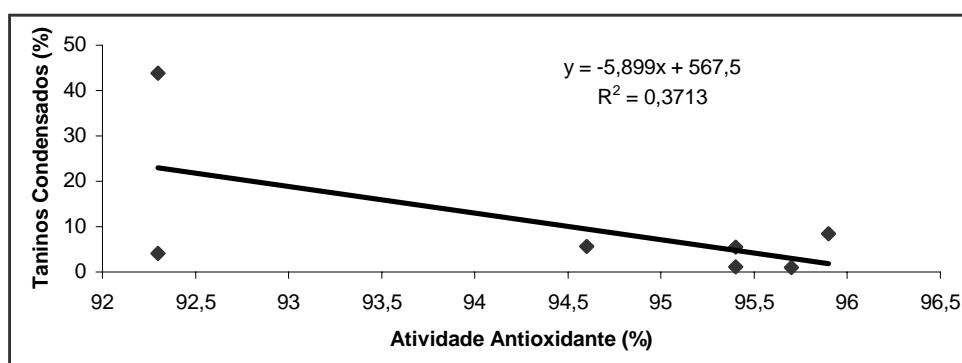
Figura 29a: Correlação entre a atividade antioxidante e o teor de fenóis totais observadas para os extratos das sete plantas mais ativas



A figura acima mostra que não existe uma correlação direta entre o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante dos extratos das plantas mais ativas neste modelo.

Deveria se observar uma linha de tendência com R^2 próximo de um, para que se pudesse ter um relação direta entre o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante. Aqui verifica-se que R^2 está próximo de 0,5.

Figura 29b: Correlação entre a atividade antioxidante e o teor de taninos condensados observadas para extratos das sete plantas mais ativas



A mesma observação verificada acima é ressaltada nesta correlação. Ou seja, não existe uma correlação direta entre o teor de taninos condensados e a atividade antioxidante dos extratos das plantas mais ativas neste modelo.

A linha de tendência para a correlação do teor de taninos condensados e a atividade antioxidante parece ser menos evidente (R^2 0,3713) do que a observada para os fenóis totais (R^2 0,5164).

Cerca de 51,64% dos fenóis totais é dependente da atividade antioxidante, e cerca de 37,13% dos taninos condensados é dependente da atividade antioxidante observada.

De acordo com um estudo realizado por Zielinski & Kozlowka (2000), nenhuma correlação entre a atividade antioxidante e o conteúdo fenólico de extratos aquosos de diferentes plantas foi observado. Esse mesmo fato foi relatado por Kahkonen *et al.* (1999) e Maillard & Berset (1995). Isso indica que podem existir outras substâncias, além das fenólicas que podem estar agindo como seqüestradoras de radicais livres.

Por outro lado verifica-se que existem trabalhos na literatura que mostram uma relação direta entre o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante. É provável que a estrutura química das substâncias fenólicas presentes no extrato possa estar afetando esta relação (Moure *et al.*, 2001).

Segundo estes mesmo autores, os polifenóis poliméricos são antioxidantes mais potentes do que os fenólicos monoméricos. Isto significa que os taninos condensados e gálicos (hidrolisáveis) possuem maior habilidade antioxidante.

É possível também que a atividade antioxidante observada para os 7 decoctos mais ativos possa estar relacionada com inúmeras substâncias, além das fenólicas presentes nos extratos.

6.0- AVALIAÇÃO DOS EXTRATOS MAIS ATIVOS POR

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em fase inversa desempenha um papel central na separação de misturas complexas de flavonóides. Estudos do tempo de retenção em diferentes suportes e eluentes têm sido aperfeiçoados e tabelados, a fim de se obter condições ótimas de análise (Skerget *et al.*, 2005).

As análises de CLAE neste estudo foram realizadas em dois aparelhos:

1. Shumadzu, modelo LC-10T e a detecção feita nos comprimentos de onda fixos de 254 nm e 332 nm (detector modelo SPD-10A).
2. Shumadzu, modelo LC-10AD e a detecção feita nos comprimentos de onda fixos de 254 nm e 332 nm (detector modelo SPM-10A).

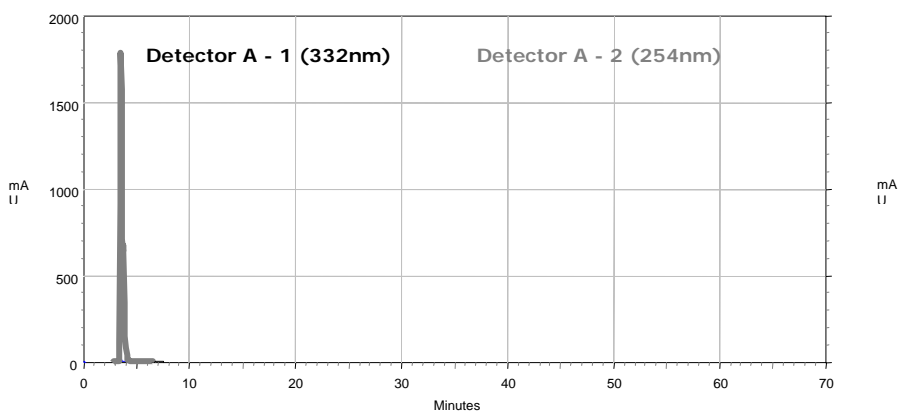
Em ambos os aparelhos, a coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 nº de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

Os decoctos foram preparados na concentração de 6 mg/ml (p/v) e os padrões com esqueleto fenólico nas concentrações de 1 mg/ml. Todas as amostras foram aplicadas com volume de 20 μ l.

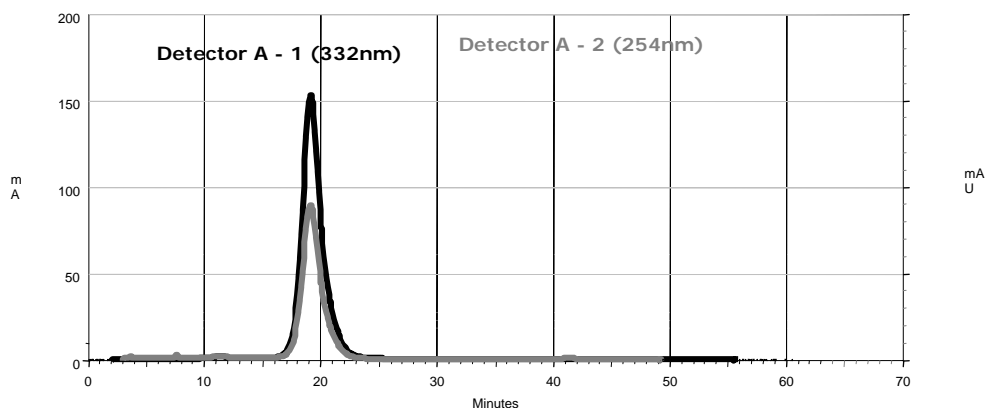
Foram utilizados quatro marcadores químicos (padrões fenólicos) nessas análises:

1. ácido gálico (padrão Vetec) (figura 30);
2. 2''-O- β -glucosilvitexina (Laboratório NPPN) (figura 31);
3. quercetina (doação do Pro. Nuno A. Pereira, Depto. de farmacologia-UFRJ) (figura 32);
4. rutina (doação UFRRJ) (figura 33).

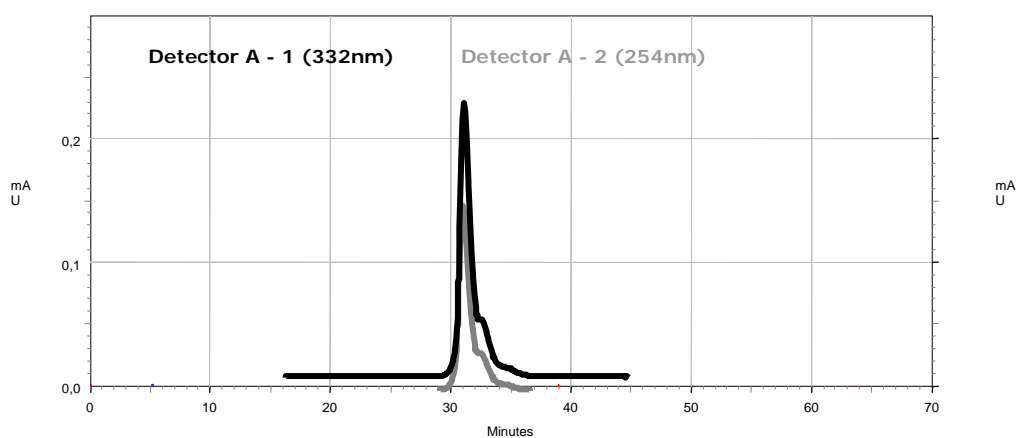
Estes padrões foram utilizados para direcionar as análises por CLAE, uma vez que esses representam substâncias comumente presentes nas plantas.

Figura 30: Cromatograma do padrão ácido gálico (t_r 3,6 min).

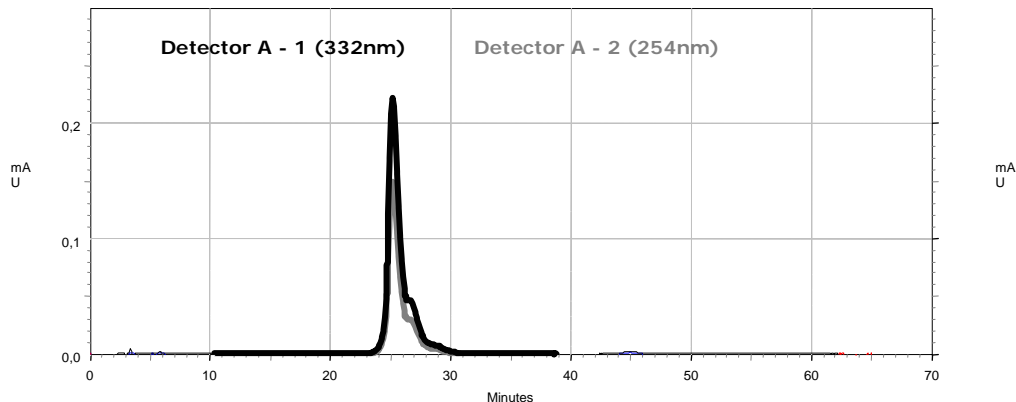
Obs.: $c = 1\text{mg/ml}$; Injeção de $20\mu\text{l}$; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

Figura 31: Cromatograma da flavona padrão 2''-O- β -glucosilvitexina (t_r 19,1 min)

Obs.: $c = 1\text{mg/ml}$; Injeção de $20\mu\text{l}$; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

Figura 32: Cromatograma do padrão flavonol quercetina (t_r 31,4 min).

Obs.: $c = 1\text{mg/ml}$; Injeção de $20\mu\text{l}$; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

Figura 33: Cromatograma do padrão flavonol glicosilado rutina (t_r 25,2 min)

Obs.: $c = 1\text{mg/ml}$; Injeção de $20\mu\text{l}$; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

Todos os extratos das plantas da dieta (20 decoctos) foram submetidos as análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Porém, aqui serão apresentados apenas os cromatogramas dos extratos das plantas mais ativos (*Andira cuyabensis*, *Cecropia pachystachya*, *Ludwigia nervosa*, *Phyllanthus amarus*, *Polygonum acuminatum*, *Sebastiania corniculata* e *Rynchanthera novemnervia*) no modelo antioxidante.

Neste estudo todos os valores de área (%) inferiores a 1 foram excluídos. Estes expressam a concentração de determinada substância no extrato.

O perfil cromatográfico dos sete extratos mais ativos no ensaio de atividade antioxidante (*Andira cuyabensis*, *Cecropia pachystachya*, *Ludwigia nervosa*, *Phyllanthus amarus*, *Polygonum acuminatum*, *Sebastiania corniculata* e *Rynchanthera novemnervia*) foi avaliado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

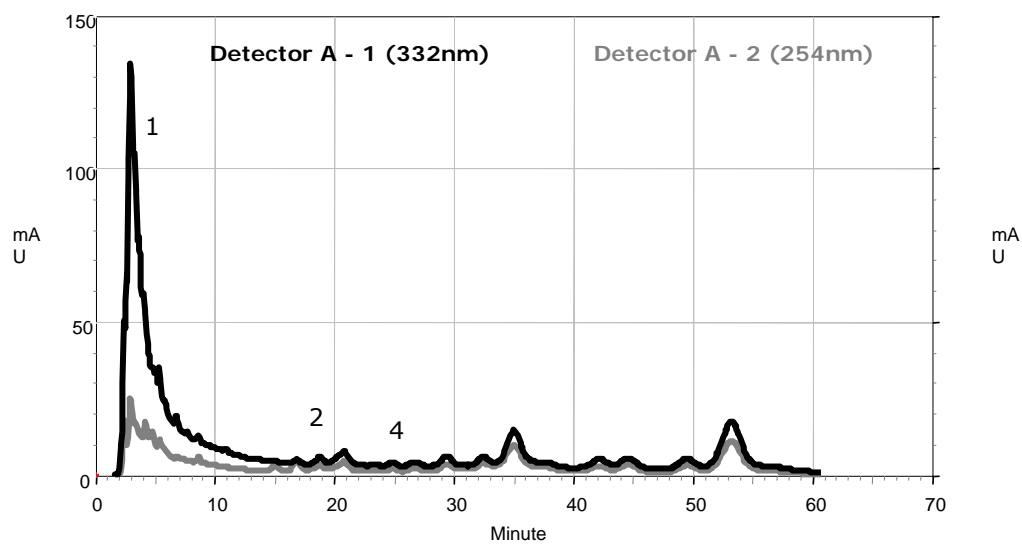
Os cromatogramas dos decoctos foram comparados com os padrões de fenólicos descritos anteriormente (item 6.0). A tabela 10 sumariza os valores de tempo de retenção (R_f) observados para esses padrões de acordo com o sistema de solventes utilizado.

Tabela 10: Tempo de migração (R_f) dos padrões fenólicos utilizados

	Padrões Fenólicos	Tempo de Retenção (T_r)
1	Ácido gálico	3,6 min
2	2"-O- β -glucosilvitexina	19,1 min
3	Quercetina	34,1 min
4	Rutina	25,2 min

Obs.: c= 1mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shumadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

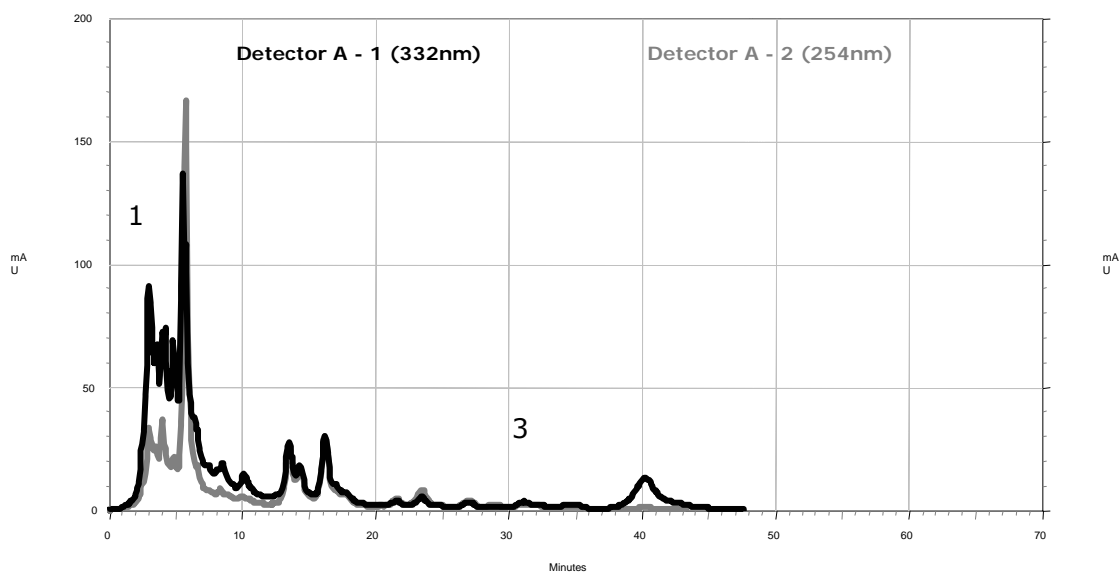
A figura 34 mostra o cromatograma do extrato de *Andira cuyabensis*

Figura 34: Cromatograma do extrato de *Andira cuyabensis*

Obs.: c= 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

O cromatograma do extrato da espécie vegetal *A. cuyabensis* possui 3 picos com tempos de retenção (T_r) semelhantes ao observado para ácido gálico; 2''-O- β -glucosilvitexina e rutina. Estes picos apresentam os percentuais de área 6,2%; 1,4% e 1,0%, respectivamente.

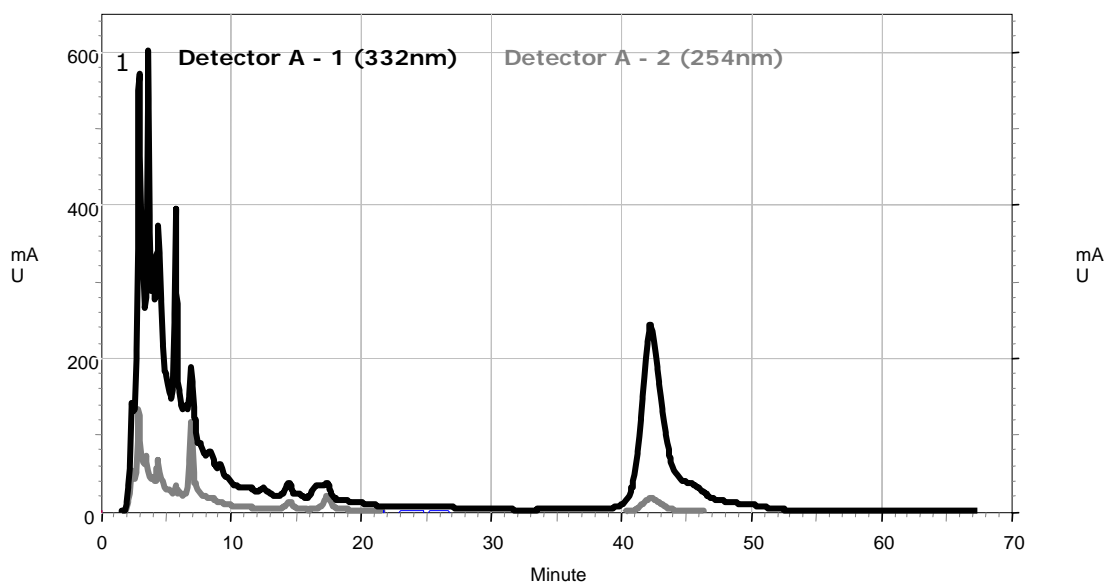
A figura 35 mostra o cromatograma do extrato de *Cecropia pachystachya*.

Figura 35: Cromatograma do extrato de *Cecropia pachystachya*

Obs.: c= 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

Pode-se notar que o cromatograma do extrato da espécie *C. pachystachya* possui 2 picos com tempos de retenção (T_r) referentes ao observado para os padrões (ácido gálico e quercetina). Estes picos representam os percentuais de área 3,3% e 1,0%, respectivamente.

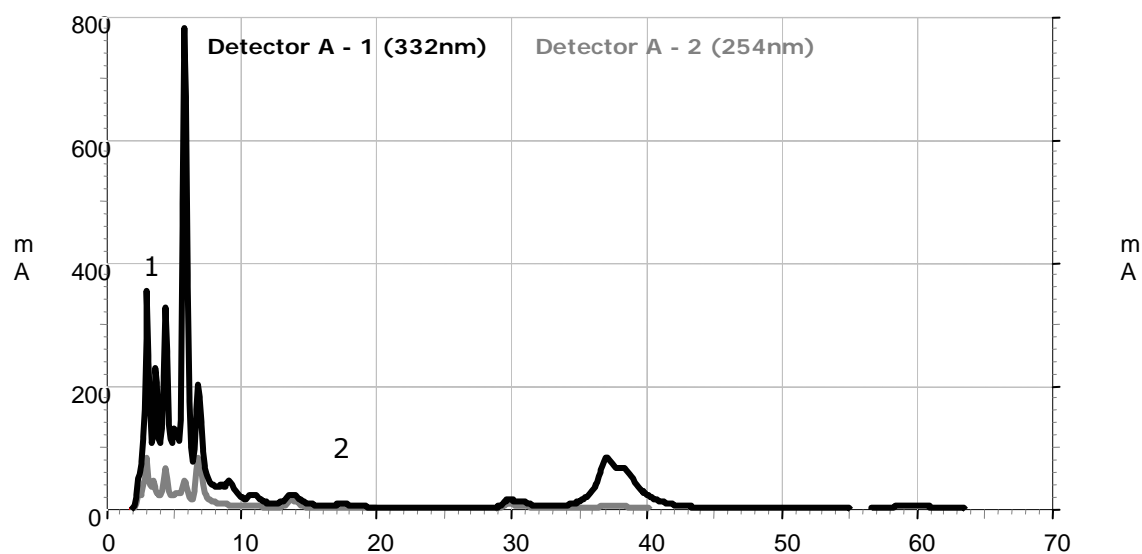
A figura 36 mostra o cromatograma do extrato de *Ludwigia nervosa*. O extrato desta planta parece possuir apenas 1 pico semelhante a um dos padrões utilizados (ácido gálico) e o percentual de área é de 6,9%.

Figura 36: Cromatograma do extrato de *Ludwigia nervosa*

Obs.: c= 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shumadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

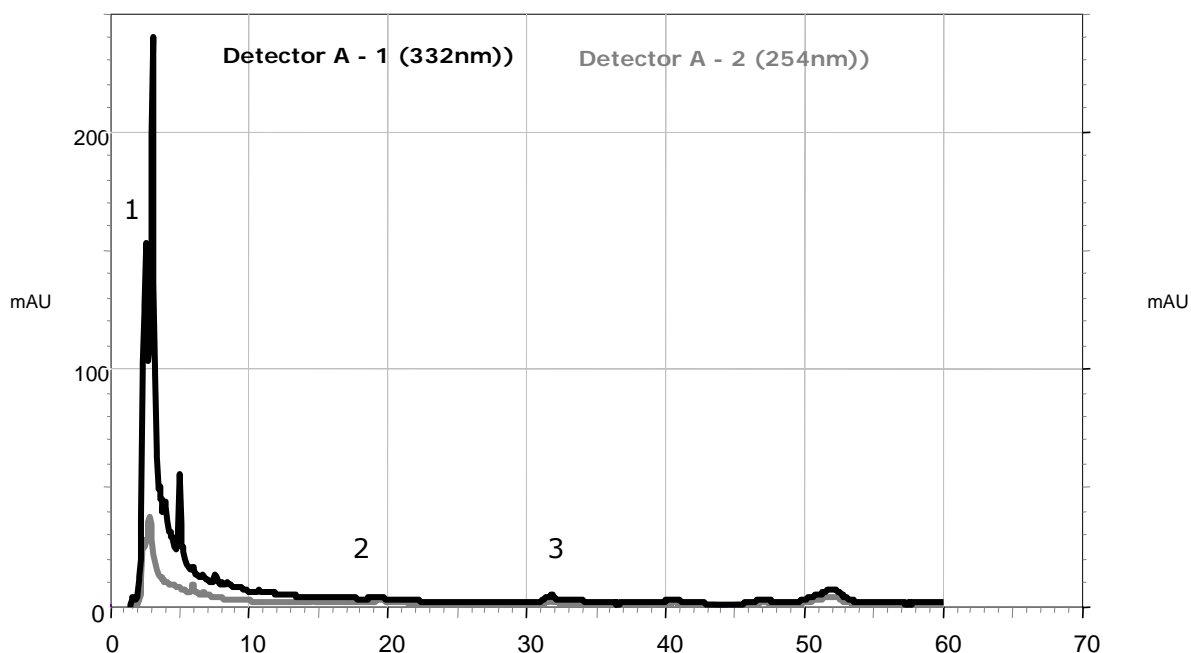
Outro pico importante foi observado para esse decocto (42,7 minutos e percentual de área em 8,1%), porém este pico não corresponde a nenhum dos padrões selecionados.

Um perfil semelhante ao extrato de *L. nervosa* é observado para o extrato da espécie *Phyllanthus amarus* (figura 37), porém o pico próximo de 43 minutos possui menor intensidade (1,1%). Além deste, o cromatograma possui picos referentes ao ácido gálico (7,9%) e a 2''-O- β -glucosilvitexina (3,8%).

Figura 37: Cromatograma do extrato de *Phyllanthus amarus*.

Obs.: c= 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

O cromatograma do decocto da espécie *Polygonum acuminatum* mostrou a presença de 3 picos com mesmo tempo de retenção (T_r) dos padrões fenólicos: ácido gálico, 2''-O- β -glucosilvitexina e a quercetina. Estes picos possuem os seguintes percentuais de área 7,5%; 3,6% e 1,0%, respectivamente (figura 38).

Figura 38: Cromatograma do extrato de *Polygonum acuminatum*.

Obs.: c= 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

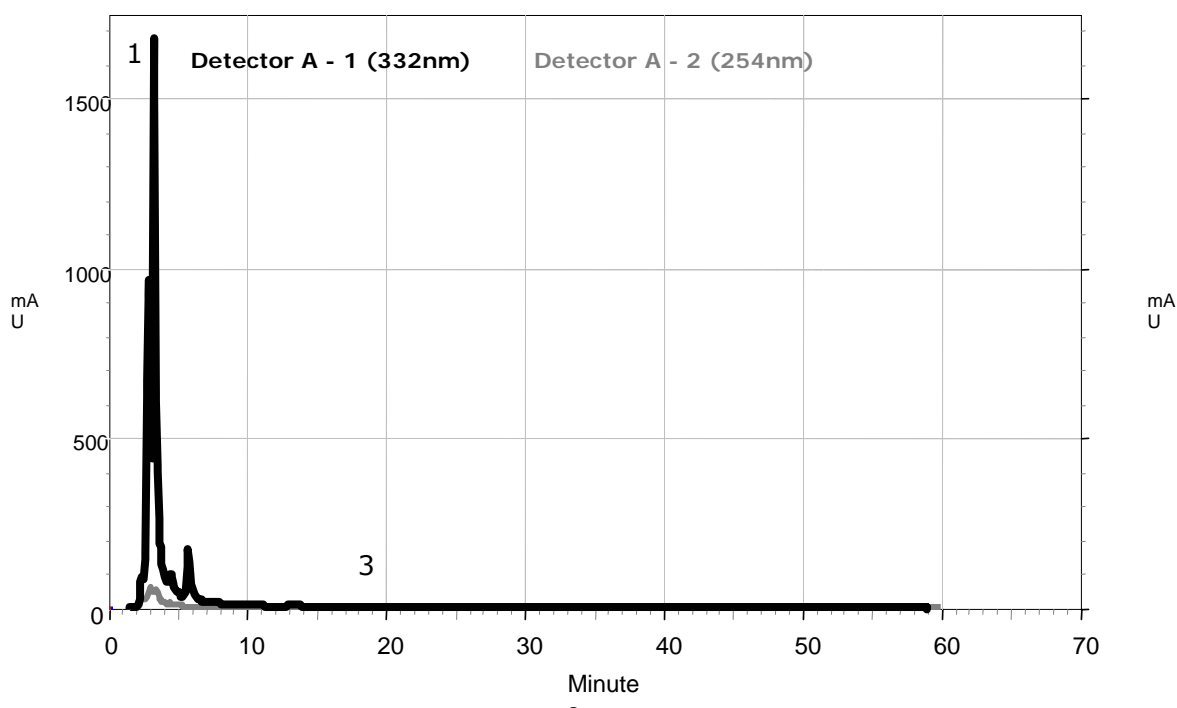
No cromatograma do decocto da espécie *Rynchanthera novemnervia* foram observados 2 picos semelhantes aos padrões fenólicos ácido gálico e 2''-O- β -glucosilvitexina, cujo percentuais de área estão em torno de 25,2% e 4,1% (figura 39).

A região que compreende o cromatograma entre 10 e 60 minutos é muito pobre. Entretanto, o pico em 18,9 min, que é referente a flavona 2''-O- β -glucosilvitexina, foi listado em percentual de área de 4,1% . Esta substância não é perceptível no cromatograma apresentado devido ao ácido gálico estar muito concentrado. Isto faz com que pico semelhante a flavona 2''-O- β -glucosilvitexina se apresente diluído (18,9 min).

De todas as sete espécies avaliadas quanto ao perfil cromatográfico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), *R. novemnervia* foi aquela que apresentou o ácido gálico em maior concentração (25,2%) (figura 39).

A observação acima indica que talvez o ácido gálico (3,6 min) não seja a única substância responsável pela atividade antioxidante, uma vez que as sete fontes vegetais apresentaram habilidade seqüestradora de radicais livres muito semelhante.

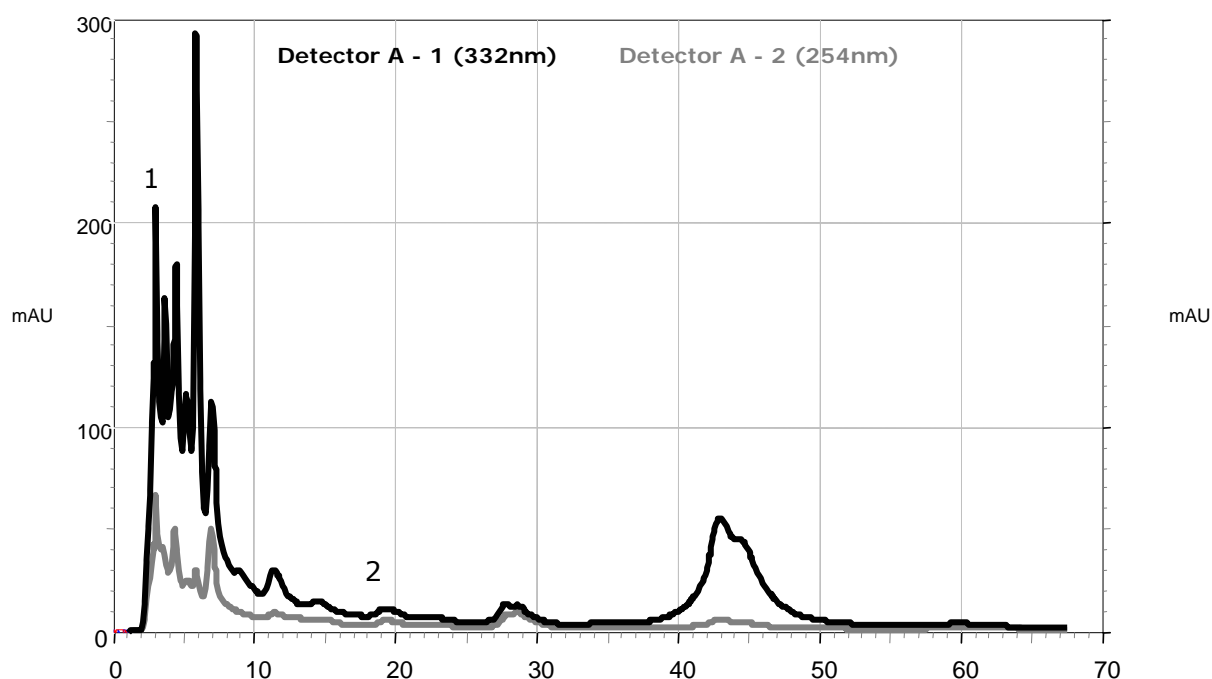
Figura 39: Cromatograma do extrato de *Rynchanthera novemnervia*



Obs.: c= 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shumadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

O cromatograma do extrato da espécie *Sebastiania corniculata* possui 2 picos semelhantes àqueles observados com os padrões de substâncias fenólicas (ácido gálico e 2''-O- β -glucosilvitexina), com percentuais de área próximos a 7,8% e 3,8%, respectivamente (figura 40).

Além desses sinais, o cromatograma do decocto mostrou um sinal importante em torno de 43 minutos (1,1%), semelhante àquele observado para *L. nervosa* e *P. amarus*.

Figura 40: Cromatograma do extrato de *Sebastiania corniculata*

Obs.: $c = 6\text{ mg/ml}$; Injeção de $20\mu\text{l}$; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 332 nm e 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 nº de série 9807059, partícula de 5μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55 M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min

Todos os cromatogramas obtidos para os extratos das vinte plantas mostraram sinal tempo de retenção igual ou similar próximo daquele observado para o ácido gálico (t_r 3,6 min).

Sete extratos de plantas apresentaram picos com tempo de retenção similar ao da flavona C-glicosilada (2''-O- β -glucosilvitexina; t_r 19,1 minutos) (tabela 11).

Tabela 11: Picos com tempo de retenção (t_r 19,1 min) e os respectivos percentuais de área observados nos cromatogramas dos extratos de planta.

Extrato de Planta	Tempo de Retenção (minutos)	Percentual de Área (%)
<i>Andira cuyabensis</i>	18,7	1,4
<i>Desmodium distortum</i>	19,1	1,2
<i>Mimosa debilis</i>	19,6	8,4
<i>Phyllanthus amarus</i>	19,3	3,8
<i>Polygonum acuminatum</i>	19,6	3,6
<i>Sabicea aspera</i>	18,9	1,0
<i>Sebastiania corniculata</i>	19,6	6,2

A espécie *Mimosa debilis* foi aquela que apresentou a maior concentração de ácido gálico (8,4), porém, para *Sabicea aspera* se observa o menor percentual de área (1,2%).

Foram observados seis decoctos das planta com tempo de retenção parecido com aquele observado para a flavonol quercetina (t_r 31,4 min). A tabela abaixo sumariza estes dados.

Tabela 12: Picos com tempo de retenção (t_r 31,4 min) e os respectivos percentuais de área observados nos cromatogramas dos extratos de planta.

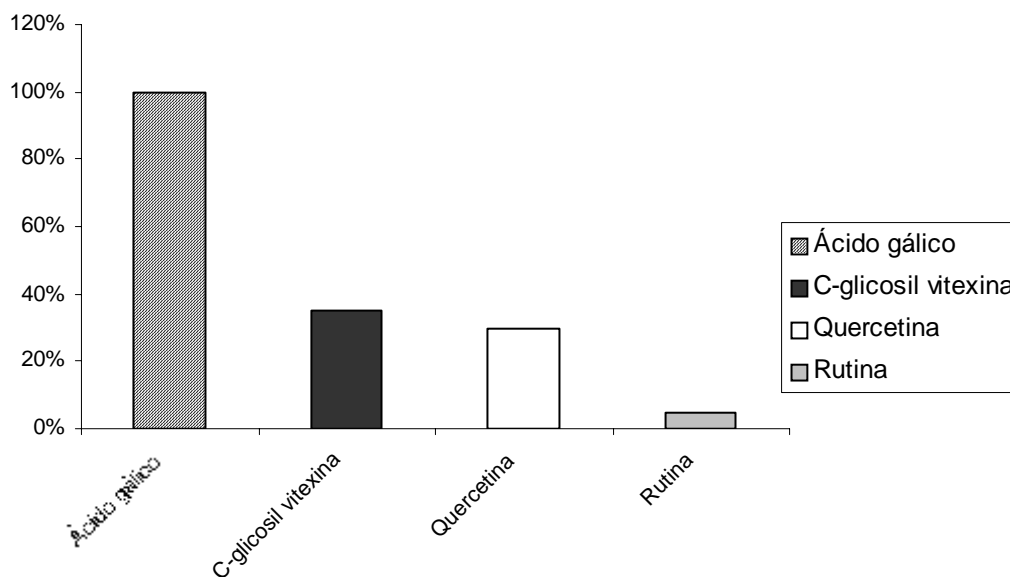
Extrato de Planta	Tempo de Retenção (minutos)	Percentual de Área (%)
<i>Cecropia pachystachya</i>	31,1	1,0
<i>Desmodium distortum</i>	31,1	1,0
<i>Oryza latifolia</i>	31,0	1,6
<i>Polygonum acuminatum</i>	31,8	1,6
<i>Sida santaremensis</i>	31,5	5,1
<i>Vernonia scabra</i>	31,4	5,7

No extrato de *Andira cuyabensis* foi verificada a existência de um pico (24,8 min e 1,0% de área) com tempo de retenção muito similar aquele observado para o flavonol glicosilado rutina (t_r 25,2 min).

Os cromatogramas dos extratos *Andira cuyabensis*, *Desmodium distortum* e *Polygonum acuminatum* foram os únicos que apresentaram picos com tempos de retenção semelhantes a pelo menos três dos quatro marcadores utilizados.

A figura abaixo mostra o quão representativo foram os marcadores químicos (padrões) utilizados nesta análise.

Figura 41: Ocorrência de picos com tempo de retenção igual ou semelhante aos dos padrões nos decoctos das plantas pertencentes à dieta dos cervídeos



Pode-se notar que o ácido gálico (20 extratos de plantas) é o mais representativo, seguido de 2''-O- β -glucosilvitexina (7 extratos de plantas), quercetina (6 extratos de plantas) e minoritariamente a rutina (1 extrato de planta).

7.0- CONCLUSÕES:

O estresse oxidativo é um fator contribuinte para as desordens degenerativas que promovem as doenças crônicas. Assim, substâncias presentes nas plantas consumidas pelos cervídeos e capazes de reduzir os radicais livres formados durante esse processo estariam, em tese, beneficiando a saúde destes animais. Desta forma pode-se concluir que:

1. Cerca de 35% dos extratos aquosos (decocto) das plantas pertencentes a dieta dos cervídeos apresentaram atividade antioxidante. As plantas mais ativas foram *Andira cuyabensis*, *Cecropia pachystachya*, *Ludwigia nervosa*, *Phyllanthus amarus*, *Polygonum acuminatum*, *Sebastiania corniculata* e *Rynchanthera novemnervia*.
2. A purificação dos extratos privilegiou a atividade antioxidante na fração em acetato de etila para *Andira cuyabensis* (ACSF1). A mesma fração apresentou alta atividade para as espécies *Ludwigia nervosa* (LNSF1), *Phyllanthus amarus* (PASF1), *Polygonum acuminatum* (POSF1), *Rynchanthera novemnervia* (RNSF1) e *Sebastiania corniculata* (SCSF1).
3. Para a espécie *Cecropia pachystachya*, a atividade mais pronunciada foi observada na fração aquosa (CPSF3).
4. O teor de taninos nos extratos das sete plantas foi avaliado e não se pode correlacioná-los de maneira direta com a atividade antioxidante.
5. O consumo contínuo dessas espécies com atividade antioxidante pode estar beneficiando os cervídeos na prevenção das doenças.

8.0 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ABDALLA, A.E. & ROOZEN, J.P. 1999. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chemistry*, **64**: 323-329.
- ABDALLA, A.E.; TIRZITE, D.; TIRZITIS, G. & ROOZEN, J.P. 1999. Antioxidant of 1,4-dihydropyridine derivatives in β -carotene-methyl linoleate, sunflower oil and emulsions. *Food Chemistry*, **66**: 189-195.
- AGOSTINI-COSTA, T.S. ; LIMA, A. & LIMA, M.V. 2003. Determinação de tanino em pedúnculo de caju : método da vanilina versus método do butanol ácido. *Química Nova*, **26**: 763-765.
- AMIÉ, D.; DAVIDOVIÉ-AMIÉ, D.; BESLO, D. & TRINAJSTIÉ, N. 2003. Structure-radical scavenging activity relationships of Flavonoids. *Croatia Chemical Acta*, **76**: 55-61.
- AVERETT, J.E.; ZARDINI, E.M. & HOCH, P.C. 1990. Flavonoid systematics of ten sections of *Ludwigia* (Onagraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, **18**: 529-532.
- AWIKA, J.M. & ROONEY, L.W. 2004. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, **65**: 1199-1221.
- BLAKE, D.R.; ALLEN, R. & LUNEC, J. 1987. Free radicals in biological systems - a review oriented to inflammatory processes. *British Medical Bulletin*, **43**: 371-385.
- CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R.S.; CECHINEL FILHO, V. & YUNES, R.A., 1998. A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology and therapeutic potential. *Medicinal Research Reviews*, **18**: 225-258.
- CAVIN, A.; POTTERAT, O.; WOLFENDER, J.L.; HOSTETTMANN, K. & DYATMYKO, W. 1998. Use of on-flow LC/¹H NMR for the study of an antioxidant fraction from *Orophea enneandra* and isolation of a polyacetylene, lignans, and a tocopherol derivative. *Journal of Natural Products*, **61**: 1497-1501.
- CHEN, Y.; WANG, M.F.; ROSEN, R.T. & HO, C.T. 1999. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical-scavenging active components from *Polygonum multiflorum* Thunb. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 2226-2228.


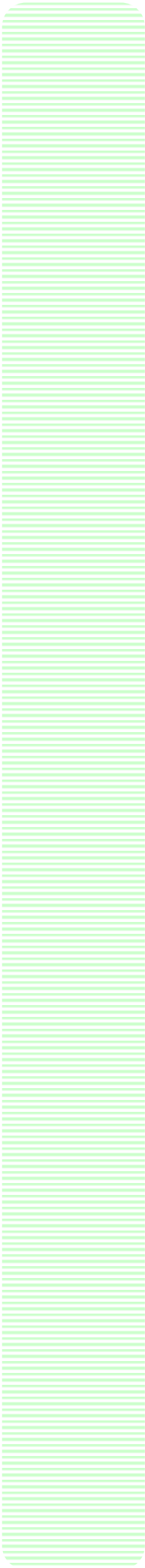
- CORRÊA, M.P. 1984. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. *Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro.*
- COUSINS, D. & HUFFMAN, M.A., 2002. Medicinal properties in the diet of gorillas: an ethno-pharmacological evaluation. *African Study Monographs*, **23** : 65-89.
- FANG, Y.N. & LIU, G.T. 2002. Effect of isorhapontigenin on respiratory burst of rat neutrophils. *Phytomedicine*, **9**: 734-738.
- FLURER, C.I. & SCHWEIGERT, F.J. 1990. Species differences in a new world monkey family in blood values of vitamin A, vitamin E and vitamin C. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition - Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernahrung und Futtermittelkunde*, **63**: 8-11.
- GHEBREMESKEL, K. & WILLIAMS, G., 1988. Plasma retinol and alpha-tocopherol levels in captive wild animals. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **89**: 279-283.
- GO, V.L.W. ; BUTRUM, R.R. & WONG, D.A., 2003. Diet, nutrition, and cancer prevention: the postgenomic era. *Journal of Nutrition*, **133** : 3830S-3836S.
- HIKAWCZUK, V.J., SAAD, J.R., GUARDIA, T., JUAREZ, A.O. & GIORDANO, O.S., 1998. Anti-inflammatory activity of compounds isolated from *Cecropia pachystachya*. *Anales de la Asociacion Quimica Argentina* **86** : 167-170.
- HUANG, D.; BOXIN, O. & PRIOR, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of The Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 1841-1856.
- HUFFMAN, M. A. 2003. Animal self-medication and athno-medicine: exploration and exploitation of the medicinal properties of plants. *Proceedings of the Nutrition Society*, **62**: 371-381.
- IP, S.P. ; TSE, A.S.M. ; POON, M.K.T. ; KO, K.M. & MA, C.Y. 1997. Antioxidant activities of *Polygonum multiflorum* Thunb, *in vivo* and *in vitro*. *Phytotherapy Research*, **11**: 42-44.
- KÄHKÖNEN, M.P. ; HOPIA, A.I. ; VOURELA, H.J. ; RAUHA, J.P. ; PIHLAJA, K ; KUJALA, T.S. & HEINONEN, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 3954-3962.

- KAUR, C. & KAPOOR, H.C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, **37**: 153-161.
- KIEMER, A.K.; HARTUNG, T.; HUBER, C. & VOLLMAR, A.M. 2003. *Phyllanthus amarus* has anti-inflammatory potential by inhibition of iNOS, COX-2, and cytokines via the NF-kappa B pathway. *Journal of Hepatology*, **38**: 289-297.
- KOLEVA, L.I.; VAN BEEK, T.A.; LINSSEN, J.P.H.; De GROOT, A. & EVSTATIEVA, LN. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, **13**: 8-17.
- KRAFT, C.; JENETT-SIEMS, K.; SIEMS, K.; GUPTA, M.P.; BIENZLE, U. & EICH E. 2000. Antiplasmodial activity of isoflavones from *Andira inermis*. *Journal of Ethnopharmacology*, **73** : 131-135.
- KRIEF, S.; MARTIN, M.T.; GRELLIER, P.; KASENENE, J. & SEVENET, T. 2004. Novel antimalarial compounds isolated in a survey of self-medicative behavior of wild chimpanzees in Uganda. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48**: 3196-3199.
- KRIS-ETHERTON, P.M.; HECKER, K.D.; BONANOME, A.; COVAL, S.M.; BINKOSKI, A.E.; HILPERT, K.F.; GRIEL, A.E. & ETHERTON, T.D. 2002. Bioactive Compounds in Foods: Their Role in the Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. *American Journal of Medicine*, **113**: 71-88.
- KUMAR, K.B. & KUTTAN, R. 2004. Protective effect of an extract of *Phyllanthus amarus* against radiation-induced damage in mice. *Journal of Radiation Research (Tokyo)* , **45** : 133-139.
- LABADIE, R. P.; VAN DER NAT, J. M.; SIMONS, J. M.; KROES, B. H.; KOSASI, S.; VAN DER BERG, A. J. J.; HART, L. A.; VAN DER SLUIS, W. G.; ABEYSEKERA, A.; BAMUNUARACHCHI, A. & DE SILVA, K. T. D. 1989. An ethnopharmacognostic approach to the search for immunomodulators of plant origin. *Planta Medica*, **55**: 339-348.
- MAILLARD, M.N. & BERSET, C. 1995. Evolution of antioxidant activity during kilning: role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**: 1789-1793.
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C. & DIAS, J.E. 1995. Plantas Medicinais. *Universidade Federal de Viçosa, Brazil*.


- MOREIRA, D.L. 2000. Métodos de análise e dosagem de taninos condensados, taninos gálicos e fenóis totais. *NPPN-UFRJ*.
- MORS, W.B.; RIZZINI, C.T. & PEREIRA, N.A. 2000. Medicinal Plants of Brazil. *Algonac, Michigan*.
- MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.J. & PARAJÓ, J.C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, **72**: 145-171.
- PENG, Z.F.; STRACK, D.; BAUMERT, A.; SUBRAMANIAN, R.; GOH, N.K.; CHIA, T.F.; TAN, S.N. & CHIA, L.S. 2003. Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L. *Phytochemistry*, **62**: 219-228.
- PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; CRUAÑES, M.C.; MUNÓZ, J. DE D.; CRUAÑES, J.; FERRARO, G.; GUTKIND, G. & MARTINO, V. 2001. Antimicrobial activity of Argentine plants used in treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, **77**: 37-40.
- PIETTA, P.G. 2000. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**, 1035-1042.
- POTT, A. & POTT, V.J. 1994. Plantas do Pantanal. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, CPAP, Distrito Federal*.
- POTT, V.J. & POTT, A. 2000. Plantas aquáticas do Pantanal. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, CPAP, Distrito Federal*.
- RAPHAEL, K.R. & KUTTAN, R. 2003. Inhibition of experimental gastric lesion and inflammation by *Phyllanthus amarus* extract. *Journal of Ethnopharmacology*, **87**: 193-197.
- RAPHAEL, K.R.; SABU, M.C. & KUTTAN, R. 2002. Hypoglycemic effect of methanol extract of *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn on alloxan induced diabetes mellitus in rats and its relation with antioxidant potential. *Indian Journal of Experimental Biology*, **40**: 905-909.
- RICE-EVANS, C.A. & DIPLOCK, A.T. 1993. Current status of antioxidant therapy. *Free Radical Biology and Medicine*, **15**: 77-96.

- RODRIGUES, V.E.G. & CARVALHO, D.A. 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande-Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, **25**: 102-123.
- ROEDING-PENMAN, A. & GORGON, M.H. 1998. Antioxidant properties of myricetin and quercetin in oil and emulsions. *Journal of The American Oil Chemists Society*, **75**: 169-180.
- RYU, G.; JU, J.H.; PARK, Y.J.; RYU, S.Y.; CHOI, B.W. & LEE, B.H. 2002. The radical scavenging effects of stilbene glucosides from *Polygonum multiflorum*. *Archives of Pharmacological Research*, **25**: 636-639.
- SCHMOURLO, G.; MENDONÇA-FILHO, R.R.; ALVIANO, C.S. & COSTA, S.S. 2005. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *Journal Ethnopharmacology*, **96**: 563-568.
- SILVA, M.J. & SALES, M.F. 2004. O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae - Euphorbiaceae Juss.) no bioma Caatinga do estado de Pernambuco - Brasil. *Rodriguésia*, **55**: 101-126.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A. & PETROVICK, P.R. 1999. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Editora Universidade/UFRGS e Editora da UFSC. 821p
- SINGH, R.B.; DUBNOV, G.; NIAZ, M.A.; GHOSH, S.; SINGH, R.; RASTOGI, S.S.; MANOR, O.; PELLA, D. & BERRY, E.M. 2002. Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary artery disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomized single-blind trial. *Lancet*, **360**: 1455-1461.
- SKERGET, M.; KOTNIK, P.; HADOLIN, M.; HRAS, A.R.; SIMONIC, M. & KNEZ, Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, **89**: 191-198.
- SLIFKA, K.A.; BOWEN, P.E.; STACEWICZ-SAPUNTZAKIS, M. & CRISSEY, S.D. 1999. A survey of serum and dietary carotenoids in captive wild animals. *Journal of Nutrition*, **129**: 380-390.
- TAIT, A.; GANZERLI, S. & DI BELLA, M. 1996. Synthesis and free radical scavenging activity of 4-(2H-1,2,4-Benzothiadiazine-1,1-dioxide-3-yl)-2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenols. *Tetrahedron*, **52**: 1287-12596.

-
- TORRES, D.S.C.; CORDEIRO, I. & GIULIETTI, A.M. 2003. O gênero *Phyllanthus* L. (Euphorbiaceae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, **17**: 265-278.
- VELAZQUEZ, E.; TOURNIER, H.A.; DE BUSCHIAZZO, P.M.; SAAVEDRA, G. & SCHINELLA, G.R. 2003. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. *Fitoterapia*, **74** : 91-97.
- VON GADOW, A.; JOUBERT, E. & HASMANN, C.F. 1997. Comparision of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**: 632-638.
- YILDIRIM, A.; MAVI, A. & KARAT, A.A. 2003. Antioxidant and antimicrobial activities of *Polygonum cognatum* Meissn extracts. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, **83**: 64-69.
- YOUNG, I.S. & WOODSIDE, J.V. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, **54**: 176-186.
- ZIELNSKI, H. & KOZLOWSKA, H. 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**: 2008-2016.



***Estudo Fitoquímico e a
Atividade Antioxidante
de Extratos de
Brachiaria humidicola***



Capítulo III

1.0- A IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA FAMÍLIA POACEAE:

As monocotiledôneas constituem cerca de 100 famílias de plantas reunidas de acordo com seu grau de desenvolvimento. (Harborne & Williams, 1994).

As monocotiledôneas são consideradas inferiores quando comparadas ao grupo das dicotiledôneas, porém apresentam certa relação com alguns dos representantes deste segundo grupo (Harborne & Williams, 1994).

As monocotiledôneas são tipicamente herbáceas em seu habitat. Um exemplo é a família Poaceae, economicamente a mais importante de todas, com mais de 8000 espécies (Harborne & Williams, 1994). Esta é uma das maiores famílias de angiospermas e seus representantes encontram-se espalhados por todo o mundo (Joly, 1993).

Um grande número de representantes da família Poaceae fornece forragem para o gado, tais como o quicuío (*Brachiaria humidicola*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e os grãos de uma das variedades de capim adlai, pertencente ao gênero *Coix*, são utilizados para alimentação de animais (Joly, 1993).

Dentre os gêneros cultivados dos quais se aproveitam os grãos para a alimentação humana, destacam-se: Milho (*Zea*), Cevado (*Hordeum*), Centeio (*Secale*), Aveia (*Avena*), Arroz (*Oryza*) e Sorgo (*Sorghum*). Além deste uso, as inflorescências de sorgo (*Sorghum*) são empregadas na fabricação de vassouras amarelas. O alpiste (gênero *Phalaris*) é empregado na alimentação de pássaros, com o nome de panico. Uma espécie do gênero *Setaria* é comercializada com a mesma finalidade (Joly, 1993).

A cana-de-açúcar (gênero *Saccharum*) é extensamente cultivada fornecendo além do açúcar, cachaça, rum, álcool etílico e outros produtos industriais. A fabricação de bebidas, como cerveja, uísque, entre outros, se baseia no uso de grãos de vários representantes da família Poaceae (Joly, 1993).

As inflorescências de certos membros pertencentes aos gêneros *Briza* e *Gynerium*, conhecidos como capim-pluma, são empregados na ornamentação, quando secos. Várias gramíneas fornecem material para tecelagem, como o bambu e a taquara e em menor escala, os colmos de arroz (Joly, 1993). As folhas de uma espécie

do gênero *Cymbopogon* (capim-cidrão ou capim-limão) são utilizadas para preparar um chá conhecido como chá de erva-cidreira (Joly, 1993).

Na zona rural o sapé (gênero *Imperata*) e o capim-guaçu (gênero *Paspalum*) fornecem material para a cobertura de ranchos e casas modestas (Joly, 1993).

As espécies da família Poaceae constituem a principal fonte de alimentação de muitos herbívoros (Chevalier *et al.*, 2001).

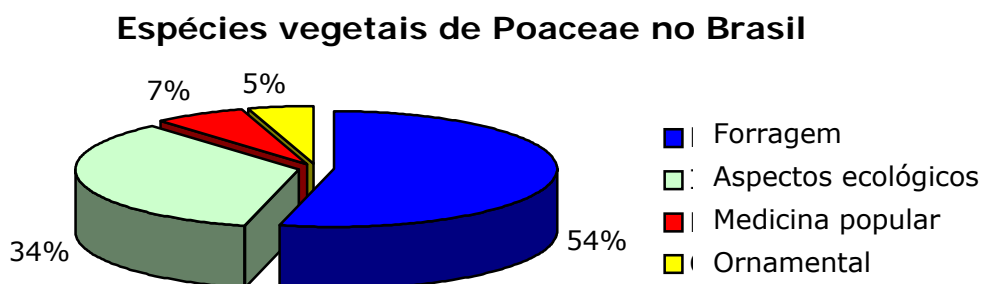
Os relatos apresentados acima mostram que as gramíneas possuem grande importância em diversos setores da economia que percorrem desde a pecuária até a ornamentação, tornando assim relevante o estudo de espécies desta família.

2.0 - A FAMÍLIA POACEAE NO BRASIL:

Segundo Lorenzi (2000), no Brasil todas as espécies de Poaceae possuem aspectos ecológicos marcantes na agricultura. A maioria dessas espécies são utilizadas como forrageiras, ocasionalmente como ornamentais e ainda na medicina popular.

De acordo com levantamento realizado no livro Plantas Daninhas no Brasil (Lorenzi, 2000), verifica-se que cerca de 54% das plantas pertencentes à família Poaceae no Brasil são utilizadas como forrageiras; 34% delas possuem exclusivamente aspectos ecológicos; apenas 7% dessas espécies são utilizadas na medicina popular e 5% encontram uso como ornamentais (figura 1).

Figura 1: Uso mais freqüente de espécies representantes da família Poaceae no Brasil



O gênero que mais contribui como forrageiro no Brasil é o *Paspalum* (8 espécies), seguido do gênero *Brachiaria* (7 espécies). O gênero mais infestante é o *Echinochloa* (4 espécies). Os gêneros *Andropogon*, *Coix*, *Eleusine*, *Eragrotis*, *Imperata* e *Melinis* são aqueles que contribuem com uso na medicina popular. Os gêneros *Coix*, *Eragrotis* e *Setaria* são os utilizados como ornamentais (Lorenzi, 2000).

3.0 - FORRAGEIRAS PARA PASTAGEM

As espécies de monocotiledôneas forrageiras diferem acentuadamente entre si. A característica intrínseca das forrageiras é o resultado de sua interação com o meio (solo, clima e animal) (Vilela, 1998).

O sucesso da exploração pecuária tem como ponto básico à adequada formação de pastagens. Uma das decisões a ser tomada neste contexto, se refere à escolha da espécie forrageira que, por sua vez, está ligada a uma série de variáveis do meio. As principais características relacionadas com o meio são (Vilela, 1998; Rao *et al.*, 1998):

- Adaptabilidade aos diferentes tipos de solo;
- Tolerância a diferentes graus de encharcamento do solo;
- Resposta à fertilização;
- Tolerância a baixo índice pluviométrico;
- Tolerância às pragas e doenças;
- Potencial e distribuição de produção de forragem ao longo do ano;
- Palatabilidade alta para as diferentes espécies e categorias de animais.

Portanto, o que se busca é reunir estas características em uma só espécie forrageira. Como dificilmente conseguir-se-á reunir estas características em uma só espécie, recomenda-se diversificá-las no sentido de que as deficiências de uma, sejam suprimidas por outra (Vilela, 1998). Segundo Vilela 1998, as espécies do gênero *Brachiaria* são aquelas que mais se adequam a exploração pecuária por apresentarem um melhor perfil característico relacionado com o meio.

De acordo com um trabalho realizado por Manço (2004) na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN-SESC), a espécie vegetal *Brachiaria humidicola* está presente nos habitats selecionados por veados-campeiros tanto na estação úmida quanto na estação seca. Segundo Manço (2004), os campos com murundus com o capim quicuio (*B. humidicola*) foram os preferidos no período úmido pelos cervos-do-pantanal e veados-campeiros na RPPN-SESC.

Desta forma, a espécie *Brachiaria humidicola* foi à planta da dieta dos cervídeos selecionada para estudo fitoquímico mais aprofundado.

4.0- ESTUDOS ANTERIORES DE PLANTAS DA FAMÍLIA POACEAE:

Algumas espécies da família Poaceae têm sido alvo de estudo de grupos de pesquisas em todo o mundo. Desta forma, existem relatos sobre atividades contra infecções e diarreias (Byavu *et al.*, 2000), como antiinflamatórias, como antioxidantes (Bouaziz *et al.*, 2001), como protetoras contra raios ultravioletas (Schimitz-Hoerner & Weissenbock, 2003; Rozema *et al.*, 2001). Além destas, existem evidências de comportamento alelopático para esta família (Sanchez-Moreiras *et al.*, 2004).

Algumas espécies da família Poaceae são utilizadas pela população como antiinflamatórias. Como exemplos, podem ser citados *Cenchrus ciliaris* (Light *et al.*, 2002; Lorenzi & Matos, 2002), *Eleusine indica* (Lorenzi & Matos, 2002) e *Hyparrhenia hirta* (Bouaziz *et al.*, 2001).

Plantas da família Poaceae vêm sendo utilizadas também na etnoveterinária em várias localidades do mundo, desde a Europa até o Oriente Médio (Pieroni *et al.*, 2004; Abbas *et al.*, 2002; Leporatti & Corradi, 2001). A tabela abaixo mostra o uso destas espécies e o modo de preparação das plantas, bem como a parte utilizada.

Tabela 1: Espécies de Poaceae utilizadas em etnoveterinária

Espécie Vegetal	Uso	Modo de Preparação	Referência
<i>Agropyron repens</i>	Anti-séptico	_____	Viegi <i>et al.</i> , 2003
<i>Arundo donax</i>	Diurético	Decocção das raízes	Leporatti & Corradi, 2001
<i>Avena fatua</i>	Nutracêutico	Expressão das partes aéreas	Pieroni <i>et al.</i> , 2004
<i>Avena sativa</i>	Contra infertilidade	_____	Viegi <i>et al.</i> , 2003
	Contra infertilidade e anti-mastítico	Ingestão dos frutos	Manganelli <i>et al.</i> , 2001
	Antiinflamatório e nutracêutico	Expressão das sementes	Pieroni <i>et al.</i> , 2004
<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	Anti-colicativo e laxante	Decocção das folhas	Abbas <i>et al.</i> , 2002
<i>Cynodon dactylon</i>	Suplemento alimentar	_____	Viegi <i>et al.</i> , 2003
	Diurético e antiinfecção urinário	Decocção das folhas e rizomas	Leporatti & Corradi, 2001
<i>Echinachloa crus-galli</i>	Suplemento alimentar	_____	Viegi <i>et al.</i> , 2003
	Reconstrutor	Decocção dos frutos	Manganelli <i>et al.</i> , 2001
<i>Eleusine corocana</i>	Antiinflamatório e antidiarréico.	Expressão da grama	Byavu <i>et al.</i> , 2000
<i>Elytrigia repens</i>	Antiinflamatório,	Maceração dos	Leporatti & Corradi,

<i>(Agropyrum repens)</i>	antiinfecção urinária, eliminador de pedra nos rins e laxante.	rizomas	2001
<i>Hordeum vulgare</i>	Nutracêutico	Expressão das sementes	Pieroni <i>et al.</i> , 2004
	Contra problemas gastrintestinais	_____	Viegi <i>et al.</i> , 2003
	Retentor de placenta	_____	Lans & Brown, 1998
	Antidiarréico	Decocção dos frutos	Manganelli <i>et al.</i> , 2001
<i>Phragmites australis</i>	Contra problemas gastrintestinais	_____	Viegi <i>et al.</i> , 2003
	Antidiarréico	Ingestão das partes aéreas	Manganelli <i>et al.</i> , 2001
<i>Sanctcharum officinarum</i>	Para banho do animal	_____	Lans <i>et al.</i> , 2001
<i>Secale cereale</i>	Contra problemas gastrintestinais	_____	Viegi <i>et al.</i> , 2003
	Anti-séptico	Decocção dos frutos	Manganelli <i>et al.</i> , 2001
<i>Sorghum bicolor</i>	Antiinflamatório	Expressão da capim	Byavu <i>et al.</i> , 2000
<i>Zea mays</i>	Anti-séptico	_____	Viegi <i>et al.</i> , 2003
	Diurético	Decocção dos estigmas	Leporatti & Corradi, 2001
	Lactante e nutraceutico	Expressão das sementes	Pieroni <i>et al.</i> , 2004

Dados da literatura mostram que a família Poaceae também vem sendo estudada sob o ponto de vista fitoquímico. Desta forma algumas contribuições importantes podem ser observadas.

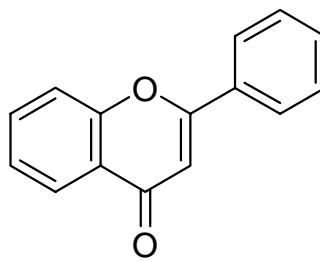
São vários os relatos sobre o isolamento e a identificação de saponinas (Trojanowska *et al.*, 2000), esteróides (Savchenko *et al.*, 1998; Sacchetti *et al.*, 2004) e alcalóides (Zhalolov *et al.*, 2000; 2002^a, 2002^b e 2003), dentre outros.

4.1- Flavonóides isolados de espécies da família Poaceae:

Neste trabalho, o enfoque é dado à classe dos flavonóides, razão pela qual foi realizado um levantamento exaustivo sobre estes metabólitos secundários em Poaceae (anexo I). Foram verificadas a existência 110 tipos flavonas e flavonóis presentes na família Poaceae.

Os flavonóides representam um dos grupos de metabólitos fenólicos mais importantes e diversificados dentre as substâncias de origem vegetal, amplamente distribuídos no reino vegetal (Simões *et al.*, 1999). A figura abaixo mostra o esqueleto básico dos flavonóides.

Figura 2: Esqueleto básico dos flavonóides



De acordo com um estudo realizado por Martínez (1985), se observa o seguinte perfil de flavonóides detectados na família Poaceae:

1. 90-100% correspondem as flavonas *O*-glicosiladas;
2. 60-100% dos flavonóides são *C*-glicosil flavonas ou flavonas 3'-5'-*O*-metiladas;
3. 10% correspondem aos flavonóis *O*-glicosilados.

As famílias de monocotiledôneas Poaceae e Ciperaceae são as únicas que biossintetizam majoritariamente flavonas *C*-glicosiladas e, sobretudo, o esqueleto da tricina com freqüência (Martínez, 1985; Harborne & Williams, 1994).

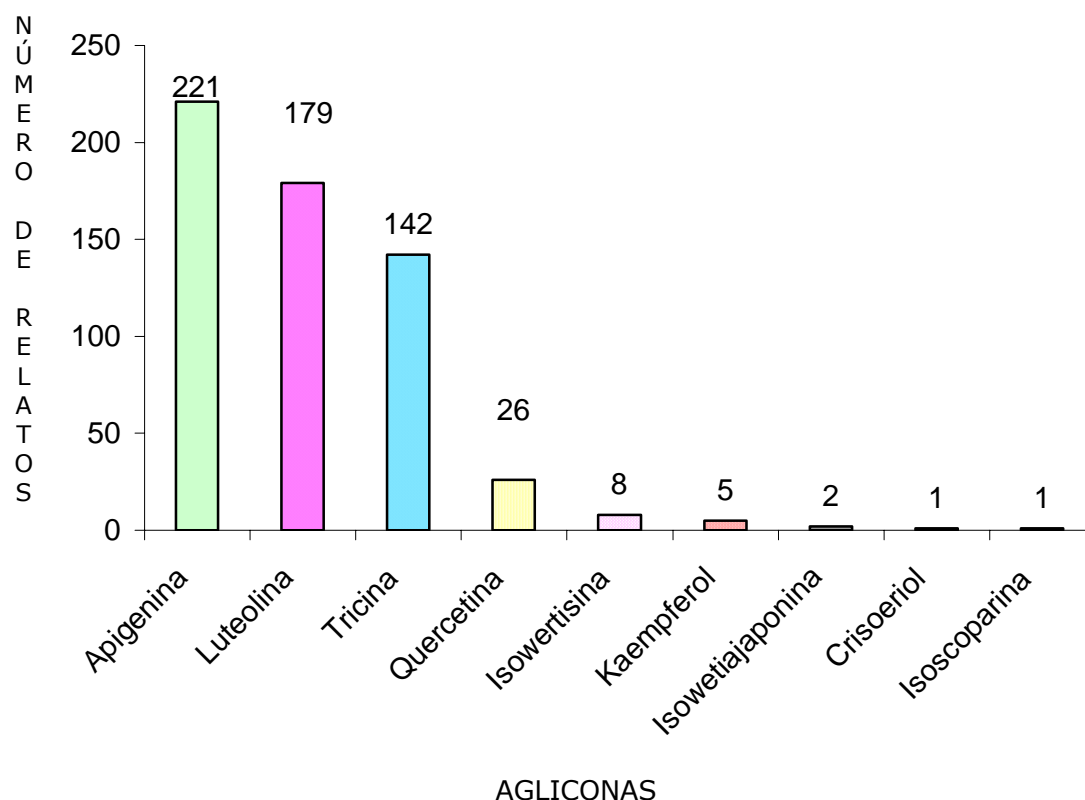
Segundo Harborne & Williams (1994), outros esqueletos para este grupo de substâncias podem ser observados, tais como as antocianinas, detectadas em *Zea mays* (sementes) e no gênero *Sorghum*, isoflavonóides em *Festuca argentinae* dentre outros, flavanonas para *Oryza sativa*.

Com base no levantamento bibliográfico realizado sobre a ocorrência e a caracterização de flavonas e flavonóis (glicosilados ou não glicosilados e esterificados

ou não esterificados) para a família Poaceae, foi montada uma tabela que se encontra anexada a este trabalho (anexo 1).

As flavonas e flavonóis (glicosilados ou não) são os grupos mais abundantes na classe dos flavonóides. Foram observados 9 tipos de agliconas diferentes: apigenina, crisoeriol, isoscoparina, isowertisina, isowertiajaponina, kaempferol, luteolina, quercetina e tricina. A aglicona mais comum foi a apigenina (221 relatos), seguida de luteolina (179 relatos) e tricina (142 relatos) (figura 3).

Figura 3: Agliconas presentes em espécies da família Poaceae e o número de relatos existentes na literatura no período de 1964 a 2005.



O gênero que possui o maior número de espécies avaliadas quanto a caracterização de flavonóides é o *Muhlenbergia* (30 espécies vegetais), seguido do gênero *Avena* (21 espécies) (anexo I). O elevado número de relatos para os dois gêneros se deve, provavelmente, à alta relevância econômica que ambos apresentam.

4.2- OUTROS FENÓLICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA POACEAE:

Outros fenólicos como os estilbenos e o ácido *p*-cumárico foram isolados das espécies *Festuca versuta* (Harborne & Williams, 1994) e *Oryza sativa* (Kato *et al.*, 1977) e dos gêneros *Lolium*, *Hordeum*, *Poa* e *Stipa* (Powell *et al.*, 1994).

Estas substâncias são consideradas como metabólitos de estresse da planta e existem relatos sobre a atividade antioxidante relacionada a essa classe de derivados fenólicos (Powell *et al.*, 1994).

Outros fenólicos, como os ácidos clorogênico, cafêico, *p*-cumárico, ferúlico, hidroxicinâmico, cumárico, cucúrbico e jasmônico também foram relatados (Lichtenthaler & Schweiger, 1998; Lam *et al.*, 1994; Tachibana *et al.*, 1992; Dathe *et al.*, 1991; Matouscheck & Sthal-Biskup, 1991). Além destes, ácidos fenólicos glicosilados também ocorrem em Poaceae (Oikawa *et al.*, 2001; Cambier *et al.*, 2001; Weiland *et al.*, 1998; Colantes *et al.*, 1998; Gianoli & Niemeyer, 1998).

O ácido ferúlico foi isolado do gênero *Brachiaria*. Para esta substância foram relatadas, dentre outras, as atividades antiinflamatórias (Ozaki, 1992) e antioxidante (Graf, 1992).

5.0- ASPECTOS DE *Brachiaria humidicola* E A SUA APLICAÇÃO NA PECUÁRIA:

O gênero *Brachiaria* compreende cerca de 100 espécies. Este gênero é bastante diversificado nas savanas e no sul da África, e distribuído em regiões pantropicais (Wenzl *et al.*, 2000).

No Brasil esse gênero está representado por 7 espécies: *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens*, *B. humidicola*, *B. mutica*, *B. plantaginea*, *B. ruziziensis* e *B. subquadripara* (Lorenzi, 2000).

Algumas gramíneas forrageiras possuem substâncias tóxicas capazes de provocar efeitos que variam de problemas neurológicos até as reações de fotossensibilização (Cheeke, 1995).

A espécie *Brachiaria decumbens* é uma planta fotossensibilizante, ou seja, produz lesões no tecido dos animais através da interação da radiação solar com saponinas esteroidais presentes. Esta interação gera, por sua vez, um aumento da concentração dos radicais livres formados no tecido, provocando lesões (Cheek, 1995; Tokarnia *et al.*, 2002).

A espécie *B. humidicola* é uma das forrageiras tropicais utilizadas para alimentação de gado nas áreas de cerrado do Brasil Central onde, constitui uma boa opção forrageira, além das pastagens nativas (Santos *et al.*, 2003).

B. humidicola é utilizada como forrageira, pois possui boa palatabilidade (Rueda *et al.*, 2003). O teor de proteína seca esta em torno de 7%. Cerca de 10-20 ton ms/ha/ano de *B. humidicola* são comercializados.

Trata-se de uma gramínea perene, procedente do continente africano, onde ocorre em áreas relativamente úmidas. Adaptada às condições de clima e solo de cerrado, vegeta bem em regiões de solos fracos e de elevada acidez, propagando-se facilmente por sementes e mudas (Rueda *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2004).

Esta espécie possui como características de baixa a média fertilidade e seu crescimento é ereto e estonífero, com altura máxima de 1 m. Possui alta tolerância à seca e média ao frio e às cigarrinhas de pastagem (Rueda *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2004). A figura 4 mostra a espécie *B. humidicola*.

Figura 4: Foto de *Brachiaria humidicola*



(Lorenzi, 2000).

A alimentação do gado de corte nos trópicos é sustentada pelas forrageiras nativas. A principal atividade econômica do Pantanal está calçada na pecuária de corte e a alimentação do rebanho baseia-se exclusivamente em pastagem nativa. Nos últimos tempos houve a introdução de gramíneas exóticas, principalmente braquiárias, como alternativa para melhorar a disponibilidade e a qualidade das pastagens utilizadas (Crispin, 2002).

As braquiárias são os capins mais plantados no país, sendo utilizados para todas as fases do animal. Adaptam-se às mais variadas condições de solo e clima, ocupando espaço cada vez maior em todo o território brasileiro, devido ao fato de proporcionarem produções satisfatórias de forragem (Soares Filho, 1994). No Pantanal, a *B. humidicola* vêm ocupando áreas de pastagens nativas que, geralmente, apresentam espécies com baixa produção em proteína bruta.

Nesta região alguns estudos realizados com *B. humidicola* indicam que é uma gramínea promissora para a formação de pastagens e, além disso, cobre o solo com eficiência (Manço, 2004).

Ao avaliar o valor nutritivo de *B. humidicola* com três idades de formação (até 2 anos, 5-10 anos e superior a 10 anos), expressa pelo teor de proteína bruta, macronutrientes (cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio) e micronutrientes (manganês, ferro, zinco, e cobre), no período de novembro de 1996 a novembro de 1997, observou-se que de acordo com a idade de formação, os teores de proteína bruta mostraram diferença ($P < 0,05$). Os maiores teores foram encontrados nas

pastagens até dois anos e maiores que 10 anos. Esses teores não atendem o mínimo recomendado para herbivoria (Crispim, 2002).

Os trabalhos na literatura mostram que *B. humidicola* é uma espécie de interesse econômico na pecuária e que esforços têm sido feitos na tentativa de se estimar o valor nutritivo da planta em função da variação sazonal.

A literatura mostra um relato interessante sobre a atividade de *B. humidicola* sobre bactérias nitrificantes do solo (Ishikawa *et al.*, 2003). Os autores comparam esta atividade entre 3 espécies da família Poaceae (*Melinis minutiflora*, *B. humidicola* e *B. decumbens*).

A espécie *B. humidicola* foi aquela que reduziu consideravelmente os níveis de bactérias nitrificantes. Segundo aqueles autores esta ação pode estar relacionada às substâncias presentes nas raízes da planta. Além disso, também foi verificado como consequência, que ocorreu uma diminuição da emissão de óxidos de nitrogênio na atmosfera nos experimentos realizados por Ishikawa *et al.*, 2003.

6.0-ESTUDOS QUÍMICOS ANTERIORES DE ESPÉCIES DO GÊNERO

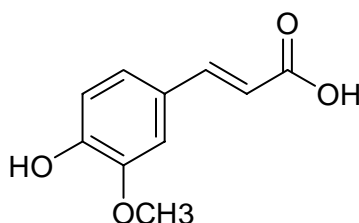
Brachiaria

Todavia, não foi observada na literatura (levantamento 1973-2005) qualquer informação sobre estudos dos metabólitos secundários da espécie *B. humidicola*.

O conhecimento da composição química de *B. humidicola* poderá contribuir para a produção de híbridos desta espécie a fim de se obter uma planta com maior valor nutritivo. Uma maior concentração de macronutrientes e micronutrientes, conseqüentemente, acarretará um menor gasto na compra de rações utilizadas para suprir a deficiência dos nutrientes.

Praticamente não existem relatos no que se refere a fitoquímica das espécies do gênero *Brachiaria*. Um desses relatos descreve o ácido 4-hidróxi-3-metoxicinâmico (ácido ferúlico) presente nas raízes de *Brachiaria decumbens* e *B. ruziziensis* (Wenzel *et al.*, 2000) (figura 5).

Figura 5: Estrutura do ácido ferúlico



Para uma outra espécie do gênero, *B. decumbens*, existe um relato sobre o isolamento e identificação de saponinas fotossensibilizadoras a partir do extrato em diclorometano das partes aéreas (Pires *et al.*, 2002).

Essas substâncias foram caracterizadas com base nos dados de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ^{13}C), além das técnicas combinadas de correlações de ^1H - ^1H , heterocorrelações (^1H - ^{13}C) e espectrometria de massas.

Lignanas e carboidratos também foram relatados em *Brachiaria decumbens* (Guggenberger *et al.*, 1995). Essa mesma espécie foi avaliada quanto à existência de taninos condensados (López *et al.*, 2004).

Nenhum relato sobre o isolamento ou a detecção de flavonóides a partir de espécies do gênero *Brachiaria* foi observado no levantamento realizado, o que torna inédito um estudo nesse sentido.

7.0- EXTRAÇÃO DE *B. humidicola*

Não existem relatos de utilização de *B. humidicola* na medicina popular. Tendo como alvo à avaliação do conteúdo fenólico em *B. humidicola*, optou-se por uma extração aquosa que permite a obtenção de ácidos fenólicos, flavonóides e outras substâncias fenólicas solúveis em água.

As partes aéreas de *B. humidicola* foram submetidas ao método de extração por infusão 10% (p/v), pois esse método de extração foi aquele para o qual se observou a melhor atividade farmacológica em estudos anteriores (esquema 1) (Martins, 2003).

A planta foi coletada na RPPN-SESC Pantanal em épocas distintas do ano, que correspondem aos períodos secos e úmidos no Pantanal. Os rendimentos das extrações estão mostrados na Tabela 2. Estes foram calculados tendo como base em 100 g de planta seca.

Esquema 1: Método de extração por infusão de *Brachiaria humidicola*

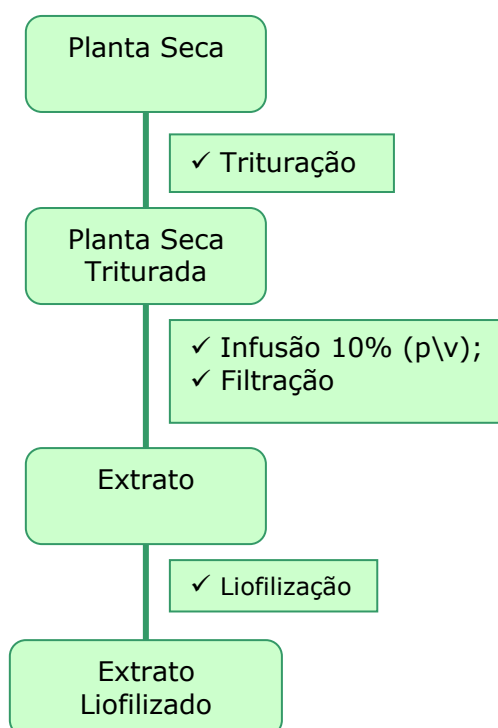


Tabela 2: Rendimentos das extrações das diferentes partidas de *Brachiaria humidicola* coletadas na RPPN-SESC Pantanal

<i>Brachiaria humidicola</i> (BH)	Coleta	Extrato (%) por 100 g de planta seca
BH1	Dezembro de 2000 (período úmido)	4,1
BH2	Junho de 2001 (período seco)	4,4
BH3	Dezembro de 2001 (período úmido)	4.4
BH4	Junho de 2002 (período seco)	7.2
BH5	Fevereiro de 2003 (período úmido)	7.4

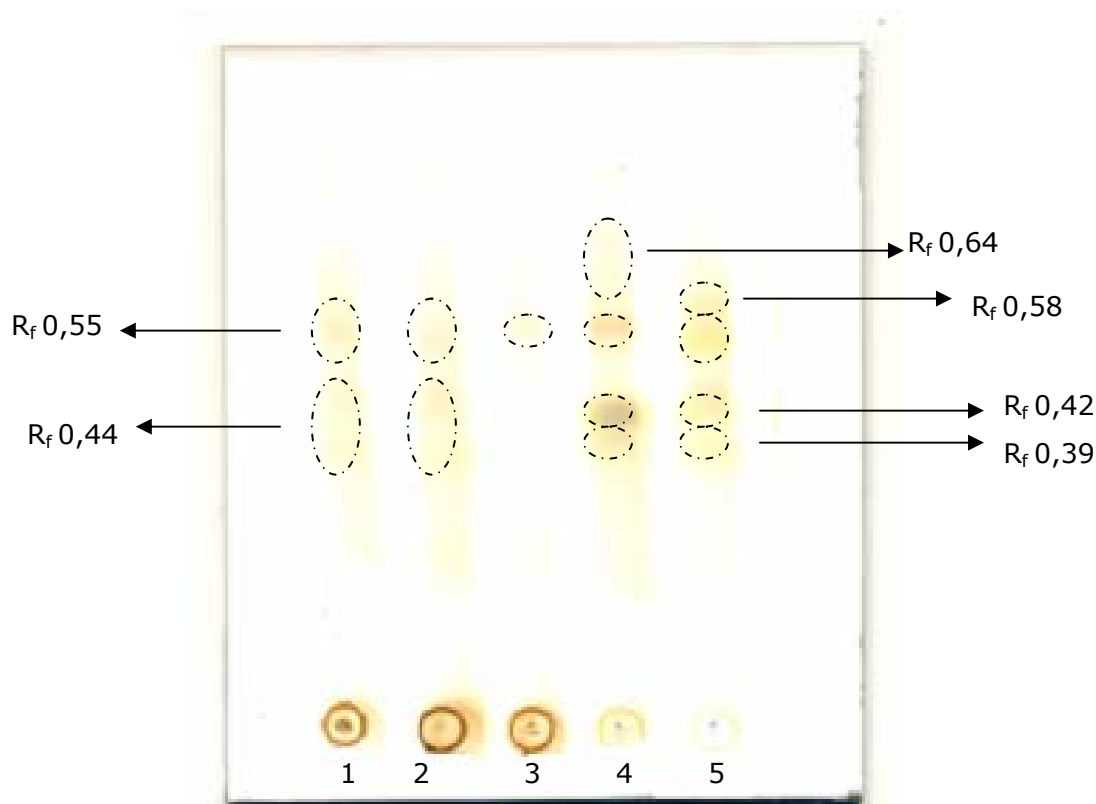
Os infusos de *B. humidicola* foram avaliados quanto ao perfil químico por meio de:

- Cromatografia em Camada Delgada (CCD);
- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Os cromatogramas (CCD), após visualização sob luz Ultravioleta (254 e 332 nm), foram revelados com sulfato cérico. Flavonóides ou compostos que apresentem esqueleto semelhante coram na cor amarela com o sulfato cérico (Ce_2SO_4).

Na figura 6 está representado o cromatograma onde foram assinalados os fatores de referência (R_f) de cada substância ou grupo de substâncias presentes nos infusos de *B. humidicola*.

Figura 6: Cromatograma em Camada Delgada (CCD) dos infusos de *Brachiaria humidicola* após revelação com solução de sulfato cérico



Obs.: Dimensões da placa: 10 X 10 cm; Corrida: 8,0 cm; Sistema de solventes BAW (3:1:1); 1 → *Brachiaria humidicola* coletada em dezembro de 2000 (BH1); 2 → *Brachiaria humidicola* coletada junho de 2001 (BH2); 3 → *Brachiaria humidicola* coletada dezembro de 2001 (BH3); 4 → *Brachiaria humidicola* coletada junho de 2002 (BH4) e 5 → *Brachiaria humidicola* coletada fevereiro de 2003 (BH5).

O cromatograma de *B. humidicola* sugere a presença de substâncias fenólicas. Todas as manchas possuem coloração azul quando reveladas sob luz UV.

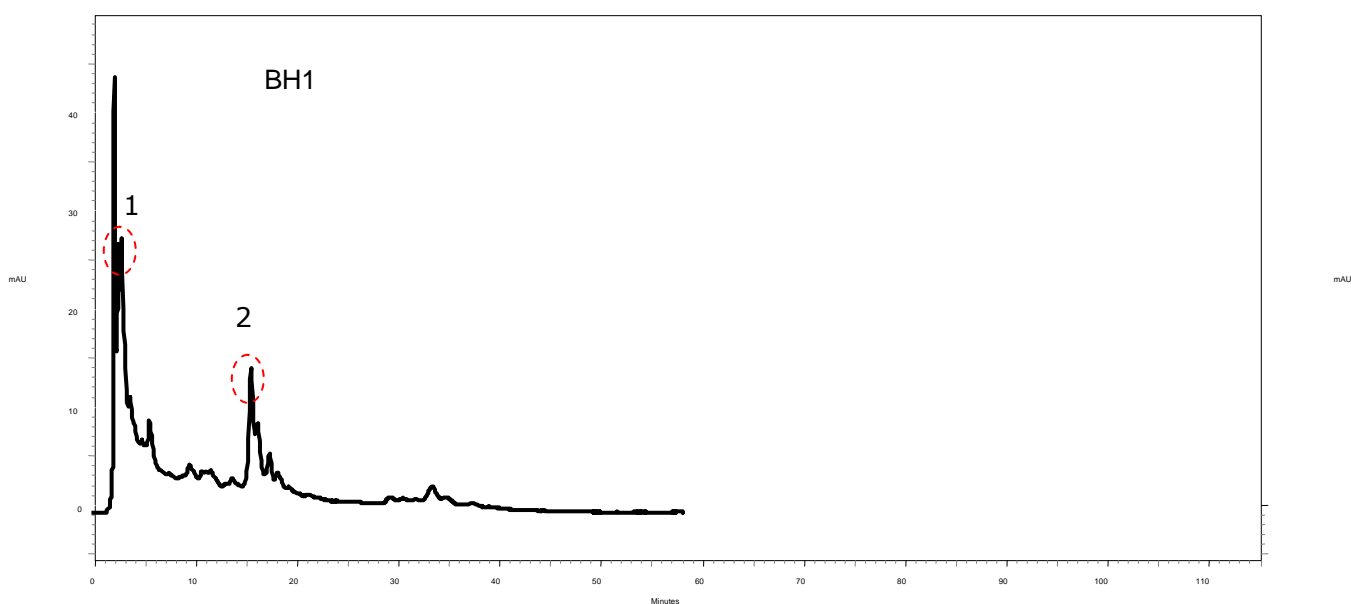
Este fato pode indicar que *B. humidicola* possui substâncias fenólicas. Entretanto, as análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência mostram que os infusos possuem baixo teor de flavonóides com base nos padrões utilizados.

A utilização do reagente de Dragendorff, específico para substâncias nitrogenadas, sobretudo os alcalóides (Simões *et al.*, 1999), não revelou mancha alaranjada característica desta classe.

Todos os infusos de *B. humidicola* foram avaliados por Cromatografia de Alta Eficiência. Assim, os cromatogramas se encontram distribuídos: BH1 (figura 7), BH2 (figura 8), BH3 (figura 9), BH4 (figura 10) e BH5 (figura 11).

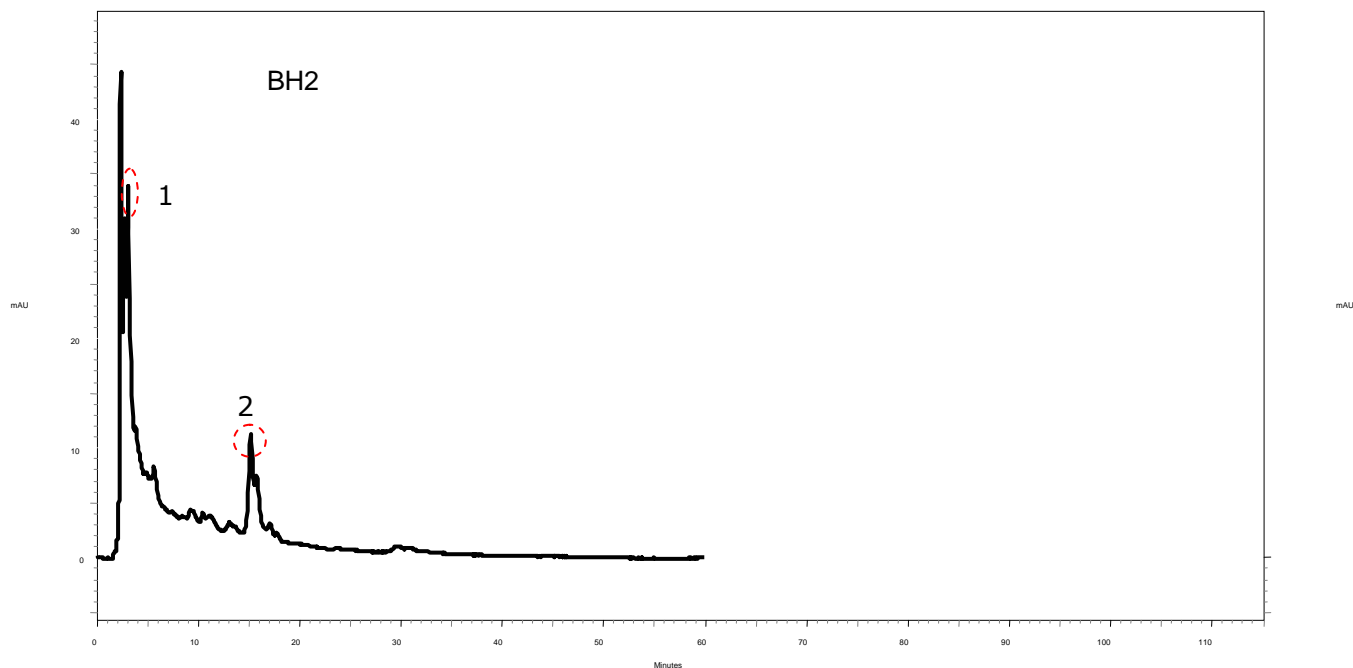
Todos os cromatogramas apresentam os picos majoritários 1 e 2. Os picos 1 e 2 foram atribuídos às seguintes substâncias fenólicas: ácido ferúlico (figura 5 e figura 14) e ácido gálico (figura 12 e figura 13), respectivamente.

Figura 7: Cromatograma do infuso de *Brachiaria humidicola* (amostra BH1- coletada em dezembro/2000) obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.



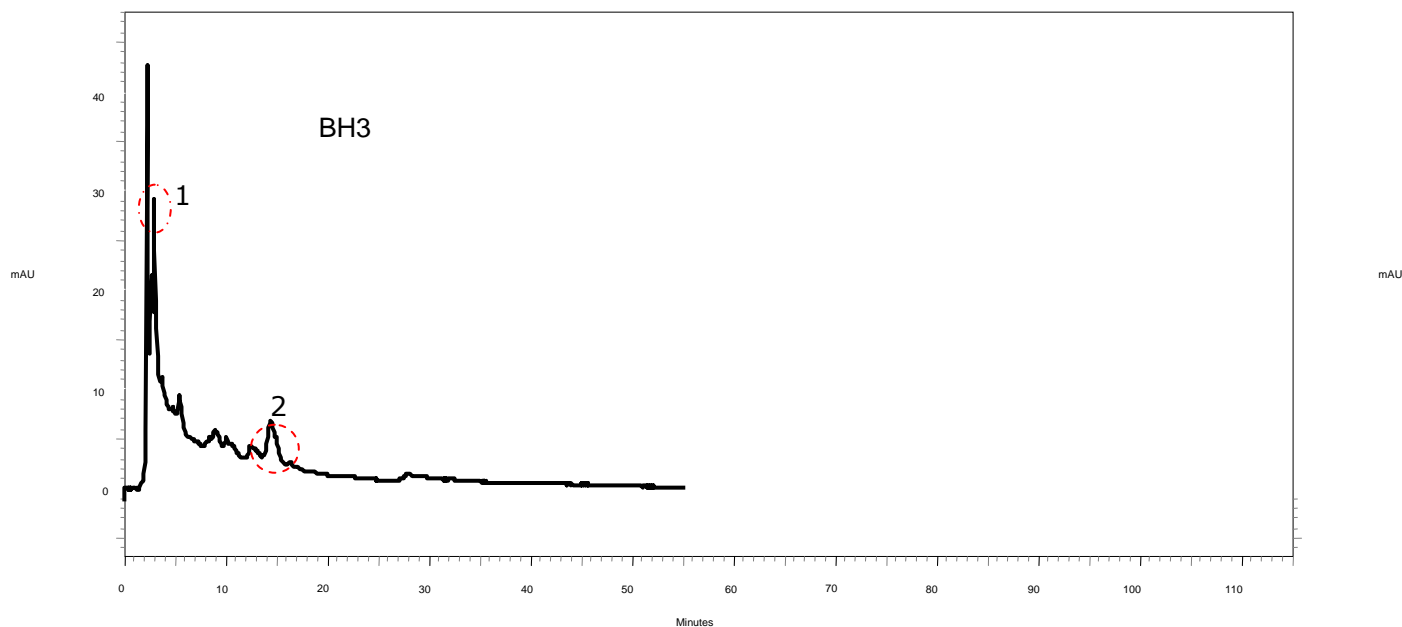
Obs.: c= 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shumadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min.

Figura 8: Cromatograma do infuso de *Brachiaria humidicola* (amostra BH2-coletada em junho/2001) obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência .



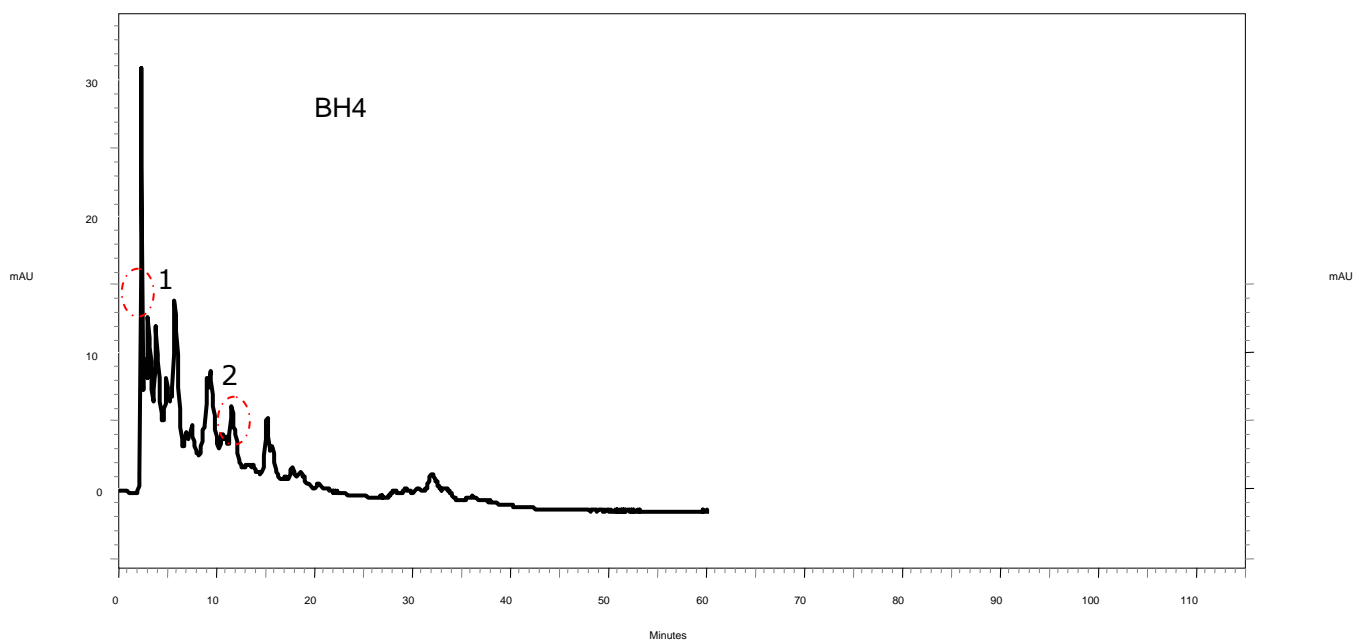
Obs.: c= 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 nº de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min.

Figura 9: Cromatograma do infuso de *Brachiaria humidicola* (amostra BH3- coletada em dezembro/2001) obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência .



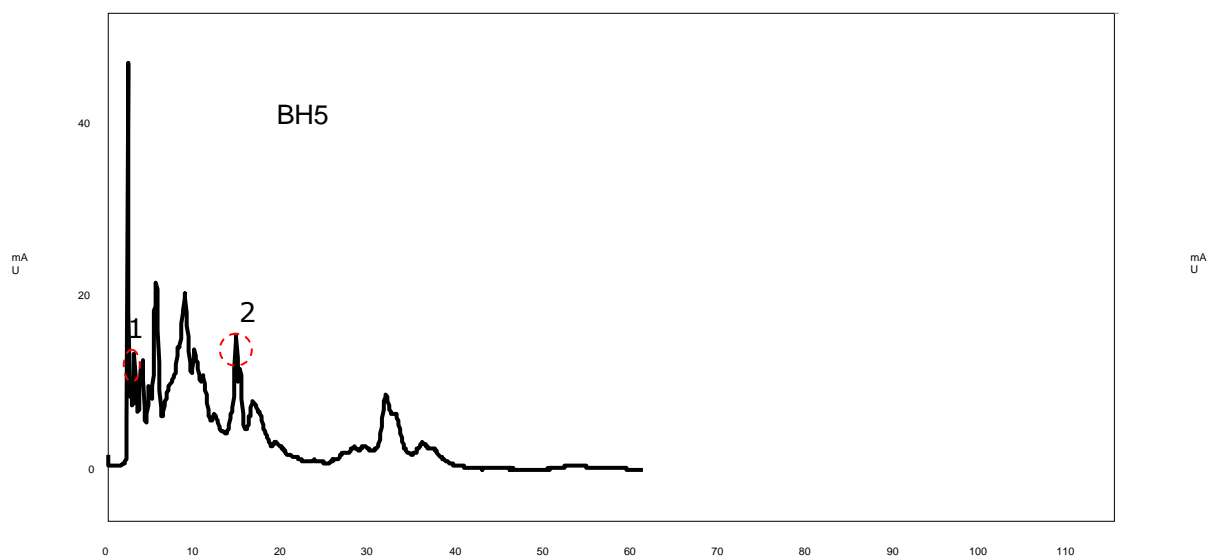
Obs.: c= 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shumadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 nº de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min.

Figura 10: Cromatograma do infuso de *Brachiaria humidicola* (amostra BH4-coletada em junho/2002) obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.



Obs.: c= 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 nº de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min.

Figura 11: Cromatograma do infuso de *Brachiaria humidicola* (amostra BH5-coletada em fevereiro/2003) obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.



Obs.: c = 6mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 nº de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min.

Com base nos cromatogramas, todos os infusos de *B. humidicola* (BH1, BH2, BH3, BH4 e BH5) são semelhantes entre si, porém BH4 (junho de 2002) e BH5 (fevereiro de 2003) parecem ser mais ricos em metabólitos, ou seja, possuem maior número de picos detectáveis no comprimento de onda utilizado.

De acordo com Cardoso *et al.* (1977), efeitos sazonais não são observados no teor de alguns metais, como o selênio, em plantações de *B. humidicola*. Entretanto, o mesmo não ocorre com relação aos metabólitos primários, como aminoácidos e proteínas, que na estação úmida parecem possuir uma maior concentração do que na estação seca. Desta forma, é razoável supor que os metabólitos secundários também estejam sujeitos à variação sazonal.

Recentemente, em um trabalho realizado por Ruenda *et al.* (2002), em três fazendas no Rio Branco (Acre), observou-se que o índice pluviométrico alterou os metabólitos biossintetizados por espécies de *Brachiaria* (*B. decumbens* e *B. brizantha*). Quanto maior o índice pluviométrico, maior a biomassa acumulada, no que se refere

aos sais minerais, de cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), potássio (K) e ao elemento nitrogênio (N).

Esses dados nos levam a acreditar que as diferenças observadas no perfil cromatográfico de infusos de *Brachiaria humidicola* por CLAE em diferentes épocas do ano não estão associadas apenas ao período seco ou úmido no Pantanal, mas também ao índice pluviométrico que pode estar aumentando a produção dos metabólitos primários e secundários da planta e, conseqüentemente, sua biomassa.

O pico número 1 em todos os cromatogramas, provavelmente, se refere ao ácido gálico, uma vez que o padrão do mesmo (figura 12) possui tempo de retenção semelhante ao observado para esse ácido (tabela 3). Tendo em vista que outros ácidos fenólicos foram detectados em outras espécies de Poaceae (Oikawa *et al.*, 2001; Cambier *et al.*, 2001), pode-se supor que a planta contenha esse ácido ou outro com perfil semelhante de hidroxilação (figura 3).

O percentual de área do ácido gálico não foi descrito para cada um dos infusos de *B. humidicola*, por não terem sido feitas as co-cromatografias dos mesmos, pois na ocasião existiam dificuldades de acesso ao equipamento.

Figura 12: Estrutura do ácido gálico

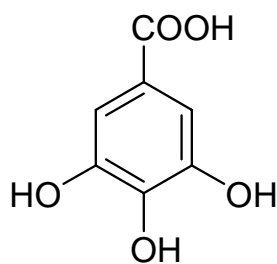
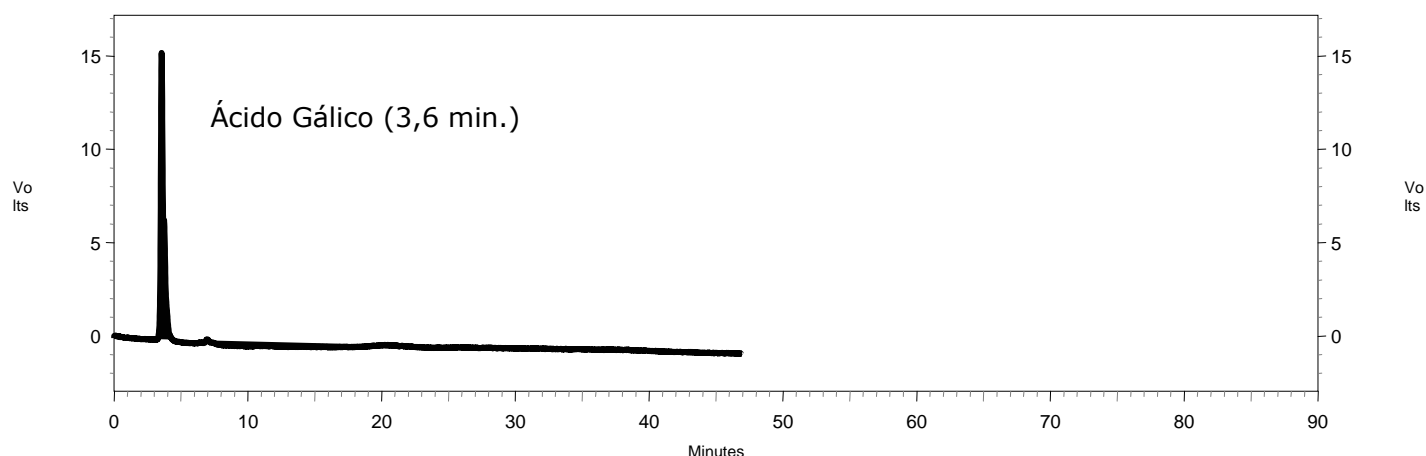


Tabela 3: Comparação entre os tempos de retenção observados para o pico 1 nos cromatogramas e o tempo de retenção do ácido gálico

Amostras	Tempo de Retenção (min.).
BH1	3,9
BH2	3,8
BH3	3,8
BH4	3,9
BH5	3,8
Ácido Gálico	3,6

Obs.: *Brachiaria humidicola* coletada em dezembro de 2000 (BH1); junho de 2001 (BH2); dezembro de 2001 (BH3); junho de 2002 (BH4) e fevereiro de 2003 (BH5)

Figura 13: Cromatograma do padrão de ácido gálico (procedência Vetec) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.



Obs.: c= 1mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shumadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 nº de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min.

Outro ácido fenólico descrito anteriormente para o gênero *Brachiaria* é o ácido ferúlico (ácido 4-hidroxi-3-metoxicinâmico) (Wenzel *et al.*, 2000). Segundo estes autores a produção do ácido ferúlico (figura 3) depende da proporção de moléculas de chiquimato formadas que, em condições favoráveis, podem divergir da rota principal e serem direcionadas para síntese de aromáticos nitrogenados que serão convertidos em ácidos quínicos e seus derivados.

Wenzel *et al.* (2000) ainda mostram que a supressão de nitrogênio ou fósforo induz o acúmulo do ácido ferúlico nas raízes de *Brachiaria ruziziensis*, enquanto a supressão de outros nutrientes como potássio, enxofre, cálcio, magnésio e alumínio não possuem qualquer efeito nesse sentido. Isto indica que apenas nitrogênio e fósforo estão relacionados à concentração do ácido ferúlico encontrado na planta.

A Figura 14 mostra o cromatograma do ácido ferúlico nas mesmas condições empregadas nas análises precedentes. O tempo de retenção para este padrão é de 11,6 minutos. A co-cromatografia (cromatogramas não mostrados) mostra a existência dessa substância em todos os infusos de *B. humidicola* (pico 2), em percentagens diferenciadas, conforme observado na tabela 4.

Tabela 4: Comparação entre os tempos de retenção do pico 2 observados nos cromatogramas dos infusos de *B. humidicola* e o tempo de retenção do ácido ferúlico

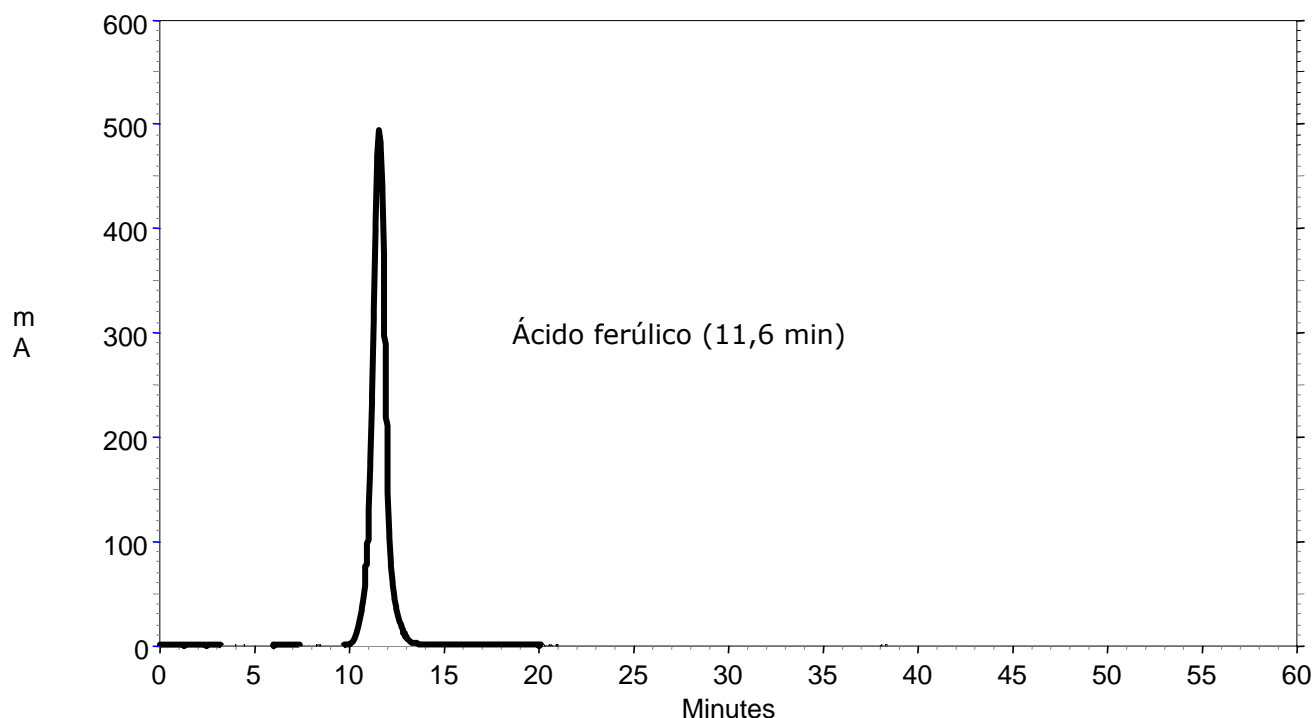
Amostras	Tempo de Retenção (minutos)	Percentual de Área (%)
BH1	11,8	10,9
BH2	12,0	10,8
BH3	12,0	10,4
BH4	12,1	7,0
BH5	12,1	6,9
Ácido Ferúlico	11,6	99,9

Obs.: *Brachiaria humidicola* coletada em dezembro de 2000 (BH1); junho de 2001 (BH2); dezembro de 2001 (BH3); junho de 2002 (BH4) e fevereiro de 2003 (BH5).

As análise co-cromatograficas das amostras foram realizadas com a mistura de 20 µl de cada solução (m= 120 µg) dos infusos de *Brachiaria humidicola* [coletada em dezembro de 2000 (BH1), junho de 2001 (BH2), dezembro de 2001 (BH3), junho de 2002 (BH4) e fevereiro de 2003 (BH5)] e de 20 µl do padrão de ácido ferúlico (m= 20 µg).

Após a injeção das soluções assim preparadas foi possível verificar que as percentagens de área dos picos relacionados na tabela 4 foram todas acrescidas e encontram-se na faixa de 81 a 89% de ácido ferúlico.

Figura 14: Cromatograma do padrão de ácido ferúlico (procedência Vetec) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.



Obs.: $c = 1\text{mg/ml}$; Injeção de $20\mu\text{l}$; Aparelho da marca Shimadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 nº de série 9807059, partícula de 5μ e diâmetro de 100 \AA). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min .

Pode-se notar que o ácido ferúlico é mais intenso nos infusos de *Brachiaria humidicola* (tabela 5) preparados com partidas de plantas coletadas em dezembro de 2000 (BH1), junho de 2001 (BH2) e dezembro de 2001 (BH3).

As plantas coletadas em junho de 2002 (BH4) e fevereiro de 2003 (BH5) possuem menor concentração do ácido ferúlico. Entretanto, BH4 e BH5 são os infusos que possuem maior biomassa e cromatogramas (figuras 10 e 11) mais ricos em metabólitos nas condições utilizadas.

Segundo Lichtenthaler & Schweiger (1998), o ácido ferúlico é a substância que possui a maior fluorescência (azul) na família Poaceae. Este fato foi evidenciado em espécies como *Zea mays*, *Triticum aestivum* e *Avena sativa*. Smith & Harris (2001) também observaram a existência dessa substância em membros da família Poaceae. Este fato, também foi evidenciado neste trabalho de tese para a espécie *B. humidicola*.

Segundo Ou & Kwok (2004), o ácido ferúlico é uma substância abundante em plantas. Seus benefícios à saúde justificam a adição deste ácido em alimentos.

Nos últimos anos, verifica-se um aumento do número de trabalhos sobre as funções fisiológicas do ácido ferúlico. Muitas aplicações do ácido ferúlico na indústria de alimentos vêm sendo descobertas (Ou & Kwok, 2004).

O ácido ferúlico pode atuar como antioxidante (Ou & Kwok, 2004; Graf, 1992), na prevenção contra trombose e arterosclerose, como agente antimicrobiano, antiinflamatório (Ou & Kwok, 2004; Ozaki, 1992) e anticâncer.

Tendo em vista que a atividade antioxidante está relacionada principalmente aos flavonóides e além destes, aos ácidos fenólicos e aos taninos, estes últimos também foram avaliados. Assim, foram quantificados os teores de taninos gálicos, taninos condensados e fenóis totais.

Nenhum dos infusos [dezembro de 2000 (BH1), junho de 2001 (BH2), dezembro de 2001 (BH3), junho de 2002 (BH4) e fevereiro de 2003 (BH5)] de *Brachiaria humidicola* apresentou teor de taninos condensados ou taninos gálicos.

Neste estudo realizado de acordo com Moreira (2000), os ensaios para quantificar o teor de fenóis totais, taninos condensados e taninos gálicos foram feitos em triplicata. Os ensaios nesta etapa seguiram o mesmo protocolo descrito no capítulo II. A tabela abaixo mostra os valores obtidos para o teor de fenóis totais da planta.

Tabela 5: Teor de fenóis totais nos infusos de *Brachiaria humidicola*

Amostras	Teor de Fenóis Totais (%)	Teor de Fenóis Totais (mg/ml)
BH1	0,35	3,50
BH2	0,35	3,62
BH3	0,34	3,39
BH4	0,42	4,25
BH5	0,43	4,33

Obs.: *Brachiaria humidicola* coletada em dezembro de 2000 (BH1); junho de 2001 (BH2); dezembro de 2001 (BH3); junho de 2002 (BH4) e fevereiro de 2003 (BH5).

Como podem ser observados, todos os infusos de *Brachiaria humidicola* possuem baixo teor de fenóis totais quando comparados com outras espécies de Poaceae (Dicko *et al.*, 2002; Kamath *et al.*, 2004).

Segundo Agostini-Costa *et al.* (2003), o tipo de extração (aquosa ou orgânica) pode ser um fator limitante para a observação do conteúdo fenólico das plantas.

Todavia, de acordo com um trabalho realizado por Kahkonen *et al.* (1999), quatro espécies da família Poaceae (*Avena sativa*, *Hordeum vulgare*, *Secale cereale* e *Triticum aestivum*) submetidas à avaliação quanto ao conteúdo fenólico mostraram valores muito próximos daqueles verificados para *B. humidicola*.

De acordo com a metodologia utilizada por Kahkonen *et al.* (1999), as plantas foram inicialmente submetidas à extração com metanol e neste trabalho de tese, as amostras de *B. humidicola* foram submetidas à extração aquosa. Assim, é plausível supor que os membros da família Poaceae possuem baixo teor fenólico.

De acordo com o observado na tabela 5, os infusos BH4 e BH5 possuem maior teor de fenóis totais do que os infusos preparados a partir de outras partidas da planta. Isto se deve provavelmente à maior concentração de metabólitos existentes nestas duas partidas de planta: junho de 2002 (BH4) e fevereiro de 2003 (BH5) (figuras 11 e 12).

Segundo Adom & Liu (2002), existe uma correlação direta do conteúdo fenólico com a atividade antioxidante de espécies vegetais utilizadas na dieta humana, como milho, aveia e dentre outras, o arroz. Similarmente, Velioglu *et al.* (1998) encontraram uma significativa relação entre os fenóis totais e a atividade antioxidante de espécies vegetais de Poaceae.

Com base nessa correlação, é possível prever para os infusos de BH4 (coleta em junho de 2002) e BH5 (coleta em fevereiro de 2003) uma maior atividade antioxidante do que para os infusos BH1 (coleta em dezembro de 2000), BH2 (coleta em junho de 2001) e BH3 (coleta em dezembro de 2001).

Mediante o exposto acima, os infusos da espécie vegetal foram avaliados quanto às atividades antioxidantes e farmacológica (atividades analgésicas e antiinflamatórias).

Inicialmente serão apresentados e discutidos os resultados dos ensaios de atividade antioxidante dos infusos de *Brachiaria humidicola* (Tabela 6). Estes testes foram realizados como descrito no capítulo anterior.

Foi utilizado como padrão de substância seqüestradora de radicais livres, o 2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol (BHT).

Tabela 6: Resultados dos ensaios da atividade redutora de extratos de *Brachiaria humidicola* frente ao radical DPPH

Amostras	1000 µg/µl	100 µg/µl	10 µg/µl	1 µg/µl
BH1	71,1%	25,9%	5,3%	0,0%
BH2	65,1%	16,5%	14,6%	4,5%
BH3	58,1%	46,4%	3,3%	0,0%
BH4	91,6%	35,9%	3,5%	2,7%
BH5	91,9%	44,3%	8,0%	4,1%
BHT	100,0%	52,1%	43,6%	32,6%

Obs.: *Brachiaria humidicola* coletada em dezembro de 2000 (BH1); junho de 2001 (BH2); dezembro de 2001 (BH3); junho de 2002 (BH4); fevereiro de 2003 (BH5) e BHT (2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol).

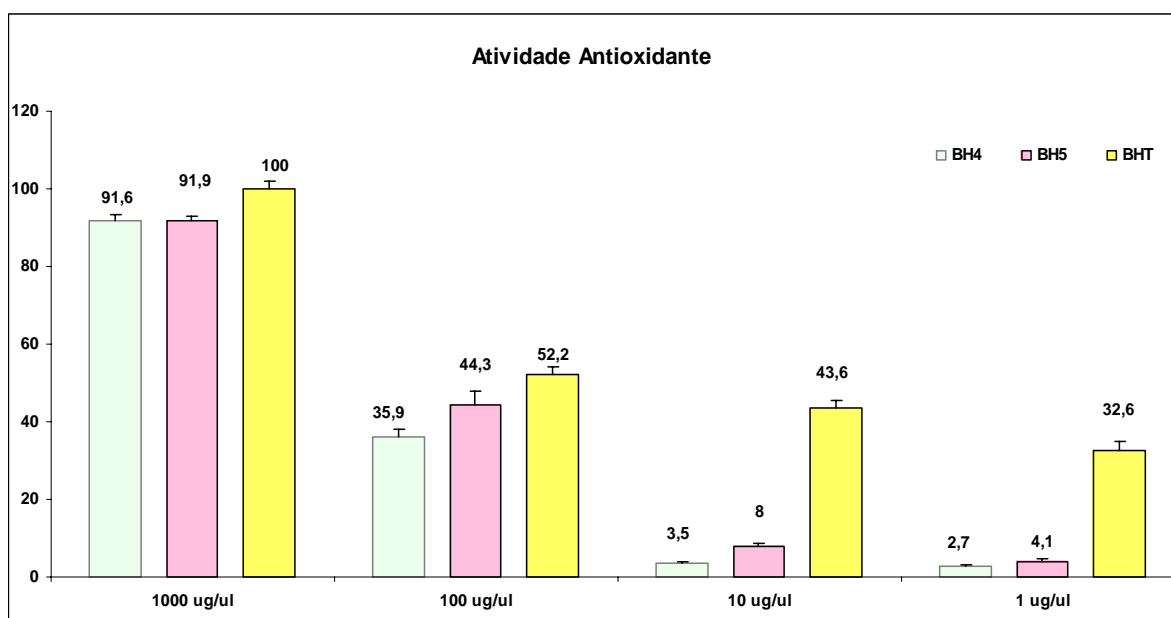
Todos os extratos foram ativos na concentração mais alta (1000 µg), porém conforme esperado, os infusos BH4 (coleta em junho de 2002) e BH5 (coleta em fevereiro de 2003) mostraram os melhores resultados nessa concentração, em torno de 90% de redução do DPPH.

Pode-se notar também que na concentração de 100 µg/µl, a atividade de todos os infusos de *Brachiaria humidicola* caiu bastante e BH2 (coletada em junho de 2001) praticamente perdeu a atividade. Para as outras duas concentrações pode-se verificar a perda de atividade.

A substância fenólica utilizada como padrão, 2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol, apresentou atividade seqüestradora de radicais livres maior do que os infusos da planta (BH1, BH2, BH3, BH4 e BH5) em todas as concentrações avaliadas e, sobretudo nas concentrações mais baixas (10 µg/ml e 1 µg/ml, respectivamente).

A figura abaixo mostra a curva observada para atividade seqüestradora de radicais livres para os infusos mais ativos (BH4 e BH5) comparados com padrão utilizado.

Figura 15: Atividades seqüestradoras do radical DPPH dos infusos mais ativos de *B. humidicola* (BH4 e BH5) comparadas ao padrão 2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol (BHT)



Obs.: *Brachiaria humidicola* coletada em junho de 2002 (BH4); fevereiro de 2003 (BH5) e BHT (2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol).

Na concentração mais alta, os infusos BH4 e BH5 possuem atividade próxima à observada para BHT (100,0%).

Na concentração de 100 µg/ml, verifica-se que BH5 permanece com a mesma relação, quando comparado com o padrão.

Como podem ser observados, os dois infusos (BH4 e BH5) perdem a atividade seqüestradora de radicais livres nas concentrações mais baixas (10 µg/ml e 1 µg/ml).

Tendo em vista que o estresse oxidativo pode estar relacionado com processos inflamatórios, o infuso de *Brachiaria humidicola* foi submetido aos ensaios antiinflamatórios.

Este estudo foi realizado pela aluna Fabíola Ribeiro Martins, em seu trabalho de tese de mestrado, sob a orientação da professora Patrícia Fernandes, do Depto. de Farmacologia (ICB/UFRJ). Somente BH1 (coleta em dezembro de 2000) foi avaliado nos ensaios antiinflamatórios e analgésicos, pois na ocasião da realização dos testes, dispúnhamos apenas deste extrato.

O extrato de *B. humidicola* (BH1) foi avaliado quanto a sua capacidade analgésica utilizando os modelos de contorções abdominais por ácido acético, retirada de cauda e no teste da formalina. Nos ensaios de analgesia foram utilizados como controle positivo a dipirona e a morfina.

Nos dois primeiros ensaios, BH1 apresentou significativa atividade analgésica periférica comparada com analgésicos padrões. O terceiro teste apresentou atividade somente na fase 2, onde a dor é de origem inflamatória.

A atividade antiinflamatória foi confirmada no ensaio do edema de pata induzido por carragenina, onde BH1 apresentou maior percentual de inibição (60%), no tempo de 1 hora.

Desta forma pode-se observar que o infuso de *Brachiaria humidicola* (BH1), apresentou atividade analgésica periférica. Além disso, também foi ativo no modelo de inflamação (2ª fase do modelo da formalina e no edema de pata).

7.1- Fracionamento Químico:

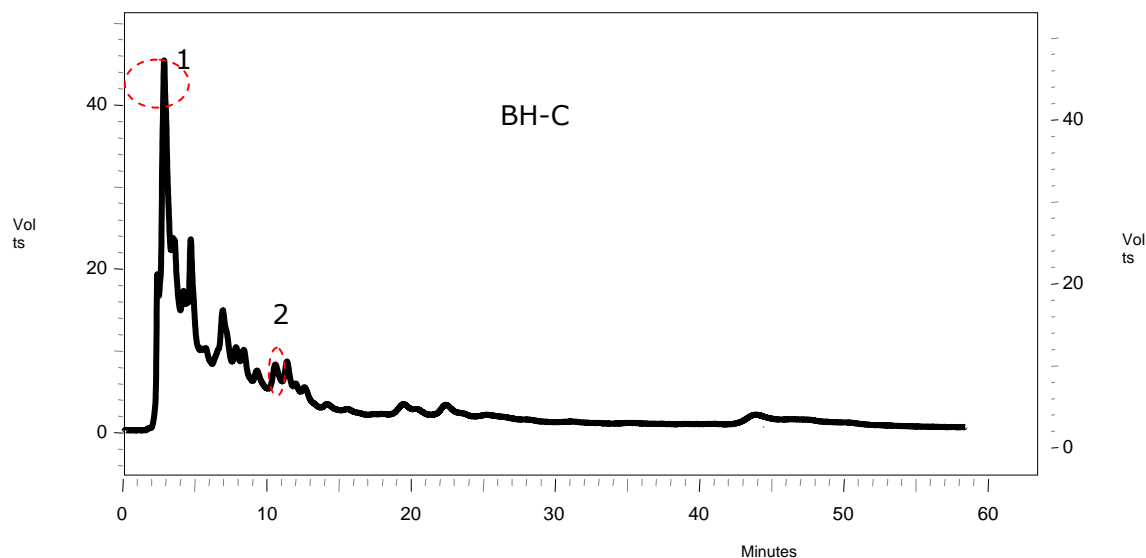
Como a massa do extrato BH1 era insuficiente para o fracionamento químico, a fim de se isolar a substância ou pelo menos um conjunto de substâncias responsáveis por essas atividades (antioxidante, antiinflamatória e analgésica), optou-se pela união de todos os infusos da espécie vegetal.

Assim, os infusos de *Brachiaria humidicola* foram unidos [coletada em dezembro de 2000 (BH1), coleta em junho de 2001 (BH2), coleta em dezembro de 2001 (BH3) e coleta em junho de 2002 (BH4)], uma vez que massa seca obtida dos infusos foi insuficiente para um estudo fitoquímico. Desta forma, a união dos extratos da planta foi codificada como BH-C (massa total de 171,1g).

Inicialmente uma avaliação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de BH-C (união dos extratos de *B. humidicola*) foi realizada, com o objetivo de se observar o perfil químico da planta, através das duas técnicas mencionadas acima.

O perfil de BH-C por CLAE foi semelhante ao observado para BH1 (coletado em dezembro de 2000), BH2 (coletada em junho de 2001; BH3 (coletada em dezembro de 2001 e BH4 (coletada em junho de 2002). Isso pode ser evidenciado na figura 16)).

Figura 16: Cromatograma de BH-C (união dos extratos de *Brachiaria humidicola*) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.



Obs.: c= 1mg/ml; Injeção de 20 μ l; Aparelho da marca Shumadzu, modelo LC-10T. A detecção foi feita em comprimento de onda fixo de 254 nm (detector modelo SPD-10^A). A coluna utilizada foi uma RP-18 da marca Touzart et Matignon (ref. 186311255 n^o de série 9807059, partícula de 5 μ e diâmetro de 100 Å). O sistema de solvente utilizado foi MeOH-aq (0,55M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min. 1 \rightarrow 3,4 minutos (ácido gálico \rightarrow 3,6 minutos) e 2 \rightarrow 11,5 minutos (ácido ferúlico \rightarrow 11,6 minutos).

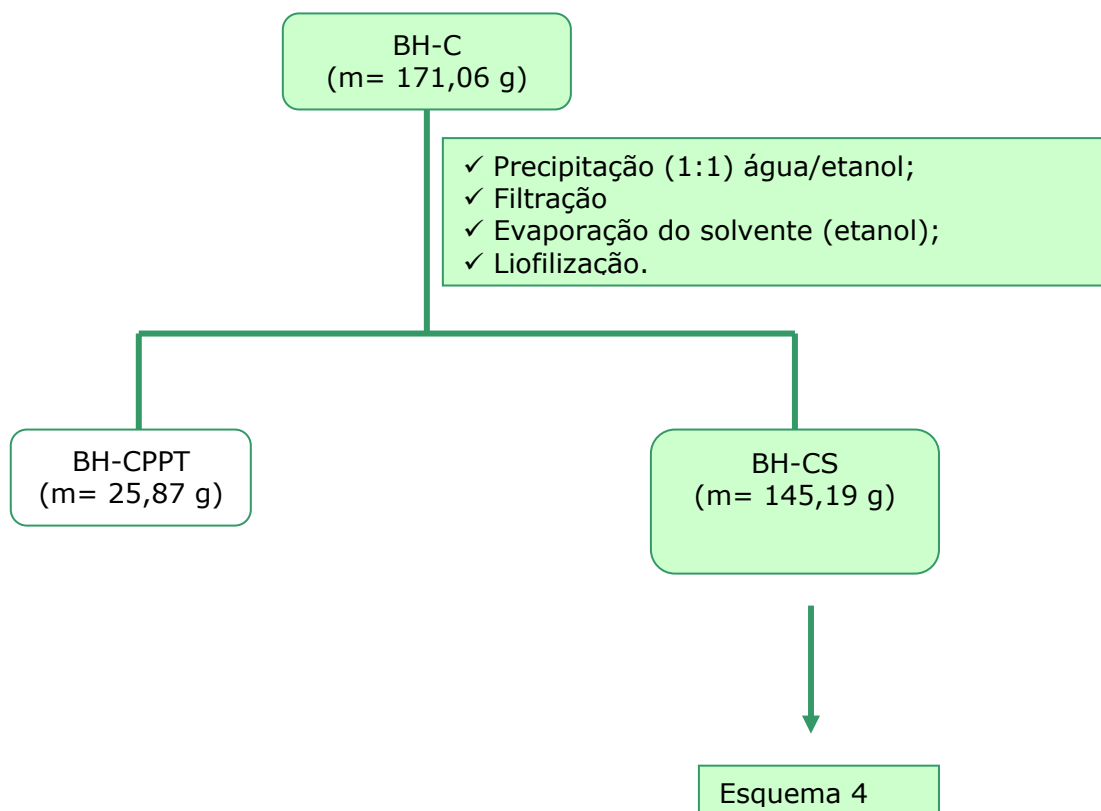
Os picos numerados 1 e 2 referem-se ao ácido gálico (figuras 13 e 14) e ao ácido ferúlico (figuras 3 e 14), respectivamente.

7.2- Extração e Isolamento:

A união dos infusos (plantas coletadas nas estações úmida e seca) das partes aéreas *Brachiaria humidicola* (2,60 kg) 10% (p/v) foi chamada de BH-C. O infuso (BH-C) foi liofilizado.

BH-C (massa= 171,06 g) foi ressuspensão em água e precipitado com etanol (1:1), com o objetivo de separar as macromoléculas (proteínas, saponinas entre outras) das moléculas de interesse (substâncias fenólicas) (Schmourlo, 2005). A parte solúvel (sobrenadante) foi codificada como BH-CS (145,19 g) (esquema 3).

Esquema 3: Precipitação de BH-C

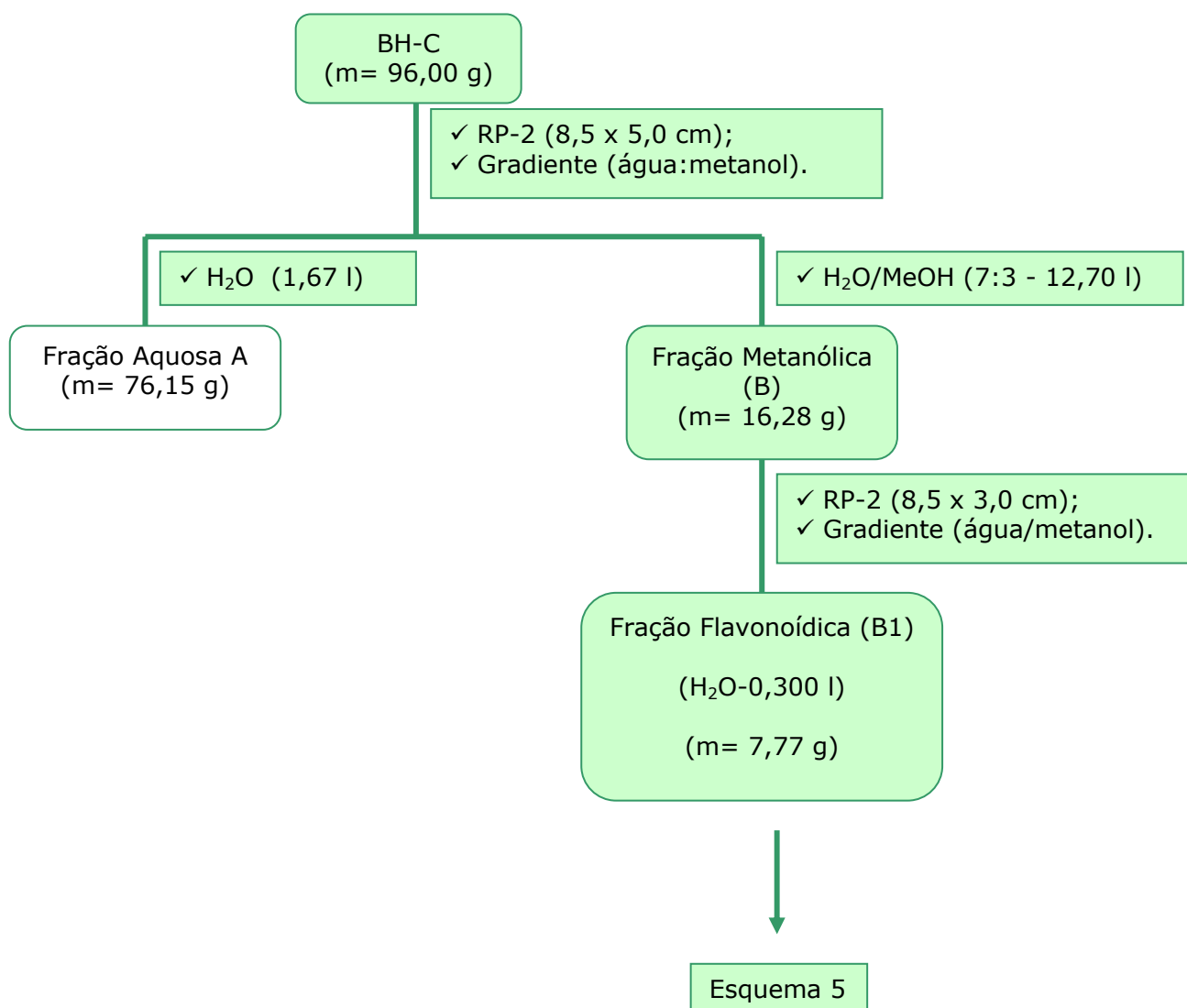


Uma porção de BH-CS (96,00 g; 66,12% do extrato inicial) foi ressuspensa em água e cromatografada em uma coluna de fase inversa RP-2 (8,5 x 5,0 cm) com gradiente água/metanol. Duas frações foram obtidas: fração aquosa (A) e fração metanólica (B).

Para a fração aquosa (A) obteve-se uma massa de 76,15 g (H₂O- 1,67 l) e para a fração metanólica (B), uma massa de 16,28 g (H₂O:MeOH 7:3-12,70 l). O rendimento para essa cromatografia foi de 95,61%.

A fração metanólica (16,28 g) (B) foi purificada e originou uma fração flavonoídica, após cromatografia em RP-2 (8,5 x 3,0 cm): B1 (7,77 g; H₂O-0.300 l). O rendimento deste processo foi de 100% (esquema 4).

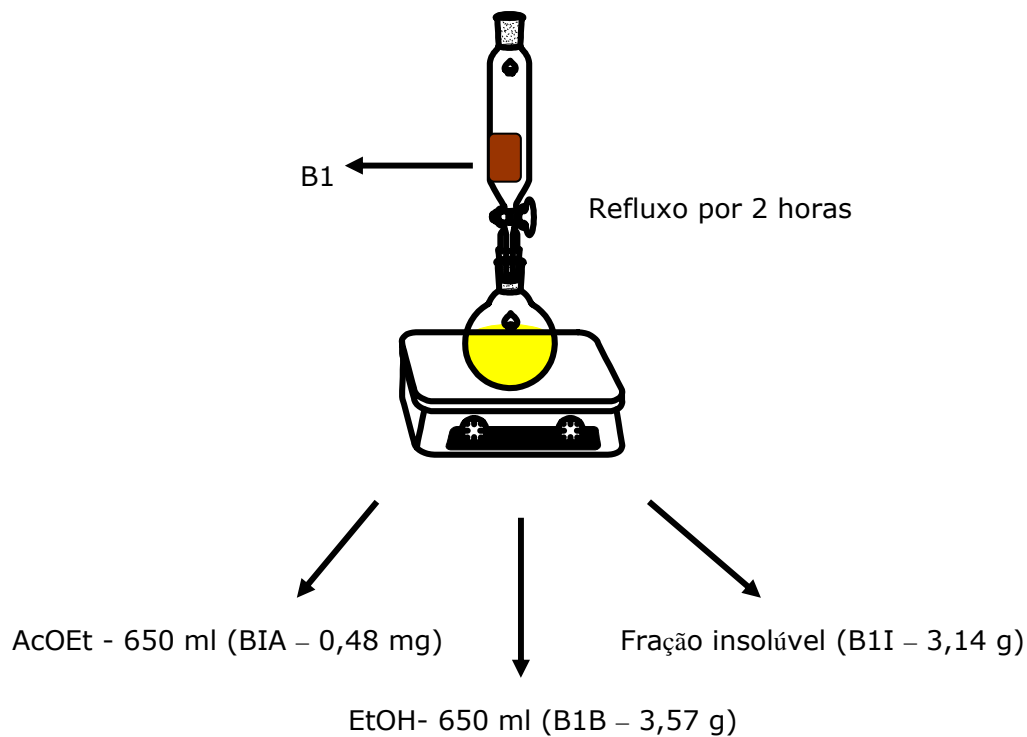
Esquema 4: Fracionamento de BH-CS (sobrenadante)



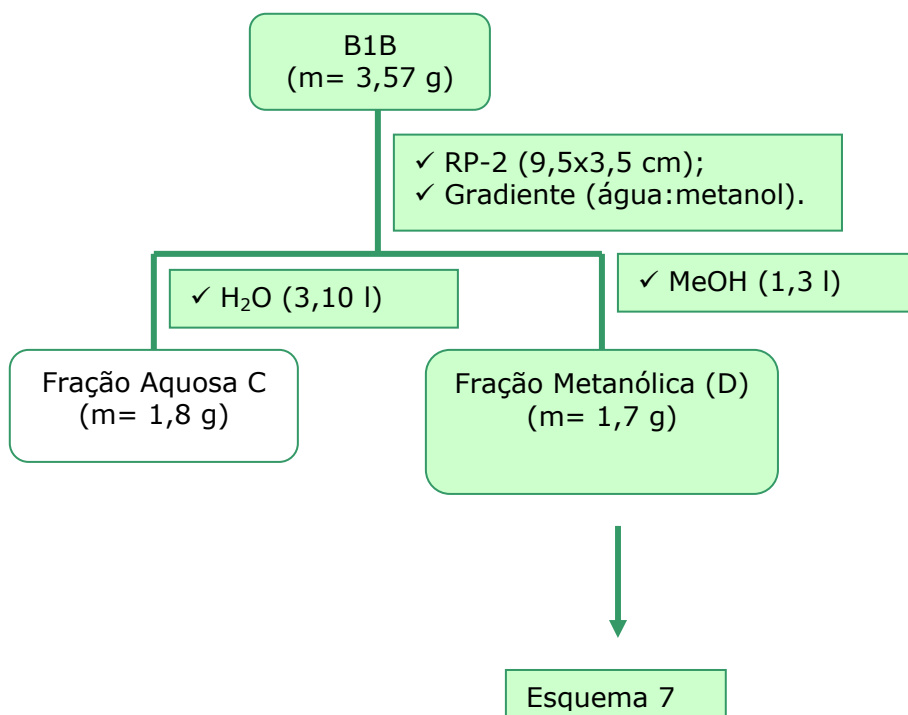
A fração flavonoídica (B1) foi submetida à extração sob refluxo por 2 horas. O rendimento dessa extração foi de 94,36% (esquema 5). Utilizaram-se como solventes:

1. Acetato de etila (AcOEt) - 650 ml, que originou a fração BIA (m= 0,48 mg);
2. Etanol (EtOH) - 650 ml, que originou a fração B1B (m= 3,57 g);
3. A fração insolúvel B1I (m= 3,14 g).

Esquema 5: Extração sob refluxo

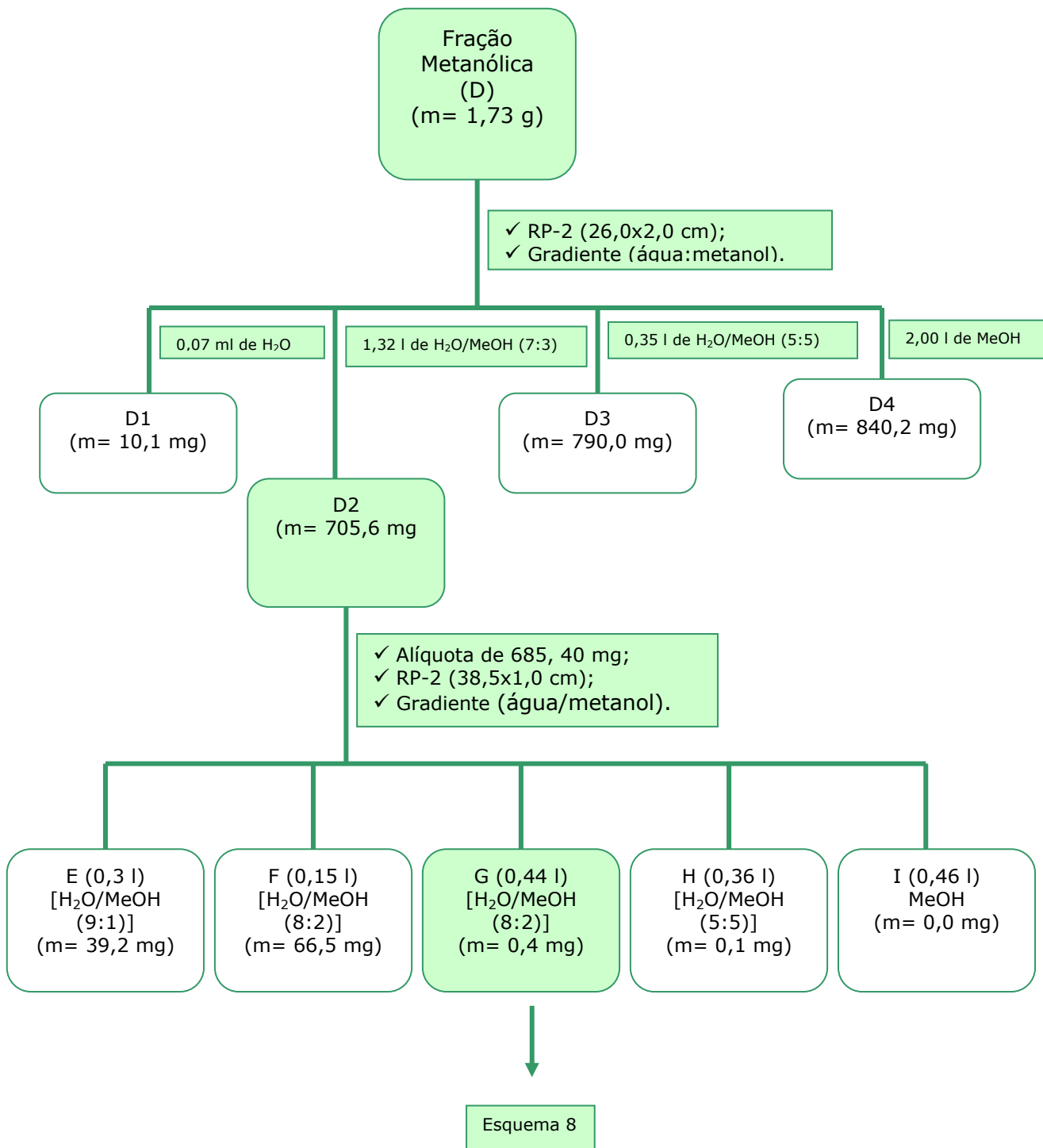


A fração etanólica (B1B-3,57 g) foi cromatografada em uma coluna RP-2 (9,5x3,5 cm). Esta cromatografia originou as seguintes frações: fração aquosa (C), $m = 1,84$ g (H_2O , 3,10 l) e a fração metanólica (D), $m = 1,73$ g (MeOH, 1,05 l). O rendimento desta cromatografia foi de 100% (esquema 6).

Esquema 6: Fracionamento de B1B (fração em etanol)

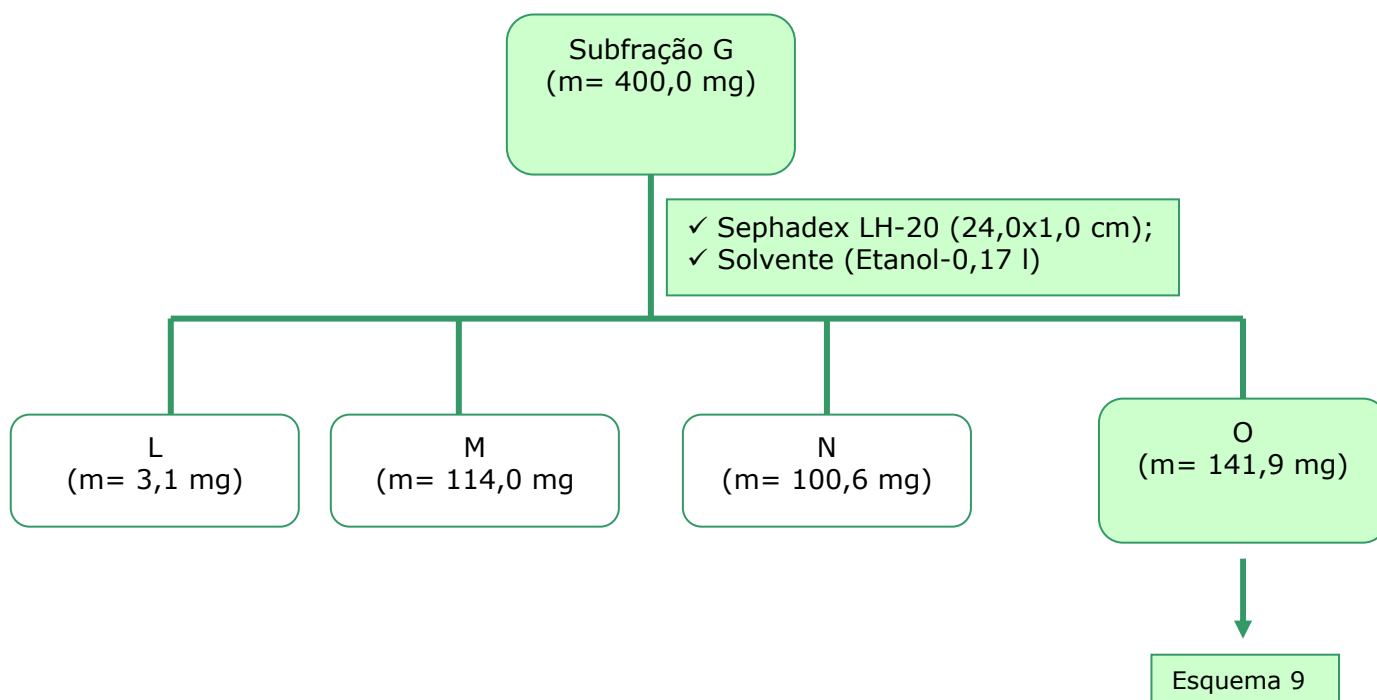
A fração D (1,73 mg) foi cromatografada em uma coluna RP-2 (26,0x2,0 cm) e originou quatro subfrações (D1, D2, D3 e D4). D2 foi a fração enriquecida em flavonóides. Este rendimento está em torno de 97%. D2 (685,40 mg) foi cromatografada em uma coluna RP-2 (38,5x1,0 cm) que originou cinco sub-frações (E, F, G, H, I) e rendimento de 93,73% (esquema 7).

Esquema 7: Fracionamento da fração metanólica (D)

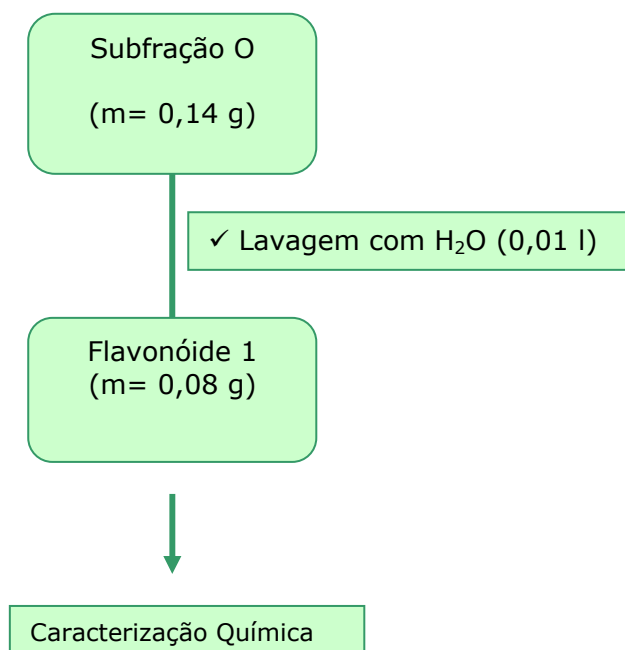


A sub-fração G (400,0 mg) foi cromatografada em coluna Sephadex LH-20 (24,0x1,0 cm) e eluída com etanol. Essa cromatografia originou quatro conjuntos (L, M, N, O) (rendimento de 92,7%).

Esquema 8: Fracionamento da subfração G



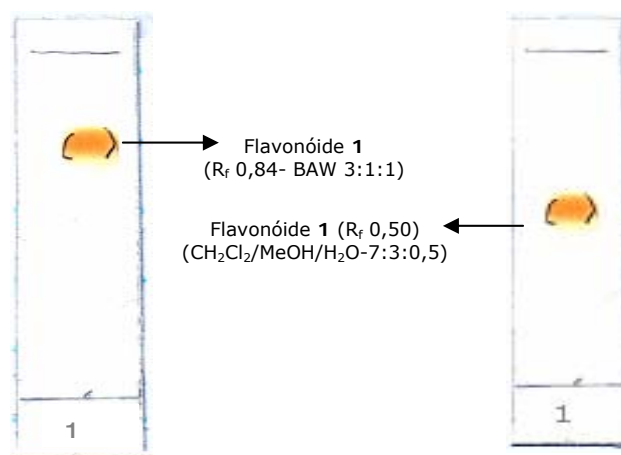
O conjunto O (141,9 mg) precipitou em água (esquema 8). Esse precipitado contém o flavonóide majoritário de *Brachiaria humidicola*. Este foi tratado com água (esquema 9) e originou a substância codificada como **1** (kaempferol-3-*O*- α -L-ramnopiranosil-7-*O*- α -L-ramnopiranosídeo).

Esquema 9: Obtenção do flavonóide

7.2.1- Características Físicas:

A substância foi isolada com massa de 7,8 mg, sob a forma de pó amorfo, de cor amarelo-pálido. Essa substância possui ponto de fusão 186 - 187 °C; $^{25}[\alpha]_D - 238,4^\circ$ (c= 2 mg/ml; MeOH). Essas características são semelhantes à substância isolada por Moreno *et al.*, 2002.

Em cromatografia em camada delgada o flavonóide 1 apresenta R_f 0,84 (BAW 3:1:1) e R_f 0,50 (CH₂Cl₂/MeOH/H₂O-7:3:0,5) (figura 17). Este flavonóide também foi avaliado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (figura não apresentada). O cromatograma apresenta base alargada, o que indica que a substância não está totalmente pura. No sistema de solventes utilizado, MeOH-aq (0,55M): AcOH (32,5: 62,5), eluição isocrática usando fluxo de 1 ml/min, o flavonóide 1 apresenta tempo de retenção de 46,36 min e percentual de área de 94,4%.

Figura 17: Cromatografia em camada delgada (CCD) do flavonóide 1

Essa substância foi submetida à espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e de ¹³C e os dados estão listados abaixo:

- RMN¹H (DMSO-*d*₆, ppm): H-6 (6,46; d; *J* 2,1= Hz), H-8 (6,78; d; *J*= 2,1 Hz); H-2', 6' (7,78; d; *J*= 8,8 Hz), H-3', 5' (6,91; d; *J*= 9,1 Hz) (espectro 1), 3-*O*-ramnopiranosil: H-1'' (5,30; d; *J*= 1,3 Hz), H-2'' (4,00; *br s*), H-3'' (3,50), H-4'' (3,12), H-5'' (3,12), H-6'' (0,80; d; *J*= 5,5 Hz), 7-*O*-ramnopiranosil: H-1''' (5,55; *br s*), H-2''' (3,85; d; *J*= 3,0 Hz), H-3''' (3,63; *m*), H-4''' (3,32; *dd*; *J*= 9,3 Hz), H-5''' (3,50), C-6''' (1,15; d; *J*= 6,1 Hz) (figuras 18 e 19).
- RMN¹³C (DMSO-*d*₆, ppm): C-2 (158,3), C-3 (135,1), C-4 (178,4), C-5 (161,5), C-6 (100,0), C-7 (162,2), C-8 (95,2), C-9 (156,6), C-10 (106,3), C-1' (120,9), C-2', 6' (131,2), C-3', 5' (116,0), C-4' (160,7) (espectro 3), 3-*O*-ramnopiranosil: C-1'' (102,4), C-2'' (70,6), C-3'' (70,8), C-4'' (71,6), C-5'' (71,2), C-6'' (18,0), 7-*O*-ramnopiranosil: C-1''' (99,0), C-2''' (70,3), C-3''' (70,6), C-4''' (72,1), C-5''' (70,9), C-6''' (18,4) (figuras 20 e 21).

7.2.2- RMN ^1H para o flavonóide 1:

Inicialmente, foi analisado o espectro de RMN ^1H do flavonóide **1** obtido em DMSO- d_6 (400 MHz).

Em 12,60 ppm está situado um sinal simples, o qual indica a presença de um hidrogênio de função hidroxila na posição 5 da aglicona, em ligação de hidrogênio com a carbonila em 4. O sinal duplo observado na região de 6,46 ppm (d; J 2,1= Hz) corresponde ao H-6 que acopla com o sinal em 6,78 ppm (d; J = 2,08 Hz) referente ao H-8 (figuras 18 e 19).

Para o anel B, foram observados sinais em 7,78 ppm (d, J = 8,8 Hz) e 6,91 ppm (d, J = 9,1 Hz). O sinal situado em 7,78 ppm corresponde ao H-2', 6' que acopla apenas com o sinal em 6,91 ppm (H-3', 5'). Os sinais para os hidrogênios anoméricos das moléculas de açúcar, ligados à aglicona, estão situados em 5,30 e 5,55 ppm (figuras 18 e 19).

De acordo com estes dados parciais, pode-se afirmar que o flavonóide **1** é um flavonóide dissustituído no anel A e monossustituído na posição 4' do anel B (figuras 20 e 21).

As moléculas de açúcar ligadas na aglicona são carboidratos desoxigenados na posição 5, provavelmente ramnoses. Este fato pode ser evidenciado pelos sinais H-6'' (0,8; d; J = 5,5 Hz) e H-6''' (1,15; d; J = 6,1 Hz).

7.2.3- RMN ^{13}C para o flavonóide 1:

O espectro de RMN ^{13}C , realizado em DMSO- d_6 , mostrou 27 sinais. O número de sinais corrobora nossa proposta inicial de um flavonóide diglicosilado. Quinze destes sinais são referentes à parte aglicona e doze outros referentes às duas moléculas de açúcar (duas hexoses) (figuras 21 e 22).

O sinal mais desprotegido do RMN ^{13}C corresponde ao C-4 (carbonila) situado em 178,5 ppm. Em seguida, está listado o carbono do anel A ligado à hidroxila. O sinal em 161,5 ppm corresponde ao C-5 (figura 20).

Em 160,7 ppm situa-se o sinal referente ao C-4'. O deslocamento do C-3, que se encontra glicosilado, sofre o efeito de blindagem, sendo deslocado para 135,1 ppm. O sinal para o C-10, por sua vez, está situado em 106,3 ppm (figura 20).

O carbono 8 está ligado a um hidrogênio e aparece na região de 95,2 ppm. Os outros C-H da aglicona são os referentes aos C-2'-6', C-3'-5'. Estes carbonos estão situados em 131,2 e 116,0, respectivamente. É possível observar que não há inversão destes sinais no espectro de DEPT 135 confirmando estes dados (espectros não apresentados).

Com os dados de RMN ^{13}C e de DEPT 135 foi possível corroborar a proposta da aglicona kaempferol diglicosilada nas posições 3 e 7. Os dados obtidos também permitem prever que as unidades de açúcar sejam duas ramnoses.

Assim supõe-se que essa substância seja o flavonóide 3,7-diramnosídeo de kaempferol. Esse flavonóide foi isolado pela primeira vez no gênero *Lotoideae*, a partir da espécie *Lotus corniculatus* (Harborne *et al.*, 1971).

Os dados de RMN ^{13}C (Moreno *et al.*, 2002) corroboram com o flavonóide **1** isolado a partir de *Brachiaria humidicola* (tabela 7). Para esta substância não foram observados sinais, mesmo que minoritários, para outros flavonóides.

Outros flavonóides foram detectados a partir do infuso de *B. humidicola*, entretanto. Essas outras 4 substâncias foram isoladas em massa muito minoritária (com massa em torno de 1,5 mg), o que dificultou a análise completa das mesmas com os equipamentos disponíveis no momento. Assim não se pode verificar o esqueleto dessas substâncias.

Tabela 7: Dados de RMN¹³C (DMSO-*d*₆) para o flavonóide **1** comparados com dados da literatura

Carbonos	♦kaempferol-3,7- <i>O</i> -α-di-ramnopiranosídeo	Flavonóide 1
C-2	156,1	158,3
C-3	134,5	135,1
C-4	177,9	178,5
C-5	160,9	161,2
C-6	99,5	100,0
C-7	161,7	162,2
C-8	94,6	95,1
C-9	157,8	156,6
C-10	105,8	106,3
C-1'	120,3	120,9
C-2'	130,7	131,2
C-3'	115,4	116,0
C-4'	160,2	160,7
C-5'	115,4	116,0
C-6'	130,7	131,2
3-<i>O</i>-ramnopiranosídeo		
C-1"	101,8	102,4
C-2"	70,3	70,6
C-3"	70,7	70,8
C-4"	71,6	71,6
C-5"	70,1	71,2
C-6"	17,5	18,0
7-<i>O</i>-ramnopiranosídeo		
C-1'''	98,4	99,0
C-2'''	70,1	70,3
C-3'''	70,2	70,6
C-4'''	71,6	72,1
C-5'''	69,8	70,9
C-6'''	17,9	18,4

Obs.: ♦Moreno *et al.*, 2002

Figura 18: Dados de RMN ^1H para a aglicona do flavonóide **1** (Kaempferol 3,7- α -di-ramnosídeo)

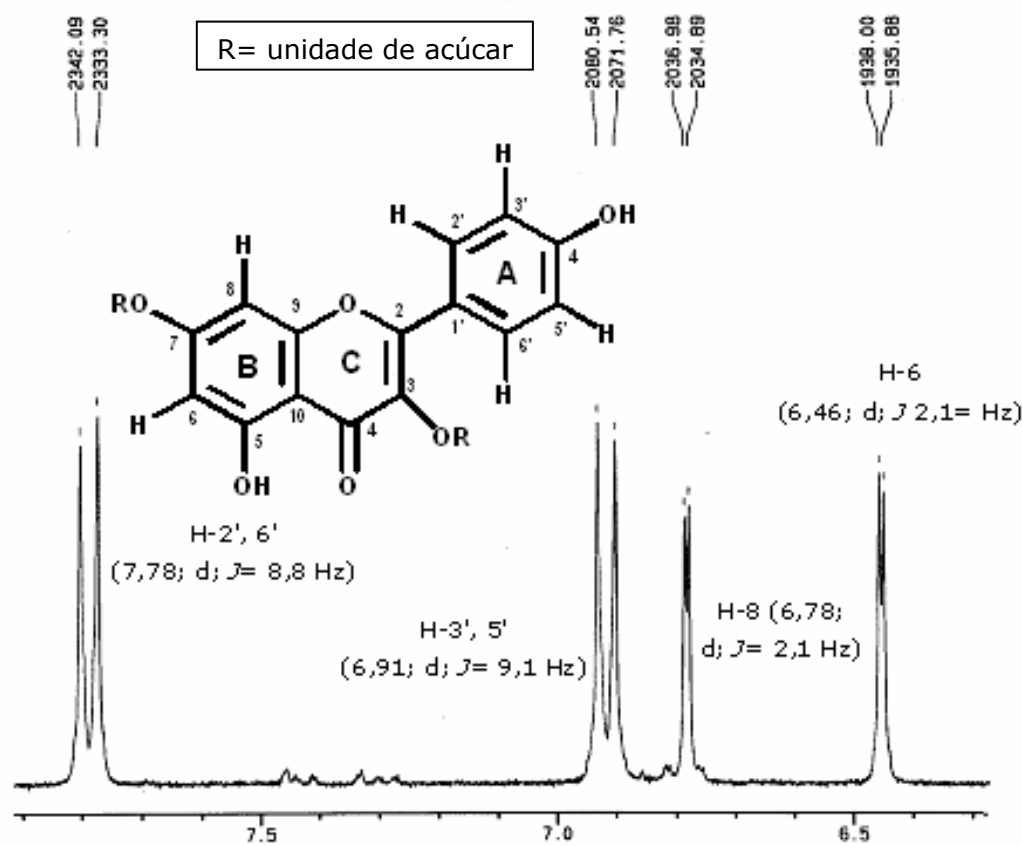


Figura 19: Dados de RMN ^1H para as unidades de carboidratos do flavonóide **1** (Kaempferol 3,7- α -di-ramosídeo)

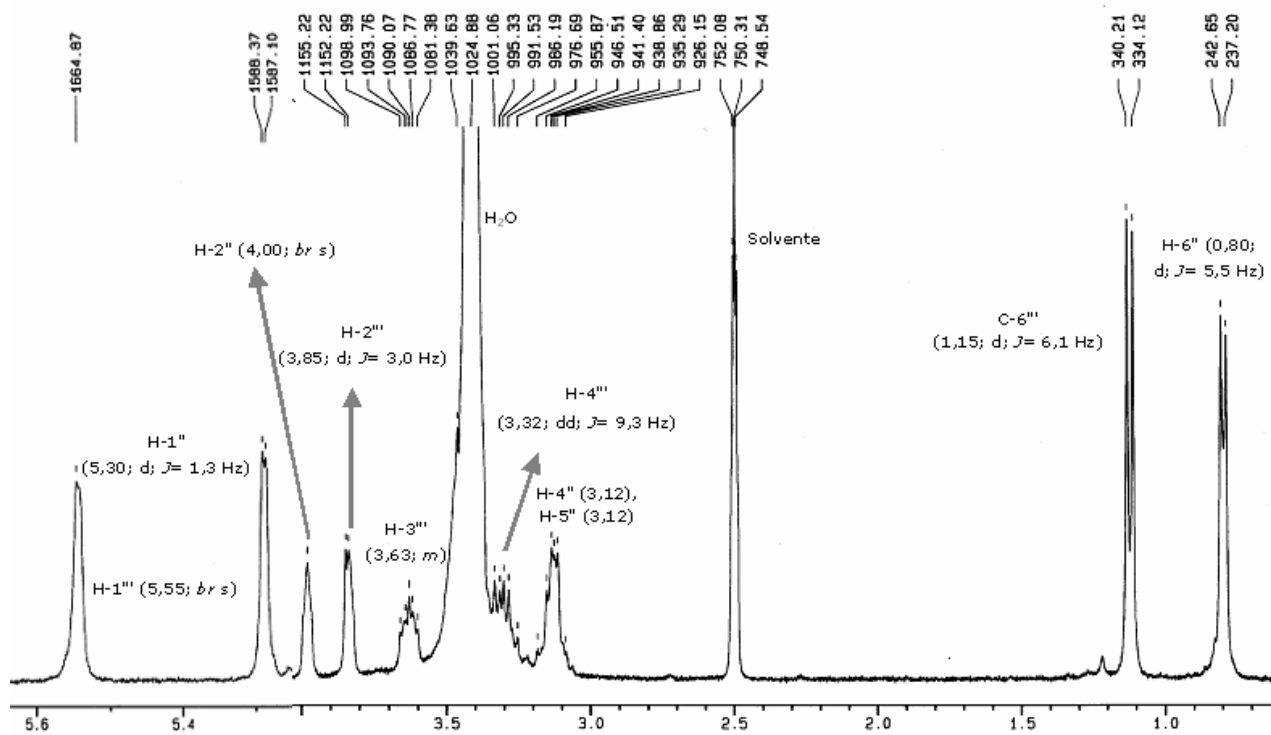


Figura 20: Dados de RMN ^{13}C para o flavonóide 1 (Kaempferol 3,7- α -di-ramnosídeo)

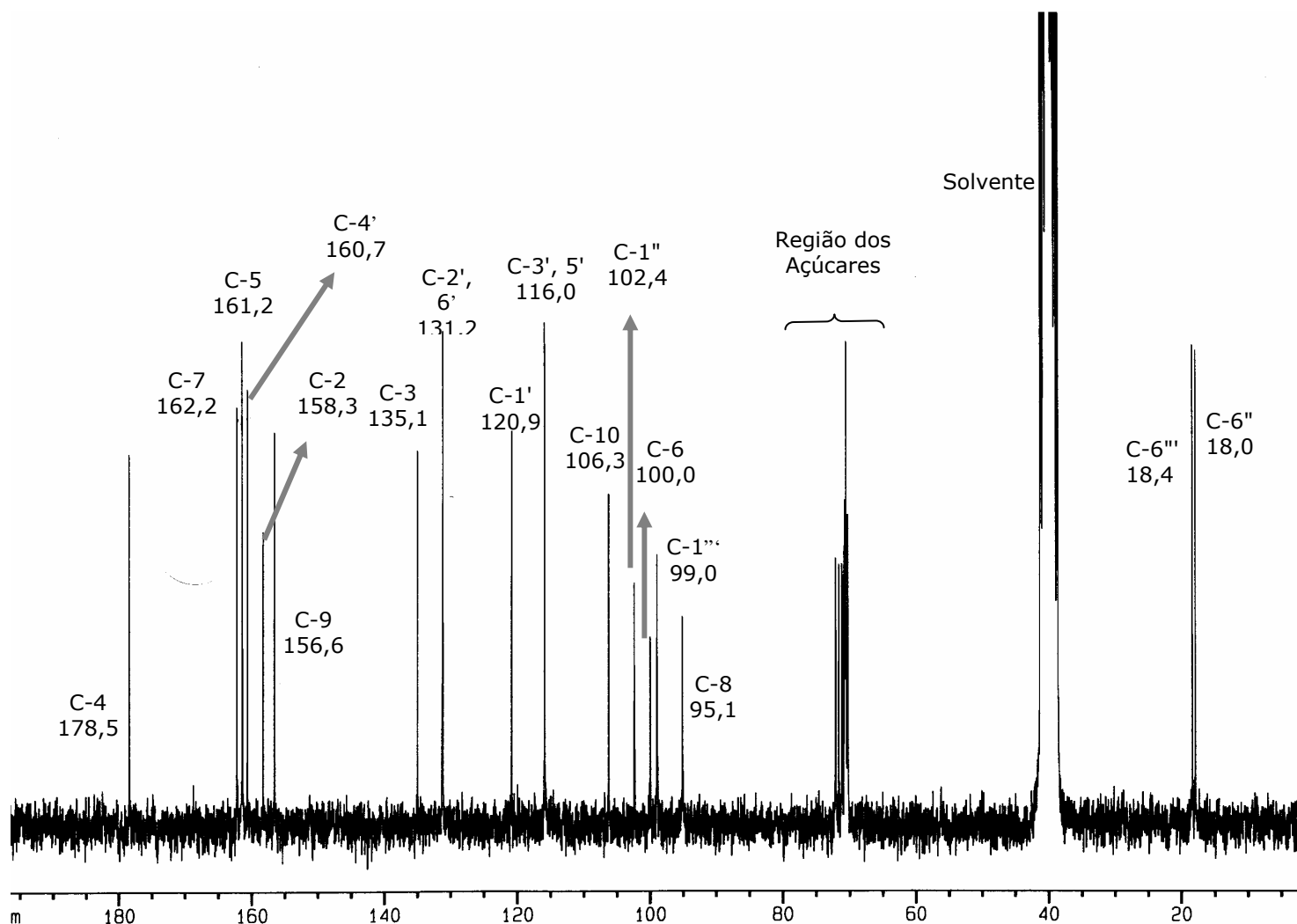
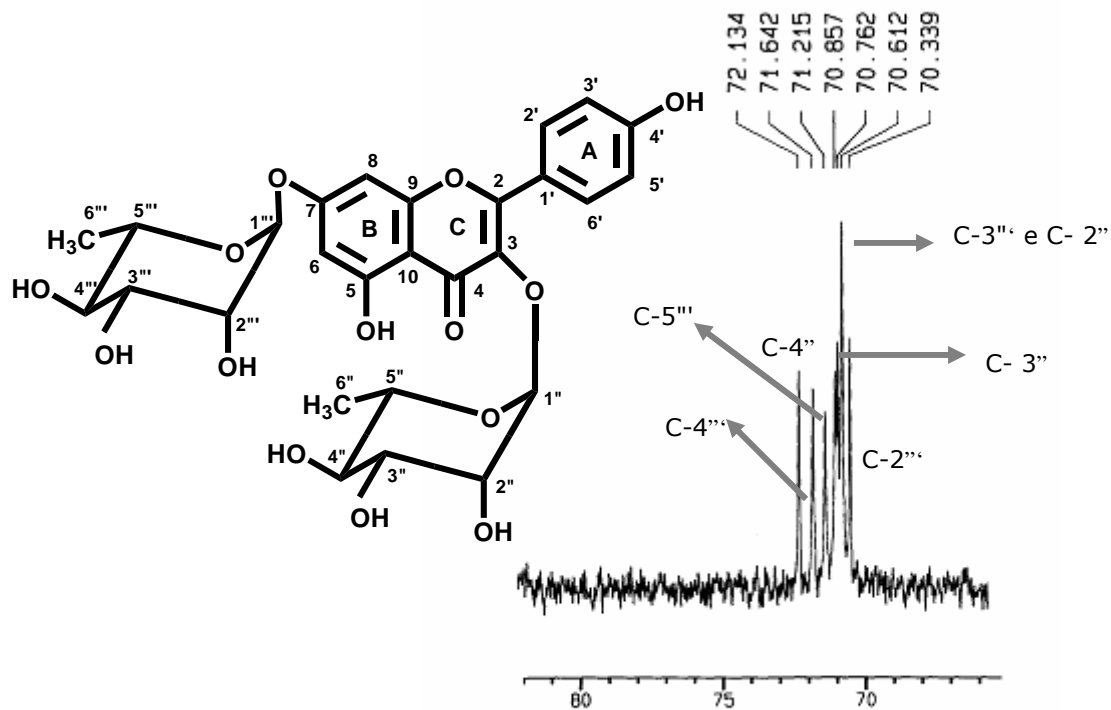


Figura 21: Dados de RMN ^{13}C para a unidade de carboidratos do flavonóide 1 (Kaempferol 3,7- α -di-ramosídeo)



Os açúcares da substância foram identificados (RMN ^1H e ^{13}C) e suas posições marcadas na aglicona com base nos dados de correlações de COSY ^1H - ^1H e heterocorrelações de ^{13}C - ^1H (espectros não apresentados).

A substância codificada como flavonóide **1**, trata-se do kaempferol-3- O - α -ramosídeo-7- O - α -ramosídeo, conhecido como kaempferitrina. Este é o primeiro relato para esta substância em um membro da família Poaceae.

Em um trabalho anterior, este flavonóide foi descrito na literatura como hipotensivo (Gohar & Elmazar, 1997). Além disto, foram observados a atividade da kaempferitrina como hipoglicêmica e com potencial antioxidante (Sousa *et al.*, 2004).

7.3-Atividade Antioxidante de Kaempferitrina Isolada de *Brachiaria humidicola*:

O flavonóide foi submetido ao teste antioxidante, a fim de se avaliar se a atividade seqüestradora de radicais livres dos infusos de *B. humidicola* está relacionada kaempferitrina.

Seguindo o mesmo protocolo apresentado no capítulo II, esse flavonóide apresentou seguinte perfil de atividade antioxidante (tabela 8).

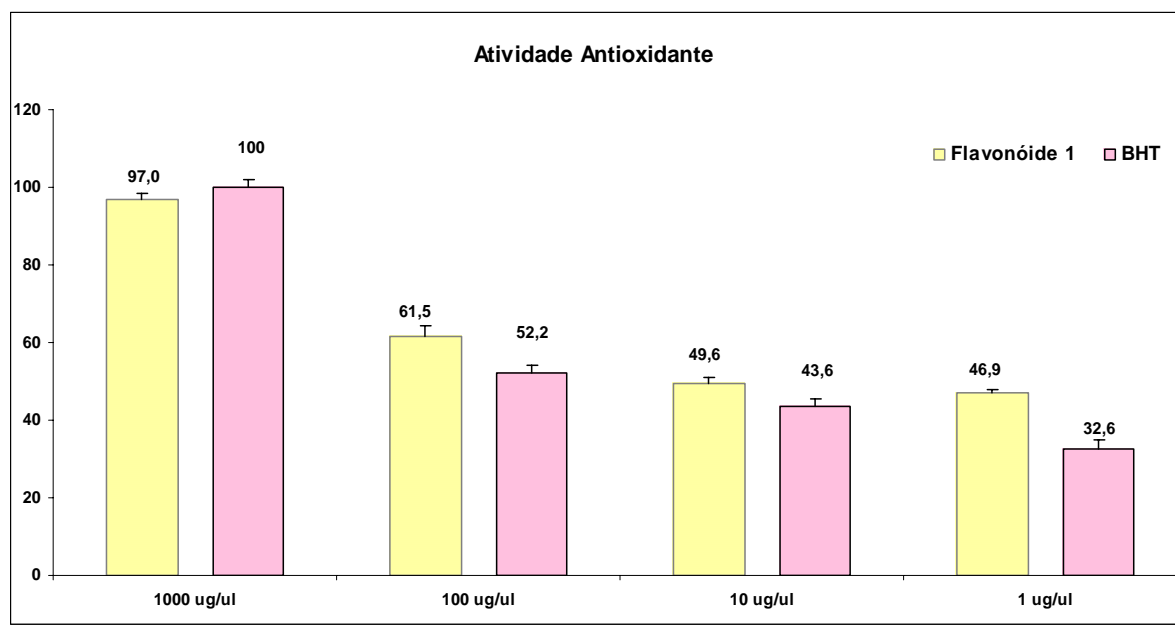
Tabela 8: Perfil de atividade do flavonóide kaempferol-3-*O*- α -ramnosídeo-7-*O*- α -ramnosídeo

Concentração	Atividade Antioxidante (%)
1000 $\mu\text{g/ml}$	97,03
700 $\mu\text{g/ml}$	95,86
500 $\mu\text{g/ml}$	93,74
300 $\mu\text{g/ml}$	80,59
100 $\mu\text{g/ml}$	61,51
10 $\mu\text{g/ml}$	49,63
1 $\mu\text{g/ml}$	46,87
0,7 $\mu\text{g/ml}$	7,32
0,5 $\mu\text{g/ml}$	1,17
0,3 $\mu\text{g/ml}$	0,85

De acordo com a tabela acima, pode-se notar que kaempferitrina possui atividade seqüestradora de radicais livres. Entretanto, observa-se que essa atividade praticamente desaparece nas concentrações igual ou inferior a 0,7 $\mu\text{g/ml}$.

Este flavonóide apresenta concentração dose-dependente e atividade muito semelhante ao padrão 2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol (BHT) (figura 22).

Figura 22: Perfil de atividade do flavonóide kaempferol-3-*O*- α -ramnosídeo-7-*O*- α -ramnosídeo (kaempferitrina-FBH1) comparado ao padrão 2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol (BHT).



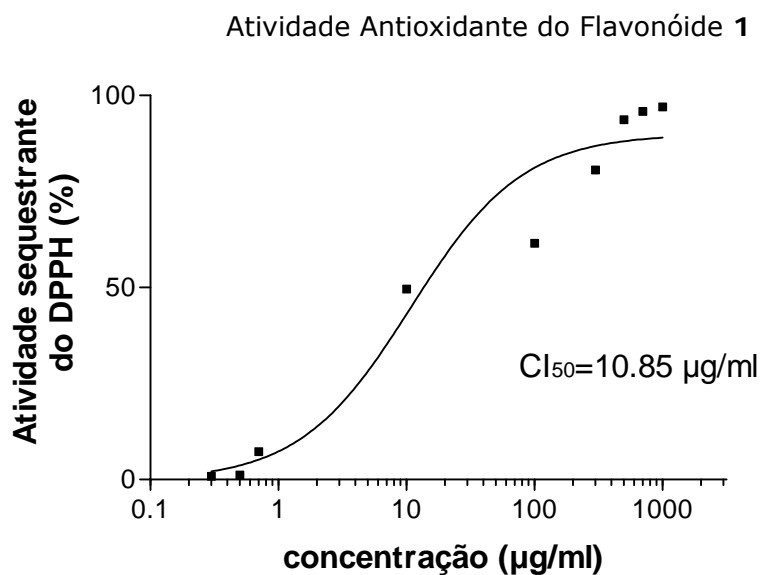
Como se pode observar kaempferitrina mostra atividade seqüestradora de radicais livres em todas as concentrações. Entretanto, na concentração mais baixa (1 µg/ml), observou-se que este flavonóide possui atividade ligeiramente mais acentuada do que o padrão 2,6-di-(*tert*-butil)-4-metilfenol (BHT).

Este fato indica que embora as duas substâncias possuam esqueleto fenólico, ou seja, ambas são substâncias aromáticas, o flavonóide FBH1 (kaempferitrina) possui melhor atividade seqüestradora de radicais livres.

Verifica-se que até a concentração de 1 µg/ml a substância pura kaempferitrina possui atividade seqüestradora de radicais livres. Porém, IC₅₀ da substância está em torno de 10,85 µg/ml (figura 27).

Na concentração de 10,85 µg/ml o flavonóide kaempferitrina é capaz de seqüestrar 50% do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) presente em solução.

Figura 23: IC₅₀ do flavonóide kaempferol-3-*O*- α -ramnosídeo-7-*O*- α -ramnosídeo (kaempferitrina-flavonóide 1)



Esta substância anteriormente estudada quanto à capacidade sequestradora de radicais livres (Souza *et al.*, 2004) mostra valores semelhantes ao observado neste trabalho.

Estes mesmos autores relatam que kaempferitrina possui atividade antiinflamatória, o que em tese, pode estar contribuindo para a atividade observada no extrato bruto de *B. humidicola* (BH1).

8.0- CONCLUSÕES

A família Poaceae constitui uma família de plantas que possui grande interesse tanto na pecuária quanto na agricultura e conseqüentemente, para a economia. Isso justifica o número de trabalhos observados para as espécies dessa família. Como conclusões deste trabalho pode-se ressaltar:

1. O perfil químico dos infusos das diferentes partidas de *Brachiaria humidicola* (BH1, BH2, BH3, BH4 e BH5) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) no sistema de solventes utilizado, mostra a presença das substâncias fenólicas: ácido gálico e ácido ferúlico. Este último já havia sido relatado para espécies do gênero *Brachiaria*.
2. Os infusos desta planta (BH1, BH2, BH3, BH4 e BH5) apresentaram atividade antioxidante semelhante a outros extratos aquosos de espécies de Poaceae.
3. O extrato (infuso) de *B. humidicola* (BH1), apresentou atividade analgésica em dois ensaios: contorções abdominais e no teste da retirada da cauda. Além disso, também foi ativo no modelo de inflamação.
4. O isolamento de kaempferitrina (kaempferol-3-*O*- α -ramnosídeo-7-*O*- α -ramnosídeo) a partir do infuso de *B. humidicola*, constitui o primeiro relato de flavonóides para o gênero *Brachiaria* e para a família Poaceae.
5. A atividade antioxidante ou seqüestradora de radicais livres, observada para a substância, mostra que o flavonóide contribui para a atividade apresentada nos extratos e que esta atividade mostra-se mais pronunciada na substância isolada.
6. A espécie vegetal, além do valor nutritivo, pode estar contribuindo beneficemente para os animais que a consomem, ou seja, aqueles em que *B. humidicola* faça parte da dieta.

9.0- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, B.; AL-QARAWI, A.A. & AL-HAWAS, A. 2002. The ethnoveterinary knowledge and practice of traditional healers in Qassim Region, Saudi Arabia. *Journal of Arid Environments*, **50**: 367-379..
- ADOM, K.K. & LIU, R.H. 2002. Antioxidant Activity of Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 6182-6187.
- AGOSTINI-COSTA, T.S. ; LIMA, A. & LIMA, M.V. 2003. Determinação de tanino em pedúnculo de caju : método da vanilina versus método do butanol ácido. *Química Nova*, **26**: 763-765.
- BOUAZIZ, M.; SIMMONDS, M.S.J.; GRAYER, R.J.; KITE, G.C. & DAMAK, M. 2001. flavonoids from *Hyparrhenia hirta* stapf (Poaceae) growing in Tunisia. *Biochemical Systematics and Ecology*, **29**: 849-851.
- BYAVU, N.; HENRAD, C.; DUBOIS, M. & MALAISSE, F. (2000). Phyyothérapie traditionnelle dès bovins dans les élevages de la plaine de la Ruzzi. *Biothechnologie, Agronomie, Societé et Environnement*, **4**: 135-156.
- CAMBIER, V.; HANCE, T. & HOFFMANN, E DE. 2001. Effects of 1,4-benzoxazin-3-one derivatives from maize on survival and fecundity of *Metopolophium dirhodum* (Walker) on artificial diet. *Journal of Chemical Ecology*, **27**: 359-370.
- CARDOSO, E.C.; VALE, W.G.; MCDOWELL, L.R.; WILKINSON, N.S.; SIMÃO NETO, M.; VEIGA, J.B. & LOURENÇO JR, J.B. 1997. Seasonal variation of selenium, crude protein, and in vitro organic matter digestibility of *Brachiaria humidicola* from Marajó Island, Brazil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* , **28**: 1683-1691.
- COLLANTES, H.G.; GIANOLI, E. & NIEMEYER, H.M. 1998. Changes in growth and chemical defences upon defoliation in maize. *Phytochemistry*, **49**: 1921-1923.
- CRISPIN, S. 2002. Animal health bill. *Veterinary Record*, **150**: 386-386.
- CHEEKE,P.R. 1995. Endogenous toxins and mycotoxins in forage grasses and their effects on livestock. *Journal of Animal Science*,**73**: 909-918.

- CHEVALIER, L.; DESBUQUOIS, C.; LE JANNIC, J. & CHARRIER, M. 2001. Poaceae in the natural diet of the snail *Helix aspersa* Muller (Gastropoda, Pulmonata). *Academie de Sciences – Series III*, **324**: 979-987.
- DATHE, W.; SCHINDLER, C.; SCHNEIDER, G.; SCHMIDT, J.; PORZEL, A.; JENSEN, E. & YAMAGUCHI, I. 1991. Cucurbitic acid and its 6,7-stereoisomers. *Phytochemistry*, **30**: 1909-1914.
- DICKO, M.H.; HILHORST, R.; GRUPPEN, H.; TRAORE, A.S.; LAANE, C.; VAN BERKEL, W.J.H. & VORAGEN, A.G.J. 2002. Comparison of Content in Phenolic Compounds, Polyphenol Oxidase, and Peroxidase in Grains of Fifty Sorghum Varieties from Burkina Faso. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 3780-3788.
- GIANOLI, E. & NIEMEYER, H.M. 1998. *DIBOA* in wild Poaceae: Sources of resistance to the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) and the greenbug (*Schizaphis graminum*). *Euphytica*, **102**: 317-321.
- GOHAR, A.A. & ELMAZAR, M.M.A. 1997. Isolation os hypotensive flavonoids from *Chenopodium* species growing in Egypt. *Phytotherapy Research*, **11**: 564-567.
- GRAF, E. 1992. Antioxidant potential of ferulic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, **13**: 435-448.
- GUGGENBERGER, G. ZECH, W. & THOMAS, R.J. 1995. Lignin and carbohydrate alteration in particle-size separates of an oxisol under tropical pastures following native savanna. *Soil Biology*, **27**: 1629-1638.
- HARBORNE, J.B. & WILLIAMS, C.A. 1994. Recent advances in the chemosystematics of the monocotyledons. *Phytochemistry*, **37**: 3-18.
- HARBORNE, J.B. 1971. Distribution and taxonomic significance of flavonoids in the leaves of the Cyperaceae. *Phytochemistry*, **10**: 1569-1574.
- ISHIKAWA, T.; SUBBARAO, G.V.; ITO & K. OKADA, O. 2003. Suppression of nitrification and nitrous oxide emission by the tropical grass *Brachiaria humidicola*. *Plant and Soll*, **255**: 413-419.
- JOLY, A. B. 1993. Botânica: Introdução à taxonomia vegetal. *Companhia Editora Nacional - 11Ed.* 221-276.

- KÄHKÖNEN, M.P.; HOPIA, A.I.; VOURELA, H.J.; RAUHA, J.P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T.S. & HEINONEN, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 3954-3962.
- KAMATH, V.G.; CHANDRASHEKAR, A. & RAJINI, P.S. 2004. Antiradical properties of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) flour extracts. *Journal of Cereal Science*, **40**: 283-288.
- KATO, T.; TSUNAKAWA, M.; SASAKI, N.; AIZAWA, H.; FUJITA, K.; KITAHARA, Y. & TAKAHASHI, N. 1977. Growth and germination inhibitors in rice husks. *Phytochemistry*, **16**: 45-48.
- LAM, T.B.T.; IIYAMA, K. & STONE, B.A. 1994. Determination of etherified hydroxycinnamic acids in cell walls of grasses. *Phytochemistry*, **36**: 773-775.
- LANS, C. & BROWN, G. 1998. Ethnoveterinary medicines used for ruminants in Trinidad and Tobago. *Preventive Veterinary Medicine*, **35**: 149-163
- LEPORATTI, M.L. & CORRADI, L. 2001. Ethnopharmacobotanical remarks on the Province of Chieti town (Abruzzo, Central Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, **74**: 17-40.
- LICHTENTHALER, H.K. & SCHWEIGER, J. 1998. Cell wall bound ferulic acid, the major substance of the blue-green fluorescence emission of plants. *Journal of Plant Physiology*, **152**: 272-282.
- LIGHT, M.E.; MCGAW, L.J.; JÄGER, A.K. & VAN STADEN, J. 2002. Screening of *Cenchrus ciliaris* L. For biological activity. *South African Journal of Botany*, **68**: 411-413.
- LÓPEZ, J.; TEJADA, I.; VAZQUEZ, C.; GARZA, J. DE D. & SHIMADA, A. 2004. Condensed tannins in tropical fodder crops and their in vitro biological activity: Part 2. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **84**: 295-299.
- LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. 2002. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. *Computação Gráfica Omar Gomes. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum*, 512 p.
- LORENZI, H. 2000. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3.ed. - Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 641p.

- MANÇO, A.M. 2004. Veados campeiros (*Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758)) (Mammalia: Cervidae) no Nordeste do Pantanal do Mato Grosso (RPPN SESC Pantanal), barão de Melgaço MT: Densidade, Tamanho Populacional e Uso dos Habitats. *Museu Nacional da UFRJ*, 59. **Tese de Mestrado**.
- MANGANELLI, R.E.U.; CAMANGI, F. & TOMEI, P.E. 2001. Curing animals with plants: traditional usage in Tuscany (Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, **78**: 171-191
- MARTINEZ, M.A. 1985. Flavonoid relationships between the Commelinaceae and related families. *Biochemical Systematics and Ecology*, **13**: 253-256.
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C. & DIAS, J.E. 1995. Plantas Medicinais. *Universidade Federal de Viçosa, Brazil*.
- MARTINS, F.R. 2004. Avaliação do perfil analgésico e antiinflamatório da *Brachiaria humidicola*. *UFRJ-Rio de Janeiro*. **Tese de Mestrado**.
- MATOUSCHECK, B.V. & STAHL-BISKUP, E. 1991. Phytochemische untersuchung der nichtfluchtigen inhaltsstoffe von *Cymbopogon citrates* (DC.) stapf (Poaceae). *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, **66**: 9-10.
- MOREIRA, D.L. 2000. Métodos de análise e dosagem de taninos condensados, taninos gálicos e fenóis totais. *NPPN-UFRJ*.
- MORENO, A.; MARTIN-CORDERO, C.; IGLESIAS-GUERRA, F. & TORO, M.V. 2002. Flavonoids from *Dorycnium rectum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **30**: 73-74.
- OIKAWA, A.; ISHIHARA, A.; HASEGAWA, M.; KODAMA, O. & IWAMURA, H. 2001. Induced accumulation of 2-hydroxy-4,7-dimethoxy-1,4-benzoxazin-3-one glucoside (HDMBOA-Glc) in maize leaves. *Phytochemistry*, **56**: 669-675.
- OLIVEIRA, O.C.; OLIVEIRA, I.P.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. & BODDEY, R.M. 2004. Agriculture, Ecosystems and Environment, **103**: 289-300.
- OU, S. & KWOK, K.C. 2004. Ferulic acid : pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, **84**: 1261-1269.
- OZAKI, Y. 1992. Antiinflammatory effect of tetramethylpyrazine and ferulic acid. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **40**: 954-956.

- PADMAVATI, M.; SAKTHIVEL, N.; THARA, K.V. & REDDY, A.R. 1997. Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids. *Phytochemistry*, **46**: 499-502.
- PIERONI, A.; HOWARD, P.; VOLPATO, G. & SANTORO, R.F. 204. Natural remedies and nutraceuticals used in ethnoveterinary practices in Inland Southern Italy. *Veterinary Research Communications*, **28**: 55-80.
- PIRES, V.S., TAKETA, AT.C., GOSMANN, G. & SCHENKEL, E.P. 2002. Saponins and saponinins from *Bachilaria decumbens* Stapf. *Journal of Brazilian Chemical Society*, **13**: 135-139.
- POWELL, R.G.; TEPASKE, M.R.; PLATTNER, R.D.; WHITE, J.F. & CLEMENT, S.L. 1994. Isolation of resveratrol from *Festuca versuta* and evidence for the widespread occurrence of this stilbene in the Poaceae. *Phytochemistry*, **35**: 335-338.
- RAO, I.M.; MILES, J.W. & GRANOBLES, J.C. 1998. Differences in tolerance to infertile acid soil stress among germplasm accessions and genetic recombinants of the tropical forage grass genus, *Brachiaria*. *Field Crops Research*, **59**: 43-52.
- ROZEMA, J.; NOORDIJK, A.J.; BROEKMAN, R.A.; VAN BEEM, A.; MEIJKAMP, B.M.; DE BAKER, N.V.J.; VAN DE STAAIJ, J.W.M.; STROETENGA, M.; BOHNCKE, S.J.P.; KONERT, M.; KARS, S.; PEAT, H.; SMITH, R.I. & CONVEY, P. 2001. (Poly)phenolic compounds in pollen and spores of Antarctic plants as indicators of solar UV-B. *Plant Ecology*, **154**: 11-26.
- RUEDA, B.; BLAKE, R.W.; FERNANDES, E.; NICHOLSON, C.F. & VALENTIM, J.F. 2002. Soil, plant and cattle nutrient dynamics on pastures of the western Amazon of Brazil. www.bras.org.uk/meetings/occpdfs/mexico03/065.pdf Acessado em janeiro/2005 às 18:00 hs.
- RUEDA, B.L.; BLAKE, R.W.; NICHOLSON, C.F.; FOX, D.G.; TEDESCHI, L.O.; PELL, A.N.; FERNANDES, E.C.M.; VALENTIM, J.F. & CARNEIRO, J.C. 2003. Production and economic potentials of cattle in pasture-based systems of the western Amazon region of Brazil. *American Society of Animal Science*, **81**: 2923-2937.
- SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M. & BRUNI, R. 2004. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, doi : 10.1016.

- SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.M.; WEISS, O.A. & REIGOSA-ROGER, M.J. 2004. Allelopathic evidence in the Poaceae. *The Botanical Review*, **69**: 300-319.
- SANTOS, S.A.; COSTA, C.; POTT, A. ; CRISPIM, S.M.A.; SORIANO, B.M.A.; ALVAREZ, J.M. & ORTIZ, A.G. 2003. Grau de Preferência e Índice de Valor Forrageiro das Pastagens Nativas Consumidas por Bovinos no Pantanal. *Embrapa*, **49**: 1-44.
- SAVCHENKO, T.; WHITING, P.; SIK, V.; UNDERWOOD, E.; SARKER, S.D. & DINAN, L. 1998. Distribution and identities of phytoecdysteroids in the genus *Briza* (Gramineae). *Biochemical Systematics and Ecology*, **26**: 781-791.
- SCHMITZ-HOERNER, R. & WEISSENBOCK, G. 2003. Contribution of phenolic compounds to the UV-B screening capacity of developing barley primary leaves in relation to DNA damage and repair under elevated UV-B levels. *Phytochemistry*, **64**: 243-255.
- SCHMOURLO, G.; MENDONÇA-FILHO, R.R.; ALVIANO, C.S. & COSTA, S.S. 2005. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *Journal Ethnopharmacology*, **96**: 563-568.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A. & PETROVICK, P.R. 1999. Farmacognosia: da planta ao medicamento. *Editora Universidade/UFRGS e Editora da UFSC*. 821p
- SMITH, B.G. & HARRIS, P.J. 2001. Ferulic acids is esterified to glucuronoarabinoxylans in pineapple cell walls. *Phytochemistry*, **56**: 513-519.
- SOARES FILHO, C. V. 1994. Recomendações de espécies e variedades de *Brachiaria* para diferentes condições. In: *SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM 11. Piracicaba-FEALQ*. p.25-48.
- SOUSA, E.; ZANATTA, L.; SEIFRIZ, I.; CRECZYNSKI-PASA, T.B.; PIZZOLATTI, M.G.; SZPOGANICZ, B. & BARRETO SILVA, F.R.M. 2004. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of Kaempferol-3,7-O-(α)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. *Journal of Natural Products*, **67**: 829-832.
- TACHIBANA, S.; OHKUBO, K. & NEIL TOWERS, G.H. 1992. 4,4'-Dihydroxytruxillic acid as a component of the cell walls of the bamboo *Phyllostachys edulis*. *Phytochemistry*, **31**: 81-83.

- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. & PEIXOTO, P.V. 2002. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. *Toxicon*, **40**: 1635-1660.
- TROJANOWSKA, M.R.; OSBOURN, A.E.; DANIELS, M.J. & THRELFALL, D.R. 2000. Biosynthesis of avenacins and phytosterols in roots of *Avena sativa* cv. Image. *Phytochemistry*, **54**: 153-164.
- VELIOGLU, Y.S.; MAZZA, G.; GAO, L. & OOMAH, B.D. 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 4113-4117.
- VIEGI, L.; PIERONI, A.; GUARRERA, P.M. & VANGELISTI, R. 2003. A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *Journal of Ethnopharmacology*, **89**: 221-244
- VILELA, H. 1998. Formação e Adubação de pastagens .Ed. CPT, Viçosa (M.G.) 82p.
- WENZEL, P.; CHAVES, AL., MAYER, J.E., RAO, I.M. & NAIR, M.G. 2000. Roots of nutrient-deprived *Brachiaria* species accumulate 1,3-di-O-trans-feruloylquinic acid. *Phytochemistry*, **55**: 389-395.
- WIELAND, I.; KLUGE, M.; SCHNEIDER, B.; SCHMIDT, J.; SICKER, D. & SCHULZ, M. 1998. 3- β -glucopyranosyl-benzoxazolin-2(3H)-ONE-A detoxification product of benzoxazolin-2(3H)-ONE in oat roots. *Phytochemistry*, **49**: 719-722.
- ZHALOLOV, I.; KHUZHAEV, V.U.; LEVKOVICH, M.G. & ARIPOVA, S.F. 2000. Alkaloids of arundo donax. VIII. 3-Alkylindole Derivates in *A. donax*. *Chemistry of Natural Compounds*, **36**: 528-530.
- ZHALOLOV, I.; KHUZHAEV, V.U.; LEVKOVICH, M.G.; ARIPOVA, S.F. & SHASHKOV, A.S. 2002. Alkaloids of arundo donax. Xi. NMR Spectroscopic study of the dimeric alkaloid arundamine. *Chemistry of Natural Compounds*, **38**: 276-279.
- ZHALOLOV, I.; KHUZHAEV, V.U.; TURGUNOV, V.U.; TASHKODZHAEV, B. & ARIPOVA, S.F. 2003. Alkaloids of arundo donax. XIV. Crystal and molecular structure of N-Methyl-tetrahydro-carboline. *Chemistry of Natural Compounds*, **39**: 289-291.
- ZHALOLOV, I.; TASHKHODZZHAEV, B.; KHUZHAEV, V.U. & ARIPOVA, S.F. 2002. Alkaloids of arundo donax. IX. Crystal Structure of Arundamine. *Chemistry of Natural Compounds*, **38**: 83-86.



Anexo I



Anexo 1: Flavonas e flavonóis isolados a partir da família Poaceae

Flavonóide	Espécie vegetal	Referência
Diidroflavonóis		
Diidroquervetina	<i>Oryza sativa</i>	Padmavati <i>et al.</i> , 1997
Taxifolina	<i>Sorghum sp</i>	Gujer <i>et al.</i> , 1986
Flavonóis		
Kaempferol	<i>Oryza sativa</i>	Padmavati <i>et al.</i> , 1997
Quercetina	<i>Oryza sativa</i>	Padmavati <i>et al.</i> , 1997
Flavonóis Glicosilados		
Kaempferol-3-glicopiranosídeo	<i>Briza media</i>	Williams & Murray, 1972
	<i>Cathestecum prostratum</i>	Crawford & Lankow, 1972
	<i>Milium effusum</i>	Moulton & Whittle, 1989
Kaempferol-3-rutinosídeo	<i>Milium effusum</i>	Moulton & Whittle, 1989
Quercetina-3-glicopiranosídeo	<i>Briza australis</i>	Williams & Murray, 1972
	<i>Briza elatior</i>	
	<i>Briza media</i>	
	<i>Cathestecum prostratum</i>	Crawford & Lankow, 1972
	<i>Milium effusum</i>	Moulton & Whittle, 1989
	<i>Muhlenbergia crispeta</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia montana</i>	
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
	Quercetina-3,7-O-diglicopiranosídeo	<i>Cathestecum prostratum</i>
Quercetina-3-O-ramnoxilopiranosídeo	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
Quercetina-3-O-ramnoxilopiranosídeo	<i>Muhlenbergia crispeta</i>	
	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia durangensis</i>	
	<i>Muhlenbergia eriophylla</i>	
	<i>Muhlenbergia filiculmis</i>	
	<i>Muhlenbergia michisensis</i>	
	<i>Muhlenbergia montana</i>	
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Milium effusum</i>	Moulton & Whittle, 1989
Flavonas		
Apigenina	<i>Muhlenbergia annua</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia ciliata</i>	
	<i>Muhlenbergia confusa</i>	

	<i>Muhlenbergia eludens</i>	
	<i>Muhlenbergia fragilis</i>	
	<i>Muhlenbergia pectinata</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia ramulosa</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia sherpherdii</i>	
	<i>Muhlenbergia sinuosa</i>	
	<i>Muhlenbergia tenella</i>	
	<i>Muhlenbergia tenuissima</i>	
	<i>Muhlenbergia texana</i>	
Tricina	<i>Deschampsia antarctica</i>	Webby & Markham, 1994
	<i>Eleusine africana</i>	Hilu <i>et al.</i> , 1978
	<i>Eleusine corocana</i>	
	<i>Eleusine indica</i>	
	<i>Eleusine tristachya</i>	
	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
	<i>Muhlenbergia annua</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia ciliata</i>	
	<i>Muhlenbergia confusa</i>	
	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	
	<i>Muhlenbergia eludens</i>	
	<i>Muhlenbergia fragilis</i>	
	<i>Muhlenbergia pectinata</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia pusilla</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia ramulosa</i>	
	<i>Muhlenbergia sherpherdii</i>	
	<i>Muhlenbergia sinuosa</i>	
	<i>Muhlenbergia tenella</i>	
	<i>Muhlenbergia tenuissima</i>	
	<i>Muhlenbergia texana</i>	
	<i>Muhlenbergia vag x pus</i>	
Luteolina	<i>Cymbopogon citratus</i>	Matouschek & Stahl-Biskup, 1991
	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
	<i>Muhlenbergia annua</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia ciliata</i>	
	<i>Muhlenbergia confusa</i>	
	<i>Muhlenbergia eludens</i>	
	<i>Muhlenbergia fragilis</i>	
	<i>Muhlenbergia pectinata</i>	
	<i>Muhlenbergia pusilla</i>	
	<i>Muhlenbergia ramulosa</i>	
	<i>Muhlenbergia sherpherdii</i>	
	<i>Muhlenbergia tenella</i>	

	<i>Muhlenbergia tenuissima</i>	
	<i>Muhlenbergia vag x pus</i>	
	<i>Triticum dicoccum</i>	Harbone & Hall, 1964
Flavonas Glicosiladas		
Apigenina-C-arabinosídeo	<i>Avena sterilis</i>	Harbone & Hall, 1964
	<i>Avena strigosa</i>	
	<i>Avena sativa</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
Apigenina-C-glicosídeo	<i>Avena brevis</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
	<i>Avena byzantina</i>	
	<i>Avena fatua</i>	
	<i>Avena nuda</i>	
	<i>Triticum dicoccum</i>	Harbone & Hall, 1964
	<i>Triticum monococcum</i>	
	<i>Triticum polonicum</i>	
	<i>Dactylis glomerata</i>	Harbone & Hall, 1964
Apigenina-C-ramnosídeo	<i>Avena sativa</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
Apigenina-6-C-glicopiranosídeo (isovitexina)	<i>Avena abyssinica</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
	<i>Avena agaridiana</i>	
	<i>Avena atlantica</i>	
	<i>Avena barbata</i>	
	<i>Avena canariensis</i>	
	<i>Avena clauda</i>	
	<i>Avena damascena</i>	
	<i>Avena eriantha</i>	
	<i>Avena fatua</i>	
	<i>Avena hirtula</i>	
	<i>Avena hispanica</i>	
	<i>Avena hybrida</i>	
	<i>Avena longiglumis</i>	
	<i>Avena lusitanica</i>	
	<i>Avena maroccana</i>	
	<i>Avena muphyi</i>	
	<i>Avena nuda</i>	
	<i>Avena occidentalis</i>	
	<i>Avena sativa</i>	
	<i>Avena sterilis</i>	
	<i>Avena strigosa</i>	
	<i>Avena vaviloviana</i>	
	<i>Avena ventricosa</i>	
	<i>Avena wiestii</i>	
	<i>Briza australis</i>	Williams & Murray, 1972
	<i>Briza calontheca</i>	

	<i>Briza elatior</i>	
	<i>Briza humilis</i>	
	<i>Briza media</i>	
	<i>Briza minor</i>	
	<i>Eleusine africana</i>	Hilu <i>et al.</i> , 1978
	<i>Eleusine corocana</i>	
	<i>Eleusine indica</i>	
	<i>Eleusine minutiflora</i>	
	<i>Eleusine tristachya</i>	
	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
	<i>Muhlenbergia sp</i>	Peterson & Riesberg, 1987
Apigenina-6-C-glicopiranosídeo-2"-arabinosídeo (isovitexina-2"-arabinosídeo)	<i>Avena abyssinica</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
	<i>Avena agaridiana</i>	
	<i>Avena atlantica</i>	
	<i>Avena barbata</i>	
	<i>Avena canariensis</i>	
	<i>Avena clauda</i>	
	<i>Avena damascena</i>	
	<i>Avena eriantha</i>	
	<i>Avena fatua</i>	
	<i>Avena hirtula</i>	
	<i>Avena hispanica</i>	
	<i>Avena hybrida</i>	
	<i>Avena longiglumis</i>	
	<i>Avena lusitanica</i>	
	<i>Avena macrostachya</i>	
	<i>Avena maroccana</i>	
	<i>Avena muphyi</i>	
	<i>Avena nuda</i>	
	<i>Avena occidentalis</i>	
	<i>Avena sativa</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988; Chopin <i>et al.</i> , 1977

	<i>Avena sterilis</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
	<i>Avena strigosa</i>	
	<i>Avena vaviloviana</i>	
	<i>Avena ventricosa</i>	
	<i>Avena wiestii</i>	
Apigenina-6- <i>C</i> -glicopiranosídeo-4'-glicosídeo (isovitexina-4'-glicosídeo)	<i>Briza australis</i>	Williams & Murray, 1972
	<i>Briza elatior</i>	
	<i>Briza media</i>	
Apigenina-6- <i>C</i> -glicopiranosídeo-2"- <i>O</i> - <i>B</i> -[6- <i>O</i> - <i>E</i> -feruloil- glicosídeo] (isovitexina-2"- <i>O</i> - <i>B</i> -[6- <i>O</i> - <i>E</i> -feruloil-glicosídeo])	<i>Oryza sativa</i>	Markham <i>et al.</i> , 1998
Apigenina-6- <i>C</i> -glicopiranosídeo-2"- <i>O</i> - <i>B</i> -[6- <i>O</i> - <i>E</i> - coumaroil-glicosídeo] (isovitexina-2"- <i>O</i> - <i>B</i> -[6- <i>O</i> - <i>E</i> -coumaroil-glicosídeo])	<i>Oryza sativa</i>	Markham <i>et al.</i> , 1998
Apigenina-6- <i>C</i> -glicopiranosídeo-8- <i>C</i> -arabinosídeo (shaftosídeo)	<i>Hyparrenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
	<i>Eleusine indica</i>	Melo <i>et al.</i> , 2005
Apigenina-6,8- <i>C</i> -diglicopiranosídeo (violantina ou vicenina)	<i>Elusine multiniflora</i>	Hilu <i>et al.</i> , 1978
	<i>Hyparrenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
Apigenina-8- <i>C</i> -glicopiranosídeo (vitexina)	<i>Avena atlantica</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
	<i>Avena barbata</i>	
	<i>Avena clauda</i>	
	<i>Avena damascena</i>	
	<i>Avena hirtula</i>	
	<i>Avena hybrida</i>	
	<i>Avena longiglumis</i>	
	<i>Avena lusitanica</i>	
	<i>Avena maroccana</i>	
	<i>Avena murphyi</i>	
	<i>Avena occidentalis</i>	
	<i>Avena sativa</i>	
	<i>Avena sterilis</i>	
	<i>Avena wiestii</i>	
	<i>Briza australis</i>	Williams & Murray, 1972
	<i>Briza calontheca</i>	
	<i>Briza elatior</i>	
	<i>Briza humilis</i>	
	<i>Briza media</i>	
	<i>Briza minor</i>	

	<i>Briza palaepilifera</i>	
	<i>Briza subaristata</i>	
	<i>Briza uniolae</i>	
	<i>Eleusine africana</i>	Hilu <i>et al.</i> , 1978
	<i>Eleusine coracana</i>	
	<i>Eleusine indica</i>	Hilu <i>et al.</i> , 1978; Melo <i>et al.</i> , 2005
	<i>Eleusine tristachya</i>	
	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia filiculmis</i>	
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	
	<i>Muhlenbergia michisensis</i>	
	<i>Muhlenbergia montana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
Apigenina-8-C-glicopiranosil-2"-arabinopiranosídeo (vitexina-2"-arabinopiranosídeo)	<i>Avena abyssinica</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
	<i>Avena agaridiana</i>	
	<i>Avena atlantica</i>	
	<i>Avena canariensis</i>	
	<i>Avena clauda</i>	
	<i>Avena damascena</i>	
	<i>Avena eriantha</i>	
	<i>Avena fatua</i>	
	<i>Avena hirtula</i>	
	<i>Avena hispanica</i>	
	<i>Avena hybrida</i>	
	<i>Avena longiglumis</i>	
	<i>Avena lusitanica</i>	
	<i>Avena macrostachya</i>	

	<i>Avena marocana</i>	
	<i>Avena murphyi</i>	
	<i>Avena nuda</i>	
	<i>Avena occidentalis</i>	
	<i>Avena sativa</i>	
	<i>Avena sterilis</i>	
	<i>Avena strigosa</i>	
	<i>Avena vaviloviana</i>	
	<i>Avena ventricosa</i>	
	<i>Avena wiestii</i>	
Apigenina-8-C-glicopiranosil-2"-ramnopiranosídeo (vitexina-2"-ramnopiranosídeo)	<i>Avena sativa</i>	Chopin <i>et al.</i> , 1977
Apigenina-8-C-glicopiranosil-2"-O-glicopiranosídeo (vitexina-2"-O-glicopiranosídeo)	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson <i>et al.</i> , 1990
Apigenina-8-C-glicopiranosil-2"-O-xilopiranosídeo (vitexina-2"-O-xilopiranosídeo)	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson <i>et al.</i> , 1990
Apigenina-8-C-glicopiranosil-X"-O-pentosídeo (vitexina-2"-O-pentosídeo)	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson <i>et al.</i> , 1990
Apigenina-8-C-glicopiranosil-2"-O-hexosídeo (vitexina-2"-O-hexosídeo)	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson <i>et al.</i> , 1990
Apigenina-8-C-glicopiranosil-2"-O-pentosídeo acilado (vitexina-2"-O-pentosídeo acilado)	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson <i>et al.</i> , 1990
Apigenina-8-C-glicopiranosil-X"-O-(E)-feruloil-2"- xilopiranosídeo (vitexina-X"-O-(E)-feruloil-2"-xilopiranosídeo)	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson <i>et al.</i> , 1990
Apigenina-8-C-glicopiranosil-X"-O-(E)-feruloil-2"- glicopiranosídeo (vitexina-X"-O-(E)-feruloil-2"-glicopiranosídeo)	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson <i>et al.</i> , 1990
Apigenina-8-C-glicopiranosil-X"-O-(E)-sinapoil-2"- xilopiranosídeo (vitexina-X"-O-(E)-sinapoil-2"-xilopiranosídeo)	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson <i>et al.</i> , 1990
Apigenina-8-C-glicopiranosil-4'-glicopiranosídeo (vitexina-4'-glicopiranosídeo)	<i>Briza australis</i>	Williams & Murray, 1972
	<i>Briza elatior</i>	
	<i>Briza media</i>	
Apigenina-7-C-glicosídeo	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia durangensis</i>	
	<i>Muhlenbergia eriophylla</i>	

	<i>Muhlenbergia filiculmis</i>	
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	
	<i>Muhlenbergia jonesii</i>	
	<i>Muhlenbergia michisensis</i>	
	<i>Muhlenbergia montana</i>	
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
Apigenina-7-O-glicosídeo	<i>Hordeum vulgare</i>	Blume & McClure, 1978
	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia durangensis</i>	
	<i>Muhlenbergia filiculmis</i>	
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	
	<i>Muhlenbergia michisensis</i>	
	<i>Muhlenbergia montana</i>	
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
Apigenina-7-O-arabinosídeo	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	
	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia durangensis</i>	
	<i>Muhlenbergia eriophylla</i>	
	<i>Muhlenbergia filiculmis</i>	
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	
	<i>Muhlenbergia jonesii</i>	
	<i>Muhlenbergia michisensis</i>	
	<i>Muhlenbergia montana</i>	
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
Apigenina-7-O-diarabinosídeo	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	
	<i>Muhlenbergia eriophylla</i>	
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	
	<i>Muhlenbergia michisensis</i>	
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
Apigenina-7-O-glicosídeo-6-C-glicosídeo (saponarina)	<i>Eleusine africana</i>	Hilu <i>et al.</i> , 1978

	<i>Eleusine corocana</i>	
	<i>Eleusine indica</i>	
	<i>Hordeum vulgare</i>	Carlin & McClure, 1973; Saunders & McClure, 1976; Blume & McClure, 1978
	<i>Triticum monococcum</i>	Harbone & Hall, 1964
	<i>Triticum polonicum</i>	
Crisoeriol-7-O-glicosídeo	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
	<i>Setaria italica</i>	
Isoscoparina-2"-O-B-[6-O-E-p-coumaroil-glicosídeo]	<i>Oryza sativa</i>	Markaham <i>et al.</i> , 1998
Isowertisina	<i>Deschampsia antarctica</i>	Webby & Markaham, 1994
Isowertisina-2"-ramnosídeo	<i>Avena agaridiana</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
	<i>Avena damascena</i>	
	<i>Avena hirtula</i>	
	<i>Avena lusitanica</i>	
	<i>Avena sativa</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988; Chopin <i>et al.</i> , 1977
	<i>Avena wiestii</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
Isowertisina-2"-O-B-arabinosídeo	<i>Deschampsia antarctica</i>	Webby & Markaham, 1994
Isowertiajaponina	<i>Deschampsia antarctica</i>	Webby & Markaham, 1994
Isowertiajaponina-2"-O-B-arabinosídeo	<i>Deschampsia antarctica</i>	Webby & Markaham, 1994
Luteolina-3'-metil-éter	<i>Hyparrhenia vulgare</i>	Blume & McClure, 1978
Luteolina-6-arabinosídeo	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia eriophylla</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
Luteolina-6-diarabinosídeo	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia durangensis</i>	
	<i>Muhlenbergia filiculmis</i>	
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	
	<i>Muhlenbergia jonesii</i>	
	<i>Muhlenbergia montana</i>	
Luteolina-6-glicosídeo	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	
	<i>Muhlenbergia eriophylla</i>	
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	
	<i>Muhlenbergia michisensis</i>	
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	

Luteolina-6-diglicosídeo	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
Luteolina-6-galactosídeo	<i>Muhlenbergia crispiseta</i> <i>Muhlenbergia eriophylla</i> <i>Muhlenbergia filiculmis</i> <i>Muhlenbergia flaviseta</i> <i>Muhlenbergia jonesii</i> <i>Muhlenbergia michisensis</i> <i>Muhlenbergia quadridentata</i> <i>Muhlenbergia virescens</i>	Herrera & Bain, 1991
Luteolina-6-digalactosídeo	<i>Muhlenbergia argentea</i> <i>Muhlenbergia peruviana</i>	Herrera & Bain, 1991
Luteolina-6-xilosídeo	<i>Muhlenbergia durangensis</i>	Herrera & Bain, 1991
Luteolina-7-galactosídeo	<i>Muhlenbergia filiculmis</i>	Herrera & Bain, 1991
Luteolina-8-galactosídeo	<i>Muhlenbergia argentea</i> <i>Muhlenbergia durangensis</i>	Herrera & Bain, 1991
Luteolina-8-glicosídeo	<i>Muhlenbergia eriophylla</i> <i>Muhlenbergia jonesii</i> <i>Muhlenbergia michisensis</i>	Herrera & Bain, 1991
Luteolina-C-glicosídeo	<i>Dactylis glomerata</i> <i>Hyparrhenia hirta</i> <i>Triticum dicoccum</i>	Harbone & Hall, 1964 Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001 Harbone & Hall, 1964
Luteolina-C-diglicosídeo	<i>Dactylis glomerata</i>	Harbone & Hall, 1964
Luteolina-C-ramnosídeo	<i>Triticum dicoccum</i>	Harbone & Hall, 1964
Luteolina-6-C-glicosídeo (isorientina)	<i>Briza media</i> <i>Briza minor</i> <i>Briza palaepilifera</i> <i>Briza paoemorpha</i> <i>Briza subaristata</i> <i>Briza uniolae</i> <i>Cymbopogon citratus</i> <i>Eleusine africana</i> <i>Eleusine corocana</i> <i>Eleusine minutiflora</i> <i>Eleusine tristachya</i> <i>Hyparrhenia hirta</i> <i>Muhlenbergia crispiseta</i>	Williams & Murray, 1972 Matouschek & Stahl-Biskup, 1991 Hilu <i>et al.</i> , 1978 Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001 Peterson & Rieseberg, 1987
Luteolina-6-C-glicosídeo-7-O-ramnosídeo (isorientina-7-O-ramnosídeo)	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
Luteolina-6-C-glicosídeo-4'-glicosídeo (isorientina-4'-glicosídeo ou lutanarina)	<i>Briza media</i> <i>Hordeum vulgare</i>	Williams & Murray, 1972 Carlin & McClure, 1973; Saunders & McClure, 1976; Blume & McClure, 1978
Luteolina-6-C-glicosídeo-4'-glicosídeo-3'-metil-éter (lutanarina-3'-metil-éter)		Carlin & McClure, 1973; Saunders & McClure, 1976; Blume & McClure, 1978

Luteolina-6-C-glicosídeo-2"-O-arabinosídeo (isoorientina-2"-O-arabinosídeo)	<i>Cymbopogon citratus</i>	Matouschek & Stahl-Biskup, 1991
Luteolina-6-C-glicosídeo-2"-O-B-[6-O-E-p-coumaroil-glicosídeo] (isoorientina-2"-O-B-[6-O-E-p-coumaroil-glicosídeo])	<i>Oryza sativa</i>	Markham <i>et al.</i> , 1998
Luteolina-6-C-glicosídeo-2"-O-B-[6-O-E-p-feruloil-glicosídeo] (isoorientina-2"-O-B-[6-O-E-p-feruloil-glicosídeo])		Markham <i>et al.</i> , 1998
Luteolina-6-C-glicosilada-O-ramnosídeo (isoorientina-O-ramnosídeo)	<i>Saccharum barberi</i>	Williams & Harbone, 1974
	<i>Saccharum edule</i>	
	<i>Saccharum officinarum</i>	
	<i>Saccharum robustum</i>	
	<i>Saccharum sinense</i>	
	<i>Saccharum spontaneum</i>	
Luteolina-6-C-glicosilada-O-triglicosídeo (isoorientina-O-triglicosídeo)	<i>Saccharum barberi</i>	Williams & Harbone, 1974
	<i>Saccharum edule</i>	
	<i>Saccharum officinarum</i>	
	<i>Saccharum robustum</i>	
	<i>Saccharum sinense</i>	
	<i>Saccharum spontaneum</i>	
Luteolina-6-C-galactosídeo	<i>Muhlenbergia annua</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia ciliata</i>	
	<i>Muhlenbergia confusa</i>	
	<i>Muhlenbergia eludens</i>	
	<i>Muhlenbergia fragilis</i>	
	<i>Muhlenbergia pectinata</i>	
	<i>Muhlenbergia ramulosa</i>	
	<i>Muhlenbergia sherpherdii</i>	
	<i>Muhlenbergia sinuosa</i>	
	<i>Muhlenbergia tenella</i>	
	<i>Muhlenbergia tenuissima</i>	
	<i>Muhlenbergia texana</i>	
	<i>Muhlenbergia vag x pus</i>	
Luteolina-6-C-digalactosídeo	<i>Muhlenbergia eludens</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia fragilis</i>	
	<i>Muhlenbergia pectinata</i>	

	<i>Muhlenbergia pusilla</i>	
	<i>Muhlenbergia ramulosa</i>	
	<i>Muhlenbergia sherpherdii</i>	
	<i>Muhlenbergia sinuosa</i>	
	<i>Muhlenbergia tenuissima</i>	
	<i>Muhlenbergia tenella</i>	
Luteolina-6,8-C-diglicosídeo (lucenina)	<i>Eleusine compressa</i>	Hilu <i>et al.</i> , 1978
	<i>Eleusine minutiflora</i>	
Luteolina-8-C-glicosilada (orientina)	<i>Briza australis</i>	Williams & Murray, 1972
	<i>Briza elatior</i>	
	<i>Briza erecta</i>	
	<i>Briza media</i>	
	<i>Briza minor</i>	
	<i>Briza palaepillifera</i>	
	<i>Briza paoemorpha</i>	
	<i>Briza uniolae</i>	
	<i>Deschampsia antarctica</i>	Webby & Markaham, 1994
	<i>Eleusine africana</i>	Hilu <i>et al.</i> , 1978
	<i>Eleusine corocana</i>	
	<i>Eleusine indica</i>	
	<i>Eleusine minutiflora</i>	
	<i>Eleusine tristachya</i>	
	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
Luteolina-8-C-glicosídeo-2"-O-B-arabinosídeo (orientina-2"-O-B-arabinosídeo)	<i>Deschampsia antarctica</i>	Webby & Markaham, 1994
Luteolina-8-C-glicosídeo-4'-glicosídeo (orientina-4'-glicosídeo)	<i>Briza media</i>	Williams & Murray, 1972
Luteolina-8-C-glicosídeo-2"-O-glicosídeo (orientina-2"-O-glicosídeo)	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
Luteolina-8-C-glicosídeo-2"-O-xilosídeo (orientina-2"-O-xilosídeo)		Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
Luteolina-8-C-glicosídeo-6"-O-(E)-feruloil-2"-O-glicosídeo (orientina-6"-O-(E)-feruloil-2"-O-glicosídeo)		Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
Luteolina-8-C-glicosídeo-6"-O-(E)-feruloil-2"-O-xilosídeo (orientina-6"-O-(E)-feruloil-2"-O-xilosídeo)		Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
Luteolina-8-C-glicosilada-x"-O-pentosídeo (orientina-x"-O-pentosídeo)		Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
Luteolina-8-C-glicosilada-x"-O-hexosídeo (orientina-x"-O-hexosídeo)		Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
Luteolina-8-C-glicosilada-x"-O-pentosil-acilado (orientina-x"-O-pentosil-acilado)		Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
	<i>Muhlenbergia annua</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia ciliata</i>	

	<i>Muhlenbergia confusa</i>	
	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	
Luteolina-5-O-glicosídeo	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	
	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia durangensis</i>	
	<i>Muhlenbergia filiculmis</i>	
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	
	<i>Muhlenbergia jonesii</i>	
	<i>Muhlenbergia michisensis</i>	
	<i>Muhlenbergia montana</i>	
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
Luteolina-6-O-arabinosídeo	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
Luteolina-7-O-galactosídeo	<i>Muhlenbergia annua</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia ciliata</i>	
	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia confusa</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	
	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia durangensis</i>	
	<i>Muhlenbergia eludens</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia fragilis</i>	
	<i>Muhlenbergia pectinata</i>	
	<i>Muhlenbergia pusilla</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
	<i>Muhlenbergia ramulosa</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia sherpherdii</i>	
	<i>Muhlenbergia sinuosa</i>	
	<i>Muhlenbergia tenella</i>	
	<i>Muhlenbergia vag x pus</i>	
Luteolina-7-O-digalactosídeo	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia eludens</i>	
	<i>Muhlenbergia fragilis</i>	
	<i>Muhlenbergia pectinata</i>	
	<i>Muhlenbergia pusilla</i>	
	<i>Muhlenbergia ramulosa</i>	
	<i>Muhlenbergia sherpherdii</i>	

	<i>Muhlenbergia sinuosa</i>	
	<i>Muhlenbergia tenella</i>	
	<i>Muhlenbergia tenella</i>	
	<i>Muhlenbergia vag x pus</i>	
Luteolina-7-O-B-glicosídeo	<i>Cymbopogon citratus</i>	Matouschek & Stahl-Biskup, 1991
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	Herrera & Bain, 1991
Luteolina-7-O-diglicosídeo	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson <i>et al.</i> , 1990
Luteolina-7-O-B-neoespirosídeo	<i>Cymbopogon citratus</i>	Matouschek & Stahl-Biskup, 1991
Luteolina-7-O-ramnoglicosídeo	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
Luteolina-7-O-xilosídeo	<i>Muhlenbergia jonesii</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia montana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
Tricina glicosilada	<i>Muhlenbergia annua</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia ciliata</i>	
	<i>Muhlenbergia confusa</i>	
	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	
	<i>Muhlenbergia eludens</i>	
	<i>Muhlenbergia fragilis</i>	
	<i>Muhlenbergia pectinata</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia ramulosa</i>	Peterson & Rieseberg, 1987
	<i>Muhlenbergia sherpherdii</i>	
	<i>Muhlenbergia sinuosa</i>	
	<i>Muhlenbergia texana</i>	
Tricina-5-glicosídeo	<i>Avena abyssinica</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
	<i>Avena agaridiana</i>	
	<i>Avena canariensis</i>	
	<i>Avena hispanica</i>	
	<i>Avena longiglumis</i>	
	<i>Avena macrostachya</i>	
	<i>Avena nuda</i>	
	<i>Avena sativa</i>	
	<i>Avena strigosa</i>	
	<i>Avena vaviloviana</i>	
	<i>Briza australis</i>	Williams & Murray, 1972
	<i>Briza elatior</i>	
	<i>Briza erecta</i>	
	<i>Briza humilis</i>	
	<i>Briza media</i>	
	<i>Briza minor</i>	
	<i>Briza palaepilifera</i>	
	<i>Briza uniola</i>	
	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001

	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Saccharum barberi</i>	Williams & Harbone, 1974
	<i>Saccharum edule</i>	
	<i>Saccharum officinarum</i>	
	<i>Saccharum robustum</i>	
	<i>Saccharum sinense</i>	
	<i>Saccharum spontaneum</i>	
	<i>Triticum dicoccum</i>	Harbone & Hall, 1964
Tricina-5-diglicosídeo	<i>Triticum dicoccum</i>	Harbone & Hall, 1964
Tricina-7-glicosídeo	<i>Avena abyssinica</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
	<i>Avena barbata</i>	
	<i>Avena canariensis</i>	
	<i>Avena fatua</i>	
	<i>Avena hirtula</i>	
	<i>Avena hispanica</i>	
	<i>Avena hybrida</i>	
	<i>Avena longiglumis</i>	
	<i>Avena lusitanica</i>	
	<i>Avena nuda</i>	
	<i>Avena occidentalis</i>	
	<i>Avena sativa</i>	
	<i>Avena strigosa</i>	
	<i>Avena vaviloviana</i>	
	<i>Avena wiestii</i>	
	<i>Briza australis</i>	Williams & Murray, 1972
	<i>Briza elatior</i>	
	<i>Briza erecta</i>	
	<i>Briza media</i>	
	<i>Briza minor</i>	
	<i>Briza palaepilifera</i>	
	<i>Briza paoemorpha</i>	
	<i>Briza uniolae</i>	
	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
	<i>Muhlenbergia argentea</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia argentea</i>	
Tricina-7-glicosídeo-bissulfato	<i>Saccharum barberi</i>	Williams & Harbone, 1974
	<i>Saccharum edule</i>	
	<i>Saccharum officinarum</i>	
	<i>Saccharum robustum</i>	
	<i>Saccharum robustum</i>	
	<i>Saccharum sinense</i>	
	<i>Saccharum spontaneum</i>	

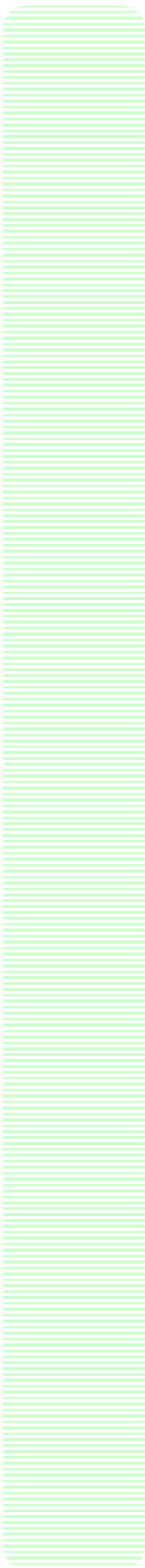
Tricina-7-diglicosídeo	<i>Avena hybrida</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1988
	<i>Avena sterillis</i>	
	<i>Saccharum barberi</i>	Williams & Harbone, 1974
	<i>Saccharum edule</i>	
	<i>Saccharum officinarum</i>	
	<i>Saccharum robustum</i>	
	<i>Saccharum sinense</i>	
	<i>Saccharum spontaneum</i>	
Tricina-7-neoesperidosídeo	<i>Saccharum barberi</i>	Williams & Harbone, 1974
	<i>Saccharum edule</i>	
	<i>Saccharum officinarum</i>	
	<i>Saccharum robustum</i>	
	<i>Saccharum sinense</i>	
	<i>Saccharum spontaneum</i>	
Tricina-O-glicosídeo	<i>Dactylis glomerata</i>	Harbone & Hall, 1964
Tricina-7-O--ramnoglicosídeo	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2001
Tricina-7-O-glucuronídeo	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia durangensis</i>	
	<i>Muhlenbergia eriophylla</i>	
	<i>Muhlenbergia filliculmis</i>	
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	
	<i>Muhlenbergia jonesii</i>	
	<i>Muhlenbergia michisensis</i>	
	<i>Muhlenbergia montana</i>	
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	
	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
Tricina-7-O-glicosídeo	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
Tricina-7-O-diglicosídeo	<i>Setaria italica</i>	Gluchoff-Fiasson & Jay, 1987
Tricina-5-O-xilosídeo	<i>Muhlenbergia crispiseta</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia peruviana</i>	
Tricina-5-O-glicosídeo	<i>Muhlenbergia cualensis</i>	Herrera & Bain, 1991
	<i>Muhlenbergia curvula</i>	
	<i>Muhlenbergia durangensis</i>	
	<i>Muhlenbergia eriophylla</i>	
	<i>Muhlenbergia filliculmis</i>	
	<i>Muhlenbergia flaviseta</i>	
	<i>Muhlenbergia jonesii</i>	
	<i>Muhlenbergia michisensis</i>	
	<i>Muhlenbergia montana</i>	

	<i>Muhlenbergia quadridentata</i>	
	<i>Muhlenbergia virescens</i>	
Tricina-4'- <i>O</i> -(treo-B-guaiacilglicerol) éter	<i>Hyparrhenia hirta</i>	Bouzaiz <i>et al.</i> , 2002
Tricina-4'- <i>O</i> -(eritro-B-guaiacilglicerol) éter		
Tricina-4'- <i>O</i> -(treo-B-guaiacilglicerol) glicosídeo	éter-7- <i>O</i> -B-	
Tricina-4'- <i>O</i> -(eritro-B-guaiacilglicerol) glicosídeo	éter-7- <i>O</i> -B-	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLUME, D.E. & MCCLURE, J.W. 1978. C-Glycosylflavone accumulation in sandoz 6706-treated barley seedlings is a photocontrolled response. *Phytochemistry*, **17**: 1549-1551.
- BOUAZIZ, M.; SIMMONDS, M.S.J.; GRAYER, R.J.; KITE, G.C. & DAMAK, M. 2001. flavonoids from *Hyparrhenia hirta* stapf (Poaceae) growing in Tunisia. *Biochemical Systematics and Ecology*, **29**: 849-851.
- CARLIN, R.M. & MCCLURE, J.W. 1973. Action spectra for C-glucosylflavone accumulation in *Hordeum vulgare* plumules. *Phytochemistry*, **12**: 1009-1015.
- CHOPIN, J.; DELLAMONICA, G.; BOUILLANT, M.L.; BESSET, A.; POPOVICI, G. & WEISSENBOCK, G. 1977. C-glycosylflavones from *Avena sativa*. *Phytochemistry*, **16**: 2041-2043.
- CRAWFORD, D.J. & LANKOW, D.L. 1972. Flavonols from the leaves of *Cathetecum prostratum*. *Phytochemistry*, **11**: 2571-2572.
- GLUCHOFF-FIASSON, K. & JAY, M. 1987. Discriminative flavonoid patterns within a preliminary collection of the *Setaria italica* specific complex. *Biochemical Systematics and Ecology*, **15**: 581-586.
- GLUCHOFF-FIASSON, K.; JAY, M. & VIRICEL, M-R. 1990. Detection of new flavonoid patterns in foxtail millet [*Setaria italica* (L.) Beauv.]: Comparison between pure lines and hybrids. *Biochemical Systematics and Ecology*, **18**: 221-227.
- GUJER, R.; MAGNOLATO, D. & SELF, R. 1986. Glucosylated flavonoids and other phenolic compounds from *Sorghum*. *Phytochemistry*, **25**: 1431-1436.
- HARBORNE, J.B. & HALL, E. 1964. Plant polyphenols-XII. The occurrence of tricin and of glycoflavones in grasses. *Phytochemistry*, **3**: 421-428.
- HERRERA, Y. & BAIN, J.F. 1991. Flavonoids of the *Muhlenbergia Montana* complex. *Biochemical Systematics and Ecology*, **19**: 665-672.
- HILU, K.W.; DE WET, J.M.J. & SEIGLER, D. 1978. Flavonoid patterns and systematics in *Eleusine*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **6**: 247-249.

- MARKHAM, K.R.; TANNER, G.J.; CAASI-LIT, M.; WHITECROSS, M.I.; NAYUDU, M. & MITCHELL, K.A. 1998. Possible protective role for 3'4'-Dihydroxyflavones induced by enhanced UV-B in a UV-tolerant rice cultivar. *Phytochemistry*, **49**: 1913-1919.
- MATOUSCHECK, B.V. & STAHL-BISKUP, E. 1991. Phytochemische untersuchung der nichtfluchtigen inhaltsstoffe von *Cymbopogon citrates* (DC.) stapf (Poaceae). *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, **66**: 9-10.
- MELO, G.O.; MUZITANO, M.F.; MACHADO, A.L.; ALMEIDA, T.A.; OLIVEIRA, D.B.; KAISER, C.R.; MORAES, V.L.G. & COSTA, S.S. 2005. C-Glycosylflavones from the Aerial Parts of Eleusine indica Inhibit LPS-Induced Mouse Lung Inflammation. *Planta Medica*, **71**: 1- 2.
- MOULTON, R.J. & WHITTLE, S.J. 1989. The major flavonoids in the leaves of *Milium effusum* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, **17**: 197-198.
- PADMAVATI, M.; SAKTHIVEL, N.; THARA, K.V. & REDDY, A.R. 1997. Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids. *Phytochemistry*, **46**: 499-502.
- PETERSON, P.M. & RIESEBERG, L.H. 1987. Flavonoids of the annual *Muhlenbergia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **15**: 647-652.
- SALEH, N.A.M.; NOZZOLILLO, C. & ALTOSAAR, I. 1988. Flavonoid variations in *Avena* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, **16**: 597-599.
- SAUNDERS, J.A. & MCCLURE, J.W. 1976. The occurrence and photoregulation of flavonoids in barley plastids. *Phytochemistry*, **15**: 805-807.
- WEBBY, R.F. & MARKHAM, K.R. 1994. Isoswertiajaponin-2''-O- β -Arabinopyranoside and other flavone-C-glycosides from the antarctic grass *Deschampsia antarctica*. *Phytochemistry*, **36**: 1323-1326.
- WILLIAMS, C.A. & HARBORNE, J.B. 1974. The taxonomic significance of leaf flavonoids in *Saccharum* and related genera. *Phytochemistry*, **13**: 1141-1149.
- WILLIAMS, C.A. & MURRAY, B.G. 1972. Flavonoid variation in the genus *Briza*. *Phytochemistry*, **11**: 2507-2512.



Conclusões Finais



Os resultados obtidos nos permitem concluir:

5. Das 21 plantas com reconhecida importância para a dieta dos cervos-do-pantanal e veados campeiros na RPPN-SESC Pantanal, seis plantas são utilizadas como forrageiras e quatorze pertencem a gêneros com espécies medicinais. Destas últimas, sete plantas são medicinais. Uma das espécies vegetais da dieta é considerada ornamental.
6. As espécies vegetais *Andira cuyabensis* (Fabaceae), *Cecropia pachystachya* (Cecropiaceae), *Desmodium distortum* (Fabaceae), *Lippia alba* (Verbenaceae), *Phyllanthus amarus* (Euphorbiaceae), *Polygonum acuminatum* (Polygonaceae) e *Vernonia scabra* (Asteraceae) possuem uma importância na medicina popular no Brasil no combate a diferentes afecções.
7. Cerca de 35% dos extratos aquosos das 20 plantas avaliadas apresentaram importante atividade antioxidante. As plantas mais ativas foram *Andira cuyabensis*, *Cecropia pachystachya*, *Ludwigia nervosa*, *Phyllanthus amarus*, *Polygonum acuminatum*, *Sebastiania corniculata* e *Rynchanthera novemnervia*. Destas, quatro plantas são de uso reconhecido na medicina popular;
8. Os teores de taninos nos extratos mais ativos das sete plantas acima listadas foram avaliados e não se pode correlacioná-los de maneira direta com a atividade antioxidante. Assim, a atividade antioxidante observada está relacionada também a outras classes químicas.
9. O perfil químico dos infusos das diferentes partidas de *Brachiaria humidicola* (BH1, BH2, BH3, BH4 e BH5) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência no sistema de solventes utilizado mostrou a presença de ácido gálico e ácido ferúlico, duas substâncias fenólicas. O ácido ferúlico já havia sido relatado para espécies do gênero *Brachiaria*.

10. Os infusos BH1, BH2, BH3, BH4 e BH5 apresentaram atividade antioxidante moderada, semelhante a outros extratos aquosos de espécies de Poaceae.
11. O isolamento de kaempferitrina (kaempferol-3-*O*- α -ramnosídeo-7-*O*- α -ramnosídeo) a partir do infuso de *B. humidicola* constitui o primeiro relato de flavonóides para o gênero *Brachiaria* e para a família Poaceae. O isolamento desta substância possui importância quimiotaxonômica a medida que os flavonóides *O*-glicosídeos são menos comuns em gramíneas.
12. A atividade antioxidante observada para a kaempferitrina é superior àquelas verificadas para os extratos de *B. humidicola*.
13. O consumo contínuo das plantas medicinais com bom perfil de atividade antioxidante pode estar beneficiando a saúde dos cervídeos na prevenção de doenças.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)