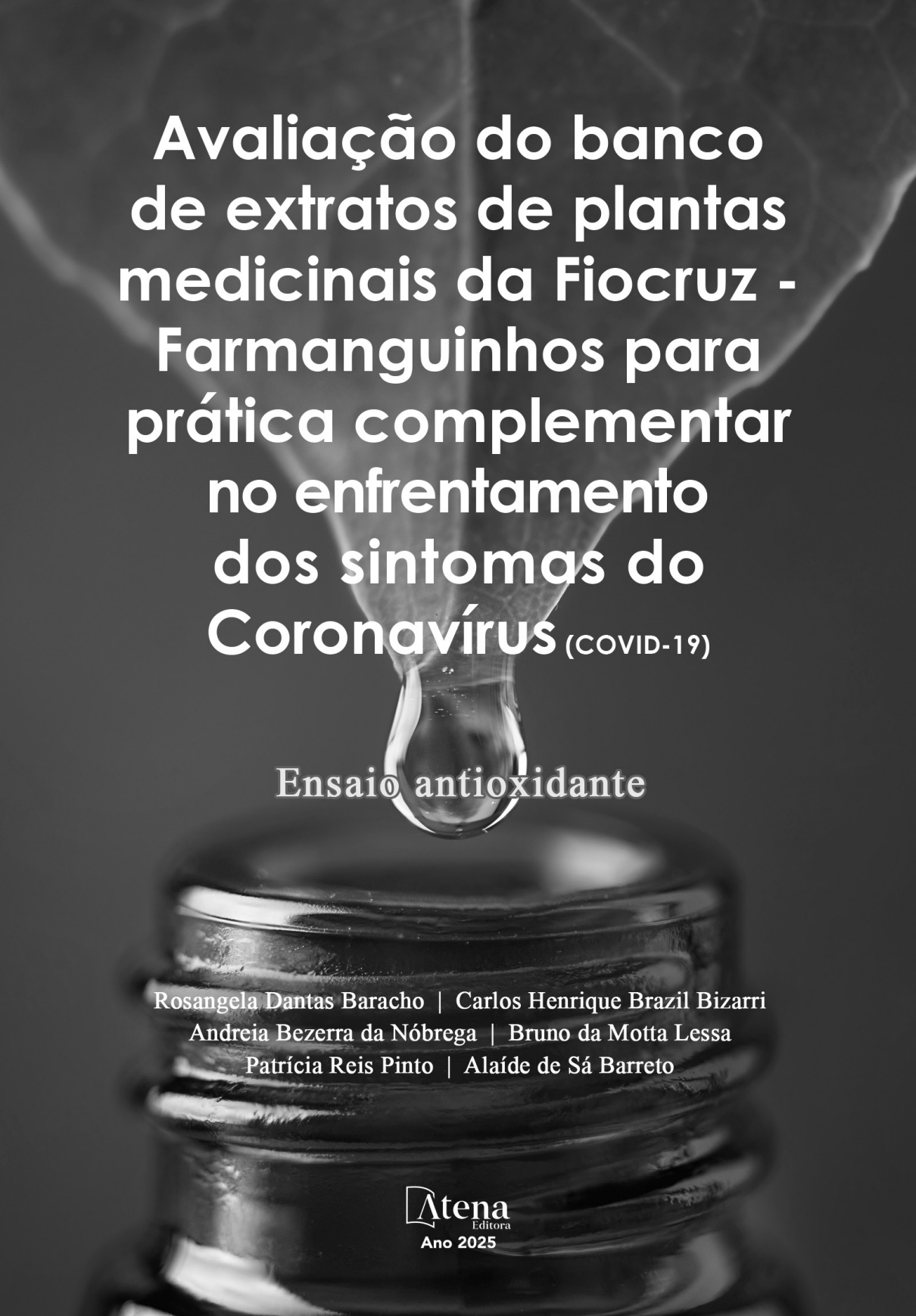


Avaliação do banco de extratos de plantas medicinais da Fiocruz - Farmanguinhos para prática complementar no enfrentamento dos sintomas do Coronavírus (COVID-19)

Ensaio antioxidante

Rosangela Dantas Baracho | Carlos Henrique Brazil Bizarri
Andreia Bezerra da Nóbrega | Bruno da Motta Lessa
Patrícia Reis Pinto | Alaíde de Sá Barreto



Avaliação do banco de extratos de plantas medicinais da Fiocruz - Farmanguinhos para prática complementar no enfrentamento dos sintomas do Coronavírus (COVID-19)

Ensaio antioxidante

Rosangela Dantas Baracho | Carlos Henrique Brazil Bizarri
Andreia Bezerra da Nóbrega | Bruno da Motta Lessa
Patrícia Reis Pinto | Alaíde de Sá Barreto

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Luiza Alves Batista

Nataly Evilin Gayde

Thamires Camili Gayde

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2025 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2025 O autor

Copyright da edição © 2025 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelo autor.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo da obra e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva do autor, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos ao autor, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Os manuscritos nacionais foram previamente submetidos à avaliação cega por pares, realizada pelos membros do Conselho Editorial desta editora, enquanto os manuscritos internacionais foram avaliados por pares externos. Ambos foram aprovados para publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Profª Drª Alana Maria Cerqueira de Oliveira – Instituto Federal do Acre

Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Cristina Aledi Felsemburgh – Universidade Federal do Oeste do Pará

Prof. Dr. Diogo Peixoto Cordova – Universidade Federal do Pampa, Campus Caçapava do Sul

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará

Prof. Dr. Fabrício Moraes de Almeida – Universidade Federal de Rondônia

Profª Drª Glécilla Colombelli de Souza Nunes – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Hauster Maximiler Campos de Paula – Universidade Federal de Viçosa

Profª Drª Iara Margolis Ribeiro – Universidade Federal de Pernambuco

Profª Drª Jéssica Barbosa da Silva do Nascimento – Universidade Estadual de Santa Cruz

Profª Drª Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Leonardo França da Silva – Universidade Federal de Viçosa

Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Marcos Vinicius Winckler Caldeira – Universidade Federal do Espírito Santo

Profª Drª Maria Iaponeide Fernandes Macêdo – Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Profª Drª Maria José de Holanda Leite – Universidade Federal de Alagoas

Profª Drª Mariana Natale Fiorelli Fabiche – Universidade Estadual de Maringá

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba

Profª Drª Priscila Natasha Kinas – Universidade do Estado de Santa Catarina

Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Rafael Pacheco dos Santos – Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof. Dr. Ramiro Picoli Nippes – Universidade Estadual de Maringá

Profª Drª Regina Célia da Silva Barros Allil – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima – Universidade Federal do Piauí

Avaliação do banco de extratos de plantas medicinais da Fiocruz – Farmanguinhos para prática complementar no enfrentamento dos sintomas do Coronavírus (COVID-19): ensaio antioxidante

Autores: Andreia Bezerra da Nóbrega
 Patrícia Reis Pinto
 Alaíde de Sá Barreto
 Carlos Henrique Brazil Bizarri
 Rosângela Dantas Baracho
 Os autores

Revisão: Camila Alves de Cremo
Diagramação: Yaiddy Paola Martinez

Correção: Amanda Kelly da Costa Veiga
Indexação:

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A945 Avaliação do banco de extratos de plantas medicinais da Fiocruz – Farmanguinhos para prática complementar no enfrentamento dos sintomas do Coronavírus (COVID-19): ensaio antioxidante / Andreia Bezerra da Nóbrega, Patrícia Reis Pinto, Alaíde de Sá Barreto, et al. – Ponta Grossa – PR: Atena, 2025.

Outros autores
 Carlos Henrique Brazil Bizarri
 Rosângela Dantas Baracho

Formato: PDF
 Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
 Modo de acesso: World Wide Web
 Inclui bibliografia
 ISBN 978-65-258-3221-0
 DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.210251504>

1. Plantas medicinais. 2. Antioxidantes. I. Nóbrega, Andreia Bezerra da. II. Pinto, Patrícia Reis. III. Barreto, Alaíde de Sá. IV. Título.
 CDD 613.286

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil
 Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DO AUTOR

Para fins desta declaração, o termo 'autor' será utilizado de forma neutra, sem distinção de gênero ou número, salvo indicação em contrário. Da mesma forma, o termo 'obra' refere-se a qualquer versão ou formato da criação literária, incluindo, mas não se limitando a artigos, e-books, conteúdos on-line, acesso aberto, impressos e/ou comercializados, independentemente do número de títulos ou volumes. O autor desta obra: 1. Atesta não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação à obra publicada; 2. Declara que participou ativamente da elaboração da obra, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final da obra para submissão; 3. Certifica que a obra publicada está completamente isenta de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirma a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhece ter informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autoriza a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação da obra publicada, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. A editora pode disponibilizar a obra em seu site ou aplicativo, e o autor também pode fazê-lo por seus próprios meios. Este direito se aplica apenas nos casos em que a obra não estiver sendo comercializada por meio de livrarias, distribuidores ou plataformas parceiras. Quando a obra for comercializada, o repasse dos direitos autorais ao autor será de 30% do valor da capa de cada exemplar vendido; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Em conformidade com a Lei Geral de Proteção de Dados (LGPD), a editora não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como quaisquer outros dados dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

Os autores

Os autores agradecem a Deus pela saúde, vida e término do projeto iniciado em plena pandemia do COVID-19. Agradecemos também aos nossos familiares pela paciência e resiliência na espera do nosso retorno para casa, a Fiocruz Mata Atlântica pela oportunidade de participar desse projeto científico e a FAPERJ pelo financiamento e bolsa concedida a um dos autores (A.S. Barreto).

BARACHO, Rosangela Dantas et al. Avaliação do banco de extratos de plantas medicinais da Fiocruz – Farmanguinhos para prática complementar no enfrentamento dos sintomas do coronavírus (COVID-19): ensaio antioxidante.

Nos últimos tempos, tem-se notado que houve um aumento no interesse por plantas medicinais que apresentam propriedades antioxidantes. A absorção diária de substâncias antioxidantes pode gerar uma ação protetora efetiva contra espécies reativas de oxigênio (ROS) produzidas nas células por diversos estímulos fisiológicos e ambientais. A literatura cita que certos medicamentos fitoterápicos ricos e compostos fenólicos podem melhorar substancialmente os sintomas leves a graves do COVID-19, além de reduzir a mortalidade. Portanto, a avaliação da ação antioxidante pode ser primordial para dar uma direção mais eficiente nos estudos experimentais de uma planta medicinal. Os principais constituintes da dieta alimentar com alta capacidade anti-inflamatória e antioxidante são as vitaminas C e E, os carotenoides e polifenóis. Diante do exposto, este trabalho tem como principal objetivo avaliar, preliminarmente, a atividade antioxidante e a concentração efetiva necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH da solução (CI_{50}) e determinar a concentração de substâncias fenólicas e flavonoides foliares das frações oriundas dos extratos brutos etanólicos individuais de folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina* (Delile) Sch.Bip. ex Walp, *Cecropia pachystachya* Trécul e *Eugenia florida* DC. O extrato bruto e a fração acetato de etila (47%) de *Cecropia pachystachya* (56%); a fração acetato de etila (35%) e butanol (38%) de *Eugenia florida* e as frações hexano (18 %) e acetato de etila (28 %) de *Vernonia amygdalina* apresentaram os maiores teores de fenólicos. A grande quantidade de teores de flavonoides em algumas frações pode explicar a alta concentração de fenólicos totais encontrado nas frações hexano e acetato de etila de *Vernonia amygdalina* e *Cecropia pachystachya* e na fração acetato de etila de *Eugenia florida*. A capacidade do agente antioxidante de sequestrar 50% dos radicais livres DPPH presentes na solução (CI_{50}) em *Cecropia pachystachya* foi maior na fração acetato de etila (2,51 mg/ mL), no extrato etanólico (3,80 mg/ mL) e na fração hexano (5,42 mg/ mL). Já na fração butanol houve uma diminuição da capacidade antioxidante (23,04 mg/ mL). Vale ressaltar que a fração acetato de etila de *Cecropia pachystachya* apresentou a o maior de teor de flavonóides (8,80%). Já a CI_{50} de *Vernonia amygdalina* foi maior na fração hexano e diclorometano ambas com 14,99 mg/ mL do que no extrato bruto etanólico (27,25 mg/ mL) e fração butanol (CI_{50} = 22,48 mg/ mL).

PALAVRAS-CHAVE: Plantas medicinais. Atividades antioxidante. Polifenólicos, CI_{50} .

BARACHO, Rosangela Dantas et al. Assessment of the total antioxidant and phenolic activity of plants from the Fiocruz – Farmanguinhos medicinal plant extract bank for complementary practice in coping with the symptoms of Coronavirus (COVID-19).

Recent times, it has been noted that there has been an increase in interest in medicinal plants that have antioxidant properties. The daily absorption of antioxidant substances can generate an effective protective action against reactive oxygen species (ROS) produced in cells by various physiological and environmental stimuli. The literature cites that certain herbal medicines rich in phenolic compounds can substantially improve mild to severe symptoms of COVID – 19, in addition to reducing mortality a medicinal plant. The main constituents of the diet with high anti-inflammatory and antioxidant capacity are vitamins C, carotenoids and polyphenols. In view of the above, the main objective of this work is to preliminarily evaluate the antioxidant activity and the effective concentration necessary to sequester 50% of the DPPH radicals from the solution (IC_{50}) and to determine the concentration of phenolic substances and foliar flavonoids in the fractions from the crude extracts individual ethanolic compounds from dries and ground leaves of *Vernonia amygdalina* (Delile) Sch. Beep. Ex Walp, *Cecropia pachystachya* Trécul and *Eugenia florida* DC. The crude extract and the ethyl acetate fraction (47%) of *Cecropia pachystachya* (56 %), the ethyl acetate fraction (35%) and butanol (38%) of *Eugenia florida* and the hexane (18%) and ethyl acetate (28%) fractions of *Vernonia amygdalina* showed the highest phenolic contents. The large amount of flavonoid contents in some fractions may explain the high concentration of total phenolics found in the hexane and ethyl acetate fractions of *Vernonia amygdalina* and *Cecropia pachystachya* and in the ethyl acetate fraction of *Eugenia florida*. The capacity of antioxidant agent to sequester 50 % of DPPH free radicals present in the solution (IC_{50}) in *Cecropia pachystachya* was higher in the ethyl acetate fraction (2.51 mg/ mL), in the ethanolic extract (3.80 mg/ mL) and in the hexane fraction (5.42 mg/ mL). In the butanol fraction, however, there was a decrease in the antioxidant capacity (23.04 mg/ mL). In the hexane and dichloromethane fraction both with 14.99 mg/mL than in the crude ethanolic extract (27.25 mg/ mL) and butanol fraction (IC_{50} =22.48 mg/mL).

KEYWORDS: Medicinal plants. Antioxidant activities. Polyphenols, IC_{50} .

| | |
|---|-----------|
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | 1 |
| 1- INTRODUÇÃO | 2 |
| 2- OBJETIVOS..... | 14 |
| 2.1 Geral..... | 14 |
| 2.2 Específico | 14 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 15 |
| 3.1 Coleta e preparo dos extratos brutos e frações..... | 15 |
| 3.2 Particionamento dos extratos | 15 |
| 3.3 Determinação de flavonóides totais | 17 |
| 3.4 Determinação de fenólicos totais | 18 |
| 3.5 Ensaio de atividade antioxidante..... | 19 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 23 |
| 5 CONCLUSÃO | 36 |
| REFERÊNCIAS | 38 |
| SOBRE OS AUTORES | 45 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------------|---|
| SARS-CoV-2 | Síndrome Respiratória Aguda Grave |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| DPOC | Doença pulmonar obstrutiva crônica |
| ECA2 | Enzima conversora de angiotensina 2 |
| PNPMP | Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos |
| TMPRSS2 | Serina protease transmembranar 2 |
| TNF- α | Fator de necrose tumoral alfa |
| PCT | Procalcitonina |
| VHS | Velocidade de hemossedimentação |
| IL-6 | Interleucina-6 |
| PCR | Proteína C reativa |
| CV | Coefficiente de Variação |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picril-hidrazil |
| DCM | Diclorometano |
| nM | Nanomolar |
| μ M | Micromolar |
| HCl | Ácido clorídrico |
| TFT | Teor de flavonóides totais |
| TFeT | Teor de fenólicos totais |
| UV-VIS | Ultravioleta / visível |
| D.P | Desvio Padrão |
| Conc. | Concentração |
| Abs | Absorbância |

1- INTRODUÇÃO

A população mundial já enfrentou várias pandemias de origens bacterianas e virais e, estas foram responsáveis por milhões de óbitos em todo o planeta, contudo, é o COVID-19 o grande astro da atualidade (NEUMAN et al., 2011). O aparecimento do novo SARS-CoV2, em dezembro de 2019, causou um impacto sem precedentes em todo o mundo. Apesar da maioria das mortes, provocadas pelo COVID-19, ocorreram entre idosos e pessoas com comorbidades crônicas, observou-se que este infortúnio ocorreu em todas as idades e condições de saúde (NEUMAN et al., 2011).

A classe de beta coronavírus correspondem uma família (Família: Coronaviridae) de vírus grandes variando de 80 a 120 nm de diâmetro, com o RNA não segmentados, com fita simples de sentido positivo que circulam em animais, incluindo morcegos, gatos, cães, camelos, entre outros (NEUMAN et al., 2011). A membrana viral é cravejada com picos de glicoproteínas que dão aos coronavírus aparência de coroa. A classe de beta coronavírus inclui o vírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS e o SARS-CoV), o vírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS e MERS-CoV) e o agente causador do COVID-19 (SARS-CoV-2). O beta coronavírus codifica várias proteínas estruturais, incluindo a proteína glicosilada (S) que funciona como um grande indutor de respostas imunes do hospedeiro, além da serina- protease produzida pela célula hospedeira TMPRSS21 (TAVARES et al., 2020). A glicoproteína S é responsável pela ligação do vírus ao seu receptor celular e pela promoção da fusão do envelope viral com a membrana celular, imprescindível para a penetração viral na célula hospedeira (TAVARES et al., 2020; REGIS et al., 2020; NEUMAN et al., 2011). O receptor para a glicoproteína estrutural S é a enzima chamada de ECA2. A ECA2 age como um receptor para a proteína estrutural S (*espícula*) do SARS-CoV-2, através da qual o vírus ganha acesso à célula hospedeira. Esse mecanismo envolve a interação da glicoproteína S viral com o domínio extracelular da ECA2, desencadeando mudanças conformacionais que desestabilizam a membrana celular, propiciando a internalização do SARS-CoV-2 e da ECA2, a replicação viral, e a transmissão célula a célula (TAVARES et al., 2020; REGIS et al., 2020).

No envelhecimento ocorre a redução da expressão da ECA2 nos pulmões. Durante o decaimento da expressão da ECA2 tecidual com o envelhecimento, pacientes idosos apresentam maior gravidade de danos pulmonares e maior taxa de letalidade por COVID-19, quando comparados com indivíduos jovens. Uma hipótese proposta (TAVARES et al., 2020; REGIS et al., 2020) para explicar essa aparente incoerência entre idade avançada, nível de ECA2 tecidual e a gravidade de infecção pelo SARS-CoV-2 é a de que pessoas mais jovens, com maior expressão de ECA2, sejam as mais predispostas a terem a infecção, ao passo que indivíduos idosos, com menor expressão de ECA2, possam apresentar quadros mais graves ao serem infectados, devido ao aumento dos efeitos mediados pela angiotensina 2 (Ang II). Pesquisadores respaldam esta hipótese pelo fato de que são observados a redução

da expressão de ECA2 tecidual, maior ativação de vias de sinalização pró-inflamatórias decorrentes da hiperatividade da via ECA/Ang II, com o envelhecimento. Aliados a esta hipótese evidências amplas do papel protetor conferido pela ECA2 contra a insuficiência pulmonar e a existência de relação causal entre a via da ECA/Ang II e SARS, estabelecida em modelos animais (TAVARES et al., 2020; REGIS et al., 2020).

A pandemia COVID-19 permitiu a união da comunidade científica internacional e concomitante estudo participativo na busca de respostas em termos de terapêutica e vacinas para controlar o novo coronavírus (SARS-CoV-2). Infelizmente, vidas foram ceifadas e a pandemia devastou economias em todo o mundo (CASTRO, 2021 AMAZONAS & FIGUEIREDO, 2021; LIU et al., 2021). Os programas de vacinação continuam sendo uma importante abordagem de equidade para a segurança da população (FABREAU et al., 2022) uma vez que o surgimento e a rápida disseminação de várias variantes do SARS-CoV-2 e a perspectivas de surgimento de novos vírus podem se tornar reais (FABREAU et al., 2022; DAMLE, DAMLE, BHARATH, 2022; SANDERS et al., 2020; LIU et al., 2020). A pandemia nos mostrou que não é possível continuarmos agredindo irresponsavelmente o meio ambiente (CASTRO, 2021 AMAZONAS & FIGUEIREDO, 2021; LIU et al., 2021).

Pesquisas clínicas também sugerem que as respostas inflamatórias estão desempenhando cada vez mais um papel crítico na progressão do COVID-19 (DAMLE, DAMLE, BHARATH, 2022; SANDERS et al., 2022). As observações clínicas relataram alguns marcadores inflamatórios, que certamente auxiliam no rastreamento e mensuração da gravidade e letalidade da doença. Marcadores inflamatórios como a procalcitonina (PCT), ferritina sérica, velocidade de hemossedimentação (VHS), proteína C reativa (PCR) e interleucina-6 (IL-6) têm sido relatados como, associados aos altos riscos de aumento letalidade e infectividade do COVID-19 (DAMLE, DAMLE, BHARATH, 2022). Portanto, é imperativo a busca por tratamentos alternativos, com alta capacidade anti-inflamatória e antioxidante, que agenciem o fortalecimento do sistema imunológico e, conseqüentemente, possibilitem as reduções de infecções virais.

O uso de compostos de ocorrência natural e a busca por moléculas bioativas têm grande importância no acréscimo de novos produtos farmacêuticos (AMAZONAS & FIGUEIREDO, 2021; NUNES et al, 2015 AGRA; et al, 2008). Muitas revisões científicas mostram que resultados positivos são obtidos com o uso de medicamentos fitoterápicos quando usados sozinhos ou combinados com medicamentos padrão para o tratamento de pacientes infectados com COVID-19 (MATHAI et al., 2022). Luo e colaboradores (2020) relataram que certos medicamentos fitoterápicos (*Ephedrae sp.*, *Gypsum fibrosum*, *Glycyrrhizae sp.*, *Asteris sp.*, *Ginseng sp.*, *Codonopsis sp.*, *Atractylodis sp.*, entre outras) e medicamentos patenteados chineses podem melhorar substancialmente os sintomas leves a graves, além de reduzir a mortalidade. Esses medicamentos revelaram efeitos antivirais, antioxidantes, anti-inflamatórios e aumento da imunidade, tornando-os uma excelente opção de tratamento para o COVID-19 (MATHAI et al., 2022; LUO et al., 2020).

Em 2020, Benarba e Pandiella sugeriram que os produtos naturais possam ser usados isoladamente ou em combinação como medicamentos alternativos para tratar/prevenir a infecção por COVID-19. Eles descreveram que a aplicação de produtos bioativos naturalmente disponíveis como extratos de ervas e seus componentes isolados podem produzir ações anti-COVID inibindo diretamente a replicação ou entrada do vírus. (BENARBA & PANDIELLA, 2020). Eles (BENARBA & PANDIELLA, 2020) demonstraram que alguns componentes inibem o receptor ACE-2 ou a serina protease TMPRSS2, ambos necessários para que o SARS-CoV-2 infecte células humanas. A literatura cita que extratos de produtos naturais podem inibir certas proteínas, como proteases semelhantes papaína e semelhantes à quimotripsina envolvidas no ciclo de vida do vírus SARS-CoV-2 (MATHAI et al., 2022; BENARBA & PANDIELLA, 2020).

Damle, Damle e BR (2022) realizaram ensaios clínicos contra SARS-CoV-2 utilizando a curcumina e o extrato de ashwagandha. Este estudo verificou aumento da imunidade contra SARS-CoV-2. Eles avaliaram também, a atividade anti-SARS-CoV-2 dos extratos etanólicos de *Zanthoxylum piperitum*(E1), *Withania somnifera* (E2), *Calophyllum inophyllum* (E3), *Andrographis paniculata* (E4) e *Centella asiatica* (E5). Eles observaram, *in vitro*, que os extratos E4, E5 e E2 foram promissores (LATHA et al., 2022). Eles misturaram os extratos E4, E5 e E2 em igual proporção resultando na formulação ATRICOV 4. Esta formulação foi avaliada quanto à toxicidade aguda e subcrônica COVID-19 e considerada segura a 2000 mg/kg de peso corporal (LATHA et al., 2022). Em seguida eles realizaram ensaios clínicos de fase 1 (24 voluntários saudáveis) e fase 2 (100 pacientes com COVID-19) para avaliar a segurança e o potencial do ATRICOV 452 para melhorar o nível de marcadores inflamatórios específicos de COVID-19. O ATRICOV 452 foi considerado seguro nas fases 1 e 2. No estudo de fase 2, o ATRICOV 452 foi eficaz na dose de 1 mg, três vezes ao dia (DAMLE, DAMLE, BHARATH, 2022).

A avaliação da ação antioxidante pode ser primordial para dar uma direção mais eficiente nos estudos experimentais de uma planta medicinal (NUNES et al, 2015). Os principais constituintes da dieta alimentar com alta capacidade anti-inflamatória e antioxidante são as vitaminas C e E, os carotenoides e polifenóis (IDDIR et al., 2020; SILVA et al., 2020). As substâncias fenólicas possuem uma grande diversidade estrutural com aproximadamente 10.000 compostos, sendo que alguns são solúveis apenas em solventes orgânicos, em água e há ainda aqueles que são grandes polímeros insolúveis (KHODDAMI et al., 2013). As plantas usam esses compostos para biossíntese de lignina e pigmento, proteção contra organismos invasores (herbívoros, nematoides, insetos fitófagos, patógenos fúngicos e bacterianos), crescimento, reprodução e para muitas outras funções importantes (BASTOLA et al., 2017). Eles são constituintes da dieta humana devido à sua ampla gama de propriedades fisiológicas, como efeitos antialérgicos, antiarterogênicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos, antioxidantes, antitrombóticos, cardioprotetores, vasodilatadores e antivirais (BASTOLA et al., 2017).

As substâncias fenólicas são classificadas em fenóis simples (ácidos fenólicos) ou em polifenóis (flavonoides, taninos), conforme o número de unidades de fenol na estrutura. Os ácidos fenólicos consistem em dois subgrupos, os ácidos hidroxibenzóicos e os ácidos hidroxicinâmicos (SAVI, 2015). A maior parte das substâncias fenólicas não é encontrada no estado livre na natureza, mas na forma de ésteres ou de heterosídeos sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares, porém não são muito reativos quimicamente. Estes compostos, possuem em geral características ácidas, e podem ser isolados através da sua solubilidade em soluções fracamente básicas (CARVALHO et al., 2004).

A grande quantidade de flavonóides em algumas frações pode explicar a alta concentração de fenólicos totais encontrado nas frações hexano e acetato de etila de *V. amygdalina* e *C. pachystachya* e na fração acetato de etila de *Eugenia florida*. Os flavonóides e os demais compostos fenólicos presentes nos vegetais são boa fonte de eliminações de radicais livres e podem ter contribuído para ação antioxidante observada em *V. amygdalina*, *C. pachystachya* e *E. florida*. A atividade antioxidante de um flavonóide depende fortemente de sua estrutura química (AMIC et al., 2007). Esta atividade é influenciada pelo número e posição de grupos hidroxilas nos anéis B e A, e pela extensão da conjugação entre os anéis B e C.

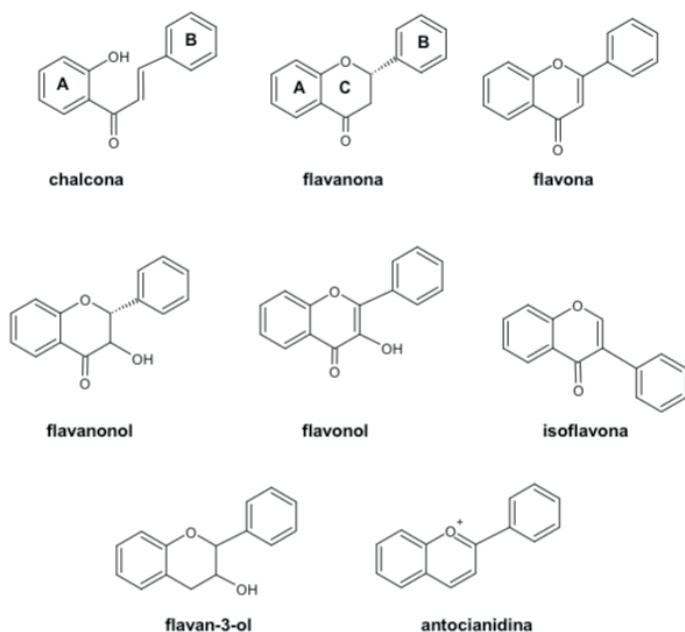
Os flavonóides são compostos polifenólicos de ocorrência natural caracterizados por modificações no anel central que levam à diferenciação em subclasses distintas (BHATI et al., 2021; COUTINHO et al., 2009), tais como: chalconas, flavanonas, flavonóis, flavonas, flavonóis, isoflavonas, flavan-3-ols e antocianidinas (Figura 1). Eles são metabólitos secundários biossintetizados a partir da fenilalanina do ácido acético, (HUBER & RODRIGUEZ-AMAYA, 2008) sendo o ácido chiquímico o precursor da fenilalanina (KARAM et al., 2013).

A distribuição dos flavonóides no reino vegetal depende da família, gênero e da espécie, por exemplo, flavonóides encontrados nas folhas podem apresentar diferenças estruturais daqueles presentes nas flores, galhos, raízes e frutos. Assim, em uma mesma planta os flavonóides podem ser encontrados em diferentes quantidades dependendo dos órgãos vegetais (MACHADO et al., 2008). Fatores naturais como raios ultravioleta, a radiação solar, estações de chuva ou seca, alguns nutrientes e estações do ano também influenciam no metabolismo e na produção dos mais diversificados flavonoides (MACHADO, 2005). O mesmo composto pode ainda apresentar diferentes concentrações dependendo do órgão vegetal em que se encontra, influenciadas por diversos fatores naturais como radiação solar, raios UV, estações do ano e ainda outros fatores como poluentes que podem alterar o metabolismo da planta (NAGULA et al., 2019). Na natureza, podemos categorizar compostos polifenólicos em classes diferentes de compostos naturais com base no número dos anéis fenólicos presentes nele (TUNASAMY, SURYADEVARA, ATHIMOOLAM, 2019; PATEL et al., 2018; MARÇO et al., 2008). Estudos epidemiológicos

mostram que uma dieta rica nestes compostos está associada ao baixo risco de doenças cardiovasculares e algumas formas de câncer, além de diversos relatos como tendo atividade antibacteriano, anti-inflamatória, antialérgica, antitrombótica, vasodilatadora e antiviral, (MARÇO et al., 2008). Diversos fatores (quantidade e tipo de solvente, razão soluto/ solvente, agitação entre outros) podem influenciar no teor de compostos fenólicos (TCF) e atividade antioxidante (AA) dos extratos vegetais. Quanto ao parâmetro de temperatura, seu aumento melhora a solubilidade de compostos fenólicos no solvente e, por consequência, proporciona maior eficiência na extração. No entanto, deve-se estabelecer a melhor temperatura de extração, conhecendo as características da matriz utilizada, pois tempo e temperaturas elevadas podem favorecer a degradação e alteração da qualidade de alguns componentes de forma irreversível (SHARMA et al., 2015). Tabaraki, Heidarizadi e Benvidi (2012) relataram que extrações de matrizes vegetais realizadas em temperaturas entre 52°C a 67°C podem aumentar a porosidade no tecido da parede celular. Assim a permeabilidade do solvente é facilitada, permitindo hidrólise dos compostos fenólicos ligados a proteínas ou polissacarídeos, liberando o conteúdo intracelular de forma eficiente e consequentemente melhorando o processo de extração destes compostos (RODRIGUES et al., 2015; DAMIANI et al., 2014; NISHIYAMA et al., 2010; CACACE; MAZZA, 2002). Já Turkmen, Sari & Velioglu (2006) comparou os solventes utilizados nas extrações (aquoso, hidroalcoólico e alcoólico), sendo que melhores resultados foram obtidos utilizando solventes hidroalcoólicos. Eles verificaram que as extrações hidroalcólicas foram mais seletivas por grupos de característica mais polar, favorecendo a extração de compostos como quercetina e canferol (KARABEGOVI et al., 2014).

Os anéis aromáticos dos flavonoides são formados a partir dessa via biossintética mista, onde através de reações de condensação, auxiliadas por enzimas, três moléculas de malonil coenzima A (CoA). As unidades vindas da via do acetato dão origem ao anel A, enquanto a unidade vinda da via do chiquimato dá origem ao anel B e aos três átomos de carbono que se conectam aos A e B formam o anel C. Portanto, composição básica dos flavonóides é constituída por um núcleo principal, com 15 átomos de carbono (C15) organizado em três anéis (C6-C3-C6), sendo dois anéis fenólicos substituídos (DORNAS et al., 2007). A ciclização que resulta no desenvolvimento do anel A produz a chalcona que se equilibra com a flavonona correspondente (Figura 1).

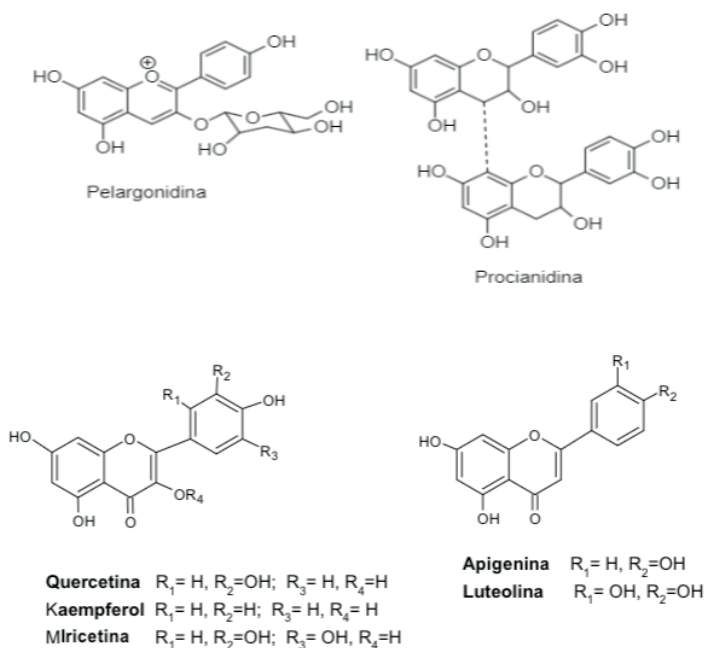
Figura 1 Esqueleto básico de flavonóides



Fonte: Adaptado de COUTINHO et al., 2009

A quercetina (Figura 2) apresenta atividade viricida, juntamente com outros flavonóides (apigenina pelargonidina, procianidina) contra o vírus da influenza tipo 3 e vírus herpes simplex. A quercetina promoveu a redução da infectividade e a replicação intracelular do vírus Herpes Simplex tipo 1 (HSV-I), poliovírus tipo 1, vírus sincicial, a infectividade dos coronavírus humanos e bovinos, OC43 e NCDCV, em 50% a uma concentração de 60 µg/mL, respectivamente. O kaempferol (Figura 2) reduziu a replicação do vírus NCDCV em 65% a uma concentração de 10 µg/mL e em 50% em OC43 (BHATI et al., 2021; RUSSO et al., 2020).

Figura 2 Exemplos de flavonóides com atividade anti-inflamatória



Fonte: Adaptada de COUTINHO et al., 2009

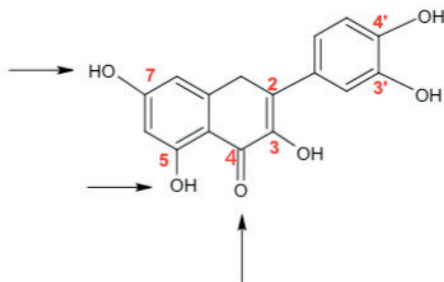
O coronavírus bovino, BCV, também foi sensível a uma mistura de teaflavinas do chá preto (teaflavina, teaflavina-3-monogalato, teaflavina-3'-monogalato e teaflavina-3,3'-digalato) com uma EC_{50} média de 34,7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em ensaios de infecciosidade na linha celular HRT-18 (BHATI et al., 2021; RUSSO et al., 2020). A quercetina 7-ramnosídeo inibiu a replicação de vírus da diarreia epidêmica porcina (PEDV) em células Vero (uma linhagem de células usadas em culturas de células. A linhagem Vero foi isolada de células epiteliais renais extraídas de um macaco verde africano) com um CI_{50} de 0,014 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e um CE_{50} (concentração de citotoxicidade 50%) de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Outros flavonoides, incluindo quercetina, apigenina, luteolina, catequina, também, mostraram atividade anti-PEDV significativa, mas com valores de CI_{50} de dez (apigenina) a oitocentas vezes (catequina) maiores que a quercetina 7-ramnosídeo indicando a importância do *O*-grupos funcionais dihidroxil em C-3' e C-4' e o ramnosídeo na posição 7 (Figura 3); (BHATI et al., 2021).

A literatura (COUTINHO et al., 2009) cita, também, a existência de outros fatores estruturais (Figura 3) importantes para atividade anti-inflamatória de flavonoides, são eles: a insaturação no anel C (posições 2-3), a carbonila em C-4 (Anel C), além do número e a posição de grupamentos hidroxilas (por exemplo: padrão catecol no anel B do flavonóide, ou seja, anel 3',4'-di-hidroxilado). Alguns pesquisadores observaram em estudo comparativo entre pares glicosídeo/ aglicona que a adição de resíduos de açúcar reduz significativamente a atividade anti-inflamatória (COUTINHO et al., 2009). Entretanto,

subclasses de flavonóides que não possuem um destes padrões em sua estrutura, como por exemplo, aglicona kaempferol (Figura 2), também se destacam por apresentar atividade sobre enzimas da cascata de inflamação (COUTINHO et al., 2009).

O gênero *Cecropia* possui cerca de 60 espécies distribuídas em toda a América do Sul com maiores ocorrências no Brasil, Peru e Argentina (LORENZI; MATOS, 2002). A espécie *Cecropia pachystachya* (torém) é bastante difundida no Sul e Sudeste do Brasil (LORENZI; MATOS, 2002) sendo amplamente utilizada na medicina popular para o tratamento de problemas respiratórios tais como asma, bronquite, tosse, além de ser utilizada no controle da hipertensão arterial e como anti-inflamatória (ARAGÃO et al., 2013). A espécie *Cecropia pachystachya* é uma árvore dióica, de 4-7 metros de altura, com tronco de 15-20 centímetros de diâmetro. Possui folhas divididas de 9-10 lobos separados até o pecíolo por espaços de 2-3 centímetros, com a face superior um tanto áspera e a inferior níveotomentosa. (LORENZI; MATOS, 2002)). Sabe-se que *Cecropia pachystachya* apresenta elevados teores de substâncias fenólicas e diversas propriedades farmacológicas tais como: anti-alergênicas, anti-arteriogênicas, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antitrombóticas, antioxidantes, antitumoral e efeitos cardioprotetores e vasodilatador (COSTA & HOSCHIED, 2018; CONSOLINI, MIGLIORI, 2005). As folhas e cascas desta planta são popularmente utilizadas como antitussivo, expectório, antiastomático, diurético e hipoglicêmico, para aliviar inflamação, cicatrização de feridas, hipertensão, doenças cardíacas, e como antipirética para o tratamento da febre na malária também (RAMOS ALMEIDA et al., 2006). As principais classes de compostos identificados nesta espécie são fenólicas (catequinas, flavonóides e taninos) esteroides e terpenos. Na Argentina, o extrato aquoso é preparado fervendo 40 g de folhas secas em 1L de água em uma dosagem de três xícaras (200 mL cada) por dia. É popularmente conhecida como umbaúba-do-brejo, árvore-da-preguiça, embaúba, torém ou ambaíba. Alguns estudos farmacológicos têm evidenciado que essa espécie apresenta efeitos sobre o sistema cardiovascular, dentre eles hipotensor e cardiotônico (CONSOLINI, MIGLIORI, 2005).

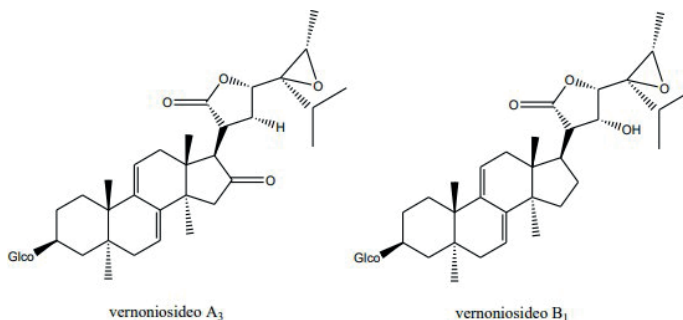
Figura 3 Requisitos estruturais observados para atividade anti-inflamatória de flavonóide



Fonte: Adaptado COUTINHO et al., 2009

Gymnanthemum amígdalinum (Delile) Sch.Bip. ex Walp. (Asteraceae), anteriormente conhecido como *Vernonia amygdalina* Delile é um pequeno arbusto comumente chamado de bitter leaf devido ao seu gosto peculiar. No Brasil, essa espécie é referida como alumã, boldo ou alcachofra (DE ALMEIDA et al., 2012; AGRA et al., 2008). A planta pode crescer até 3 m de altura em regiões tropicais e tem a fama de ter vários benefícios para a saúde (FAROMBI, OWOEYE, 2011). Na medicina popular, os órgãos aéreos de *V. amygdalina* são usados principalmente como antipirético, laxante, antimalárico e antelmínico (IGILE et al., 1994; VIGNERON et al., 2005; AGRA et al., 2008). Estudos de diferentes extratos mostraram antioxidante (IGILE et al., 1994; FAROMBI, OWOEYE, 2011). Essa espécie nativa do Brasil pertence à família Alismataceae. Triterpenos, esteroides e lignanas são os principais constituintes químicos do gênero *Vernonia*, sendo que os flavonóides e as lactonas sesquiterpênicas são compostos mais frequentes (CARVALHO, COSTA, ABREU, 1999). O vernoniosideo A3 (*Vernonia amygdalina*) (JISAKA et al., 1993), e o vernoniosideo B1 (Figura 4) são exemplos de compostos ativos com propriedades anti-helmínticas isolados (HUFFMAN et al., 1993).

Figura 4 Estruturas dos compostos vernoniosideo A3, vernoniosideo B1 isolados em *Vernonia amygdalina*.



Fonte: JISAKA et al., 1993; HUFFMAN et al., 1993

Eugenia florida é uma espécie endêmica comumente encontrada em quase todo território brasileiro, principalmente nas regiões sul e sudeste, na maioria das formações vegetais arbóreas, sendo comum na Mata Atlântica (LORENZI, 2000; CNCFLORA, 2016). *Eugenia florida* é uma árvore, com 5-9 m de altura, com tronco castanho acinzentado e pouco densa, com folhagem avermelhada após brotação. As folhas são simples, opostas de textura cartácea, glabras em ambas as faces, com base cuneada e ápice acuminado. As inflorescências apresentam-se em racemos auxiliares de 1-2 cm de comprimento, com pilosidade hirta e flores perfumadas de cor branca. Esta espécie floresce em mais de uma época do ano, predominado o período compreendido entre os meses de agosto e setembro. O fruto é constituído por uma baga globosa, glabra, brilhante, com cálice persistente, de

cor vermelha ou preta quando madura, com polpa carnosa adocicada, contendo uma única semente. A frutificação ocorre nos meses de outubro e novembro com amadurecimento principalmente em dezembro e janeiro (LORENZI, 2000; MUNIZ, 2008). Neste gênero já foram isolados flavonóides, taninos e terpenos. Os compostos terpênicos são a outra classe mais frequente observada no gênero *Eugenia*, sendo representados principalmente por alguns esteroides, triterpenos pentacíclicos com esqueleto oleanano e lupano e (BARRETO et al., 2013) e compostos fenólicos (BASTOS et al., 2019). Os compostos fenólicos das espécies de *Eugenia* foram capazes de modular importantes biomarcadores de diabetes (BASTOS et al., 2019). Bastos et al., (2019) avaliaram a atividade antioxidante dos extratos pelo método DPPH. O extrato da hidroalcóolico da folha apresentou potencial atividade sequestradora do radical DPPH muito próximo ao padrão da catequina (BASTOS et al., 2019). Na avaliação dos parâmetros bioquímicos de ratos diabéticos tratados com o extrato foram observadas reduções significativas nos níveis séricos de glicose, frutossamina e triglicerídeos (38,0%, 31,0% e 19,7%, respectivamente), bem como aumento do colesterol HDL (10,3%). A administração do extrato não teve efeito significativo na função renal, na atividade de AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) se nos demais parâmetros do perfil lipídico (BASTOS et al., 2019). Além disso, houve melhora dos danos hepáticos e renais nos animais diabéticos tratados, por meio da redução dos valores do malondialdeído (MDA, $C_3H_4O_2$; produto da peroxidação lipídica) de 17,3% no fígado e 13,8% nos rins (BASTOS et al., 2019).

A identificação e quantificação de substâncias fenólicas (tornou-se uma tarefa complexa, com elevado grau de dificuldade metodológica e vários métodos espectroscópicos e cromatográficos são usados para determinar compostos fenólicos totais em amostras de plantas (BASTOLA et al., 2017). As técnicas cromatográficas incluem cromatografia gasosa (CG), cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa (CG-EM), cromatografia líquida de alta pressão (CLAE) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa (CLAE-EM) (BASTOLA et al., 2017). No entanto, a determinação de fenólicos por métodos cromatográficos é cara, requer tempo considerável para preparação de amostras e técnicos altamente treinados. Os métodos espectrofotométricos, por serem convenientes, simples e reprodutivos, são os mais utilizados para a determinação de fenólicos totais em espécies vegetais (BASTOLA et al., 2017). Estes métodos fundamentam-se na medição da absorbância, ou capacidade de absorção de luz radiante, por uma solução, efetuando curvas padrão de concentrações conhecidas, para comparação. Na literatura, há um número considerável de testes químicos e bioquímicos para avaliação de atividades antioxidantes *in vitro* de compostos, frações, extratos orgânicos ou moléculas puras. Esses testes são ferramentas importantes para o rastreio de compostos bioativos sintéticos e naturais.

Devido à complexidade da composição desses nas plantas, a separação e o estudo individual de cada substância antioxidante são praticamente inviáveis e custosos.

Além disso, estes podem auxiliar na escolha das espécies de planta, determinar o grau de maturação, identificar condições ambientais ideais para isolamento de substâncias antioxidantes, detectar a presença de substâncias antioxidantes em alimentos como frutas, legumes e bebidas para estudos químicos e farmacológicos posteriores. Os testes antioxidantes em alimentos, plantas e sistemas biológicos podem ser classificados em dois grupos: os ensaios usados para avaliar peroxidação lipídica (um lipídio ou substrato lipoproteico, sob condições padrão, é usado e o grau de inibição da oxidação é medido) e os ensaios usados para medir a habilidade de sequestro de radicais livres. A necessidade em se ter testes mais rápidos e eficientes para identificação e quantificação de determinadas classes de compostos fenólicos promoveu a formação de métodos para avaliar a atividade de antioxidantes naturais. Contudo, não há um método simples e universal para determinar quantitativamente a atividade antioxidante. Os métodos mais utilizados na avaliação do potencial antioxidante e redutor, principalmente de fontes naturais, são os métodos DPPH, ORAC e ABTS (ALVES et al., 2010).

Sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) é um dos métodos considerados, do ponto de vista metodológico, dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da atividade antioxidante de flavonóides e terpenóides proveniente de diferentes matrizes (ALVES et al., 2010; BRAND-WILLIAMS et al., 1995). A molécula de DPPH corresponde a um radical livre (deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula) e estável. A molécula apresenta coloração violeta e, absorve no espectro eletromagnético na região do Ultravioleta/ visível (UV/ vis) em etanol $\lambda_{\text{máx}}$ em aproximadamente 515 nm. Este método baseia-se na capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o à hidrazina (ALVES et al., 2010). A hidrazina é obtida com mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido. A interação do antioxidante com o DPPH depende de suas conformações estruturais e do número de grupos hidroxílicos disponíveis (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). A melhor interpretação dos resultados do método DPPH é através da CE50 (concentração efetiva necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH da solução) ou CI50 (concentração inibitória para inibir 50% de uma determinada concentração de radical). O valor de CI50 é definido como a capacidade do agente antioxidante de sequestrar 50% dos radicais livres DPPH presentes na solução, portanto quanto menor o valor de CI50 maior a atividade antioxidante do extrato (ARBOS et al., 2013; ATMANI et al., 2009). Contudo, o mecanismo parece ser muito mais complexo, necessitando de um estudo posterior mais aprofundo, para grande parte das moléculas testadas.

O método ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) é simples e sensível, mede a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais peróxil que são gerados por uma fonte radicalar, AZPH [dicloreto de 2,2'-azobis (2-amidinopropano)] a 37°C, com oxigênio atmosférico, que reage com o indicador fluorescente para formar um produto não fluorescente. Este pode ser medido por espectrofotometria com máxima emissão de

fluorescência (SALVADOR, et al., 2006). De modo geral, este ensaio avalia a atividade antioxidante através da inibição da oxidação, induzida pelo radical peroxil, por transferência de átomos de hidrogênio. A atividade antioxidante de uma dada substância é determinada através da diferença entre a área da amostra subtraída pela área do branco, medida pelo decaimento da fluorescência com a adição da substância antioxidante no decorrer do tempo (OU et al., 2001).

A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2' azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)] é bastante utilizado. O método ABTS e o DPPH apresentam boa estabilidade em certas condições de análise. Contudo, existem diferenças importantes quanto a forma de manuseio e estrutura química destes dois reagentes. O DPPH apresenta-se como um radical livre e não há a necessidade de preparo. Enquanto, o radical ABTS deve ser gerado por reações enzimáticas ou químicas. Outra diferença é que o ABTS pode ser solubilizado em meios orgânicos e aquosos nos quais a atividade antioxidante pode ser determinada, já o DPPH somente pode ser solubilizado em meios orgânicos, especificamente alcoólicos (ARNAO, 2000). O método do ABTS foi relatado primeiramente por Miller e Rice-Evans et al. (1993) e mais tarde adaptado por RE, et al. (1999). O método consiste no monitoramento do decaimento do cátion-radical $ABTS^+$, produzido pela oxidação do ABTS, gerado após adição de uma amostra contendo antioxidantes. Na ausência de fenóis, o $ABTS^+$ é estável. Ele reage energeticamente com um doador de átomo de hidrogênio, como fenóis, sendo convertido em uma forma não colorimétrica do ABTS. A extensão da perda de cor e quantificação da porcentagem de inibição do $ABTS^+$ é determinada em função do Trolox um padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante. O método é aplicável ao estudo de antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis, compostos puros e extratos vegetais (RE et al., 1999). A vantagem do método está na sua relativa simplicidade o que permite sua aplicação em rotinas de laboratório. Além disso, o método $ABTS^+$ pode ser avaliado em diferentes faixas de pH, o que torna essa metodologia importante para o conhecimento do efeito do pH em mecanismos oxidantes (STRATIL et al., 2006).

2- OBJETIVOS

2.1 Geral

Diante do exposto, este trabalho tem como principal objetivo avaliar, preliminarmente, a atividade antioxidante e a concentração inibitória efetiva necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH da solução (CI_{50}) determinar a concentração de substâncias fenólicas e flavonoides foliares das frações oriundas dos extratos brutos etanólicos individuais de folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina* (Delile) Sch.Bip. ex Walp, *Cecropia pachystachya* Trécul e *Eugenia florida* DC., ricos em compostos fenólicos e que não fazem parte da lista da RENISUS (Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS), a fim de que estes, em breve, possam auxiliar como práticas integrativas e complementares em saúde, na batalha de doenças virais como o COVID 19,

2.2 Específico

- Obter os extratos brutos individuais de folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* Trécul e *Eugenia florida* DC;
- Fracionar os extratos brutos etanólicos individuais de folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* Trécul e *Eugenia florida* DC através de partição líquido – líquido;
- Determinar a teor de flavonóides (método Sousa et al., 2015) e fenólicos totais (método adaptado de Hagerman & Butler e Waterman & Mole);
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos brutos e algumas frações frente ao radical livre de DPPH e determinar concentração efetiva necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH da solução (CI_{50}).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia de obtenção dos extratos brutos e particionados de folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina* (Delile) Sch.Bip. ex Walp, *Cecropia pachystachya* Trécul e *Eugenia florida* DC., assim como a avaliação da atividade antioxidante dos extratos partições frente ao radical livre de DPPH, e a determinação do teor de flavonóides e fenólicos totais foram realizados no período julho de 2021 a setembro de 2022 no Laboratório de Química da Biodiversidade (LQB/PAF) – Fiocruz Mata Atlântica. A concepção do projeto, assim como a avaliação dos resultados foram realizados no LAQB/ UERJ-ZO. Os procedimentos experimentais realizados estão descritos a seguir.

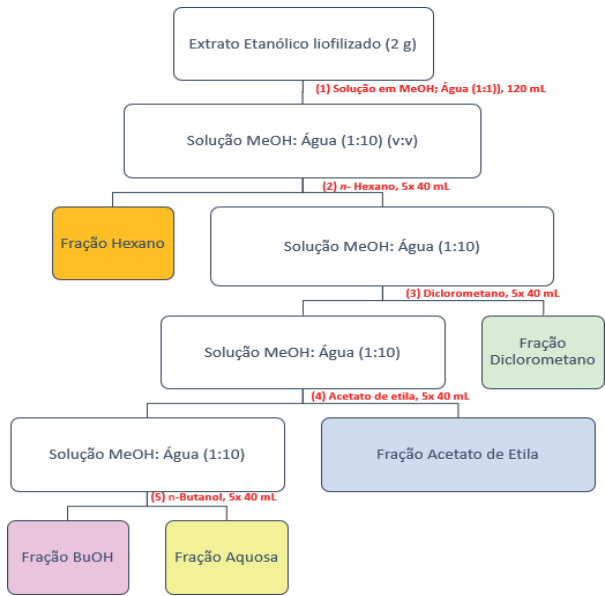
3.1 Coleta e preparo dos extratos brutos e frações

As partes aéreas de *Vernonia amygdalina* (Delile) Sch.Bip. ex Walp, *Cecropia pachystachya* Trécul e *Eugenia florida* DC. foram coletados individualmente na área de plantio do Laboratório de Química da Biodiversidade (LQB/ PAF) – Farmanguinhos- Fiocruz (Curicica- Jacarepaguá), e submetido ao processo de secagem em estufa com circulação forçada de ar a 40°C (Marca: Solob; Modelo: SL/1021490 -série 14.113), até atingir o peso constante. Após a desidratação, o material seco foi triturado em moinho de facas (Moinho MA680; Marca Marconi; Malha granulométrica: 0,85 milímetros; série: 992435) e acondicionado ao abrigo de luz e umidade. Uma amostra de aproximadamente 300 g de folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina* (Delile) Sch.Bip. ex Walp, *Cecropia pachystachya* Trécul e *Eugenia florida* DC. foram colocadas, individualmente em três cartucho de filtro de papel e, adaptado a três extratores soxhlet com 1 L de etanol cada (PA 95%- Alphatec). Os extratos etanólicos isolados foram concentrados em evaporador rotatório (Evaporador Rotativo MARCONI 2000), os resíduos obtidos foram liofilizados por 48 horas (Liofilizador LIPTOP K105) e, posteriormente, depositado no banco de extrato do Laboratório (Tabela 1) de Química da Biodiversidade (LQB/ PAF – Fiocruz).

3.2 Particionamento dos extratos

Uma alíquota de cada extrato bruto etanólico (2 g) de folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina* (Delile) Sch.Bip. ex Walp, *Cecropia pachystachya* Trécul e *Eugenia florida* DC. (2 g) foram submetidos a cinco extrações com 40 mL dos solventes: hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e água, sucessivamente (Tabela 1; Figura 5). Em seguida as frações foram concentradas em evaporador rotatório (Evaporador Rotativo MARCONI 2000), e as frações obtidas foram liofilizadas por 48 horas (Liofilizador LIPTOP K105). A água utilizada foi obtida pelo Sistema Milli-Q Plus – Millipore®/Millipore Corporation (EUA), com filtros de membrana Millipore 0,45 µm. Já os solventes utilizados nas obtenções dos extratos e frações eram de grau cromatográfico da marca Alphatec 95%.

Figura 5 Fluxograma do fracionamento de uma alíquota (2g) dos extratos brutos etanólicos das folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida*.



Fonte: O próprio autor

Tabela 1 Rendimentos dos extratos brutos hidroalcóolicos (300 g) obtidos das folhas secas e moídas das espécies *Cecropia pachystachya*, *Vernonia amygdalina* e *Eugenia florida*.

Rendimentos dos extratos brutos hidroalcóolicos (300 g) obtidos das folhas secas e moídas das espécies *Cecropia pachystachya*, *Vernonia amygdalina* e *Eugenia florida*.

| | <i>C. pachystachya</i> | | <i>V. amygdalina</i> | | <i>E. florida</i> | |
|---|------------------------|-----------------|----------------------|-----------------|-------------------|----------------------|
| | Peso do material | % de rendimento | Peso do material | % de rendimento | Peso do material | % de rendimento (mg) |
| Extrato Bruto (300gde folhas secas e moídas) | 109,1390 g | 36,38 | 109,567 g | 36,52 | 72,975 g | 28,32 |
| Fração Hexano | 38,394 mg | 1,91 | 52,512 mg | 2,62 | 13,044 mg | 0,65 |
| Fração DCM | 14,850 mg | 0,74 | 36,725 mg | 0,84 | 17,724 mg | 0,89 |
| Fração AcOEt | 8,890 mg | 0,44 | 14,170 mg | 0,71 | 15,351 mg | 0,77 |
| Fração BuOH | 21,642 mg | 1,08 | 18,752 mg | 0,94 | 2,000 mg | 0,18 |
| Fração aquosa* | 83,776 mg** | 29,25 | 122,187 mg** | 40,72 | 48,119 mg** | 16.03 |

Legenda: DCM= Diclorometono; AcOEt= Acetato de etila; BuOH= Butanol, * fração aquosa a ser liofilizada; ** resultado esperado.

Fonte: O autor

3.3 Determinação de flavonóides totais

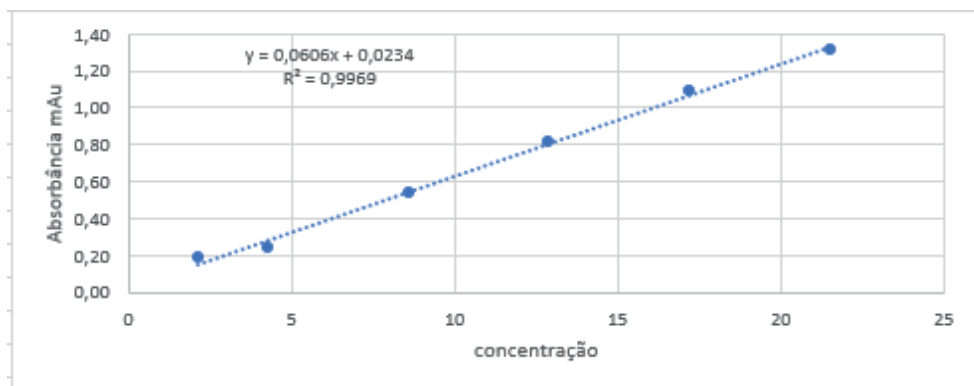
Para a determinação quantitativa de flavonóides totais presentes nos extratos etanólicos e de folhas secas e moídas de *Cecropia pachystachya*, *Vernonia amygdalina* e *Eugenia florida* foi utilizado o método do cloreto de alumínio (SOUSA et al, 2015). Este método baseia-se na complexação do cátion alumínio (Al^{+3}), da solução $AlCl_3$, com as moléculas de flavonóides presentes na amostra, formando um complexo estável de coloração amarela, cuja intensidade é proporcional à concentração de flavonóides na amostra. Dessa maneira foi possível determinar a quantidade de flavonóides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos, que invariavelmente acompanham os flavonóides nos tecidos vegetais. O complexo gerado absorve em comprimento de onda bem maior do que o flavonóide sem a presença do agente complexante (cloreto de alumínio) (desvio batocrômico). Os ácidos fenólicos, mesmo os que formam complexos com $AlCl_3$, absorvem em comprimentos de onda muito inferiores, evitando-se dessa maneira interferências nas medidas de absorbância (SOUSA et al, 2015). A leitura foi feita em Espectrofotômetro UV/ vis (Espectrofotômetro Shimadzu modelo: UV/PC 1601), em 455 nm, utilizando-se 0,5 g cloreto de alumínio dissolvido em metanol. Em seguida, transferiu-se esta solução para um balão volumétrico de 10,0 mL e avolumou-se com metanol. A curva de calibração (Figura 6) foi obtida a partir de uma solução mãe com 2,0 mg de quercetina. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL e avolumada com metanol. Alíquotas de 100, 200, 400, 600, 800 e 1000 μ L foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL. Adicionou-se 1,0 mL da solução de cloreto de alumínio e avolumou-se com metanol (Tabela 2). A leitura foi realizada em triplicata em 455 nm. Transferiu-se 20,0 mg de extrato para um balão volumétrico de 10,0 mL e completou-se com metanol. Uma alíquota de 5,00 mL foi transferida para um balão volumétrico de 20,0 mL, adicionou-se 1,0 mL da solução de $AlCl_3$ e avolumou-se com metanol. A leitura foi realizada em triplicata em 455 nm (NÓBREGA, 2012).

Tabela 2 Dados obtidos para a construção da curva de calibração Quercetina (455 nm).

| AlCl ₃ mL/ solução mãe | Quercetina Concentração (μ g /mL) | Absorbâncias | | | | DESVIO PADRÃO | CV% |
|---|--|--------------|-------|-------|-------|------------------|------|
| | | Rep 1 | Rep 2 | Rep 3 | MÉDIA | | |
| 0,1 | 2,15 | 0,178 | 0,181 | 0,190 | 0,18 | 0,01 | 3,41 |
| 0,2 | 4,3 | 0,254 | 0,244 | 0,237 | 0,25 | 0,01 | 3,49 |
| 0,4 | 8,6 | 0,556 | 0,534 | 0,531 | 0,54 | 0,01 | 2,53 |
| 0,6 | 12,9 | 0,801 | 0,809 | 0,822 | 0,81 | 0,01 | 1,31 |
| 0,8 | 17,2 | 1,084 | 1,090 | 1,089 | 1,09 | 0,00 | 0,30 |
| 1 | 21,5 | 1,304 | 1,325 | 1,301 | 1,31 | 0,01 | 1,00 |

Fonte: O próprio autor

Figura 6 Curva de calibração da Quercetina

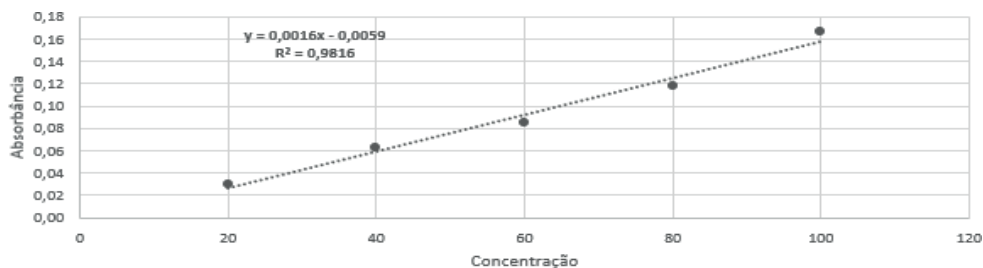


Fonte: O próprio autor

3.4 Determinação de fenólicos totais

Para a determinação quantitativa de substâncias fenólicas totais presentes nos extratos etanólicos de folhas secas e moídas de *Cecropia pachystachya*, *Vernonia amygdalina* e *Eugenia florida*, foi utilizado o método adaptado de Hagerman & Butler (1978) e Waterman & Mole (1987). Nesse método a reação de complexação do cloreto férrico com fenóis produz uma coloração que pode ser medida em 510 nm no Espectrofotômetro UV/ vis. A solução de cloreto férrico foi preparada com 1,62 g de FeCl_3 . Em seguida transferiu-se a amostra para um balão volumétrico de 1000 mL e avolumou-se com uma solução de HCl 0,001 M. Outra solução foi preparada com 1,0 g de dodecil sulfato de sódio. Em seguida transferiu-se esta solução para um balão volumétrico de 100,0 mL, onde adicionou-se 5,0 mL de triatenolamina e, em seguida, completou-se água destilada. A curva de calibração (Figura 7) foi preparada a partir de uma solução mãe com 10,0 mg de ácido tânico, transferido para um balão volumétrico de 10,0 mL, em seguida, completou-se água destilada. Aliquotas de 1,0 mL foram transferidas para um balão volumétrico de 5 mL, juntamente com 1,0 mL da solução de cloreto férrico e 2,0 mL da solução de dodecil sulfato de sódio, em seguida, completou-se água destilada. Foram transferidas alíquotas de 200, 400, 600, 800 e 1000 μL para balões volumétricos de 10,0 mL avolumados com água destilada. Transferiu-se 10,0 mg de extrato para um balão volumétrico de 100 mL, solubilizou-se com 10 mL de água destilada. Logo a seguir, adicionou-se 1,0 mL da solução de cloreto férrico e 2,0 mL da solução de dodecil sulfato de sódio e, em seguida, completou-se água destilada. A leitura foi realizada em triplicata em 510 nm (NÓBREGA, 2012).

Figura 7 Curva de calibração do Ácido tânico



Fonte: O próprio autor

3.5 Ensaio de atividade antioxidante

A atividade antioxidante de extratos brutos etanólicos, foram avaliados por método espectrofotométrico baseado no sequestro do radical livre 2,2-difenil- 1 -picril-hidrazil (DPPH), por antioxidante produzindo um decréscimo da absorbância (BRAND-WILLIANS et al.,1995). A solução de DPPH (Sigma Aldrich) 60 μM foi preparada diluindo 4,8 mg de DPPH em um balão volumétrico de 100 mL de metanol (Alphatec, 95,0%). Posteriormente, soluções com as concentrações (0 a 60 μM), foram obtidas conforme Tabela 4. Em ambiente escuro, foi transferida a alíquota de cada solução de DPPH para a cubeta do espectrofotômetro (Espectrofotômetro Shimadzu modelo: UV/ vis), onde as leituras foram realizadas a 515 nm. Foi utilizado metanol como branco para enquanto o branco de apenas o metanol. (RUFINO et al., 2007). As amostras foram mantidas em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz. Em seguida transferiu-se uma alíquota de, aproximadamente, 4 mL de cada solução de DPPH (10 μM , 20 μM , 30 μM , 40 μM , 50 μM e 60 μM) para cubetas de vidro e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 515 nm (Espectrofotômetro Shimadzu modelo: UV/PC 1601; Tabela 5). A partir das leituras obtidas, foi construído um gráfico onde as concentrações de DPPH (μM) foram inseridas no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y. A equação da reta (Figura 8) foi obtida a partir da regressão linear dos pontos obtidos (NÓBREGA, 2012).

Uma alíquota do extrato bruto etanólico (10 mg) de folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida*. foram diluídos, separadamente, em 5 mL de metanol em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 0,1 mL de cada do extrato para tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH (60 μM). Posteriormente, as amostras de cada planta foram mantidas em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz, procedeu-se então à leitura em espectrofotômetro (Shimadzu modelo: UV/PC 1601). As leituras (515 nm) foram monitoradas a cada minuto, até observação estabilização da redução da absorbância (Tabela 5, Figura 8). Após as leituras, o Y da equação da reta foi substituído pelo valor correspondente à metade da absorbância inicial do controle negativo para encontrar o consumo em μM de DPPH que corresponde à metade da concentração inicial de DPPH, e em seguida, esse valor foi convertido para grama de DPPH através da equação da Figura 9.

Tabela 3 Dados obtidos para a construção da curva de calibração Ácido tânico (510 nm)

| FeCl ₃ | Ácido Tânico | Absorbâncias | | | | DESVIO PADRÃO | CV% |
|-------------------|----------------------|--------------|-------|-------|-------|---------------|-----|
| mL/ solução mãe | Concentração (µg/mL) | Rep 1 | Rep 2 | Rep 3 | MÉDIA | | |
| 0,2 | 20 | 0,037 | 0,030 | 0,024 | 0,03 | 0,01 | 21 |
| 0,4 | 40 | 0,054 | 0,061 | 0,072 | 0,06 | 0,01 | 15 |
| 0,6 | 60 | 0,093 | 0,083 | 0,079 | 0,09 | 0,01 | 8 |
| 0,8 | 80 | 0,096 | 0,116 | 0,141 | 0,12 | 0,02 | 19 |
| 1 | 100 | 0,146 | 0,176 | 0,177 | 0,17 | 0,02 | 11 |

Fonte: O próprio autor

Tabela 4 Preparo das soluções para curva do DPPH

| Solução de DPPH (mL) | Álcool metílico (mL) | Concentração final de DPPH (µM) |
|----------------------|----------------------|---------------------------------|
| 0 | 10 | 0 |
| 1,7 | 8,3 | 10 |
| 3,3 | 6,7 | 20 |
| 5,0 | 5,0 | 30 |
| 6,7 | 3,3 | 40 |
| 8,3 | 1,7 | 50 |
| 10 | 0 | 60 |

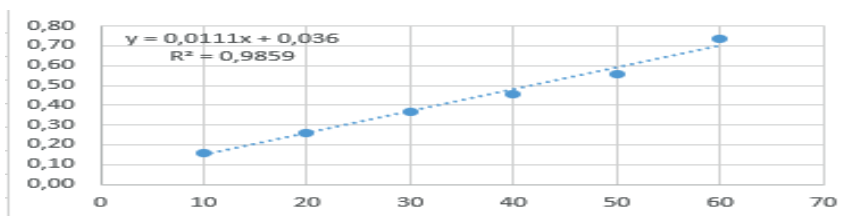
Fonte: O próprio autor

Tabela 5 Dados obtidos para a construção da curva de calibração a 515 nm do DPPH

| Concentração µM | Replica 1 | Replica 2 | Replica 3 | MÉDIA | DESVIO PADRÃO | CV % | DPPH |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|--------|---------------|--------|--------|
| 10 | 0,0480 | 0,0460 | 0,0470 | 0,0470 | 0,0010 | 2,1277 | 3,943 |
| 20 | 0,1160 | 0,1150 | 0,1160 | 0,1157 | 0,0006 | 0,4992 | 7.886 |
| 30 | 0,1660 | 0,1630 | 0,1630 | 0,1640 | 0,0017 | 1,0561 | 11.829 |
| 40 | 0,2230 | 0,2200 | 0,2230 | 0,2220 | 0,0017 | 0,7802 | 15.772 |
| 50 | 0,2930 | 0,2960 | 0,2960 | 0,2950 | 0,0017 | 0,5871 | 19.715 |
| 60 | 0,3800 | 0,3900 | 0,4050 | 0,3917 | 0,0126 | 3,2127 | 23.658 |

Legenda: CV %= percentagem do coeficiente de variação; µM = micromolar Fonte: O próprio autor

Figura 8 Curva de Calibração do DPPH



Fonte: O próprio autor

Figura 9 Equação de conversão para g DPPH

| | | |
|------------|---|-------------|
| g de DPPH= | $(\mu\text{M DPPH} / 1000.000) \cdot 394,3$ (massa molecular do DPPH) | (Equação 1) |
|------------|---|-------------|

Fonte: O próprio autor

A partir da avaliação da faixa de concentração ideal, por análise de regressão (Figura 10), calculou-se então a concentração de extrato necessária para captar 50% dos radicais livres (Figura 11). Para isso, os extratos brutos etanólicos (12 mg) de folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida* foram diluídos, separadamente, em 100 mL de metanol. Uma alíquota (2 mL) de cada extrato bruto diluído foi transferido para um tubo de ensaio e avolumou-se com 2,0 mL de metanol (solução A). Desta solução A retirou-se 2,0 mL e avolumou-se com 2,0 mL de metanol (solução B). Repetiu-se este processo de diluição seriada obtendo sucessivamente as soluções C, D e E; cada solução obtida equivalia as concentrações de: 12 mg/ 100 mL (A), 6 mg/ 100 mL (B), 3 mg/ 100 mL, (C), 1,5 mg/ 100 mL (D) e 0,75 mg/ 100 mL (E).

Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição seriada (A- E) do extrato para tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH (60 μM). Posteriormente, as amostras de cada planta foram mantidas em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz, procedeu-se então à leitura em espectrofotômetro (Espectrofotômetro Shimadzu modelo: UV/PC 1601) em comprimento de onda de 515 nm. As leituras foram monitoradas a cada minuto, até observação estabilização da redução da absorbância. Utilizou-se álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. Plotou-se as concentrações de DPPH (μM) no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y e calculou-se a equação da reta. Os valores de CI_{50} foi calculada partir de cada equação da reta obtida dos extratos e frações de *Cecropia pachystachya*, *Vernonia amygdalina* e *Eugenia florida* (Figura 11). A concentração inibitória (CI_{50}) refere-se à mínima concentração necessária de antioxidante para inibir 50% de uma determinada concentração de radical. Já a concentração de eficiência (CE_{50} ; Figura 11) é definida pela quantidade de antioxidante necessária para reduzir 50% da quantidade inicial de radical, obtida a partir da razão entre o valor de CI_{50} e da concentração inicial do radical (SAVATOVIĆ et al., 2012).

O valor de CE_{50} é obtido a partir da razão entre o valor de CI_{50} e da concentração inicial do radical. A concentração inicial de DPPH é determinada a partir da média das absorbâncias das amostras controle, no tempo zero, com o uso da equação da reta da curva de calibração de DPPH. O valor de CI_{50} é definido como a capacidade do agente antioxidante de sequestrar 50% dos radicais livres DPPH presentes na solução, portanto quanto menor o valor de CI_{50} maior a atividade antioxidante do extrato (ARBOS et al., 2013; RUFINO et al., 2007).

Figura 10 Equivalência de Controle de DPPH

| | |
|--------------|-----------|
| $Y = ax - b$ | Equação 2 |
|--------------|-----------|

Fonte: O próprio autor

Figura 11 Cálculo da atividade antioxidante CI_{50} e CE_{50}

| | |
|---|--|
| $CI_{50} = \frac{(50 - b)}{a}$ <p>Onde: $x = CI_{50}$ (mg/ mL) $a =$ coeficiente angular $b =$ coeficiente linear</p> | $[DPPH]_{t=0} = (\overline{Abs}_{controle} \times a + b) \times \frac{394,32}{1000}$ <p>Onde: $b =$ Intercepção do eixo y $a =$ Inclinação da reta</p> |
| $CE_{50} = \frac{CI_{50}}{[DPPH]_{t=0}}$ | |

Fonte: MAGALHÃES et al., 2018

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva de calibração construída com a quercetina para obtenção de flavonóides totais nas concentrações 2,15; 4,3; 8,6; 12,9; 17,2 e 21,5 $\mu\text{g/mL}$ promoveu a obtenção do valor do coeficiente de linearidade ($R^2 = 0,9969$) e da equação da reta ($y = 0,0606x + 0,0234$). A leitura espectrofotométrica (Espectrofotômetro Shimadzu modelo: UV/PC 1601) foi feita em 455 nm e triplicata. Através da equação da reta ($y = 0,0606x + 0,0234$) foi possível determinar o teor de flavonóides totais presente no extrato bruto e frações das folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida* (Tabela 6).

A curva de calibração construída com ácido tânico permitiu a obtenção do teor fenólicos totais nas concentrações 20; 40; 60; 80 e 100 $\mu\text{g/mL}$. A curva de calibração promoveu a obtenção do valor de coeficiente de linearidade ($R^2 = 0,985$) e da equação da reta ($y = 0,0014x + 0,0619$). A leitura espectrofotométrica (Espectrofotômetro Shimadzu modelo: UV/PC 1601) foi feita em 510 nm, em triplicata. Através da equação da reta obtida ($y = 0,0014x + 0,0619$) foi possível determinar o teor de fenólicos totais dos extratos brutos e particionados das folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida* (Tabela 7).

A Tabela 6 revelou que os extratos de *Cecropia pachystachya* (2,90%) e *Eugenia florida* (2,13 %) apresentaram o teor de flavonóides maior do que *V. amygdalina* (1,71%). As frações acetato de etila de *C. pachystachya* (8,80%) e *E. florida* (5,78%) apresentaram maior teor de flavonóides quando comparado com o de *V. amygdalina* (1,71 %). Observamos que os flavonóides de *V. amygdalina* concentraram-se, preferencialmente, na fração hexano (Tabela 6). A curva de calibração construída para obtenção de atividade antioxidante (DPPH) nas concentrações 10, 20, 30, 40, 50 e 60 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 16). Esta apresentou valor de coeficiente de linearidade de $R^2 = 0,9859$, e a equação da reta: $y = 0,0111x + 0,036$. A leitura espectrofotométrica (Espectrofotômetro Shimadzu modelo: UV/PC 1601) foi feita em 515 nm, em triplicata (Tabela 6).

A Tabela 7 revelou que o extrato bruto (56%) e fração acetato de etila (47%) de *Cecropia pachystachya*; fração acetato de etila (35%) e butanol (38%) de *Eugenia florida* e frações hexano (18 %) e acetato de etila (28 %) de *Vernonia amygdalina* apresentaram os maiores teores de polifenólicos.

Tunasamy, Suryadevara & Athimoolam (2019) determinaram que o conteúdo dos fenólicos (método Folin-Ciocalteu) e flavonóides totais (AlCl₃ ácido acético glacial, solução de piridina: etanol e solução de cloreto de alumínio) no extrato metanol, acetato de etila e éter de petróleo das folhas de *V. amygdalina*. Estes resultados foram maiores do que o obtido neste trabalho (Tabela 7). O extrato metanol das folhas de *V. amygdalina* (TUNASAMY, SURYADEVARA & ATHIMOOLAM, 2019) foi significativamente maior (96,14 mg GAE/g extrato), juntamente, com o extrato acetato de etila (95,18 mg GAE/g extrato) e

éter de petróleo (31,50 mg GAE/g extrato). Os teores de flavonóides totais foram de 44,35 mL/ g, 42,52 mL/ g e 15,16 mL/ g de extrato para os extratos de metanol, acetato de etila e éter de petróleo, respectivamente (TUNASAMY, SURYADEVARA, ATHIMOOLAM, 2019). Estes resultados foram maiores do que os obtidos neste trabalho (Tabela 6), entretanto não podemos compará-los porque utilizamos metodologias diferentes.

Diversos fatores podem influenciar na capacidade antioxidante e no teor de fenólicos totais dos extratos vegetais. Tais fatores podem justificar as variações obtidas nos resultados do presente trabalho em comparação aos trabalhos utilizados como referência. Machado (2005), por exemplo, cita que fatores abióticos naturais como a radiação solar, raios UV, períodos de seca ou chuva, nutrientes e estações do ano contribuem para a alteração na concentração do conteúdo dos fenólicos e, consequentemente, atividade antioxidante dos extratos brutos. O aumento de temperatura, por exemplo, promove o aumento no rendimento da extração de compostos fenólicos devido ao aumento da energia cinética das moléculas. Dessa forma melhora a solubilidade e o coeficiente de difusão desses compostos, inclusive permitindo uma extração mais rápida (THOO et al., 2010). Já a influência do solvente extrator se dá pela estrutura química dos polifenóis. Essas moléculas possuem propriedades hidrofílicas, pela possibilidade de as hidroxilas fazerem ligações de hidrogênio, e hidrofóbicas, pela sua cadeia carbônica. Assim, essas moléculas são solúveis em solventes orgânicos polares como metanol, etanol, acetona e água. Esse processo de solubilidade entre as fases é explicado pelo coeficiente de partição (log P) em que são consideradas as propriedades envolvidas nas interações intermoleculares entre os meios e o soluto estudado. Portanto, a polaridade do solvente é uma característica importante para determinar sua afinidade com esses compostos (OLIVEIRA et al., 2019; MAGALHÃES et al., 2017; TSAO, 2010).

Temponi (2012) avaliou os teores de fenóis e flavonóides totais equivalentes ao ácido gálico e à rutina de *V. polyanthes*. Ele utilizou para a determinação dos teores de fenóis totais o método de Folin-Ciocalteu e a quantificação dos teores de flavonóides totais foi realizada por método espectrofotométrico ácido acético glacial, solução de piridina: etanol e solução de cloreto de alumínio. Os teores de fenóis totais de *V. polyanthes* variaram de 0,76 a 18,63 g/100 g. As frações butanólica ($18,63 \pm 0,32$) e residual ($18,52 \pm 0,02$) apresentaram maiores teores de fenóis totais quando comparadas com os demais produtos analisados. Temponi (2012) observou que os teores de flavonoides totais variaram de 0,26 a 7,73 g/ 100 g no extrato etanólico e nas frações avaliadas e a fração em acetato de etila ($7,73 \pm 0,14$ g/100 g) produziu maior rendimento de flavonoides totais equivalentes à rutina (TEMPONI, 2012). Apesar dos nossos resultados serem superiores aos obtidos por Temponi (2012), não realizamos a mesma metodologia de extração e ensaios para a determinação de fenólicos (Tabela 7) e flavonoides (Tabela 6) descritos na literatura.

As *Cecropia* ou embaúbas (LUENGAS-CAICEDO, 2005) são árvores pioneiras que, no processo de formação florestal, possuem características de alta resistência ao sol

intenso e ao solo pobre de nutrientes. Luengas-Caicedo (2005) observou variação sazonal e intraespecífica durante a quantificação do teor de polifenóis totais (método de Folin-Ciocalteu) e flavonóides (solução de cloreto de alumínio, ácido acético glacial, piridina etanol 20 %) nas folhas entre espécimes de *C. glaziovii* (nativos, cultivados e clones). Luengas-Caicedo (2005) observou que a variação foi maior entre os espécimes nativos do que entre os cultivados e clones. Foram detectadas diferenças entre os teores destes metabólitos entre os pecíolos e as lâminas foliares. Nas lâminas foliares o teor de polifenóis totais variaram entre 1,9 % e 4,8 %, e os de flavonoides entre 0,3% e 3,8 %. Nos pecíolos, os teores de polifenóis foram menores que 1% e, nos flavonoides estiveram entre 0,01% e 0,3%. Já Costa & Hoscheid (2018) também usaram a quantificação de compostos fenólicos totais por Folin-Ciocalteu para *Cecropia pachystachya*. Eles observaram que o teor das substâncias fenólicas foi, respectivamente, de 13,29 e 35,83 mg/ mL para os extratos aquoso e etanólico. Apesar dos nossos resultados serem superiores aos obtidos por Luengas-Caicedo, (2005) e Costa & Hoscheid (2018), eles não puderam ser comparados porque não realizamos o mesmo procedimento para a determinação de fenólicos (Tabela 7) e flavonoides totais (Tabela 6).

Tabela 6 Determinação do teor dos flavonóides totais do extrato e frações das folhas secas e moidas de *V. amygdalina*, *C. pachystachya* e *E. florida*.

| <i>V. amygdalina</i> | | | | | | | | | |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|------|------|-------------------|---------------|-------------|
| Extrato/ Frações | Abs | | | Media | D.P | CV % | Conc. (µg/ mL) | Massa (mg) | TFT % |
| Hexano | 0,454 | 0,455 | 0,460 | 0,46 | 0,00 | 0,70 | 7,14 | 250 | 2,86 |
| DCM | 0,067 | 0,063 | 0,065 | 0,07 | 0,00 | 3,08 | 0,69 | 250 | 0,27 |
| AcOEt | 0,279 | 0,288 | 0,279 | 0,28 | 0,01 | 1,84 | 4,27 | 250 | 1,71 |
| Extrato | 0,279 | 0,288 | 0,279 | 0,28 | 0,01 | 1,84 | 4,27 | 250 | 1,71 |
| <i>C. pachystachya</i> | | | | | | | | | |
| Extrato/ Frações | Abs | | | Media | D.P | CV % | Conc. (µg/ mL) | Massa (mg) | TFT % |
| Hexano | 0,643 | 0,639 | 0,650 | 0,64 | 0,01 | 0,86 | 10,42 | 250 | 4,17 |
| DCM | 0,160 | 0,152 | 0,159 | 0,16 | 0,00 | 2,78 | 2,16 | 250 | 0,86 |
| AcOEt | 1,322 | 1,322 | 1,332 | 1,33 | 0,01 | 0,44 | 21,99 | 250 | 8,80 |
| Extrato | 0,457 | 0,456 | 0,457 | 0,46 | 0,00 | 0,13 | 7,24 | 250 | 2,90 |
| <i>E. florida</i> | | | | | | | | | |
| Extrato/ Frações | Abs | | | Media | D.P | CV % | Conc. (µg/ mL) | Massa (mg) | TFT % |
| Hexano | 0,340 | 0,344 | 0,343 | 0,34 | 0,00 | 0,61 | 5,30 | 250 | 2,12 |
| DCM | 0,251 | 0,238 | 0,242 | 0,24 | 0,01 | 2,73 | 3,63 | 250 | 1,45 |
| AcOEt | 0,883 | 0,887 | 0,874 | 0,88 | 0,01 | 0,76 | 14,45 | 250 | 5,78 |

| | | | | | | | | | |
|---------|-------|-------|-------|------|------|------|------|-----|-------------|
| Extrato | 0,341 | 0,346 | 0,344 | 0,34 | 0,00 | 0,73 | 5,33 | 250 | 2,13 |
|---------|-------|-------|-------|------|------|------|------|-----|-------------|

Legenda: TFT = Teor de Flavonóides Totais; Abs = absorvância; Conc. = concentração; CV = coeficiente de variação; D.P = desvio padrão, DCM= Diclorometano; AcOEt= Acetato de etila

Tabela 7 Determinação do teor de fenólicos totais dos extratos bruto e frações das folhas secas e moídas de *V. amygdalina*, *C. pachystachya* e *E. florida*.

| <i>V. amygdalina</i> | | | | | | | | | |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|------|------|-------------------|---------------|-----------|
| | Abs | | | Media | D. P | CV % | Conc. (µg/ mL) | Massa (mg) | TFeT % |
| Extrato | 0,107 | 0,109 | 0,108 | 0,11 | 0,00 | 0,93 | 32,93 | 2,0 | 16 |
| Hexano | 0,114 | 0,113 | 0,108 | 0,11 | 0,00 | 2,88 | 35,55 | 2,0 | 18 |
| AcOEt | 0,140 | 0,143 | 0,135 | 0,14 | 0,00 | 2,90 | 55,31 | 2,0 | 28 |
| DCM | 0,054 | 0,056 | 0,051 | 0,05 | 0,00 | 4,69 | -5,88 | 2,0 | -3 |
| Butanol | 0,073 | 0,081 | 0,081 | 0,08 | 0,00 | 5,90 | 11,74 | 2,0 | 6 |
| <i>C. pachystachya</i> | | | | | | | | | |
| Extrato/ Frações | Abs | | | Media | D. P | CV % | Conc. (µg/ mL) | Massa (mg) | TFeT % |
| Extrato | 0,217 | 0,217 | 0,219 | 0,22 | 0,00 | 0,53 | 111,3 | 2,0 | 56 |
| Hexano | 0,190 | 0,194 | 0,197 | 0,19 | 0,00 | 1,81 | 94,1 | 2,0 | 47 |
| AcOEt | 0,199 | 0,202 | 0,202 | 0,20 | 0,00 | 0,86 | 99,4 | 2,0 | 50 |
| DCM | 0,042 | 0,044 | 0,045 | 0,04 | 0,00 | 3,50 | -13,0 | 2,0 | -7 |
| Butanol | 0,193 | 0,189 | 0,192 | 0,19 | 0,00 | 1,09 | 92,5 | 2,0 | 46 |
| <i>E. florida</i> | | | | | | | | | |
| Extrato/ Frações | Abs | | | Media | D. P | CV % | Conc. (µg/ mL) | Massa (mg) | TFeT % |
| Extrato | 0,122 | 0,105 | 0,106 | 0,11 | 0,01 | 0,89 | 35,1 | 2,0 | 18 |
| Hexano | 0,159 | 0,162 | 0,161 | 0,16 | 0,00 | 0,88 | 70,5 | 2,0 | 35 |
| AcOEt | 0,068 | 0,067 | 0,070 | 0,07 | 0,00 | 2,07 | 4,6 | 2,0 | 2 |
| DCM | 0,100 | 0,102 | 0,100 | 0,10 | 0,00 | 0,00 | 27,7 | 2,0 | 14 |
| Butanol | 0,710 | 0,170 | 0,169 | 0,17 | 0,00 | 0,42 | 77,0 | 2,0 | 38 |

Legenda: TFeT = Teor de fenólicos Totais; Abs = absorvância; Conc. = concentração; CV = coeficiente de variação; D. P = desvio padrão; DCM= Diclorometano; AcOEt= Acetato de etila

Os resultados obtidos da capacidade antioxidante pelo método DPPH podem ser apresentados como valor de CE50 ou CI50. Para a determinação do valor de CI50 do extrato e das frações de *V. amygdalina*, *C. pachystachya* e *E. florida* foram utilizadas as equações da reta geradas a partir dos dados da Tabela 8, substituindo o valor de y por 50 para obtenção da concentração da amostra com capacidade de reduzir 50% do DPPH. O menor valor de CI50 significa, maior atividade antioxidante. (RUFINO et al., 2007). O CI50 para o extrato da folha seca e moída de *V. amygdalina*, *C. pachystachya* e de *E. florida* foram, respectivamente, de 27,25 mg/ mL, 3,80mg/ mL e de 9,70 mg/ mL (Figura 12).

Os resultados obtidos a partir dos dados (Tabela 9-12) da capacidade antioxidante pelo método DPPH para determinação do coeficiente de linearidade, equações da reta e os valores de CI50 valores de CI50 das frações em butanol e hexano de *C. amygdalina*, *C. pachystachya* e *E. florida* (Tabela 9 - 10 e Figura 13-14), acetato de etila de *E. florida* e *C. pachystachya* (Tabela 11; Figura 15) e diclorometano de *Vernonia amygdalina* (Tabela 12; Figura 16) foram descritos nas figuras 13 – 16. Vale ressaltar que somente algumas frações não foram estudadas na totalidade devido ao término dos extratos brutos.

Velasquez et al. (2003) relatou que a redução do radical DPPH era dependente da dose para o extrato etanólico *C. pachystachya* e *Eugenia uniflora*. O CI50 da fração aquoso foi de 27,7 µg/ mL. Infelizmente, o autor não relatou a atividade do extrato etanólico. Aragão et al. (2010) citaram que o extrato metanoico *C. pachystachya* apresentou atividade antioxidante relevante com CE50=3,1 mg/ mL e CE50=10,8 µg/ mL (poder de redução). Os resultados foram comparados com os antioxidantes de referência da quercetina, rutina e ácido ascórbico. O teor de flavonoides foi de 83 mg/ g planta e o de fenólicos foi de 326 mg/g planta. Observamos em nosso estudo que concentração inibitória na fração acetato de etila (CI50 = 2,51 mg/ mL; Figura 15), no extrato etanólico (CI50 = 3,80 mg/ mL; Figura 12) e na fração hexano (CI50 = 5,42 mg/ mL; Figura 14). Já na fração butanol houve uma diminuição da capacidade antioxidante (CI50 = 23,04 mg/ mL; Figura 13). Vale ressaltar que a fração acetato de etila de *C. pachystachya* apresentou o maior de teor de flavonoides (8,80 %; Tabela 6). UGBOGU et al., (2021) citaram que a atividade antioxidante do extrato metanólico de *V. amygdalina* foi determinada tratando ratos com dose de 200 mg/ kg após indução de dieta normal contendo 5% de *Cycas revoluta* (cicas). Os resultados revelaram que a administração extrato etanólico de *V. amygdalina* induziu um aumento nos níveis de MDA (malondialdeído) e redução nos níveis de SOD (superóxido dismutase) em comparação com o grupo controle. Além disso, o extrato etanólico de *V. amygdalina* (0 – 30,51 g/ mL) inibiu a arginase. Já Martins (2012) verificou, em seu estudo, que o extrato da folha da *Vernonia brasiliiana* quando comparado com espécies de *mesmo gênero* apresentou maior atividade antioxidante que o extrato aquoso da folha da *Vernonia amygdalina*, com CE50 igual a 600 µg/ mL; extrato etanólico da folha da *Vernonia condensata* Baker, com CE50 de 56 µg/ mL (DOUTRA et al., 2011) e menor atividade que o extrato etanólico da folha da *Vernonia polyanthes* Less com CE50 de 10,54 µg/ mL (ALVES & SOUSA, 2010). Martins, (2012) concluiu que os dados capacitavam o extrato da folha da *Vernonia brasiliiana* como um antioxidante promissor se comparado com as outras Vernônias até então estudadas. Já YOURS et al., (2012) observou que em relação ao extrato etanoico e as frações de *V. polyanthes* testadas, a fração em acetato de etila foi a que apresentou maior atividade antioxidante, com um valor de CE50 igual a 4,28 µg/ mL. Oriakhi et al. (2013) e Alara, Abdurahman & Olalere (2020) revelaram que o extrato etanólico de *V. amygdalina* apresentou um valor de CE50 igual 111,8 µg/ mL.

O extrato bruto de *Vernonia amygdalina*, desenvolvido em nosso trabalho, apresentou uma maior capacidade do agente antioxidante de sequestrar 50% dos radicais livres DPPH presentes na solução na fração hexano e diclorometano ambas com CI50= 14,99 mg/ mL (Figura 14 e 16, respectivamente) do que no extrato bruto etanólico (CI50 = 27,25 mg/ mL; Figura 14) e fração butanol (CI50= 22,48 mg/ mL; Figura 13). Vale ressaltar que os teores de metabólitos secundários presentes nas plantas são diretamente influenciados por uma lista de fatores exteriores que levam a planta a ter uma concentração maior ou menor (GOBBO-NETO & LOPES, 2007). Além disso, esses fatores também podem alterar a composição química da planta, uma vez que sua composição também pode ser influenciada por interações do tipo planta-planta, planta-animal e planta-microrganismos (ALVES, 2001). Bastos et al., (2019) avaliou que a atividade antioxidante do extrato foliar hidroetanólico 70 % de *Eugenia florida* foi $64,41 \pm 1,48$ [% de eliminação de DPPH (Concentração de 20 µg/ mL) do extrato] e o CI50 foi 12,77 µg/mL. Considerando as análises estatísticas dos resultados obtidos com a concentração de 20 µg/ mL, verificou-se que as amostras e os padrões apresentaram diferenças significativas no potencial como sequestradores de radicais DPPH. Vale ressaltar que o valor de CI50 para o extrato (12,77 µg/ mL) foi ligeiramente inferior ao valor obtido com os padrões ácido tânico (15,58 µg/ mL) e catequina (13,21 µg/ mL), indicando excelente atividade antioxidante do extrato. Esse resultado se deve, provavelmente, à presença de uma grande variedade de compostos fenólicos identificados no extrato por Bastos et al. (2019). Todas as substâncias identificadas apresentavam atividades antioxidantes consideráveis e um papel importante na quelação de metais e na eliminação de ROS (BASTOS et al., 2019). Os valores de CE50 observada por Bastos et al. (2019) foram mais proeminentes do que observados em outras espécies de *Eugenia* (YADAV et al., 2014, CUNHA et al., 2016). A CI50 em nosso trabalho foi maior no extrato bruto (9,70 mg/ mL; Figura 12) e na fração acetato de etila (10,60 mg/ mL; Figura 15) de *Eugenia florida*. Constatou-se que o uso de diferentes solventes influenciou no valor de CI50. Segundo Pérez-Jiménez e Saura-Calixto (2006), o tipo e a polaridade do solvente afetam a transferência de elétrons e de átomos de hidrogênio, consequentemente, influenciam no potencial antioxidante. A presença de compostos não antioxidantes nas soluções testadas também pode afetar o resultado. Além disso, é possível também que fatores exteriores como desenvolvimento e sazonalidade; índice pluviométrico e sazonalidade; temperatura e altitude, entre outros possam ter contribuído com alteração da composição química da planta, uma vez que sua composição também pode ser influenciada por interações do tipo planta-planta, planta-animal e planta-microrganismo (GOBBO-NETO & LOPES, 2007; ALVES, 2001).

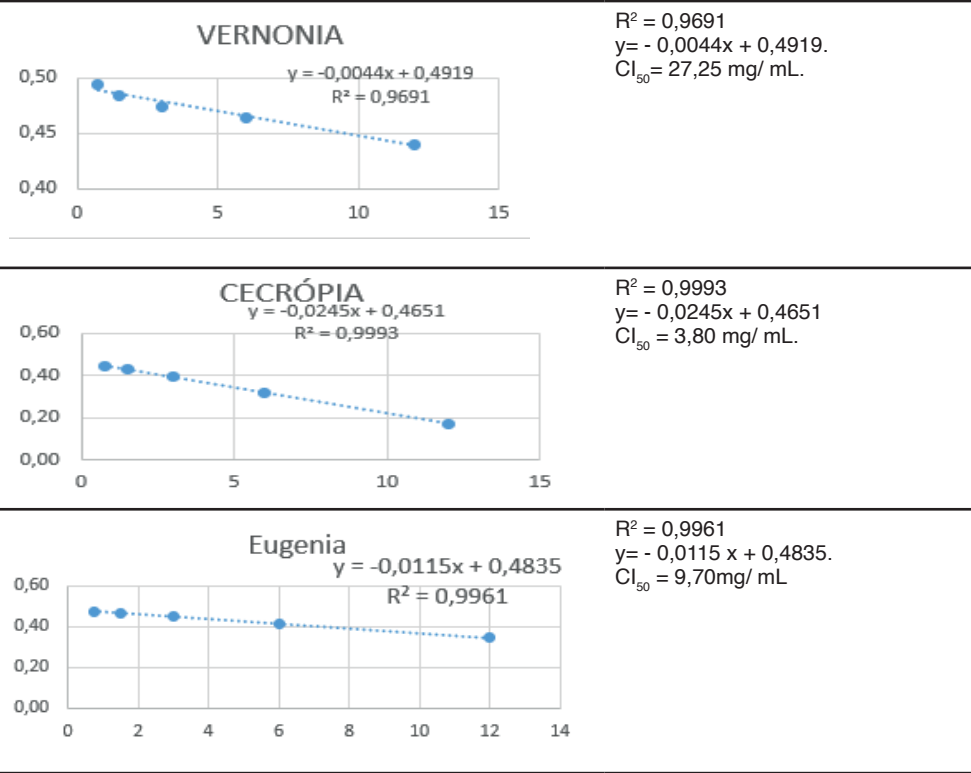
Tabela 8 Dados do valor de DPPH extrato etanoico das folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida* para a construção da curva de concentração DPPH.

| <i>Vernonia amygdalina</i> | | | | | | | | | |
|------------------------------|-----------|------|----------------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/ mL) | Abs | | | Média | D. P | CV % |
| 1 | Sol. mãe | 2 | 12 | 0,440 | 0,440 | 0,440 | 0,44 | 0,00 | 0,00 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,463 | 0,464 | 0,466 | 0,46 | 0,00 | 0,33 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,470 | 0,475 | 0,478 | 0,47 | 0,00 | 0,85 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,485 | 0,483 | 0,483 | 0,48 | 0,00 | 0,24 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,491 | 0,496 | 0,495 | 0,49 | 0,00 | 0,54 |
| <i>Cecropia pachystachya</i> | | | | | | | | | |
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/ mL) | Abs | | | Media | D. P | CV % |
| 1 | Sol. mãe | 2 | 12 | 0,164 | 0,172 | 0,172 | 0,17 | 0,00 | 2,73 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,313 | 0,324 | 0,326 | 0,32 | 0,00 | 2,18 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,390 | 0,397 | 0,397 | 0,39 | 0,00 | 1,02 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,429 | 0,427 | 0,427 | 0,43 | 0,00 | 0,27 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,436 | 0,448 | 0,446 | 0,44 | 0,00 | 1,45 |
| <i>Eugenia florida</i> | | | | | | | | | |
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/ mL) | Abs | | | Média | D. P | CV % |
| 1 | Sol mãe | 2 | 12 | 0,339 | 0,349 | 0,343 | 0,34 | 0,01 | 1,46 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,416 | 0,413 | 0,419 | 0,42 | 0,00 | 0,72 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,451 | 0,456 | 0,455 | 0,45 | 0,00 | 0,58 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,462 | 0,464 | 0,464 | 0,46 | 0,00 | 0,25 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,470 | 0,475 | 0,473 | 0,47 | 0,00 | 0,53 |

Legenda: Legenda: DPPH = 2,2 – difenil-1-picril-hidrazil; MeOH = metanol; Conc. = concentração; Abs. absorvância; D. P = desvio padrão; CV = Coeficiente linear; Sol. mãe= solução mãe; MeOH= Metanol

Fonte: Próprio autor

Figura 12 Curva de concentração DPPH dos extratos das folhas secas e moídas de *V. amygdalina*, *C. pachystachya* e *E. florida*



Fonte: Próprio autor

Tabela 9 Dados utilizados para construção da curva de concentração DPPH das folhas secas e moídas da fração butanol *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida*.

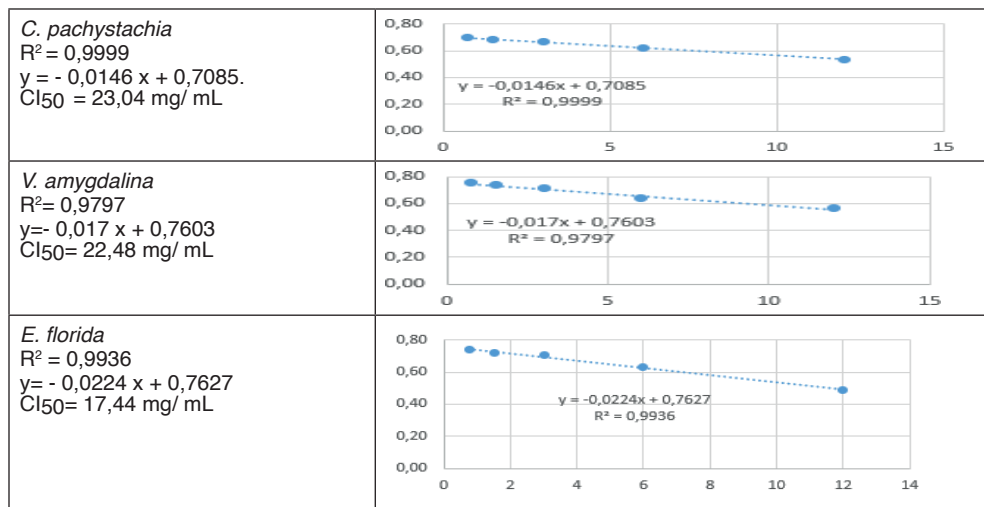
| V. amygdalina | | | | | | | | | |
|-----------------|-----------|------|----------------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/ mL) | Abs | | | Media | D. P | CV % |
| 1 | Sol. mãe | 2 | 12 | 0,564 | 0,580 | 0,549 | 0,56 | 0,02 | 2,75 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,637 | 0,637 | 0,642 | 0,64 | 0,00 | 0,45 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,710 | 0,712 | 0,710 | 0,71 | 0,00 | 0,16 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,737 | 0,737 | 0,738 | 0,74 | 0,00 | 0,08 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,750 | 0,758 | 0,755 | 0,75 | 0,00 | 0,54 |
| C. pachystachya | | | | | | | | | |
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/ mL) | Abs | | | Media | D. P | CV % |
| 1 | Sol. mãe | 2 | 12 | 0,525 | 0,538 | 0,539 | 0,53 | 0,01 | 1,46 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,622 | 0,624 | 0,615 | 0,62 | 0,00 | 0,76 |

| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,654 | 0,668 | 0,671 | 0,66 | 0,01 | 1,37 |
|-------------------|-----------|------|---------------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,686 | 0,690 | 0,684 | 0,69 | 0,00 | 0,44 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,693 | 0,695 | 0,707 | 0,70 | 0,01 | 1,08 |
| E. florida | | | | | | | | | |
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/mL) | Abs | | | Media | D. P | CV % |
| 1 | Sol. mãe | 2 | 12 | 0,489 | 0,492 | 0,488 | 0,49 | 0,00 | 0,43 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,633 | 0,631 | 0,631 | 0,63 | 0,00 | 0,18 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,706 | 0,710 | 0,708 | 0,71 | 0,00 | 0,28 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,720 | 0,723 | 0,721 | 0,72 | 0,00 | 0,21 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,734 | 0,744 | 0,745 | 0,74 | 0,00 | 0,82 |

Legenda: DPPH = 2,2 – difenil-1-picril-hidrazil; MeOH = metanol; Conc. = concentração; Abs. absorvância; D. P = desvio padrão; CV = Coeficiente linear; Sol. mãe= solução mãe.

Fonte: Próprio autor

Figura 13 Curva de concentração DPPH da fração butanol das folhas secas e moídas de *Cecropia pachystachya*, *Vernonia amygdalina* e *Eugenia florida*.



Fonte: próprio autor

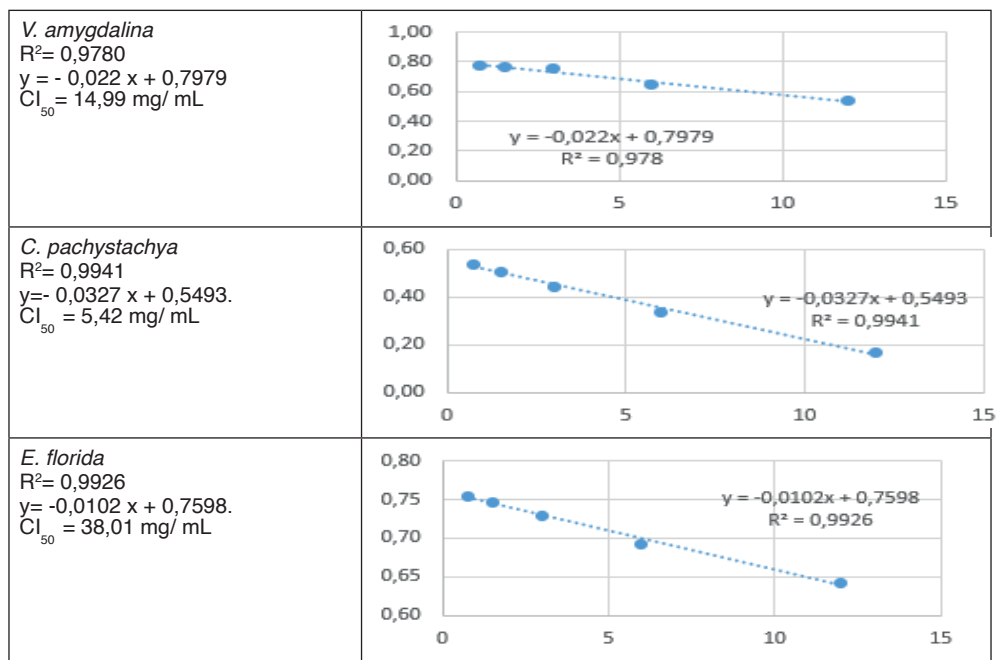
Tabela 10 Dados utilizados para construção da curva de concentração DPPH da fração hexano das folhas secas e moídas *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida*.

| <i>V. amygdalina</i> | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-----------|------|---------------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/mL) | Abs | | | Media | D. P | CV % |
| 1 | Sol mãe | 2 | 12 | 0,542 | 0,540 | 0,534 | 0,54 | 0,00 | 0,77 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,646 | 0,649 | 0,644 | 0,65 | 0,00 | 0,39 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,754 | 0,757 | 0,750 | 0,75 | 0,00 | 0,47 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,765 | 0,760 | 0,763 | 0,76 | 0,00 | 0,33 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,775 | 0,780 | 0,774 | 0,78 | 0,00 | 0,41 |
| <i>C. pachystachya</i> | | | | | | | | | |
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/mL) | Abs | | | Media | D. P | CV % |
| 1 | Sol mãe | 2 | 12 | 0,154 | 0,167 | 0,174 | 0,17 | 0,01 | 6,15 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,335 | 0,336 | 0,340 | 0,34 | 0,00 | 0,79 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,446 | 0,443 | 0,438 | 0,44 | 0,00 | 0,91 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,501 | 0,510 | 0,508 | 0,51 | 0,00 | 0,93 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,534 | 0,532 | 0,537 | 0,53 | 0,00 | 0,47 |
| <i>E. florida</i> | | | | | | | | | |
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/mL) | Abs | | | Média | D. P | CV % |
| 1 | Sol mãe | 2 | 12 | 0,637 | 0,640 | 0,646 | 0,64 | 0,00 | 0,71 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,690 | 0,690 | 0,696 | 0,69 | 0,00 | 0,50 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,726 | 0,731 | 0,731 | 0,73 | 0,00 | 0,40 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,746 | 0,746 | 0,745 | 0,75 | 0,00 | 0,08 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,753 | 0,756 | 0,755 | 0,75 | 0,00 | 0,20 |

Legenda: DPPH = 2,2 – difenil-1-picril-hidrazil; MeOH = metanol; Conc. = concentração; Abs = absorbância; D. P = desvio padrão; CV = coeficiente de variação

Fonte: Próprio autor

Figura 14 Curva de concentração DPPH do extrato das folhas secas e moidas fração hexano de *Vernonia amygdalina*, *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida*.



Fonte: próprio autor

Tabela 11 Dados utilizados para construção da curva de concentração DPPH da fração acetato de etila das folhas secas e moidas de *Eugenia florida* e *Cecropia pachystachya*.

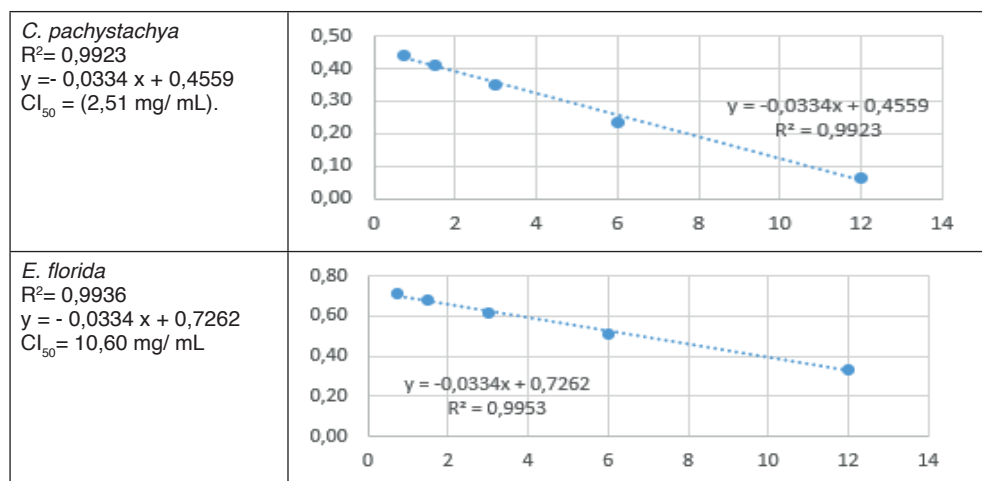
| <i>E. florida</i> | | | | | | | | | |
|------------------------|-----------|------|----------------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/ mL) | Abs | | | Média | D. P | CV % |
| 1 | Sol. mãe | 2 | 12 | 0,332 | 0,333 | 0,334 | 0,33 | 0,00 | 0,30 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,508 | 0,518 | 0,512 | 0,51 | 0,01 | 0,98 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,617 | 0,624 | 0,610 | 0,62 | 0,01 | 1,13 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,676 | 0,679 | 0,685 | 0,68 | 0,00 | 0,67 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,707 | 0,715 | 0,713 | 0,71 | 0,00 | 0,59 |
| <i>C. pachystachya</i> | | | | | | | | | |
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/ mL) | Abs | | | Média | D. P | CV % |
| 1 | Sol. mãe | 2 | 12 | 0,066 | 0,067 | 0,062 | 0,07 | 0,00 | 4,07 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,239 | 0,236 | 0,231 | 0,24 | 0,00 | 1,72 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,351 | 0,349 | 0,344 | 0,35 | 0,00 | 1,04 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,406 | 0,417 | 0,412 | 0,41 | 0,01 | 1,34 |

| | | | | | | | | | |
|---|----|---|------|-------|-------|-------|------|------|------|
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,451 | 0,430 | 0,445 | 0,44 | 0,01 | 2,45 |
|---|----|---|------|-------|-------|-------|------|------|------|

Legenda: DPPH = 2,2 – difenil-1-picril-hidrazil; MeOH = metanol; Conc. = concentração; Abs = absorvância; D. P = desvio padrão; CV = coeficiente de variação

Fonte: Próprio autor

Figura 15 Curva de concentração DPPH da fração acetato de etila das folhas secas e moidas de *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida*



Fonte: Próprio autor

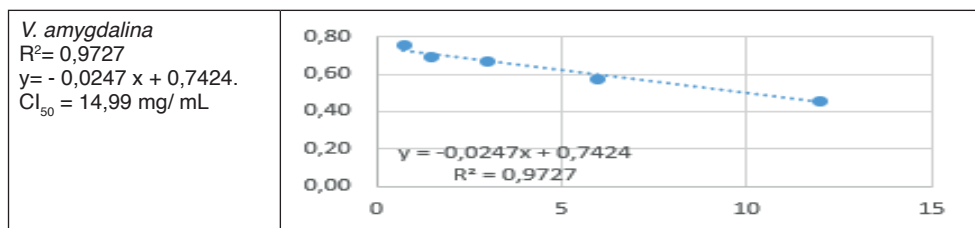
Tabela 12 Dados utilizados para construção da curva de concentração DPPH da fração diclorometano das folhas secas e moidas *Vernonia amygdalina*.

| <i>V. amygdalina</i> | | | | | | | | | |
|----------------------|-----------|------|----------------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| Ponto | DPPH (mL) | MeOH | Conc. (µg/ mL) | Abs | | | Média | D. P | CV % |
| 1 | Sol mãe | 2 | 12 | 0,474 | 0,447 | 0,450 | 0,46 | 0,01 | 3,24 |
| 2 | P1 | 2 | 6 | 0,575 | 0,578 | 0,572 | 0,58 | 0,00 | 0,52 |
| 3 | P2 | 2 | 3 | 0,660 | 0,670 | 0,669 | 0,67 | 0,01 | 0,83 |
| 4 | P3 | 2 | 1,5 | 0,690 | 0,685 | 0,695 | 0,69 | 0,00 | 0,72 |
| 5 | P4 | 2 | 0,75 | 0,740 | 0,759 | 0,752 | 0,75 | 0,01 | 1,28 |

Legenda: DPPH = 2,2 – difenil-1-picril-hidrazil; MeOH = metanol; Conc. = concentração; Abs = absorvância; D. P = desvio padrão; CV = coeficiente linear

Fonte: Próprio autor

Figura 16 Curva de concentração DPPH da fração diclorometano das folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina*



Fonte: Próprio autor

5 CONCLUSÃO

A pandemia do COVID-19 é uma ameaça significativa para a vida humana em todo o mundo. Como ainda não existe cura ou tratamento eficaz conhecido para o COVID-19, todas as terapêuticas potenciais e estratégias de prevenção que possam reduzir a incidência ou gravidade da infecção são de vital importância. Terapias anti-inflamatórias, enfoque do estado nutricional, ingestão de nutrientes e alimentos podem exercer efeitos anti-inflamatórios, imunomoduladores, antitrombóticas e antioxidantes podem prevenir ou atenuar as manifestações inflamatórias e vasculares associadas ao COVID-19. Assim, compostos com propriedades antioxidantes podem ser considerados na tentativa de reduzir a “tempestade” de citocinas associadas à infecção pelo referido vírus (DIAS et al, 2020).

A análise preliminar da atividade antioxidante, concentração inibitória efetiva necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH da solução (CI₅₀), determinação de concentração de substâncias fenólicas e flavonóides foliares totais das frações oriundas das frações e dos extratos brutos etanólicos individuais de folhas secas e moídas de *Vernonia amygdalina* (Delile) Sch.Bip. ex Walp, *Cecropia pachystachya* Trécul e *Eugenia florida* DC permitiu observar que o uso de diferentes solventes afeta na transferência de elétrons e de átomos de hidrogênio e, conseqüentemente, influenciam no potencial antioxidante. Provavelmente, a presença de compostos não antioxidantes nas soluções testadas também afete no resultado.

O extrato bruto e a fração acetato de etila (47%) de *Cecropia pachystachya* (56%); a fração acetato de etila (35%) e butanol (38%) de *Eugenia florida* e as frações hexano (18 %) e acetato de etila (28 %) de *Vernonia amygdalina* apresentaram os maiores teores de fenólicos. A grande quantidade de teores de flavonóides em algumas frações pode explicar a alta concentração de fenólicos totais encontrado nas frações hexano e acetato de etila de *Vernonia amygdalina* e *Cecropia pachystachya* e na fração acetato de etila de *Eugenia florida*.

A capacidade do agente antioxidante de sequestrar 50% dos radicais livres DPPH presentes na solução (CI₅₀) em *Cecropia pachystachya* foi maior na fração acetato de etila (2,51 mg/ mL), no extrato etanólico (3,80 mg/ mL) e na fração hexano (5,42 mg/ mL). Já na fração butanol houve uma diminuição da capacidade antioxidante (23,04 mg/ mL). Vale ressaltar que a fração acetato de etila de *Cecropia pachystachya* apresentou a o maior de teor de flavonóides (8,80%). Já a CI₅₀ de *Vernonia amygdalina* foi maior na fração hexano e diclorometano ambas com 14,99 mg/ mL) do que no extrato bruto etanólico (27,25 mg/ mL) e fração butanol (CI₅₀= 22,48 mg/ mL).

Apesar deste estudo ter sido realizado no Laboratório da Plataforma Agroecológica de Fitomedicamentos da Fiocruz, infelizmente, houve atraso para apresentação dos resultados devido ao COVID, problemas técnicos em alguns equipamentos o que ocasionaram mudanças no desenvolvimento da pesquisa. Pretende-se, futuramente,

realizar estudos adicionais que quantifiquem outras classes de metabólitos com ação antioxidante nas espécies estudadas, obter as frações diclorometano e acetato de etila de *Cecropia pachystachya* e *Eugenia florida* e determinar o CI_{50} ; calcular o CE_{50} ; avaliar o potencial antioxidante da mistura das frações mais ativas e a realizar testes anti-inflamatórios com os extratos e frações isolados e associados.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F., SILVA, K. N., BASÍLIO, I. J. L. D., FREITAS & P. F., BARBOSA-FILHO, J. M. (2008). Levantamento de plantas medicinais utilizadas na região Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18: 472-508.
- ALARA, O.R., ABDURAHMAN, N.H., OLALERE, O.A. Ethanolic extraction of flavonoids, phenolics and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using two-level factorial design, *Journal of King Saud University - Science*, v.32, n.1, p.7-16, 2020.
- ALVES, C.Q., DAVID, J.M., DAVID, J.P., BAHIA, M.V., AGUIAR, R.M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. *Química Nova*, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ALVES, G. A. D., SOUSA, O. V. Atividade biológicas dos extratos das folhas de assa-peixe (*Vernonia polyanthes* Less. – Asteraceae). In: XV Seminário de Iniciação Científica. Anais. Juiz de Fora, 2010.
- ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. *Química Nova na Escola*, n. 3, p. 10-15, 2001.
- AMAZONAS, L.F., FIGUEIREDO E.F.G. Uma revisão sobre o uso das plantas medicinais como tratamento da COVID-19 e a importância do profissional farmacêutico no estado do Amazonas. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 15, p. 1-14, 2021.
- ARAGÃO, D. M. O., GUARIZE, L., LANINI, J. DA COSTA, RAÚL, J.C., GARCIA, M. G. ELITA SCIO Hypoglycemic effects of *Cecropia pachystachya* in normal in Alloxan – induced diabetic rats. *The Journal Ethnopharmacology*, v. 128, n. 3, p. 629- 633, 2010.
- ARAGÃO, D.M.O., LIMA I.V., DA SILVA, J.M., BELLOZI, P.M., DA COSTA J.DE C., CARDOSO, G.M., DE SOUZA-FAGUNDES, E.M., SCIO, E. Anti-Inflammatory, Antinociceptive and cytotoxic effects of the methanol extract of *Cecropia pachystachya* Trécul. *Phytotherapy Research*, v. 27, n. 6, p. 926-930, 2013
- ARBOS, K.A., STEVANI, P.C., CASTANHA, R.F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. *Revista Ceres*, v.60, n.2, p. 161-165, 2013.
- ARNAO, M.B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science and Technology*, v. 11, p. 419- 421, 2000.
- ATERMAN, P. G.; MOLE, S. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies I: techniques for chemically defining tannins. *Oecologia*, 72, 137- 147, 1987.
- ATMANI, D., CHAHER, N., BERBOUCHA, M., AYOUNI, K., LOUNIS, H., BOUDAUD, H., DEBBACHE, N., ATMANI, D. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chemistry*, v.112, n.2, p. 303-309, 2009.
- BARRETO, A. S., FELICIANO, G. D., DA COSTA, C.C.H.N., LUNA, C.S., LESSA, B. DA M. DA SILVEIRA, C.F., BARBOSA, L. DA S., AMARAL A.C.F., SIANI, A.C. Analysis of the Presence of the Betulinic Acid in the Leaves of *Eugenia florida* by Using the Technique GC/MS, GC/FID and HPLC/DAD: A Seasonal and Quantitative Study. In: MARTIN D.F., MARTIN, B.B. (editor), *Column Chromatography*, Rijeka, IntechOpen, p. 183-192, 2013.

BASTOLA, K. P., GURAGAIN, Y. N., BHADRIRAJU, V., VADLANI, P. V. Evaluation of Standards and Interfering Compounds in the Determination of Phenolics by Folin-Ciocalteu Assay Method for Effective Bioprocessing of Biomass. American Journal of Analytical Chemistry, 8(6), 416-431 2017. antioxidant and in vivo antidiabetic activities of the hydroethanolic extract of *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) leaves, South African Journal of Botany, v.123, p. 317-332, 2019.

BASTOS, R.G., SALLES, B.C.C., BINI, I.F., CASTALDINI, L.P., SILVA, L.C.D., VILELA, A.A., MICHELONI, A.L.C., DA SILVA, G.M., DA SILVA, P.H.C., MAURE, A.K., SANTOS, L.L., ROSA, C.P., DA SILVA AMORIM, A.F., DA ROCHA, C.Q., VILEGAS, W., DE ARAÚJO PAULA, F.B., DA SILVA, G.A., DA SILVA, M.A. Phytochemical composition, antioxidant and in vivo antidiabetic activities of the hydroethanolic extract of *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) leaves, South African Journal of Botany, v.123, n.0254-6299, p. 317-332, 2019.

BENARBA, B., PANDIELLA, A. Medical Plants as sources of Active Molecules Against COVID 19. Frontiers in Pharmacology, v. 11, n. 1189, p. 1-16, 2020.

BHATI, S., KAUSHIK, V., SINGH, J. Rational design of flavonoid based potential inhibitors targeting SARS-CoV 3CL protease for the treatment of COVID-19, Journal of Molecular Structure, v. 1237, n. 130380, p. 1-9, 2021.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology, v. 28, n.1, p. 25-30, 1995.

CACACE, J. E.; MAZZA, G. Extraction of anthocyanins and other phenolics from black currants with Sulfured Water. Journal of Agriculture and Food Chemistry, v. 50, p. 5939-5946, set. 2002.

CARVALHO, J. C. T., GOSMANN, G., SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Florianópolis: UFSC, 1102p., 2004.

CARVALHO, M. G.; COSTA, P. M.; ABREU, H. S. Flavones from *Vernonia diffusa*. Journal of the Brazilian Chemical Society. v. 10, nº 10, p. 163-166, 1999.

CASTRO, R. Vacinas contra a Covid-19: o fim da pandemia? Physis: Revista de Saúde Coletiva, v. 31, n. 1, p. 1-5, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-73312021310100>>. Acesso em: 11 set. 2022.

CNCFLORA (2016) - Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro Centro Nacional de Conservação da Flora. <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Eugenia%20florida>. Acesso em set 2022.

CONSOLINI, E.A., MIGLIORI, N.G. Cardiovascular effects of the South American medicinal plant *Cecropia pachystachya* (Ambay) in rats. The Journal Ethnopharmacology, 96(3): 417- 22, 2005.

COSTA, J.C.F. da, HOSCHEID, J. Perfil fitoquímico e avaliação da atividade antimicrobiana de extratos aquoso e etanólico de folhas de *Cecropia pachystachya*. Revista Fitos, v. 12, n. 2, p. 175-185, jul. 2018.

COUTINHO, M.A.S., MUZITANO, M.F., COSTA, S.S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. Revista Virtual de Química, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

DALTOE, L. M., DEMOBER, F., Covid-19 nutrition and behavior in the context of the pandemic. Revista científica Perspectiva: Ciência e saúde, v.5, n.2, p. 36-50, 2020.

- DAMIANI, E.; BACCHETTI, T.; PADELLA, L.; TIANO, L.; CARLONI, P. Antioxidant activity of different white teas: Comparison of hot and cold tea infusions. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 33, 2014.
- DAMLE, L., DAMLE, H., BHARATH, B. Plant formulation ATRICOV 452 in improving the level of COVID-19 specific inflammatory markers in patients. *Contemporary Clinical Trials Communications*, v. 28, p. 1-5, 2022.
- DE ALMEIDA, J.D., FARIA, M.V., SILVA, P.R., Experimental biology in pitangueira: a review of five decades of scientific publications, *Ambiência*, v. 8, n.1 p. 159-175'2012.
- DIAS, M.J.L.E., CHINI, M.C., CARDOSO, T.F., ORRICO, S.R.P., PEREIRA, B.L.B. Covid e Nutrição. *Revista ULAKES Journal of Medicine*. v. 1, p.106 -117, 2020.
- DORNAS, W. C., OLIVEIRA, T. T., RODRIGUES-DAS-DORES, R. G., SANTOS, A.F., NAGEM, T. J. Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Revista de Ciências Farmacêuticas e Aplicada*, Araraquara, v.28, n.3, p.241-249, 2007.
- DOUTRA, L. B., SCIO, E., BOUZADA, M. L. M., FABRI, R. L., NOGUEIRA, M. S. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família da Asteraceae. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 13, n.2, p. 183-189, 2011.
- FABREAU, G.E., HOLDBROOK, L., PETERS, C.E., RONKSLEY, P.E., ATTARAN, A., MCBRIEN, K., POTTIE, K. Vaccines alone will not prevent COVID-19 outbreaks among migrant workers—the example of meat processing plants, *Clinical Microbiology and Infection*, v. 28, n. 6, p. 773-778, 2022.
- FAROMBI, E.O. e OWOEYE, O. Preventive Properties and Chemo of *Vernonia amygdalina* and *Garcinia bioflavonoid*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8,2533-2555, 2011.
- GOBBO-NETO, L., LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v.30, n. 2, 374-381, 2007.
- HAGERMAN, A. E.; BUTLER, L. G. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal. of Agriculture. and Food Chemistry.*, 26, 809-812, 1978.
- HUBER, L.S. e RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonóis e flavonas: Fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. *Alimentos e Nutrição*, v.19, n.1, p. 97- 108, 2008. Acesso em: 13 set.2022.
- HUFFMAN, M. A., GOTOH, S., IZUTSU, D., KOSHIMIZU, K., KALUNDE, M. S. Further observations on the use of the medicinal plant, *Vernonia amygdalina* (Del) by a wild chimpanzee, its possible affect on parasite load, and its phytochemistry. *African Study Monographs*, v. 14, p. 227–240, 1993.
- IDDIR, M.B.A., DINGEO, G., FERNANDEZ DEL CAMPO, S.S., SAMOUDA. H., LAFRANO, M.R., BOHNT, T. Strengthening the Immune System and Reducing Inflammation and Oxidative Stress though Diet and nutrition: Considerations during the COVID-19 Crisis. *Nutrients*, n.12, v.6, p.1562, 2020.
- IGILE, G.O., OLESZEK, W., JURZYSTA, M., BURDA, S., FAFUNSO, M. and FASANMADE, A. A. Flavonoids from *Vernonia amygdalina* and their antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 2445-2448. .(1994) <https://dx.doi.org/10.1021/jf00047a015>

JISAKA, M.; OHIGASHI, H.; TAKEGAWA, K.; HUFFMAN, M. A.; KOSHIMIZU, K. Anti-tumoral and antimicrobial activities of bitter sesquiterpene lactones of *Vernonia amygdalina*, a possible medicinal plant used by wild chimpanzees. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, v. 57, p. 833–834, 1993.

KARAM, T.K.; DALPOSSO, L.M., CASA, D.M., DE FREITAS, G.B.L. Carqueja (*Baccharis trimera*): utilização terapêutica e biossíntese. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.15, n.2, p.280-286. 2013.

KHODDAMI, A., MEREDITH, A. W., ROBERTS T. H. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, v.18, p. 2328-2375, 2013.

LATHA, D., HRISHIKESH, D., SHIBAN, G., CHANDRASHEKAR, C., BHARATH, BR. n- silico, in vitro screening of plant extracts for anti-SARS-CoV-2 activity and evaluation of their acute and sub-acute toxicity. *Fitomedicine Plus*, v. 2, n. 1002332, p. 1-13, 2022.

LIU, J. LI,S., LIU, J.,LIANG, B.,WANG,X., WANG, H., LI, W., TONG, Q.,YI,J., ZHAO, L., XION, L., GUO,C.,TIAN,J., LUO, J., YAO, J., PANG, R., SHEN, H., PENG, C.,LIU, T., ZHANG, Q., WU, J., XU, L., LU, S., WANG, B., WENG, Z., HAM, C., ZHU,H., ZHOU, R., ZHOU, H., CHEN, X., YE, P., ZHU, B., HE, S., HE, Y., JIE, S., WEI, P., ZHANG, J., LU, Y., WANG, W., ZHANG, L., LI, L., ZHOU, F., WANG, J., DITTENER, U., LU, M., HU, Y., YANG, D., ZHENG, X., Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients, *The American Journal of Gastroenterology*, v.116, n.8, p. 1638-1645, 2021.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil – Nativas e exóticas Nova Odessa: Plantarum, 512p. (2002).

LORENZI, H.H.; Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil, 2ª ed., Nova Odessa, São Paulo, 2000

LUENGAS-CAICEDO, P. E. Contribuição para a padronização de extratos de folhas de *Cecropia Glaziovii* Snethl.: estudos de variação sazonal e intra-específica de flavonóides e pro antocianidinas, de metodologias de extração e de atividade vaso relaxante. 2005. 292 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

LUO, C.H., MA, L.L., LIU, H.M., LIAO, W., XU, R.C., CI, Z.M., LIN, J.Z., HAN, L., ZHANG, D.K. Research Progress on Main Symptoms of Novel Coronavirus Pneumonia Improved by traditional Chinese Medicine, *Frontiers in Pharmacology*, v. 11, n. 556885, p. 1-26, 2020.

MACHADO, H., NAGEM, T.J., PETERS, V.M., FONSECA, C.S., OLIVEIRA, T.T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. *Boletim do Centro de Biologia da Reprodução, Juiz de Fora*, v.27, n.1/2, p. 33-39,2008

MACHADO, K. E. Atividade antimicrobiana dos extratos e frações isoladas da *Eugenia umbelliflora* BERG. Dissertação de Mestrado em ciências Farmacêuticas,2005, Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí.

MAGALHÃES, W. L. E., MATOS, M., LOURENÇON, T.V. Determinação da capacidade antioxidante de lignina pela captura do radical livre DPPH. *Metodologia científica* 147. Colombo. Paraná. 218

MAGALHÃES, W. L. E.; ZANONI, P. R. S.; HELM, C. V.; LAZZAROTTO, M.; SATYANARAYANA, K. G. Nanotechnology applied to improve functionality in food. In: GRUMEZESCU, A. M. (ed.). *Nutrient delivery*. Amsterdam: Elsevier, 2017. cap. 5, p. 177-219.

- MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. SPACINO. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. *Química Nova*, v.31, n.5, p. 1218-1223, 2008.
- MARTINS, M.M. Constituintes voláteis, fenóis totais, capacidade antioxidante e biológica de folhas, flores e raízes da *Vernonia brasiliensis* Less., Dissertação de Mestrado, Programa de Pós- Graduação em Química, Universidade Federal de Uberlândia, 67f., 2012.
- MATHAI, R.V MANOJ, JINDAL, K., MITRA, J.C., SAR, S.K. COVID-19 and medicinal plants: A critical perspective, *Forensic Science International: Animals and Environments*, v. 2, n. 100043, p1-6, 2022.
- MILLER, N.J., RICE-EVANS, C.A., DAVIES, M.J., GOPINATHAN, V., MILNER, A. A. Novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, v. 84, p. 407-412, 1993
- MUNIZ, H. J. T. Colecionando Frutas: 100 espécies de frutas nativas e exóticas. *Arte e Ciência*, 352 p., 2008. UFRJ. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Museu Nacional – Horto botânico.
- NEUMAN, B.K.G., KUNDING, A., BHELLA, D., BAKSH, M., CONNELLY, S., DROESE, B., KLAUS, J., MAKINO, S., SAWICKI, S., SIDDELL, S., STAMOU, D., WILSON, , I., KUHN, P., BUCHMEIER, M. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *Journal of Structural Biology*, v. 174, n. 1, p. 11-22, 2011.
- NISHIYAMA, M. F. et al. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. *Ciênc. Tecnol. Alimentos*, v. 30, p. 191-196, maio 2010.
- NISHIYAMA, M. F. et al. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. *Ciênc. Tecnol. Alimentos*, v.30, p. 191-196, 2010.
- NÓBREGA, A. B. Obtenção de um insumo farmacêutico ativo vegetal a partir de folhas de *Eugenia florida* DC para o desenvolvimento de um antitumoral. Tese de Doutorado (Ciências Aplicadas à Produtos para Saúde) – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal Fluminense, UFF, Niterói, 300 f., 2017. Acessado em 26/08/2022.
- NUNES, M. G. S.; BERNARDINO, A. de O.; MARTINS, R. D. Uso de plantas medicinais por pessoas com hipertensão. *Revista da Rede de Enfermagem Do Nordeste*, v.16, n.6, p. 775- 81, 2015.
- OLIVEIRA, E. R.; SILVA, R. F.; SANTOS, P. R.; QUEIROZ, F. Potential of alternative solvents to extract biologically active compounds from green coffee beans and its residue from the oil industry. *Food and Bioproducts Processin*, v. 115, p. 47-58, maio 2019.
- ORIAKHI, K., OIKEH, E.I., EZEUGWU, N., ANOLIEFO, O., AGUEBOR, O., OMOREGIE, E.S. Comparative Antioxidant Activities of Extracts of *Vernonia amygdalina* and *Ocimum gratissimum* Leaves. *Journal of Agricultural Science*, v.6, n.1, p. 13-20, 2013.
- OU, B.; HAMPSCH, Maureen W.; PRIOR, R.L. Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n.10, p. 4619 – 26, 2001

RAMOS ALMEIDA, R., RAIMUNDO, M. J., OLIVEIRA, R.R., KAPLAN, C. A. M., GATTAS, C.R., SUDO, T.R., SUDO, Z. G., Atividade de *Cecropia lyratiloba* extrato sobre contratura de músculos cardíacos e lisos em ratos wistar. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. Volume 33, Edição 1-2 janeiro de 2006. Páginas 109-113.

RE, R., PELEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

REGIS, B.C., FERNANDES, A.S.T., POL-FACHIN, L., LE CAMPION, A.C.O.V. Atualização sobre a pandemia do COVID-19: uma revisão integrativa. *Brazilian Journal of Health*. v. 3, n. 5, p. 11710-11724. set./out, Curitiba, 2020.

RODRIGUES, V. C.; SILVA, M. V.; SANTOS, A. R.; ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I. Evaluation of hot and cold extraction of bioactive compounds in teas. *International Journal of Food Science and Technology*, v.50, p. 2038-2045, 2015.

RUFINO, S.M., ALVES, E.R., BRITO, S.E., MORAIS, M.S., SAMPAIO, G.C., JIMÉNEZ, P. J., CALIXTO, S. D..F., Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH, comunicado técnico 127, ISSN 1679 6535, julho 2007, Fortaleza, CE.

RUSSO, M., MOCCIA, S., SPAGNUOLO, C., TEDESCO, I., RUSSO, G.L. Roles of flavonoids against coronavirus infection, *Chemico-Biological Interactions*, v. 328, n. 109211, p. 1-14, .2020.

SALVADOR, M.J.; FERREIRA, E.O.; MERTENSTALCOTT, S.U.; CASTRO, W.V.; BUTTERWECK, V.; DERENDORF, H.; DIAS, D.A. Isolation and HPLC quantitative analysis of antioxidant flavonoids from *Alternanthera tenella* Colla. *Zeitschrift für Naturforschung*, v. 61, p. 19-25, 2006.

SANDERS, J.M., MONOGUE, M.L., JODLOWSKI, T.Z., CUTRELL, J.B. Tratamentos farmacológicos para a doença de coronavírus 2019 (COVID-19): uma revisão. *The Journal of the American Medical Association*, v. 323, n. 18, p. 1824-1836, 2020

SAVI, A. Otimização do processo de extração de compostos bioativos de folhas de jambo (*Syzygium malaccense*). Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Industrial) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 48 f. ,2015.

SHARMA, K. et al. Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. *Journal of Food and Drug Analysis*, v. 23, n. 2, p. 243-252, jun. 2015.

SILVA, F.G.C., BORGES, A.L.T.F., OLIVEIRA, J.V.L., PRATA, A.P.N., PORTO, I.C.C.M., ALMEIDA, C.A.C., SOUSA, J.S., FREITAS, J.D., OLIVEIRA-FILHO, A. D., REIS, F.M.P., OLIVEIRA, R.A.G., SILVA, S.A.S., NASCIMENTO, T.G. Foods, nutraceuticals and medicinal plants used as complementary practice in facing up the coronavirus (covid-19) symptoms: a review. *SciELO - Scientific Electronic Library online*, p.1-58, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.317>.

SOUSA, E.O.; MIRANDA, C.M.B.A.; NOBRE, C.B.; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; COSTA, J.G.M. Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis* extracts. *Industrial Crops and Products*, v.70, p. 7-15, 2015.

STRATIL, P., KLEJDUS, B., KUBAN, V. Determination of Total Content of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Vegetables Evaluation of Spectrophotometric Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.54, p. 607-616, 2006.

- TABARAKI, R.; HEIDARIZADI, E.; BENVIDI, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. Separation and Purification Technology, v. 98, p. 16-23, set. 2012.
- TAVARES, C. DE A.M., AVELINO-SILVA, T.J., BENARD, G., CARDOZO, F.A.M., FERNANDES, J.R., GIRARDI, A.C.C., FILHO, W.J. Alterações da ECA2 e Fatores de Risco para Gravidade da COVID-19 em Pacientes com Idade Avançada. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 115, n. 4, p. 701-707. 2020.
- TEMPONI, V. DOS S. Investigação Química e Atividades Farmacológicas de *Vernonia polyanthes* Less. –Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 98 f., 2012.
- THOO, Y. Y.; HO, S. K.; LIANG, J. Y.; HO, C. W.; TAN, C. P. Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). Food Chemistry, v.120, p. 290-295, 2010.
- TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients, v.2, n.12, p. 1231-1246, 2010.
- TUNASAMY, K., SURYADEVARA, N., ATHIMOOLAM, T. Screening of *Vernonia amygdalina* leaf extracts for antioxidant and antimicrobial activity. Materials Today: Proceedings, v.16, p. 1809–1818, 2019. doi:10.1016/j.matpr.2019.06.055
- TURKMEN, N.; SARI, F.; VELIOGLU, Y. S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. Food Chemistry, v.99, n. 4, p. 835-841, 2006.
- UGBOGU, E.A., EMMANUEL, O., DIKE, E.D., AGI, G.O., UGBOGU, O.C., IBE, C., IWEALA, E. J. The Phytochemistry, Ethnobotanical, and Pharmacological Potentials of the Medicinal Plant-Vernonia amygdalina L. (bitter Leaf), Clinical Complementary Medicine and Pharmacology, v.1, n.1, p. 100006, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ccmp.2021.100006>
- VELASQUEZ, E., H. A TOURNIER, MORDUJOVICH DE BUSCHIAZZO, G. SAAVEDRA, G.R. SCHINELLA., Antioxidant activity of Paraguayan plants extracts. Fitoterapia, v 74, n 1-2, 0.91 – 97, 2003.
- VIGNERON, M., DEPARIS, X., BOURDY, G., Antimalarial remedies in French Guiana: a study of attitudes and practices of knowledge. The Journal Ethnopharmacology, v.98, n.3, p. 351-60, 2005.
- YADAV, M., YADAV, A., YADAV J.P. n vitro antioxidant activity and total phenolic content of endophytic fungi isolated from Eugenia jambolana Lam. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, v.7, n1, p. S256-S261, 2014.
- YOURS, A. H. N., BEH, B. K., ALITHEEN, N. B., YEAP, S. K., HO, W. Y., LIANG, W. S. In vitro and in vivo antioxidant activity of *Vernonia amygdalina* water extract. African Journal of Biotechnology, v. 11, n. 17, p. 4090-4094, 2012.

ROSANGELA DANTAS BARACHO - Fundação Oswaldo Cruz - Campus Mata Atlântica (Fiocruz - Mata Atlântica), Laboratório de Química da Biodiversidade (LQB/PAF). Estrada Rodrigues Caldas, 3400. Curicica, Rio de Janeiro, Brasil. Universidade do Estado do Rio de Janeiro – Campus Zona Oeste (UERJ-ZO). Avenida Manuel Caldeira de Alvarenga, 1203. Inhoaíba, Rio de Janeiro, Brasil.

CARLOS HENRIQUE BRASIL BIZARRI - Fundação Oswaldo Cruz - Campus Mata Atlântica (Fiocruz - Mata Atlântica), Laboratório de Química da Biodiversidade (LQB/PAF). Estrada Rodrigues Caldas, 3400. Curicica, Rio de Janeiro, Brasil.

ANDREA BEZERRA DA NÓBREGA - Fundação Oswaldo Cruz - Campus Mata Atlântica (Fiocruz - Mata Atlântica), Laboratório de Química da Biodiversidade (LQB/PAF). Estrada Rodrigues Caldas, 3400. Curicica, Rio de Janeiro, Brasil.

BRUNO DA MOTTA LESSA - Fundação Oswaldo Cruz - Campus Mata Atlântica (Fiocruz - Mata Atlântica), Laboratório de Química da Biodiversidade (LQB/PAF). Estrada Rodrigues Caldas, 3400. Curicica, Rio de Janeiro, Brasil.

PATRICIA REIS PINTO - Universidade do Estado do Rio de Janeiro – Campus Zona Oeste (UERJ-ZO). Avenida Manuel Caldeira de Alvarenga, 1203. Inhoaíba, Rio de Janeiro, Brasil.

ALAÍDE DE SÁ BARRETO - Universidade do Estado do Rio de Janeiro – Campus Zona Oeste (UERJ-ZO). Avenida Manuel Caldeira de Alvarenga, 1203. Inhoaíba, Rio de Janeiro, Brasil.

Avaliação do banco de extratos de plantas medicinais da Fiocruz - Farmanguinhos para prática complementar no enfrentamento dos sintomas do **Coronavírus** (COVID-19)

Ensaio antioxidante

🌐 www.atenaeditora.com.br

✉ contato@atenaeditora.com.br

📷 @atenaeditora

📘 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Avaliação do banco de extratos de plantas medicinais da Fiocruz - Farmanguinhos para prática complementar no enfrentamento dos sintomas do Coronavírus (COVID-19)

Ensaio antioxidante

🌐 www.atenaeditora.com.br

✉ contato@atenaeditora.com.br

📷 @atenaeditora

📘 www.facebook.com/atenaeditora.com.br