



Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Biociência e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia

*Estudo da Atividade Antioxidante de
Frutas Tropicais Exóticas sobre Espécies
Reativas de Oxigênio de importância
Biológica em Ensaios Modelos*

MARCIANO PIRES DA COSTA

**ARARAQUARA – SP
2010**



Marciano Pires da Costa

*Estudo da Atividade Antioxidante de
Frutas Tropicais Exóticas sobre Espécies
Reativas de Oxigênio de importância
Biológica em Ensaios Modelos*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicada à Farmácia (área de Bioquímica), da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre

ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. Olga Maria Mascarenhas de Faria Oliveira

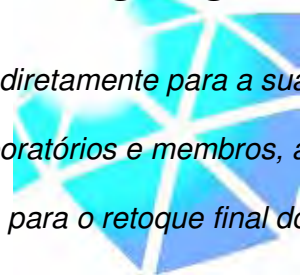
ARARAQUARA – SP
2010

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Enzimologia do Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química do Instituto de Química – UNESP/Campus Araraquara e no Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP/Campus Araraquara.

Fomento: Bolsa CAPES - Mestrado

DEDICATÓRIA

Dedico essa obra à todos aqueles que colaboraram diretamente para a sua construção, principalmente a UNESP com seus laboratórios e membros, a equipe de pesquisa e meus mestres orientadores; e, para o retoque final do acabamento, dedico aos meus amigos e família, a todos esses muito obrigado.



AGRADECIMENTOS



" Eu vejo Deus, como a fonte de toda a energia que criou e mantém o equilíbrio do universo. Vejo Deus na flor e na abelha que lhe suga o néctar para produzir o mel; e no pássaro que devora a abelha; e no homem que devora o pássaro...e no verme que devora o homem. Eu vejo Deus em cada estrela no céu, nas minhas noites nas pousadas, e nos olhos tristes de cada boi, ruminando na envernada. Só não consigo ver Deus no homem que devora o homem, e por isso acho que ainda tenho muito o que aprender nesses caminhos da vida...(Bendito Ruy Barbosa)", portanto eu agradeço à ele maior de todos nós, por ter me dado a vida e a procedência de como vivê-la, por guiar meus passos e pela proteção familiar e o amparo eterno.

Aos meus familiares, avós, pais, irmãs, tios e primos pelos exemplos de amor, perseverança e retidão.

"A Família não nasce pronta; constrói-se aos poucos, e é o melhor laboratório do amor. Em casa, entre pais e filhos, pode-se aprender a amar, pode-se experimentar com profundidade a grande aventura de amar sem medo. A família pode ser o ambiente mais apropriado para uma maravilhosa experiência de amor", e com isso agradeço infinitamente aos meus pais Ismael e Maria Aparecida, por terem me dado a vida e incentivo para ser um grande homem, as minhas irmãs Gabriela e Maria Eduarda, por me fazer saber o que é âmago fraternal, obrigado por todo o amor dado até hoje e o que ainda vão dar até o infinito !

*“O que é um amigo? Uma única alma habitando dois corpos... (Aristóteles)”,
então são a eles que agradeço imensamente pela companhia, sem eles meus
projetos vitais não seriam possíveis.*

*Aos colegas de trabalho: Vanessa (mentora de minhas aprendizagens no
laboratório), Vânia, Clara, Michelle, Omar, Kátia, Ricardo, Marcos, José Carlos,
Lili, Rô, Tosca, Tati, Fer Sangalli, Cilene, Cabeça, Bozeno, Dani, Caro, Thaita,
e Marcelinha pelo ambiente de trabalho favorável e facilitador de minha
jornada.*

*Ao professor Iguatemy Lourenço Brunetti pelo apoio e suporte oferecidos, pelas
cobranças que me fortaleceram; à Teresa Pepato pelo estágio de docência; à
Maria José Mendes Gianinni (Zezé), por me dar o suporte inicial na UNESP.*

*Aos professores e funcionários do Departamento de Análises Clínicas da
FCFAR-UNESP.*

À Laura, Cláudia e Sônia pela paciência, auxílio e apoio.

*À Profa. Olga Maria Mascarenhas de Faria Oliveira por me permitir aprender e
crescer profissionalmente, responsável pelo alicerce da obra. Pela amizade,
compreensão, preocupação e apoio em todos os momentos.*

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

ABREVIATURAS

| | |
|---------------------------------|--|
| NADPH | Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Reduzida; |
| ABTS ^{•+} | ácido 2,2 – azino – di(3-etil-benzotiazolina)-6-sulfônico; |
| DPPH | 1,1 – difenil-2-picril-2-hidrazina; |
| LDL | Lipoproteína de baixa densidade; |
| LPMN | Leucócitos polimorfonucleares; |
| ERO | Espécie Reativa de Oxigênio; |
| TMB | 3,5,3',5' Tetrametilbenzidina; |
| DTNB | ácido 5,5'- ditio-2-nitrobenzóico; |
| TNB | ácido-5-tio-2-nitrobenzóico; |
| O ₂ ^{•-} | Radical ânion superóxido; |
| PMS | Metassulfato de fenazina; |
| H ₂ O ₂ | Peróxido de hidrogênio; |
| SOD | Superóxido dismutase; |
| Na ₂ CO ₃ | Carbonato de sódio; |
| λ | comprimento de onda; |
| GSH | Glutathiona reduzida; |
| AlCl ₃ | Cloreto de alumínio; |
| HOCl | Ácido hipocloroso; |
| IC ₅₀ | Índice de 50% de Inibição; |
| NBT | <i>nitro blue tetrazolium</i> ; |
| OH [•] | Radical hidroxil; |
| ONNO [•] | Peroxinitrito; |
| EtOH | Etanol; |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 01 – Araçazeiro; | 27 |
| Figura 02 – Araçá; | 28 |
| Figura 03 – Árvore da Atemóia; | 29 |
| Figura 04 – Atemóia; | 30 |
| Figura 05 – Bunchózeira; | 32 |
| Figura 06 – Bunchósia; | 32 |
| Figura 07 – Cajazeiro (a); | 33 |
| Figura 08 – Cajá-Manga; | 34 |
| Figura 09 – Árvore do Canistel; | 35 |
| Figura 10 – Canistel; | 36 |
| Figura 11 – Árvore da Carissa; | 37 |
| Figura 12 – Carissa; | 37 |
| Figura 13 – Árvore do Falso Mangostão; | 39 |
| Figura 14 – Falso – Mangostão; | 39 |
| Figura 15 – Árvore do Jambo Vermelho; | 41 |
| Figura 16 – Jambo-Vermelho; | 41 |
| Figura 17 – Árvore do Jatobá; | 43 |
| Figura 18 – Jatobá; | 44 |
| Figura 19 – Jenipapeira; | 45 |
| Figura 20 – Jenipapo; | 45 |
| Figura 21 – Jujubeiro; | 47 |
| Figura 22 – Jujuba; | 48 |
| Figura 23 – Mangostanzeiro | 49 |
| Figura 24 – Mangostão | 50 |
| Figura 25 – Árvore da Massala | 53 |
| Figura 26 – Massala | 54 |
| Figura 27 – Árvore da Pitaya | 54 |
| Figura 28 – Pitaya | 55 |
| Figura 29 – Os fagócitos são capazes de promover a oxidação da LDL através da produção de espécies oxidantes; | 57 |
| Figura 30 – Estrutura molecular do DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazina); | 78 |

| | |
|--|----|
| Figura 31 – Estrutura molecular do ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] | 79 |
| Figura 32 – Oxidação do ABTS pelo $K_2S_2O_8$. | 79 |
| Figura 33 – Peróxido de Hidrogênio; | 80 |
| Figura 34 – TNB (ácido 5-tio-2nitrobenzóico); | 80 |
| Figura 35 – DTNB ácido 5-5'-ditio 2-nitrobenzóico; | 80 |
| Figura 36 – TMB (3,5,3',5'-Tetrametilbenzidina) | 81 |

| | |
|---|----|
| Esquema I - Redução tetravalente do oxigênio molecular (O_2) na mitocôndria até a formação de H_2O | 58 |
|---|----|

| | |
|--|-----|
| Tabela 1 – Radicais Livres e espécies relacionadas de importância biológica (LAURINDO et al.,1996). | 61 |
| Tabela 2 Relação das frutas analisadas com suas especificações botânica e classificação etiológica. | 77 |
| Tabela 3 - % de IC_{50} do Ensaio de DPPH das Frutas Tropicais e Exóticas | 87 |
| Tabela 4 – % de IC_{50} do Ensaio de ABTS das Frutas Tropicais e Exóticas | 88 |
| Tabela 5 – % de IC_{50} do Ensaio de H_2O_2 das Frutas Tropicais e Exóticas | 90 |
| Tabela 6 – % de IC_{50} do Ensaio de HOCL das Frutas Tropicais e Exóticas | 92 |
| Tabela 7 – % de IC_{50} do Ensaio de $O_2^{\cdot -}$ das Frutas Tropicais e Exóticas | 94 |
| Tabela 8 – Determinação dos Fenóis Totais das Frutas Tropicais e Exóticas | 97 |
| Tabela 9 – Determinação de Flavonóides Totais em 75 μ L das Frutas Tropicais e Exóticas | 98 |
| Tabela 10 – Determinação da Hemólise das Frutas Tropicais e Exóticas | 101 |

| | |
|---|----|
| Gráfico 1 – IC_{50} do efeito de captura sobre o radical DPPH (60 μ M) pelas amostras em etanol absoluto com incubação de 15 minutos; $\lambda=531$ nm | 86 |
| Gráfico 2 – Inibição do radical $ABTS^{\cdot +}$ em tampão fosfato de sódio 10 mM pH 7,4; incubação por 30 minutos. $\lambda = 734$ nm.. | 88 |
| Gráfico 3 – Inibição do radical H_2O_2 em tampão fosfato de sódio 10 mM pH 7,4; incubação por 30 minutos. $\lambda = 734$ nm | 89 |
| Gráfico 4 – IC_{50} do efeito de captura sobre o HOCl; tampão fosfato de sódio 50mM pH7,4; TMB 2,8mM; incubação de 10 minutos e revelação com TMB $\lambda = 652$ nm.* $P < 0,001$ do Mangostão em relação à todas as amostras | 91 |

| | |
|--|-----|
| Gráfico 5 – IC ₅₀ do efeito de captura sobre o radical superóxido em meio reacional com tampão pirofosfato de sódio 25mM pH8,3, NBT 90μM, NADH 116 μM, PMS 15 μM. Incubação de 2 minutos e adição de ácido acético 5% e 10 minutos de incubação. λ = 560nm | 93 |
| Gráfico 6 – Separação de Proteínas | 95 |
| Gráfico 7 – Curva Padrão do Ácido Gálico | 96 |
| Gráfico 8 – Determinação de Fenóis Totais em 75 μL de Amostra no meio reacional do reagente de Folin-Ciocalteu, adicionado logo em seguida Carbonato de Sódio (Na ₂ CO ₃) . λ = 735 nm | 96 |
| Gráfico 9 – Curva Padrão da Quercetina | 98 |
| Gráfico 10 – Determinação de Flavonóides Totais em 75 μL de Amostra no meio reacional de Cloreto de Alumínio e acetato de sódio. λ = 425 nm | 98 |
| Gráfico 11 – Ação dos compostos naturais sobre a hemólise promovida pelo HOCl 100 μM: suspensão de eritrócitos 5%; 4 horas de incubação; 37°C; tampão fosfato de sódio 10mM/NaCl 150mM, pH 7,4; λ = 414 nm | 101 |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| ABREVIATURAS | 08 |
| LISTA DE FIGURAS | 09 |
| RESUMO | 15 |
| <i>ABSTRACT</i> | 16 |
| CAPITULO I | 17 |
| I – JUSTIFICATIVA e INTRODUÇÃO | 18 |
| I.1 – Frutas Tropicais e Exóticas; | 26 |
| I.1.1 – Araçá; | 28 |
| I.1.2 – Atemóia; | 30 |
| I.1.3 – Bunchósia; | 32 |
| I.1.4 – Cajá-Manga; | 34 |
| I.1.5 – Canistel; | 36 |
| I.1.6 – Carissa; | 38 |
| I.1.7 – Falso Mangostão; | 39 |
| I.1.8 – Jambo-Vermelho; | 41 |
| I.1.9 – Jatobá; | 44 |
| I.1.10 – Jenipapo; | 45 |
| I.1.11 – Jujuba; | 47 |
| I.1.12 – Mangostão; | 49 |
| I.1.13 – Massala; | 52 |
| I.1.14 – Pitaya; | 54 |
| II.2 – Explosão Oxidativa – Geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) – Radicais Livres | 56 |

| | |
|---|-----------|
| II.3 – Diferentes Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) | 63 |
| II.3.1 – Ânion Superóxido | 63 |
| II.3.2 – Peróxido de Hidrogênio | 63 |
| II.3.3 – Ácido Hipocloroso | 63 |
| II.4 – Patologias Associadas as Espécies Reativas de Oxigênio | 66 |
| II.5 – Antioxidantes | 68 |
| II.6 - Separação de Proteínas, Determinação de Fenóis e Flavonóides | |
| Totais. | 72 |
| | |
| III – OBJETIVOS | 74 |
| | |
| IV – MATERIAIS e MÉTODOS | 76 |
| IV.1 – Extração da Polpa das Frutas | 78 |
| IV.2 – Ação sobre radicais livres e espécies reativas do oxigênio não radicalares | 79 |
| IV.2.1 – Ensaio Padrão - Atividade <i>Scavenger</i> de radicais pelo DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) | 79 |
| IV.2.2 – Ensaio Padrão - Atividade Antioxidante Total pelo ABTS ^{•+} ([2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]) | 80 |
| IV.2.3 – Atividade <i>Scav.</i> de H ₂ O ₂ (peróxido de hidrogênio) | 81 |
| IV.2.4 – Atividade <i>Scavenger</i> de HOCl (ácido hipocloroso) | 81 |
| IV.2.5 – Atividade <i>Scavenger</i> de O ₂ ^{•-} (Ânion Superóxido) | 82 |
| IV.3 – Separação de Proteínas | 82 |
| IV.4 – Determinação de Fenóis Totais | 83 |
| IV.5 – Determinação dos Flavonóides Totais | 83 |
| IV.6 – Descarte de Resíduos | 84 |
| IV.7 – Análise Estatística | 85 |
| | |
| V – Resultados e Discussão | 86 |
| V.1 – Avaliação do Potencial Antioxidante | 87 |
| V.1.1 – Avaliação Sobre o Radical DPPH | 87 |
| V.1.2 – Avaliação Sobre o Radical ABTS | 88 |
| V.1.3 - Avaliação <i>scavenger</i> de H ₂ O ₂ | 90 |

| | |
|--|-----|
| V.1.4 – Avaliação Sobre o HOCl | 92 |
| V.1.5 - Avaliação sobre o ensaio de Ânion Superóxido | 94 |
| V.1.6 – Determinação de Fenóis Totais | 95 |
| V.1.7 – Determinação de Flavonóides Totais | 96 |
| | |
| V.2 – Estudo com Sistemas Celulares “ <i>ex vivo</i> ” | 100 |
| V.2.1 – Interações com Sistemas Celulares – Hemólise | 100 |
| | |
| V,3 – Reflexão sobre os dados dos objetivos propostos | 102 |
| | |
| VI – Conclusão | 108 |
| | |
| VII – Referências Bibliográficas | 110 |
| | |
| Capitulo II | 127 |

RESUMO

A pesquisa de produtos naturais é uma fonte importante de informações para o desenvolvimento de novos fármacos que tenham ação em diferentes processos oxidativos teciduais. Estudou-se o potencial antioxidante das frutas exóticas e tropicais araçá, atemóia, bunchósia, cajá-manga, canistel, carissa, falso-mangostão, jambo-vermelho, jatobá, jenipapo, jujuba, mangostão, massala, pitaya. Buscou-se a interação das amostras com as espécies reativas de oxigênio sob ensaios modelos. Todas as amostras foram eficientes com as espécies estudadas como ABTS, DPPH, HOCl, H₂O₂, O₂^{•-}, determinação de fenóis, flavonóides; mostrou-se ainda que as amostras tiveram um potencial favorável com relação a células, no caso, eritrócitos quando em presença de radicais livres e outras espécies reativas. Na pesquisa da ação de frutas e outros produtos naturais em processos oxidativos modelo deve-se buscar possíveis efeitos protetores e agressores aos sistemas biológicos.

Palavras-Chaves: frutas, estresse Oxidativo, espécies reativas de oxigênio e antioxidantes.

ABSTRACT

The search for natural products is an important source of information for the development of new drugs that have action in different tissue oxidative processes. Studied the antioxidant potential of fruit and exotic tropical guava, atemoya Bunchosia, caja-manga, Pouteria campechiana, Carissa, false mangosteen, wax jambu, jatoba, jenipapo, jujube, mangosteen, masala, pitaya. We attempted to sample the interaction with the reactive oxygen species under test models. All samples were efficient in the studied species such as ABTS, DPPH, HOCl, H₂O₂, O₂ • -, determination of phenols, flavonoids, showed also that the samples had a positive potential with respect to cells, in this case, when in erythrocytes presence of free radicals and other reactive species. In search of action of fruits and other natural products in oxidation processes model should seek protective effects and possible attackers to biological systems.

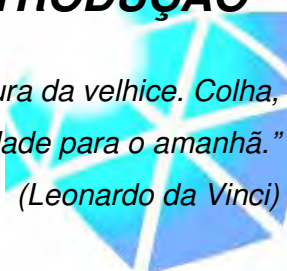
Key Words: fruits, Oxidative stress, reactive oxygen species and antioxidants.

CAPÍTULO I

I – JUSTIFICATIVA e INTRODUÇÃO

*“O conhecimento torna a alma jovem e diminui a amargura da velhice. Colha,
pois, a sabedoria armazena suavidade para o amanhã.”*

(Leonardo da Vinci)



Os produtos naturais apresentam ampla aplicação na atualidade, sendo empregados em diversas áreas, como a da saúde, onde são utilizados como agentes terapêuticos para diferentes fins. Com a difusão da idéia de que são “menos nocivos” e produzem “menos efeitos colaterais” do que medicamentos sintéticos, os produtos naturais são cada vez mais utilizados.

As plantas e seus frutos têm desempenhado um papel fundamental no desenvolvimento de novos fármacos por muitos anos, pois elas têm sido utilizadas como fontes de produtos naturais biologicamente ativos. Estima-se atualmente que estes produtos estejam envolvidos no desenvolvimento de aproximadamente 44% de todas os novos fármacos prescritos (MALLAVARAPU, 2001).

Atualmente tem-se a idéia de que o consumo de produtos caracterizados como antioxidantes são benéficos para o organismo. Nesse intuito, a proposta do trabalho foi estudar o potencial antioxidante de frutas exóticas tropicais brasileiras mediante ensaios com espécies químicas radicalares e seus sistemas geradores.

Desde os primórdios da existência humana, os homens buscam na natureza recursos para melhorar suas próprias condições de vida, aumentando suas chances de sobrevivência. Tal interação é fortemente evidenciada na relação entre seres humanos e plantas, uma vez que os usos dos recursos vegetais são dos mais diversos e importantes em várias culturas, como é o caso da alimentação e das finalidades medicinais, bem como a construção de moradias e a confecção de vestimentas (BALICK e COX, 1997).

Historicamente, muitas pessoas têm se interessado em entender as relações entre membros de sua própria cultura ou de diferentes grupos culturais e as plantas. Há pouco mais de um século foi cunhado o termo Etnobotânica, dentro de um contexto acadêmico, para designar o estudo dessas relações (MINNIS, 2000).

O emprego de plantas medicinais para a manutenção e a recuperação da saúde tem ocorrido ao longo dos tempos desde as formas mais simples de tratamento local até as formas tecnologicamente sofisticadas de fabricação industrial. Mas, apesar das enormes diferenças entre as duas maneiras de uso, em ambos os casos o ser humano percebeu, de alguma forma, a existência de algo nas plantas que tem a propriedade de provocar reações benéficas ao organismo (LORENZI e MATOS, 2008).

Os primeiros europeus que no Brasil chegaram logo se depararam com uma grande quantidade de plantas medicinais (constituintes – folha, broto, fruto, caule e raiz) em uso pelas inúmeras tribos indígenas que aqui viviam. Os conhecimentos sobre a flora local acabaram se fundindo àqueles trazidos da Europa. Além disso, muitas plantas conhecidas no Velho Mundo por suas propriedades medicinais induziram os europeus a testarem usos similares para

as espécies nativas. Os escravos africanos também deram sua contribuição com o uso de plantas trazidas da África, muitas delas originalmente utilizadas em rituais religiosos, mas também utilizadas por suas propriedades farmacológicas empiricamente descobertas. Até meados do século XX, o Brasil era um país essencialmente rural, com amplo uso da flora medicinal, tanto a nativa quanto a introduzida. Porém, com o início da industrialização e aumento da urbanização no país, o conhecimento tradicional passou a ser posto em segundo plano (LORENZI e MATOS, 2008).

De acordo com Alcorn (1995), dados de mais de 20 anos atrás indicam que cerca de 80% da população mundial depende da medicina popular; onde as práticas relacionadas ao uso tradicional de plantas medicinais são o que muitas comunidades têm como alternativa para a manutenção da saúde ou o tratamento de doenças. No entanto, sua continuidade pode ser ameaçada pela interferência de fatores como: maior exposição das comunidades à sociedade envolvente e, conseqüentemente, às pressões econômicas e culturais externas; maior facilidade de acesso aos serviços da medicina moderna (AMOROZO, 2002); e deslocamento de pessoas de seus ambientes naturais para regiões urbanas, o que leva à perda do caráter utilitário do conhecimento acumulado (PINTO et al., 2006).

As boas condições ambientais, do clima, do solo e a crescente demanda por frutas tropicais e exóticas, destacam a fruticultura brasileira como atividade econômica de elevado potencial. As espécies frutíferas tem elevado valor econômico, tanto no comércio de frutas frescas, como na produção de matérias-primas para a agroindústria. O interesse por frutas tropicais e exóticas tem crescido rapidamente a, devido, por um lado, a busca por novos produtos e

sabores, e por outro lado, como forma de incentivo aos pequenos produtores, já que muitas frutas são importantes fontes de alimento e de sustento para as populações de baixa renda em várias partes do mundo (ROGEZ, et al., 2004).

Presente em todos os estados brasileiros, a fruticultura é um dos segmentos da economia mais destacados e em contínua evolução. Atendendo a um mercado interno em constante crescimento e, a cada dia, vem ganhando espaço no mercado internacional, aumentando o volume das exportações, o número das empresas exportadoras, as variedades de frutas exportadas e os países do destino das exportações (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2009).

O Brasil destaca-se como o terceiro produtor mundial de frutas, atrás apenas da China e Índia, com uma área cultivada de cerca de 2,8 milhões de hectares e uma produção de 43 milhões de toneladas anual. O país é capaz de abastecer o mercado interno com 21 milhões de toneladas de frutas e exportar o restante. No final de 2005 até o final do ano de 2006 o valor bruto da produção de frutas atingiu cerca de 16,3 bilhões de reais, 16,5% do valor da produção agrícola brasileira (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2009).

A base agrícola da cadeia produtiva das frutas gera 6 milhões de empregos diretos, 36% do total da mão-de-obra agrícola ocupada no país. Para cada US\$ 10,000.00 (dez mil dólares) investidos em fruticultura, geram-se 3 empregos diretos permanentes e 2 empregos indiretos. Com a produção das frutas é possível alcançar um faturamento bruto de R\$ 1.000 (mil reais) a R\$ 20.000 (vinte mil reais) por hectare (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2009).

O Brasil destaca-se como o terceiro produtor mundial de frutas, com um volume produzido de 34,5 milhões de toneladas, em 2001. Desse total, estima-se que apenas 0,8% (cerca de 300 mil toneladas) seja constituído por frutas tropicais pouco exploradas economicamente. Com relação à comercialização, em 1996, o Brasil exportou apenas 150 toneladas de frutas tropicais frescas pouco exploradas, ocupando a 20ª posição entre os países exportadores. No entanto, o país apresenta um potencial muito grande para participar mais intensa e ofensivamente do mercado internacional (SILVA JUNIOR; BEZERRA e LEDERMAN, 2008).

Segundo os especialistas existem aproximadamente 3.000 cultivares de frutas comestíveis na zona tropical e, destas, cerca de 920 são nativas da América. Das 3.000, somente 50 espécies são conhecidas por amplos setores da população e apenas 12 delas são significativamente exploradas. Além de alimentar, as frutas têm ainda grande potencial combustível, agroindustrial, forrageiro, medicinal e ornamental (CARVALHO NETO, 2009).

A caminho do sucesso, o setor de fruta tem algumas barreiras para vencer. A primeira delas é consolidar o desenvolvimento sustentável, ou seja, pensar a produção como um processo em cadeia que envolva todo o setor, adotando uma filosofia global de produção integrada para assegurar produtos de boa qualidade. Outro grande desafio é aumentar o consumo de frutas no Brasil, para ter suporte e sustentar as ações de fomento à exportação. O terceiro ponto é a agro-industrialização das frutas, culminando com a produção de doces, sucos, sorvetes e outros derivados (VIEIRA, 2000).

Algumas frutas de origem brasileira hoje em dia são comercializadas por todo o mundo e algumas delas são até mesmo produzidas em diferentes

continentes, distantes da América do Sul. No entanto, muitas frutas ainda são apenas comercializadas local e regionalmente e apesar da crescente demanda, tanto para o consumo *in natura* quanto para a indústria, existe escassez de conhecimentos sobre sua composição química, caracterização bioquímica e formas de aproveitamento, por isso é importante estudá-las na área biológica, para posterior ajuda na comercialização de fármacos para saúde (VIEIRA, 2000).

As frutas objeto do estudo são exóticas e algumas naturais brasileiras, e foi proposto estudar o poder antioxidante do suco delas, com ensaios “químicos” e celulares, para se averiguar o poder antioxidante delas frente a radicais livres característicos de organismo vivo, comparado aos padrões clássicos.

II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A atenção é a mais importante de todas as faculdades para o desenvolvimento da inteligência humana.

(Charles Darwin)



II.1 FRUTAS TROPICAIS E EXÓTICAS

No Brasil produz-se uma grande variedade de frutas, o que é decorrência da extensão do território, sua posição geográfica e suas condições edafoclimáticas. No Sudeste o clima mais suave, mas não rigidamente marcado pelas estações do ano, permite a coexistência de muitas frutas. No Sul o clima temperado é marcante, onde se identifica uma fruticultura sazonal e caracterizada por frutas de clima temperado por excelência (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2009).

Já no Nordeste o clima seco e com um alto nível de exposição solar permite uma boa produtividade. Graças aos sistemas de irrigação e às altas temperaturas durante o ano todo, nessa região são cultivadas frutas tropicais, subtropicais e mesmo frutas temperadas. No Norte o clima tropical úmido permite o desenvolvimento de uma fruticultura exótica e peculiar, com espécies ainda não bem conhecidas e pouco consumidas (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2009).

Visto a característica da proposta de trabalho é importante destacar as frutas tropicais e exóticas selecionadas para o estudo, principalmente, pela escassez de conhecimento a respeito de sua composição química e caracterização bioquímica. Além disso, o presente estudo constitui uma continuidade de outro trabalho desenvolvido no Laboratório de Enzimologia do Instituto de Química de Araraquara, onde as frutas foram trabalhadas sobre extração e caracterização de pectina, açúcares redutores e teor de proteína

II.1.1 - ARAÇÁ

O araçá - *Eugenia stipitata* da família *Myrtaceae*- é um fruto de regiões tropicais e subtropicais que tem sua origem na Amazônia brasileira e nas Guianas. Há diversos cultivares de araçá: araçá-branco, araçá-cinzento, araçá-rosa, araçá-vermelho, araçá-verde, araçá-amarelo, araçá-do-mato, araçá-da-praia, araçá-do-campo, araçá-de-festa, araçá-de-minas, araçá-do-pernambuco, araçá-do-pará, araçá-de-coroa, araçá-boi, araçá-pêra, araçá-manteiga, araçá-de-folha-grande, araçá-miúdo, araçá-mirim, araçá-guaçu, araçá-peba, araçá-piranga, araçá-araçanduba, araçá-comum, araçá-verdadeiro ou, simplesmente araçá; esses muitos araçás encontram-se espalhados por todo o Brasil, dos campos sulinos até a floresta amazônica, de preferência onde haja umidade e calor (ALMEIDA, 2009).

O araçazeiro é um arbusto de médio porte, atingindo de 2 a 10m de altura com tronco de casca castanho-avermelhada e descamante em placas finas, com copa arredondada e cheia. As folhas são geralmente avermelhadas quando jovens, possuindo flores branco-esverdeadas (Figura 1; ALMEIDA, 2009).



Figura 1 – Araçazeiro

Fonte: http://eptv.globo.com/ETG_FOTOS/FLORA/58.jpg

O fruto é uma baga globosa, piriforme, ovóide ou achatada, de coloração verde, amarela ou vermelha de acordo com a espécie. A polpa é branca, amarelada ou avermelhada, mucilaginosa, aromática, contendo muitas sementes (Figura 2; HAMINIUK, 2005).



Figura 2- Araçá

Fonte: <http://www.midiaville.com.br/UserFiles/Image/frutas/araca2p.jpg>

O araçá tem o seu sabor lembrando um pouco de goiaba, embora seja um pouco mais ácido e de perfume mais acentuado, eles amadurecem por volta de setembro no ano (HAMINIUK, 2005).

Além da fruta comestível, outras partes da planta também têm propriedades terapêuticas, por exemplo: i) as folhas, os brotos, bem como os frutos do araçá do campo são adstringentes; suas raízes e cascas são empregadas em decocções para combater a diarreia; ii) as cascas do araçá de coroa são usadas para estancar hemorragias em geral; iii) as folhas do araçá de flor grande são utilizadas em banhos para aliviar as dores provocadas pela artrite e pelo reumatismo; e iv) as hemoptises e demais hemorragias, bem como as diarreias, podem ser tratadas com as folhas e cascas do araçá pêra e do araçá miúdo (ALMEIDA, 2009).

O araçá é uma fruta pouco conhecida fora da Amazônia e só recentemente começou a ser introduzida na agricultura moderna. Alguns cultivares apresentam excelente potencial econômico, uma vez que produzem

frutos com elevada porcentagem de polpa. O araçá tem potencial para conquistar um lugar de destaque no mercado nacional e internacional, principalmente na forma de sucos e polpas, podendo ainda ser comercializado como sorvete e doces. Além disso, suas folhas são usadas em casos de hemorragias e diarreias (HAMINIUK, 2005).

II.1.2 - ATEMÓIA

No início do século XX, cientistas norte-americanos se empenharam no desenvolvimento de uma fruta com desempenho comercial superior ao da fruta-do-conde - *Ammona squamosa L.* e o sabor da cherimóia - *Annona cherimola Mill.*, um dos mais apreciados no mundo. Do cruzamento artificial nasceu um novo híbrido da família das anonáceas: a atemóia. O primeiro plantio do Brasil foi feito em 1950, hoje as plantações se concentram no Estado de São Paulo e na Região Norte do Paraná, onde tem mostrado uma ótima adaptação (BETTIOL NETO, 2009).

A planta apresenta porte e conformação variáveis, geralmente de copa aberta, esparramada, com altura de diâmetro de 9 a 11m. Produz de 80 a 100 frutos por ano, que pesam entre 100 e 200 gramas, contendo de 6 a 75 sementes por fruto (Figura 3; DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998).



Figura 3 – Atemóiazeira
Fonte: http://eptv.globo.com/ETG_FOTOS/FLORA/59.jpg

A plantação da atemóia está restrita a alguns países tropicais e subtropicais, por adaptar-se melhor às condições intermediárias entre a cherimóia (clima subtropical) e a pinha (clima tropical). As cultivares mais plantadas no Brasil, atualmente, são Gefner e Thompson, outros cultivares que se desenvolvem bem sob determinadas condições são: African Pride, Pink's Mammoth, QAS e algumas seleções locais como PR-3 e PR-1 (KAVATI, 2009).

Os frutos têm forma de coração, pontiaguda em um dos extremos, são verde-amarelados quando maduros, a casca é rugosa e a polpa é branca, com sementes de cor marrom escura - (Figura 4; DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998).



Figura 4 - Atemóia

Fonte: <http://4.bp.blogspot.com/Atemoia.jpg>

Como a atemóia continua sendo desprezada pela maioria dos produtores, a oferta reduzida acaba proporcionando bons preços no mercado e mostra que a fruta tem um grande potencial econômico. Dependendo da época, o quilo no varejo ultrapassa R\$5,00 (cinco reais). Porém, trata-se de uma cultura exigente em irrigação, adubação, podas e pós-colheita, sem esquecer que por ser um híbrido (resultante de um cruzamento) as mudas só devem ser produzidas por métodos vegetativos (enxertia e estaquia). A área

plantada no Brasil é de aproximadamente 1000 hectares, concentrados nas regiões Sul e Sudeste (TODA FRUTA, 2009).

É uma fruta típica de mesa, para consumo ao natural, portanto, a sua aparência é muito importante. Serve também para sorvetes, polpa e suco. Seu valor alimentar é principalmente alto para açúcares (DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998).

As finalidades terapêuticas estão nas sementes, pois essas são oleosas, ralando-as bem se pode fazer tritura ou pó, para se usar na forma de chá em combate as diarreias, onde também as folhas podem ser utilizadas da mesma forma (AMAZÔNIA, 2010).

II.1.3 - BUNCHÓSIA

Esse gênero Bunchósia - *Bunchosia armeniaca* da família *Malpigceae* - compreende cerca de 75 espécies de árvores e arbustos. É nativa da Colômbia e Peru, encontrada também na Amazônia brasileira em altitudes de 1500 a 2400m. Ela pertence à mesma família da popular acerola *Malpighia emarginata* (LORENZI et al., 2006).

Suas folhas são inteiras, ovaladas, grandes, de margens onduladas e com a face interior de coloração mais clara. As flores são axilares em racemos, contendo de 8 a 10 flores de cor amarela e hermafrodita, surgem da primavera ao outono (Figura 5; LORENZI et al., 2006).



Figura 5 – Bunchózeiro

Fonte: <http://herbario.iac.sp.gov.br/Relatorios/ConsultaHerbario.asp?Numlac=31071>

O fruto é uma drupa ovóide ou arredondada de cor verde clara, marrom ou vermelha, dependendo da variedade. A polpa é macia e vermelha de sabor exótico, contendo duas sementes (Figura 6; LORENZI et al., 2006). Podem ser consumidos em natura, sucos, sorvetes, vitaminas e compotas. Quando guardados no refrigerados conservam-se por bastante tempo. A polpa pode ser congelada (LORENZI et al., 2006).



Figura 6 - Bunchósia

Fonte: [flickr.com/photos/mariasg/3215445681/](https://www.flickr.com/photos/mariasg/3215445681/)

Há estudos que mostram as prioridades medicinais da bunchósia em quadros endócrinos como a diminuição do colesterol alto e também a diminuição da glicose em casos diabéticos. Essa fruta auxilia no emagrecimento, por ser rica em água; é rica em vitaminas que atuam no fígado diminuindo a icterícia no caso da hepatite (UFSC, 2010).

II.1.4 CAJÁ-MANGA

O cajá-Manga - *Spondias* pertence à família *Anacardiaceae* e possui mais 18 espécies distribuídas nas Regiões Tropicais da América, África e Ásia. No Brasil, destacam-se as espécies: cajazeira (*Spondias mombin* L.) e cajazeira-manga (*Spondias cytherea* Sonn.) (MARTINS; MELO, 2003).

A cajazeira-manga, também conhecida como cajaraneira, é uma árvore que atinge 20 m de altura, de copa descontínua, ramos alongados. As flores são pequenas e brancacentas (Figura 7; DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998).



Figura 7 – Cajazeiro (a)

Fonte: <http://www.terrastock.com.br/images/full/B6766.jpg>

O cajá-manga é uma dupla elipsóide, tem formato cilíndrico com 6 a 10 cm de comprimento, 5 a 9 cm de diâmetro e peso de 380g, casca amarelo-ouro ou pardacenta. Quando maduros apresentam polpa agridoce e ácida, com endocarpo revestido de espinhos irregulares - (Figura 8; DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998).



Figura 8 – Cajá-Manga

Fonte: <http://www.terrastock.com.br/images/full/B6766.jpg>

Esses frutos têm participação crescente no agronegócio da região Nordeste, principalmente pela comercialização para consumo como fruta fresca e processamento de polpa, que apresenta grande aceitação no mercado pelo sabor exótico, excelente qualidade e valor comercial como matéria-prima no preparo de sucos, picolés, sorvetes, néctares e geléias (SOARES et al., 2006).

Na região Nordeste, a polpa do cajá é a que possui maior demanda entre as polpas de frutas comercializadas, entretanto, a sua industrialização é dependente das variações da safra, uma vez que a sua produção ainda se apóia na exploração extrativa da cajazeira, e a da grande perda de frutos devido a problemas de colheita e de transporte. Desse modo, apesar da polpa do cajá despertar interesse em outras Regiões do país, a atual produção industrializada não é suficiente para atender o mercado. Atualmente, a polpa congelada de cajá é uma das mais apreciadas em nível nacional, e a demanda aumenta a cada dia, portanto, existe um amplo mercado interno e externo a ser explorado (MARTINS; MELO, 2009).

Na medicina popular e indústria farmacêutica é crescente a utilização da cajazeira. A casca da cajazeira é empregada como, antidesintérica, antiblenorrágica anti-hemorroidária, sendo esta última propriedade também atribuída à raiz. As folhas são também úteis contra febres biliosas,

constipações do ventre, dores do estômago, complicações consecutivas ao parto e certas enfermidades dos olhos e da laringe (MARTINS; MELO, 2002).

II.1.5 CANISTEL

O canistel - *Pouteria capechiana* da família *Sapotaceae* é pouco conhecido fora da sua região de origem, na América Central, embora tenha sido introduzida em várias regiões Tropicais do mundo. No Brasil a introdução de cultivares dessa espécie foi feita em 1986, da Flórida, onde é plantada em pomares domésticos (DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998).

A planta é de porte médio, em geral, não atinge mais de 8 m, mas, em condições favoráveis, pode atingir de 27 a 30m de altura e 1 m de diâmetro. Os ramos tendem a se curvar e formar uma copa arredondada e aberta. As folhas medem de 10 a 25 cm de comprimento. As flores são pequenas, ocorrendo entre as folhas dos ramos mais novos e são produzidas, usualmente, na estação chuvosa (Figura 9; MORTON, 1987).



Figura 9 - Árvore do Canistel

Fonte: http://www.tiskita-lodge.co.cr/fruit_collection/images/canistel/árvore

O fruto pode variar de cor, mas a usual é amarela, com polpa e fina e um pouco pegajosa. Várias formas de fruto podem ocorrer, desde a arredondada até a alongada, sendo mais comum aquela com uma ponta no ápice. O comprimento do fruto varia de 7,5 a 12,5 cm e largura de 5 a 7,5 cm. Podem ocorrer de 1 a 4 sementes por fruto, de cor preta, com 1 a 2 cm (Figura 10; MORTON, 1987).



Figura 10 – Canistel

Fonte: - http://www.tiskita-lodge.co.cr/fruit_collection/images/canistel.jpg

A colheita do canistel pode ser feita ainda com o fruto firme na planta, mas bem desenvolvido e com sua coloração típica, pois amadurece após colhido. Se mantidos a temperatura ambiente, os frutos se tornam maduros em 3 a 10 dias. Os frutos maduros podem ser mantidos sob refrigeração por vários dias (DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998).

A polpa canistel pode ser consumida ao natural ou batida com leite, sorvete e usada em confeitaria (DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998). Na Flórida o canistel é consumido com sal, pimenta e suco de limão, ou ainda, depois de assado. A fruta pode também ser seca e transformada em um pó bastante nutritivo. É uma fruta rica em niacinas e carotenóide, além de possuir um nível considerável de ácido ascórbico (MORTON, 1987).

O canistel também é empregado com finalidade medicinal, a casca da árvore é utilizada para fazer uma cocção adstringente aplicada em erupções

cutâneas. Além disso, um preparado das sementes é empregado contra úlceras (MORTON, 1987).

II.1.6 CARISSA

A carissa - *Carissa grandiflora* da família *Apocynaceae*, também é conhecida como ameixa de Natal, e originária da Região Costal de Natal, ao Sul da África. É uma das plantas mais populares a beira mar no Sul da Flórida, devido à tolerância à maresia e aos danos do vento; A planta é um arbusto compacto que exsuda látex branco agrotóxico e pode atingir até 4,5m de altura. As folhas são espessas, verde-escuras, com 2,5 a 5 cm. Os galhos apresentam espinhos ramificados com até 5 cm, por esse motivo é comumente usada como cerca viva; as flores brancas e aromáticas florescem uma vez ao ano (Figura 11; JOYNER, 2008).



Figura 11 – Árvore da Carissa

Fonte: <http://www.treknature.com/gallery/Asia/India/photo149718.htm>

O fruto apresenta 5cm de comprimento e forma ovóide, cor avermelhada e casca lisa. A polpa pode ser consumida ao natural apesar de exsudar látex; serve para geléias, sorvetes e sucos. O doce de carissa lembra o sabor de *Cranberries* - (Figura 12; JOYNER, 2008).



Figura 12 – Carissa

Fonte: <http://www.treknature.com/gallery/Asia/India/photo149718.htm>

A carissa deve estar completamente madura, com coloração rosa-escura e textura macia, para ser consumida. A polpa pode ser ingerida ao natural apesar de exsudar látex, porém ela é frequentemente consumida na forma de doces, geléias, sorvetes e sucos (DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998).

II.1.7 FALSO-MANGOSTÃO

O falso mangostão - *Garcinia Xanthochymus* da família das *Clusiaceae* é uma espécie originária da Ásia, na região da China e Índia, podendo ser encontrada desde o Sul do Vietnã até a Malásia. O mangostanzeiro é uma planta frutífera exótica, pouco conhecida no Brasil, mas pode ser encontrada nos pomares domésticos, embora a maioria desconheça o seu verdadeiro nome, algumas regiões também o chamam de mangostão-amarelo (SHINOHARA et al., 2008).

A árvore é perene (sobrevive e frutifica por muitos anos), tem até 20 m de altura, tronco ereto, casca marrom-clara, copa densa e piramidal. As folhas são simples, verde, lisas, brilhantes, subcoriácea, de 22 a 30 cm de

comprimento por 8 a 12 cm de largura e dispostas nos ramos em posição oposta, dois a dois. Na inserção das folhas nos ramos, principalmente nas apicais, pode-se observar uma gema com abertura longitudinal de onde saem os novos ramos) – (Figura 13; DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998; REYES, 2008).



Figura 13 – Árvore do Falso Mangostão
Fonte: www.esalq.usp.br/trilhas/fruti/fr13.php

Os frutos têm formato arredondado ou levemente oval, contém um bico terminal e esférico, de cor verde-amarelado na maturidade a semente é envolta em polpa amarela translúcida – (Figura 14; DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998; REYES, 2008).



Figura 14 – Falso – Mangostão
Fonte: http://cookislands.bishopmuseum.org/M/MX1-4/4P097_Garc-xant_RR1_GM_MXa.jpg

A frutificação ocorre de março a agosto. Os frutos são comestíveis, ácidos, usados para sucos, refrescos, doces e geléias. Árvore muito usada ornamentalmente em grandes áreas, como parques e jardins públicos (REYES, 2008).

II.1.8 JAMBO-VERMELHO

O jambo-vermelho - *Syzygium malaccense* da família *Myrtaceae* é originário da Malásia de onde se dispersou as regiões tropicais da África e América. É comumente cultivado das ilhas de Java a Filipinas e Vietnã, também é muito cultivado no Sul da Índia. No Brasil é encontrado nos estados da Região Norte, Nordeste e nas regiões quentes do Sudeste (DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998; MORTON 1987).

A árvore alcança de 12 a 15 m de altura, com um copa muito característica por seu aspecto cônico-alongado e denso, de crescimento rápido. As folhas são coriáceas, oblongo elípticas de 20 a 22 cm de comprimento e de 6 a 9 cm de largura, verde-escuras e brilhantes na arte superior e verde opacas na face interior. As inflorescências aparecem em racemos axilares, com flores hermafroditas, de cor vermelha (Figura 15; DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998).



Figura 15 – Árvore do Jambo – Vermelho
Fonte: www.frutasraras.blogspot.com/jambovermelho

O fruto é uma drupa piriforme de 5 a 8 cm de comprimento, peso médio de 85 g, superfície vermelho-escura, polpa-branca, suculento-esponjosa, contendo uma semente globosa de coloração marrom de 2 a 3 cm de diâmetro. São citadas cultivares com e sem sementes – (Figura16; DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998).



Figura 16 - Jambo-Vermelho
Fonte: frutasraras.blogspot.com/jambovermelho

De agosto a fevereiro, época da florada, ela se recobre de flores vermelhas, dando-lhes um aspecto bastante ornamental. Os frutos desenvolvem-se desta data até a época da colheita, que se dá de janeiro a maio (DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998).

O jambo-vermelho é consumido *in natura* ou na forma de compostas e doces (DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998). Em Porto Rico é comum o preparo de vinhos branco e tinto de mesa. Na Indonésia, as flores são consumidas em saladas ou preparadas na forma de xaropes. As folhas e brotos jovens são consumidos crus com arroz, ou como verduras (MORTON, 1987).

Esse fruto possui propriedades adstringentes, antibacterianas, antiviral, estomáquica e laxante. É indicado contra tosse, catarro nos pulmões, diabete, diarréia, constipação e enxaqueca. A bebida obtida de decocção da casca do tronco pode ser utilizada como paliativo para dores de estômago e diarréia. Também é relatado benefício sobre a pressão sanguínea (MORTON, 1987; AHMAD e ISMAIL, 2009).

II.1.9 JATOBÁ

O Jatobá, - *Hymenaea courbaril* L. da família *Caesalpinioideae*) trata-se de uma espécie nativa que se encontra perfeitamente em quase todas as florestas brasileiras de norte a sul (LIMA, N. et al., 1995). Dentro do gênero, *H. courbaril* é considerado uma das mais bem sucedidas espécies, com 17 diferentes cultivares que vão desde as florestas tropicais da América do Norte (México) através da América Central para quase todos os países tropicais da América do Sul (SANTOS, 2004).

As árvores são de tamanhos variáveis de 5 a 40 m de altura dependendo da espécie. Os frutos em todas as espécies são muito semelhantes, variando um pouco apenas no tamanho (Figura 17; SANTOS, 2004).

O tronco fornece madeira dura incorruptível, pesada (densidade média de 0,95 g/cm³), de cor vermelho-pardacenta, muito durável quando fora do chão, utilizada para construção pesada, esteios, vigas, assoalhos, carrocerias, móveis, tonéis, etc. Sua casca fornece corante amarelo. Sua resina, folhas e sementes são utilizadas na medicina caseira (SANTOS, 2004).



Figura 17 – Árvore do Jatobá
Fonte: frutasraras.blogspot.com/Jatobá

Consiste numa vagem (legume) indeiscente (que não se abre sozinha), de forma subcilíndrica, de 7-20 cm de comprimento, com uma casca (exocarpo) dura e quebradiça, de cor variando do marrom ao vermelho-acastanhado. Contém 1-6 sementes duras envoltas por uma polpa seca, farinácea, adocicada, comestível, de sabor e cheiro muito característicos - (Figura 18; SANTOS, 2004).



Figura 18 – Jatobá
Fonte: frutasraras.blogspot.com/Jatobá

A polpa é rica em cálcio e magnésio e, além de fornecer alimento à fauna, é ótima para alimentação humana. Seus frutos são comercializados em feiras regionais de todas as regiões onde ocorre esta planta. A polpa é consumida *in natura* e na forma de geléia, licor e farinhas para bolos pães e mingaus. Existem dezenas de receitas para confecção de bolachas, pães, bolos e mingaus com a farinha de jatobá (SANTOS, 2004).

Nas propriedades terapêuticas a decocção de folhas e cascas alivia dores musculares, o chá da fruta em si é bom para agressores respiratórios como a tosse e asma (PLANTAMED, 2010).

II.1.10 JENIPAPO

O jenipapo - *Genipa americana L.* da família das *Rubiaceae* é uma fruta que se parece com o figo, contudo um pouco maior. Fruto do jenipapeiro deve ser colhido no ponto certo de maturação para que possa ser aproveitado; a madeira do caule pode ser usado em fortes construções civis, peças artesanais e confecções de móveis - (Figura 19; DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998; REYES, 2008).



Figura 19 – Jenipapeira

Fonte: <http://www.nutricau.com.br/jenipapo.jpg>

Embora seja consumido *in natura*, seu uso mais freqüente é sob a forma de licor; trata-se de uma baga ovóide com 8 a 12 cm de comprimento por 6 a 9 cm de diâmetro, de cor escura e casca rugosa e murcha, com polpa marrom clara e numerosas sementes pardas e achatadas. Ácida para ser consumida naturalmente, é muito utilizada como matéria-prima alimentícia de doce, licor, xarope, vinho e quinino (sulfato de quinina - usado como antimalárico e antipirético). Sua polpa é succulenta, aromática, comestível e com sementes no centro - (Figura 20; DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998; REYES, 2008).



Figura 20– Jenipapo

Fonte: <http://www.nutricau.com.br/jenipapo.jpg>

Na medicina caseira, o jenipapo é utilizado como fortificante e estimulante do apetite. Quando verde fornece um suco de cor azulada, muito utilizado como corante para tintura em tecidos, artefatos de cerâmica e

tatuagem. Após a maturação sua polpa é comestível. Além disso, é possível extrair do fruto uma tinta preta, muito usada pelos indígenas, há milênios, em petróglifos, cerâmica, cestaria, tatuagens, pintura corporal etc; possui ótima madeira para as construções de móveis (DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998; REYES, 2008).

Uma outra aplicação na medicina popular do suco do Jenipapo, é a sua utilização para controle de plaquetas do sangue em pacientes que fazem quimioterapia e/ou radioterapia, dados mostram ser eficaz, e muitos pacientes tomam duas ou mais vezes ao dia (DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998; REYES, 2008). Além do uso específico, o suco de jenipapo é muito utilizado na medicina popular como: péptico (intestino), laxante e doenças causadas por bactérias (PLANTAMED, 2010).

II.1.11 JUJUBA

A jujuba - *Ziziphus jujubas* da família das *Ramnáceas* é uma frutífera exótica, nativa em áreas subtropicais da China e Japão, onde ela tem sido cultivada há mais de 4 mil anos e onde existe mais de 400 cultivares. Hoje a planta é cultivada na Rússia, norte da África, Sul da Europa e no Sudoeste dos Estados Unidos. Ocasionalmente é cultivada em pomares domésticos nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (CALIFORNIA RARE FRUIT GROWERS, 1996; LORENZI et al., 2006).

A árvore é caducifólia, espinescente ou inerme, de 6 a 10m de altura, com brotos basais capazes de reproduzir vegetativamente a planta. As folhas são simples, cartáceas, glabras, trinervadas a partir da base, de 3 a 6 cm de

comprimento, com pecíolo de cerca de 5 mm. As flores são pequenas, dispostas em fascículos paucifloros, formadas de novembro a janeiro - (Figura 21; CALIFORNIA RARE FRUIT GROWERS, 1996; DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998).



Figura 21 – Jujubeiro
Fonte: frutasraras.blogspot.com/Jujuba

Os frutos são elipsóides de 2 a 3 cm. Possui casca comestível de coloração esverdeada, mudando para rosada a vermelha com a maturação. A polpa é branca, esponjosa e apresenta de 1 a 2 sementes. Logo após se tornar avermelhada a jujuba começa a perder a consistência, fica com aparência enrugada e muda o sabor, por isso muitas pessoas preferem comê-la antes que ela atinja completamente a coloração vermelha – (Figura 22; CALIFORNIA RARE FRUIT GROWERS, 1996; DONADIO; NACHTIGAL e SACRAMENTO, 1998).



Figura 22 – Jujuba

Fonte: frutasraras.blogspot.com/Jujuba

Estudos indicam elevado conteúdo de vitamina C. A fruta têm sido utilizada com a finalidade medicinal por diversas culturas. Um dos usos mais populares é na forma de chá contra dor de garganta (CALIFORNIA RARE FRUIT GROWERS, 1996).

Essas pequenas frutas pouco cultivadas no Brasil expõem muitas características terapêuticas em suas folhas e frutas, tratando-se de folhas adstringente e hipoglicêmica e seus frutos anti-diarréico, expectorante (PLANTAMED, 2010).

II.1.12 MANGOSTÃO

O mangostão (*Garcinia mangostana* L. da família *Clusiaceae*), originário do Sudeste Asiático, é considerado uma das frutas mais saborosas do trópico asiático, atualmente o mangostanzeiro é encontrado na Malásia, Filipinas, Costa do Marfim, Madagascar, Sri Lanka, Índia, China e Austrália. No novo continente é cultivado na Costa Rica, Porto Rico, República Dominicana, Jamaica, Panamá, Havaí, Honduras, Guatemala Sul da Flórida, Cuba e Brasil (SACRAMENTO, 2001). No Brasil, foi introduzido definitivamente por volta de 1935, na Bahia, e em 1942 no Pará, a produção se concentra nesses estados e

em pequena escala, é produzido no Espírito Santo e São Paulo. O mangostão é bastante conhecido nos países produtores, mas só recentemente vem sendo exportado para outros países. Os mercados da Europa vêm sendo abastecidos por países asiáticos e dos Estados Unidos por países da América Central (SACRAMENTO, 2001).

O mangostanzeiro é uma árvore de 10 a 20m de altura a 9 a 12m de diâmetro, com um tronco central de onde saem ramos horizontais opostos que dão a copa um formato cônico. As folhas são simples e opostas, de formas oblongas e elípticas. Novas apresentam colorações avermelhadas e quando adultas verde oliva brilhante na superfície superior e verde/amarela na superfície inferior. As flores são femininas, as quais não necessitam de polinização para desenvolverem frutos, estas são terminais, solitárias, ou agrupadas em 2 ou 3 cm (Figura 23; DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998).



Figura 23 – Mangostanzeiro

Fonte: <http://www.arara.fr/Mangostao2.jpg>

O fruto é uma baga arredondada com 4 sépalas na base, diâmetro de 6 a 8 cm, de cor verde quando em desenvolvimento passando para coloração arroxeada quando maduro. Quando cortado transversalmente o fruto apresenta casca com espessura de 6 mm e polpa formada por 4 a 8 gomos brancos, os

quais contêm de 2 a 2.5 cm de comprimento - (Figura 24; DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998).



Figura 24 – Mangostão

Fonte: <http://www.arara.fr/Mangostao1.jpg>

O mangostão requer clima quente e úmido não resiste a secas prolongadas. O período de frutificação do mangostanzeiro varia de acordo com as condições climáticas e, no estado do Pará, o principal período de colheita estende-se de janeiro a maio e uma colheita menor ocorre em agosto e setembro. Na Bahia a safra principal é geralmente em março e abril e outra colheita acontece em agosto (SACRAMENTO et al., 2007).

Trata-se de uma fruta exótica de sabor apreciável, utilizada principalmente como frutos secos. A casca apresenta em sua composição uma classe de substâncias, conhecidas como xantonas, que tem despertado grande interesse das indústrias dos alimentos e farmacêutica. Essas substâncias possuem alto poder antioxidante e agem no organismo humano, trazendo benefícios a saúde. Em decorrência dessas características, o mangostão vem sendo aproveitado integralmente, e diversos produtos são encontrados envolvendo o suco do mangostão, no qual o produto é obtido a partir da trituração do fruto com todas as suas partes (casca, polpa e sementes). Tais

frutos têm conquistado novos mercados, pelas suas supostas propriedades nutraceuticas. Cápsulas contendo extrato da casca de mangostão também são encontradas no mercado. O uso da casca do mangostão em casos de disenteria e diarreia crônica já é bastante conhecido pela medicina popular e, a infusão feita das folhas tem sido utilizada no tratamento de ferimentos. A casca também pode ser utilizada como tintura comercial e a madeira do tronco, de cor marrom escura, podem ser utilizada na construção de mobílias (SACRAMENTO et al., 2007).

Estudos têm demonstrado que as propriedades terapêuticas do fruto são atribuídas às xantonas, elas, estão naturalmente presentes no fruto do Mangostão e são conhecidas pelas suas fabulosas propriedades antioxidantes. Para além de possuir mais de 40 xantonas na sua composição, o mangostão tem ainda algumas outras moléculas biologicamente ativas, tais como catequinas, polifenóis e polissacarídeos (MANGOSTÃO ORIGINAL, 2010).

II.1.13 MASSALA

A massala (*Strychnus Spinosa* da família *Loganiaceae*) é uma fruta originária da África Tropical. Foi introduzida no Brasil há algum tempo, porém é cultivada apenas por colecionadores (LORENZI et al., 2006).

A massaleira é um arbusto de porta médio, tendo até 10m de altura, de copa arredondada, meio aberta. As folhas são coriáceas, glabras e brilhantes, de 5 a 7cm de comprimento e bem marcadas por nervuras principais que partem da base. As flores são andróginas formadas de dezembro a janeiro, dispostas em pequenos racemos terminais (Figura 25; DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998; LORENZI et al., 2006).



Figura 25 – Árvore da Massala

Fonte: macua.blogs.com/photos/turismo/massala.html

O fruto apresenta de 10 a 12cm de diâmetro; cor verde externamente; casca lisa, dura e gelatinosa, com muitas sementes grandes; seu sabor é sub-ácido. A polpa é utilizada para consumo *in natura*. Na África, é consumida na forma de uma bebida fermentada (Figura 26; DONADIO; NACHTIGAL 2001; LORENZI et al., 2006).

As folhas, raízes e sementes são usadas medicinalmente. Algumas pessoas usam infusões de raiz como um tratamento para picada de cobra, outros usam a casca e frutos verdes. Acredita-se que a presença de estricnina na casca e frutos verdes junto com outros alcalóides são os responsáveis por ajudar a superar o veneno de certas cobras, como o Mamba (natural da África, muito peçonhenta). Estricnina é um poderoso estimulante do sistema nervoso central que pode ser capaz de combater a queda respiratória causada pelo veneno dessas cobras. Ele também é usado como um purgante, para problemas do útero e no tratamento de dor nos olhos. A decocção das folhas ou raiz é usada como analgésico na África Central (PLANTZAFRICA, 2010).



Figura 26 – Massala
Fonte: frutasraras.blogspot.com/Massala

II.1.14 PITAYA

A pitaya (*Hylocereus undatus* da família *Cactaceae*) - estes frutos são comumente conhecidos como fruta dragão. Nativa da América, e está distribuída por vários países americanos nos trópicos e subtropicais, sendo mais comum no México e Colômbia; é o nome dado ao fruto de várias espécies de cactos epífitos (Figura 27; CAVALCANTE, et al; 2006).



Figura 27 – Árvore da Pitaya
Fonte: <http://www.typesofflowers.org>

A fruta pode pesar entre 150-600 gramas. As sementes se assemelham às do gergelim e se encontram dispersas no fruto cárneo interno, na parte

externa da fruta, aparece globosa e rosa forte (Figura 28; CAVALCANTE, et al; 2006).



Figura 28 – Pitaya Fonte: www.typesofflowers.org

O cultivo do pitaya no Brasil só começou nos anos 90 e a produção teve um acentuado crescimento no Estado de São Paulo. O sabor da fruta é muito semelhante ao do kiwi, seu consumo pode ser da polpa do fruto *in natura*, como refresco, geléias e doces (CAVALCANTE, et al; 2006).

Também é utilizada em medicina caseira, como tônico cardíaco; as sementes têm efeito laxante. Além do fruto, que tem efeito em gastrites, o talo e as flores são usados para problemas renais; as vitaminas contidas na pitaya podem trazer grandes benefícios a saúde (CAVALCANTE, et al; 2006).

Os frutos da Pitaya são ricos em vitaminas, fósforo, que auxilia o processo digestivo e previne o câncer de cólon e a diabetes. Ajuda, também, a neutralizar substâncias tóxicas como metais pesados, reduz os níveis de colesterol e a hipertensão (CAVALCANTE, et al; 2006).

II.2 EXPLOSÃO OXIDATIVA; GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ERO); RADICAIS LIVRES.

Os leucócitos polimorfonucleares são os primeiros tipos celulares em seres humanos a serem ativados pelo sistema imunológico, contra infecções. Estas células migram, dirigidas por gradientes quimiostáticos até o local da inflamação, onde eles reconhecem e fagocitam o patógeno invasor (ARNHOLD, 2004).

Os patógenos são expostos a um arsenal de enzimas hidrolíticas e proteínas bactericidas, estocadas em seus grânulos citoplasmáticos. Os neutrófilos apresentam quatro tipos de grânulos, que contêm diferentes enzimas e proteínas. O conteúdo desses grânulos é liberado gradualmente no fagolisossoma, ou no meio extracelular, após a ativação dessas células. A elevação de íons cálcio intracelular inicia a desgranulação. Para que haja a desgranulação é necessário o aumento de cálcio intracelularmente; neste caso são secretadas as enzimas direcionadas ao combate ao patógeno, tendo por função a destruição da parede celular. Os grânulos azurófilos apresentam níveis elevados de mieloperoxidase, a qual juntamente com o NADPH oxidase da membrana está envolvida na geração de espécies reativas do oxigênio e oxidação de biomoléculas (ARNHOLD, 2004); Um exemplo disso, é que além de participar dos processos fisiológicos na defesa do organismo as ERO podem iniciar e/ou participar na evolução de muitas doenças. Há algumas evidências que anormalidades nos componentes lipídicos podem causar uma superprodução de ERO e, por sua vez, a peroxidação lipídica. Radicais livres

como o ânion superóxido e o radical hidroxil podem causar a peroxidação lipídica, podendo ser ligados à morte celular (VELLOSA, 2005).

Muitos estudos demonstram que os fagócitos são capazes de promover a oxidação da LDL através da produção de espécies oxidantes. Na aterosclerose, por exemplo, ocorre um afluxo de macrófagos e lesão celular devido à grande liberação de peróxido de hidrogênio; além disso, a LDL é modificada pelas espécies oxidantes liberadas pelos neutrófilos (Figura 29; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; JERLICH et al., 2000; MERTENS et al., 2001; WOODS, DAVIES, 2003).

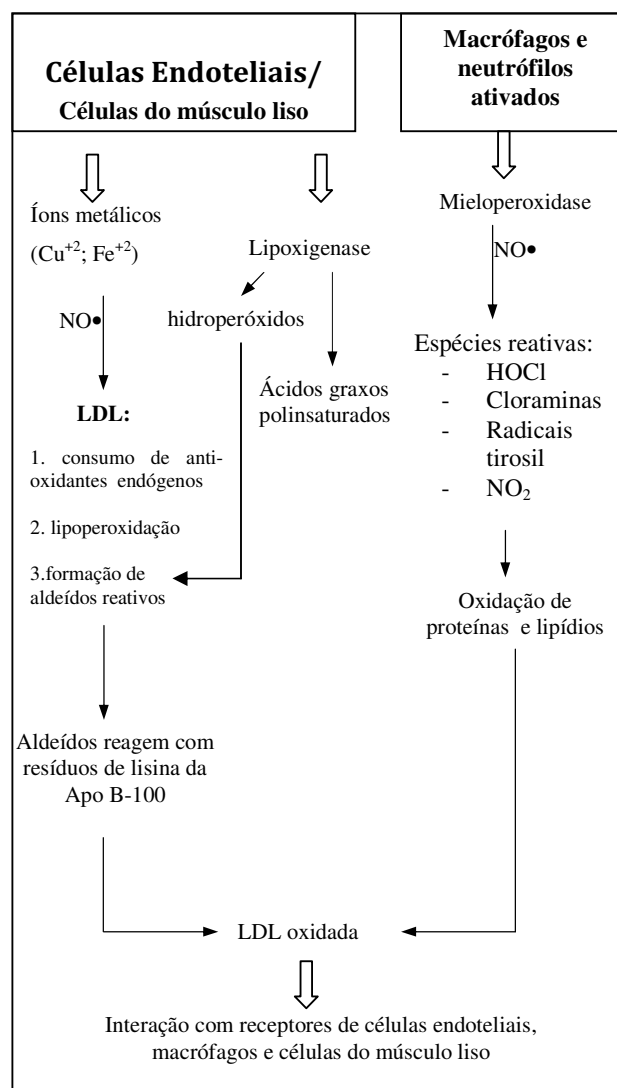
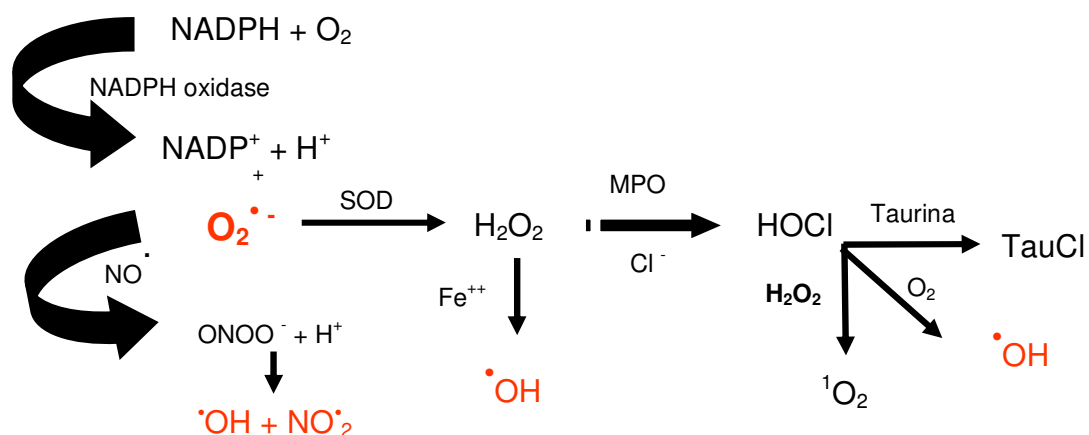


Figura 29 – Processo de Oxidação de LDL pelos fagócitos e produção de espécies oxidantes;
 Fonte: Velloso, 2005.

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos. Todavia, na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular, ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (CERUTTI, 1991, 1994). O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos

radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo (RODRIGUES et al., 1993). A ocorrência de um estresse oxidativo moderado, freqüentemente é acompanhado do aumento na defesa antioxidante enzimática, produzindo um aumento na grande quantidade de radicais livres podendo causar danos e morte celular (ANDERSON, 1996).

Os radicais livres fazem parte de processos fisiológicos do nosso organismo aeróbico, o qual deriva o ATP (trifosfato de adenosina) pela redução completa de O_2 por quatro elétrons, através do transporte mitocondrial de elétrons. Aproximadamente 98% de todo o oxigênio consumido pelas células, entram nas mitocôndrias onde são reduzidos pelo citocromo c oxidase (RODRIGUES et al., 2003).



Esquema I - Redução tetravalente do oxigênio molecular (O_2) na mitocôndria até a formação de H_2O .

Entretanto, o oxigênio pode receber menos de quatro elétrons formando-se assim espécies reativas de oxigênio, como os radicais ânions superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroperoxila (HO_2^{\cdot}) e hidroxila ($\cdot OH$), e espécies não radicalares como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Esquema 1; FERREIRA e MATSUBARA 1997).

O H_2O_2 é formado por dismutação espontânea ou por ação da superóxido dismutase (SOD) a partir do $\text{O}_2^{\bullet-}$. A remoção do H_2O_2 ocorre por ação de enzimas antioxidantes, como a catalase. Em células como os polimorfonucleares neutrófilos o H_2O_2 reage com a enzima mieloperoxidase (MPO) originando o intermediário redox MPO I. Este oxida o íon cloreto (Cl^-) formando o HOCl (HAMPTON et al., 1998).

A reação entre o H_2O_2 e o íon radical $\text{O}_2^{\bullet-}$ leva a formação do radical hidroxila, um potente oxidante. Constitui em um fenômeno lento e espontâneo, conhecido como reação de Haber-Weiss. Essa reação, entretanto, é bastante acelerada na presença de complexos metálicos catalíticos, especialmente ferro e cobre, nos estados reduzidos. A geração de radicais OH^\bullet a partir de H_2O_2 e metais reduzidos é conhecida como reação de Fenton. A combinação das reações Fenton/Haber-Weiss é considerada um dos principais mecanismos geradores de radicais OH^\bullet "in vivo" (LAURINDO et al., 1996).

Nos últimos anos, inúmeras pesquisas foram realizadas para esclarecer o papel dos radicais livres em processos fisiopatológicos, como doença respiratória aguda, fibrose cística, câncer, enfisema, inflamação, asma, artrite reumatóide, danos externos como o tabagismo, poluição e etc., processo de envelhecimento, fatores os quais dão início a geração das ERO. (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; VENGLARIK et al., 2003; TORRES et al., 2004).

O organismo para se livrar das espécies reativas de oxigênio, o sistema biológico criou vários mecanismos de defesa, isto é, potenciais de neutralização das ações dos radicais livres, chamado de antioxidantes. Os antioxidantes estão permanentemente em movimento no nosso organismo, sendo que a produção de energia do nosso organismo é uma das principais

causas da formação de radicais livres, necessitando estar presentes em quantidades suficientes para neutralização os efeitos dos radicais livres normalmente produzidos. Quando esta equivalência não existe, dizemos que está ocorrendo um estresse oxidativo (“*stress oxidative*”) (BELLÓ, A., et al., 2002).

Fagócitos, como neutrófilos, eosinófilos e macrófagos, quando estimulados, elevam sensivelmente sua taxa de consumo de oxigênio na explosão oxidativa, a geração de espécies químicas com alto potencial de reatividade (ERO) como resultado dessa explosão nesses fagócitos, é essencial para a defesa contra microrganismos na fagocitose (BRIHEIM et al, 1984).

A ativação de fagócitos principalmente neutrófilos (primeira linha de defesa do organismo) através de estímulos endógenos ou por microrganismos, é seguida da ativação de uma enzima transmembrana que promove aumento do consumo do oxigênio para a produção do anion superóxido, o precursor para uma série de espécies reativas de oxigênio (Tabela1; MATHY-HARTERT et al, 1997).

Os leucócitos fagócitos são células especializadas que contêm grandes quantidades de componentes da NADPH oxidase e produzem ânion superóxido em abundância. Outros tipos celulares, tais como fibroblastos, células endoteliais e células do músculo liso, também são capazes de produzirem mais aniôn superóxido, porém em baixas quantidades; durante o *burst oxidative* há um aumento do consumo de oxigênio e da produção de diferentes EROs (FRIDOVICH, 2001).

Tabela 1 – Radicais Livres e espécies relacionadas de importância biológica

Fonte: Laurindo et al., 1996.

| Elemento Centralizador | Radical | Propriedades |
|-------------------------------|---|---|
| Oxigênio | Superóxido ($O_2^{\cdot -}$) | Provável mediador de sinais nervosos. Pouco reativo, atravessa membranas celulares através de canais aniônicos. |
| | Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) | Relativamente inerte, pode entretanto dar origem a radicais tóxicos. Bastante difusível e permeável a membranas. |
| | Hidroxila (HO^{\cdot}) | O mais potente oxidante conhecido passível de ser formado em condições fisiológicas. |
| | Oxigênio Singlete (1O_2) | Não é um radical, mas sim o produto da excitação energética de um elétron da última camada (por exemplo, por uma radiação ionizante). Significado biológico possível, mas ainda em estudos. |
| | Ácido Hipocloroso – Cloraminas ($HOCL$) | O HOCl é formado pela oxidação de íons cloreto, catalisada pela mieloperoxidase em presença de peróxido de hidrogênio, mais abundante oxidante gerado por leucócitos do sangue; é um oxidante extremamente forte e além de atacar biomoléculas de importância fisiológicas como tióis, tióteres, aminas, aminoácidos, nucleotídeos e ascorbato, gera outras ERO (radical hidroxil, oxigênio singlete via sua reação com peróxido de hidrogênio e ânion superóxido). |
| Nitrogênio | Óxido Nítrico (NO) | Radical livre gasoso é um fator relaxante derivado do endotélio. Lipossolúvel e altamente permeável as membranas. |
| | Peroxinitrito ($ONOO^{\cdot -}$) | É um oxidante potente. Propriedades vasodilatadoras cujo mecanismo ainda é incerto. |
| Carbono | Metil (CH_3) | Possível envolvimento em modificações do DNA. |
| Enxofre | Tiil (RS) | Intermediário da Oxidação e interconversão de tióis. Significado biológico incerto. |

II.3 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ERO)

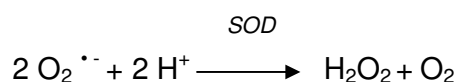
As espécies reativas de oxigênio são compostos químicos resultantes da ativação ou redução do oxigênio molecular ou derivados dos produtos da redução (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990; 1986).

II.3.1 ÂNION SUPERÓXIDO ($O_2^{\cdot -}$)

Pode ser escrito $O_2^{\cdot -}$ ou O_2^- e é formado após a primeira redução monoelétrica do oxigênio; ocorre em quase todas as células aeróbicas e é produzido durante a ativação de neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990; 1986). Tem sido observada lesão biológica associada a sistemas geradores de superóxido, seja enzimático, fagocítico ou químico durante a ativação de neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990).

II.3.2 PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H_2O_2)

A maior parte do oxigênio consumido é convertida em peróxido de hidrogênio por dismutação do radical ânion superóxido, seja espontânea ou pela ação da superóxido dismutase (SOD).



Apesar de não ser um radical livre, pela ausência de elétrons desemparelhados na última camada, o H_2O_2 é um metabólito extremamente deletério, por que participa da reação que produz o radical hidroxil (FERREIRA e MATSUBARA, 1997). Além disso, o H_2O_2 é altamente tóxico para as células,

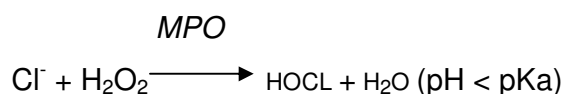
pois tem vida longa e é capaz de atravessar camadas lipídicas, podendo reagir com membranas biológicas ou com proteínas ligadas ao íon Fe^{++} (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

Visto tais propriedades do peróxido de hidrogênio, principalmente o potencial reativo em membranas, no caso da eritrocitária sua toxicidade pode ser aumentada em presença de íons ferro, como ocorre na hemocromatose transfusional (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

O H_2O_2 possui atividade bactericida somente em altas concentrações. Sua remoção da célula ocorre por ação de enzimas antioxidantes, como catalase e glutathione peroxidase (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

II.3.3 ÁCIDO HIPOCLOROSO (HOCL)

O HOCl é formado pela oxidação de íons cloreto, catalisada pela mieloperoxidase em presença de peróxido de hidrogênio (LAPENNA e CUCCURULLO, 1996).



O HOCl pode ser considerado como o mais abundante oxidante gerado por leucócitos do sangue. O ácido hipocloroso é um oxidante extremamente forte e além de atacar biomoléculas de importância fisiológicas, tais como tióis, tióteres, aminas, aminoácidos, nucleotídeos e ascorbato (WEISS, 1989;

HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1986; EATON, 1993), é capaz de gerar outras EROs, tais como, oxigênio singlete e radical hidroxil via sua reação com peróxido de hidrogênio e ânion superóxido (WEISS, 1989; LAPENNA e CUCCURULLO, 1996).

O HOCl apresenta ação protetora no *killing* bacteriano e, ao mesmo tempo, é agressor aos tecidos, pois nem células de mamíferos nem de bactérias podem desintoxicar o HOCl por via catalítica, visto que estão ausentes defesas enzimáticas contra oxidantes clorados (LAPENNA e CUCCURULLO, 1996).

É importante o desenvolvimento de substâncias farmacologicamente capazes de antagonizar a ação do HOCl, como sugerem alguns autores para drogas anti-inflamatórias, rifampicina, tetraciclina e também captopril. O sequestro farmacológico do HOCl será terapêuticamente significativo se, na concentração da droga *in vivo*, a reação com o ácido hipocloroso for rápida o bastante para proteger as moléculas-alvo biologicamente importantes do ataque pelo HOCl (HALLIWELL, 1995; LAPENNA e CUCCURULLO, 1996).

Há outras espécies reativas de oxigênio de importância biológica para os seres vivos, deletérias quando não controladas, mas que não são objeto do presente trabalho: **Cloraminas**, **Oxigênio Singlete (1O_2)**, **Radical Hidroxil (HO^\cdot)**, **Óxido Nítrico (NO^\cdot)** e **Peróxinitrito ($OONO^\cdot$)**, **Radical Hidroperoxila (H_2O^\cdot)**, entre outras.

II.4 PATOLOGIAS ASSOCIADAS ÀS ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Os leucócitos polimorfonucleares (fagócitos), produzem ânion superóxido através da redução do oxigênio por um elétron, com gastos de NADPH. A maior parte do $O_2^{\cdot -}$ reage com ele mesmo para formar peróxido de hidrogênio (BABIOR, 2000). A partir destes agentes, grande número de oxidantes altamente microbicidas são formados, tais como HOCl, HO^{\cdot} , $ONNO^{\cdot -}$ dentre outros (BABIOR, 2000). Tais oxidantes são produzidos com a finalidade de combater microrganismos invasores, mas eles também provocam danos nos tecidos próximos, conhecendo-se seu envolvimento em grande número de patologias (BABIOR, 2000).

Há evidências de que as ERO possam estar envolvidas com mais de 50 doenças (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

O envelhecimento é um evento que pode estar relacionado com as ERO, à teoria dos radicais de oxigênio, desenvolvida por Harman em 1956, propõem que o envelhecimento poderia ser secundário ao estresse oxidativo, o qual levaria a reação de oxidação lipídica, protéica, e com o DNA, que desencadeariam alterações lentas e progressivas dos tecidos e do código genético (FERREIRA e MATSUBARA, 1997). Doenças, freqüentes na velhice e relacionadas com o estresse oxidativo, são a Doença de Parkinson, o acidente vascular cerebral, a doença de Alzheimer, a esclerose múltipla e catarata (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

Na aterosclerose ocorre o afluxo e liberação de peróxido de hidrogênio e enzimas hidrolíticas, que ao lesarem as células vizinhas estimulam a proliferação de músculo liso subendotelial (HALLIWELL e GUTTERIDGE,

1990). A LDL também é modificada pelas espécies oxidantes liberadas pelos neutrófilos (FERREIRA e MATSUBARA, 1997). Os macrófagos geralmente englobam a LDL por meio de receptores de LDL, entretanto a LDL oxidada não entra na célula por meio deste receptor, mas sim através do receptor de *scavenger*. A internalização das LDL oxidada, diferentemente da nativa, não é regulada pelo receptor, o que permite que quantidades mais elevadas de LDL sejam englobadas e formem-se as células espumosas como parte do processo aterogênico (BABIOR, 2000). A lesão pode ser exacerbada pela fumaça do cigarro que por ser rica em ferro, catalisa a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), o que estimula a internalização de colesterol nos macrófagos, os quais, conseqüentemente, se convertem em células espumosas (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990).

As complicações cardiovasculares, tais como: o infarto do miocárdio, o derrame cerebral, a ulceração nervosa, e a isquemia com injúria por reperfusão, parecem estar associadas com a ativação de fagócitos na microcirculação e produção de ERO (MAZZONI e SCHMIDT-SHONBERN, 1996). A injúria por reperfusão é um dano provocado após a restauração da circulação em uma área isquêmica, tal injúria é atribuída às EROs que são produzidas por neutrófilos no sítio da lesão. (BALBIOR, 2000).

Dentre os processos pulmonares associados as ERO estão: lesão conseqüente do tabagismo, asma, enfisema, displasia broncopulmonar, pneumoconiose e toxicidade a fármacos ou xenobióticos, os quais são bleomicina, paraquat e butilidroxitolueno, (BAST et al., 1991; BOVERIS et al., 1986). As pesquisas já mostraram que após a chegada dos neutrófilos no interstício pulmonar, a ativação dessas células gera o radical ânion superóxido,

que lesa diretamente a membrana das células intersticiais e do endotélio e, como consequência, ocorre lesão tissular progressiva, pois o neutrófilo ativado também libera enzimas proteolíticas que degradam a elastina do arcabouço pulmonar (SEOW et al., 1994; CRYSTAL, 1991). Há fortes indícios de que a formação do edema pulmonar seja resultante da produção exagerada de peróxido de hidrogênio, radical hidroxil e superóxido pelos neutrófilos (BOVERIS et al., 1986).

Estudos mostraram que há determinadas doenças relacionadas ao hábito de fumar com o aumento dos neutrófilos e macrófagos em tabagistas. Nos pulmão normal os macrófagos são células residentes enquanto os neutrófilos são praticamente inexistentes. Entretanto, em indivíduos fumantes existe um grande aumento no número dessas células e com alterações morfológicas, que podem ser as responsáveis pela bronquite crônica e o enfisema (REPINE et al., 1997).

O acúmulo de eosinófilos e neutrófilos nas vias aéreas promovem danos tissulares, exemplo disse é a asma, assim, a concentração de peroxidases eosinofílica (principalmente) e neutrofílica encontram-se aumentada nos fluídos broncoalveolares de asmáticos; essas duas células polimorfonucleares, geram diferentes oxidantes que participam dos danos tissulares nas vias aéreas (REPINE et al., 1997).

II.5 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são compostos que impedem ou diminuem a oxidação de outras moléculas, inibindo a iniciação ou a propagação de reações de oxidação (VELIOGLU, 1998). Entre eles estão os compostos fenólicos que são

antioxidantes primários e agem como sequestradores de radicais livres e bloqueadores de reações em cadeia. Eles estão largamente distribuídos na natureza, com destaque aos derivados dos ácidos benzóicos e cinâmico, bem como os flavonóides (DEGASPARI, 2004).

Uma ampla definição de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES, 1993). Esses agentes que protegem as células contra os efeitos dos radicais livres podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos ou não-enzimáticos; a formação de espécies reativas e radicais livres é equilibrada naturalmente pela existência de compostos conhecidos como antioxidantes (SIES, 1993).

Eles podem ser classificados como enzimáticos ou não enzimáticos, conforme a estrutura do agente antioxidante. Ainda conforme a ação sobre os radicais livres, o antioxidante pode ser considerado “*scavenger*”, quando ele age transformando um radical livre em outro menos reativo, quando consegue neutralizar completamente o radical livre através da absorção de toda a energia de excitação. (EVELSON, P. A. et al., 2002).

Os alimentos antioxidantes desempenham um papel importante protegendo a saúde. Evidências sugerem que esses reduzem o risco de doenças crônicas, incluindo câncer e doenças cardíacas. As fontes primárias são os grãos, frutas, vegetais e frutas (DOROSHOW, 1983; HALLIWELL; et al., 1994; WEIJL; et al., 1997).

A utilização de compostos antioxidantes encontrados na dieta ou mesmo sintéticos é um dos mecanismos de defesa contra os radicais livres que podem ser empregados nas indústrias de alimentos, cosméticos, bebidas e também na

medicina, sendo que muitas vezes os próprios medicamentos aumentam a geração intracelular desses radicais (DOROSHOW, 2009; HALLIWELL; et al., 1994; WEIJL; et al., 1997).

Em sistemas aeróbicos, é essencial o equilíbrio entre agentes óxido-redutores (como as ERO) e o sistema de defesa antioxidante. As ERO, são geradas endogenamente como consequência direta do metabolismo do O₂ (ROSS e MOLDEUS, 1991). Para proteger-se, a célula possui um sistema de defesa que pode atuar em duas linhas. Uma delas atua como detoxificadora do agente antes que ele cause lesão. Esta linha é constituída por glutathione reduzida (GSH), superóxido-desmutase (SOD), catalase, glutathione-peroxidase (GSH-Px) e pela vitamina E. A outra linha de defesa tem a função de reparar a lesão ocorrida, sendo constituída pelo ácido ascórbico, pela glutathione-redutase (GSH-Rd) e pela GSH-Px, entre outros. Com exceção da vitamina E, que é um antioxidante estrutural da membrana, maior parte dos agentes antioxidantes está no meio intracelular (ROSS e MOLDEUS, 1991; HEBBEL, 1986).

A prevenção às doenças tem sido aceita como a maneira mais promissora de se controlar patologias. O consumo de frutas e vegetais auxiliam na prevenção de processos degenerativos diminuindo a incidência e a taxa de mortalidade por câncer ou doenças cardiovasculares por exemplo. A prevenção que as frutas e os vegetais promovem contra estas patologias tem sido atribuídas à ação de antioxidantes presentes nestes alimentos (YEN et al., 2001).

As plantas medicinais no contexto geral desempenham um papel muito importante em saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento

(MOSSI et al, 2004). Extratos de frutas, cereais, e de diferentes vegetais, e seus produtos derivados, têm mostrado atividades antioxidantes efetivas em diferentes sistemas modelos (SUN e HO, 2005). A atividade de compostos antioxidantes de compostos orgânicos é dependente de algumas características estruturais, que incluem, na maioria dos casos, a presença de grupamentos fenólicos. Desta forma, flavonóides, fenilpropanóides e outros compostos aromáticos são os principais alvos da busca por antioxidantes (SUN e HO, 2005).

Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (DOROSHOW, 2009; HALLIWELL; et al., 1994; WEIJL, et al., 1997).

Os antioxidantes obtidos da dieta, tais como as vitaminas C, E e A, os flavonóides e carotenóides são extremamente importantes na interceptação dos radicais livres (EVELSON, P. A. et al., 2002).

Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas (EVELSON, P. A. et al., 2002).

Em algumas situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes, o controle do nível das enzimas antioxidantes nas células é extremamente importante para a sobrevivência no ambiente aeróbico (SUN e

HO, 2005). Os organismos eucariotos possuem enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase que reagem com os compostos oxidantes e protegem as células e os tecidos do estresse oxidativo (SUN e HO, 2005).

O efeito cooperativo entre as vitaminas C e E é freqüentemente mencionado na literatura, mostrando que a interação dessas vitaminas é efetiva na inibição da peroxidação dos lipídeos da membrana e na proteção do DNA (HALLIWELL; et al., 1994).

A importância concernente ao desempenho dos antioxidantes *in vivo* depende dos fatores: tipos de radicais livres formados; onde e como são gerados esses radicais; análise e métodos para a identificação dos danos, e doses ideais para obter proteção, assim, é perfeitamente possível que um antioxidante atue como protetor em determinado sistema, mas que falhe na proteção, ou mesmo que aumente as lesões induzidas em outros sistemas, ou tecidos (Halliwell et al., 1995).

II.6 FENÓIS E FLAVONÓIDES

Compostos polifenólicos são importantes constituintes dietéticos, em virtude da sua elevada capacidade antioxidante, atribuída à sua habilidade em complexar íons metálicos, inativar reações radicalares em sistemas deslipidados, e prevenir conversão de hidroperóxido em oxirradicais reativos (DIMITRIOS, 2006).

Os flavonóides são constituintes essenciais de células de vegetais superiores, nos quais apresentam diferentes funções tais como atividades

regulatórias no metabolismo celular através de diferentes mecanismos como a ação conjunta com hormônios reguladores do crescimento ou ação sobre o transporte de elétrons no processo biológico de fosforilação oxidativa. Esses podem ser encontrados na forma de simples moléculas fenólicas até compostos altamente polimerizados, possuindo propriedades antioxidantes; os benefícios do consumo de frutas e outros vegetais é geralmente atribuído mais aos compostos flavonóides, do que aos outros conhecidos nutrientes, possuindo propriedades antiinflamatórias, antitrombóticas, antimicrobianas, antialérgicas e antitumorais (MARCUCCI, 1998).

Mais de cinco mil compostos flavonóides que ocorrem na natureza foram descritos e classificados a partir de sua estrutura química. Subdividem-se nos grupos: flavanas, flavanonas, flavonóis, isoflavonas e antocianinas. (MARCUCCI, 1998).

Os flavonóides pertencem a uma ampla classe de compostos fenólicos de baixo peso molecular, derivados de benzo-g-pironas (HEIM et al., 2002). Os flavonóides, biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides, constituem uma importante classe de polifenóis, presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários de vegetais. Entretanto esta definição levando em conta somente a estrutura química não é apropriada, uma vez que existem compostos contendo hidroxilas fenólicas, que fazem parte de outras classes de metabólitos. Os flavonóides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Essa classe de compostos é amplamente distribuída no reino vegetal (SIMÕES, 2004). As principais categorias estruturais gerais são as flavonas, as flavanonas, os flavonóis, as antocianidinas e as isoflavonas, em alguns casos o anel

heterocíclico de seis membros é substituídos por um anel de cinco (auronas) ou aparece uma forma isomérica de cadeia aberta (chalconas). (ROBBERS, 1997).

Os flavonóides apresentam propensão em inibir radicais livres devido suas estruturas químicas, baseadas em seu núcleos, posições e tipos de substituintes que influenciam na atividade antioxidante (HEIM et al., 2002). São conhecidos por exercerem uma infinidade de propriedades biológicas como antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória, analgésica e antiúlcera (SIMOES, 2003).

Os flavonóides de origem natural apresentam-se, frequentemente, oxigenados e um grande número ocorre conjugado com açúcares. Os encontrados nas folhas dos vegetais podem ser diferentes daquelas presentes nas flores, nos caule, raízes ou frutos, o mesmo composto ainda ocorre em diferentes concentrações, dependendo do órgão vegetal em que se encontra (SIMÕES, 2003).

III – Objetivos

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina”

Cora Coralina



Visando-se que o uso de substâncias contidas na alimentação, principalmente nas frutas, vem aumentando gradativamente seu emprego na linha terapêutica; o objetivo desse estudo será avaliar a capacidade antioxidante das frutas exóticas tropicais mediante a ensaios químicos;

A proposta de estudo do presente trabalho:

- i) Estudar a ação antioxidante das amostras de frutas, traçando um perfil de ação sobre diferentes espécies reativas como HOCl, H₂O₂, O₂^{•-} e ensaios químicos padrões para detecção do potencial antioxidante como ABTS e DPPH;
 - ii) Estudar a interferência das amostras em processos celulares, (hemólise e citotoxicidade).
 - iii) Determinar os valores de IC₅₀ (concentração que inibe em 50% a ação das espécies reativas nos sistemas estudados e/ou seqüestra 50% da mesma nesses sistemas) através da construção de curvas dose-resposta, e interpolação dos dados a partir da inibição de 50%).
-

IV – Materiais e Métodos

“O prazer no trabalho aperfeiçoa a obra.”

(Aristóteles)



Para o estudo do potencial antioxidante de frutas exóticas tropicais, foram utilizadas amostras - frutas fornecidas e selecionadas em conjunto com o Prof. Antônio Baldo Geraldo Martins, do Departamento de Produção Vegetal – Horticultura – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP/Jaboticabal – SP.

Na tabela 2 pode-se verificar a relação das frutas objeto de estudo com suas especificações botânica e classificação etiológica.

Para que se alcance os objetivos estabelecidos, o estudo bioquímico foi realizado em sistemas químicos (não enzimáticos), e processos celulares. Todos os ensaios espectrofotométricos foram realizados em espectrofotômetro UV/VIS de placas Biotek - Power wave XS2.

Tabela - Frutas, especificações botânicas e classificação etiológica.

| NOME | FAMÍLIA | ESPÉCIE |
|-----------------|------------------------------|-----------------------------------|
| Araçá | <i>Myrtaceae</i> | <i>Psidium cattleianum</i> |
| Atemóia | <i>Annonaceae</i> | <i>Annona atemoya Mabb</i> |
| Bunchosia | <i>Malpighiaceae</i> | <i>Bunchosia armeniaca</i> |
| Cajá-manga | <i>Apocynaceae</i> | <i>Spondias mongifera</i> |
| Canistel | <i>Saponaceae</i> | <i>Pouteria campechiana</i> |
| Carissa | <i>Apocynaceae</i> | <i>Carissa grandiflora A.D.C.</i> |
| Falso-mangostão | <i>Guttiferae</i> | <i>Garcinia xanthochymus</i> |
| Jambo-Vermelho | <i>Myrtaceae</i> | <i>Syzygium malaccense</i> |
| Jatobá | <i>Hymenaea courbaril L.</i> | <i>Caesalpiniacea</i> |
| Jenipapo | <i>Rubiaceae</i> | <i>Genipa americana</i> |
| Jujuba | <i>Ziziphus jujuba</i> | <i>Rhamnaceae</i> |
| Mangostão | <i>Garcinia</i> | <i>Guttiferae mangostana L.</i> |
| Massala | <i>Loganiacea</i> | <i>Strychnus Spinosa</i> |
| Pitaya | <i>Cactaceae</i> | <i>Hylocereus undatus</i> |

IV.1 EXTRAÇÃO DA POLPA DAS FRUTAS

- As frutas, obtidas em estágio de maturação comercial, foram higienizada, sua polpa picada, e posteriormente separou-se porções de 30g da polpa, de cada fruta individualmente. Para cada 30g foram adicionados 100mL de Tampão Fosfato de Sódio 50 mM pH = 7,0, sendo essa mistura da fruta com o tampão homogeneizados em no liquidificador por 10 minutos;

- Após a fruta batida realizou-se o tempo de extração da fruta sob agitação e banho de gelo, por 15 minutos;

O suco de fruta formado foi colocado em tubo falcon e centrifugado por 10 minutos à 4500 rpm. O precipitado foi descartado e o sobrenadante foi reservado para posterior estudos cinéticos. Os ensaios foram realizados em espectrofotômetro de microplaca Biotek® (modelo Power Wave XS2).

IV.2 AÇÃO SOBRE RADICAIS LIVRES E ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO NÃO RADICALARES

Esses ensaios foram realizados para a determinação da capacidade antioxidante de cada amostra em estudo.

IV.2.1 ENSAIO PADRÃO COM O RADICAL DPPH

O DPPH, 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (figura 30; radical estável)- foi dissolvido em etanol e utilizado nos ensaios em concentração de 60 μ M. O ensaio foi realizado segundo Soares; et al; (1997), observando-se o decréscimo da absorbância em 531 nm, após 15 minutos de incubação na presença de uma amostra.

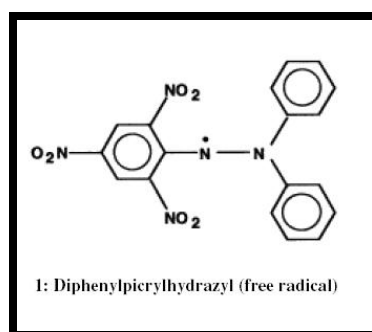


Figura 30 – Estrutura molecular do DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazina)

Fonte: www.commonswiki.org/wiki/File:DPPH.png

IV.2.2 ENSAIO PADRÃO COM O CÁTION RADICAL ABTS^{•+}

O radical catiônico do ABTS (Figura 31; [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] - é utilizado para avaliar as habilidades dos flavonóides e agentes fenólicos como *scavengers* de radicais livres (PELLEGRINI; et al., 1999). O ABTS^{•+} é um radical gerado pela reação entre os sais ABTS e persulfato de potássio (Figura 32; PELLEGRINI; et al., 1999). O ensaio foi realizado segundo Pellegrini et al. (1999), observando-se o decréscimo da absorvância em 734 nm, após 30 minutos de incubação na presença de um antioxidante .

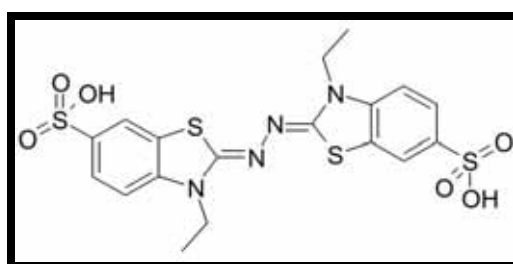


Figura 31 – Estrutura molecular do ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]

Fonte: www.commonswiki.org/wiki/File:ABTS.png

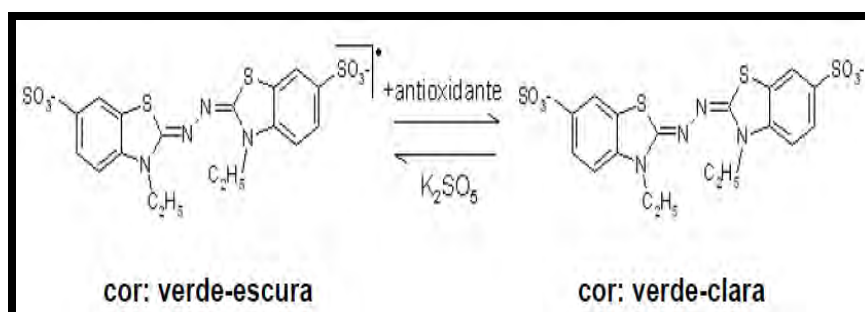


Figura 32 – Oxidação do ABTS pelo $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$.

Fonte: www.commonswiki.org/wiki/File:ABTS.png

IV. 2.3 ATIVIDADE SCAVENGER de H_2O_2 (PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO)

A ação seqüestradora de H_2O_2 (Figura 33; $\xi_{230\text{nm}} = 80 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; BRESTEL, 1985) foi avaliada através da oxidação do ácido 5-tio-2nitrobenzóico (Figura 34; TNB) - que foi preparado a partir do ácido 5-5'-ditio 2-nitrobenzóico (Figura 35; DTNB) - segundo Ching; et al. 1994, sua concentração foi determinada espectrofotometricamente, através de seu coeficiente de extinção molar em 412 nm ($13600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

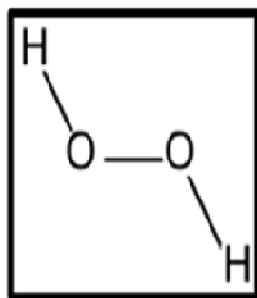


Figura 33 - Estrutura molecular do H_2O_2
Fonte: www.odemo.blogaliza.org/2006/04

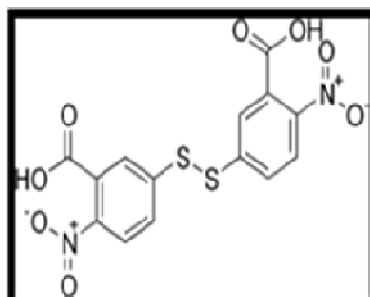


Figura 34 - Estrutura molecular do DTNB
Fonte: www.odemo.blogaliza.org/2006/04

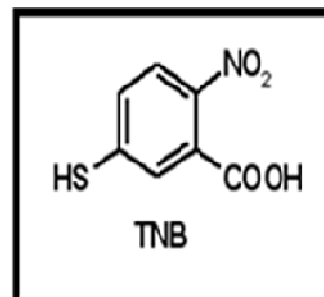


Figura 35 - Estrutura molecular do TNB
Fonte: www.odemo.blogaliza.org/2006/04

IV. 2.4 ATIVIDADE SCAVENGER de HOCl (ÁCIDO HIPOCLOROSO)

Determinou-se as concentrações para o HOCl ($350 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ em 295 nm; ZGLICZYNSKI; et al., 1971). As reações foram efetuadas em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,4 a 25°C (q.s.p. volume final da reação = 1 mL).

Procedeu-se a incubação de 10 min. das amostras com HOCl (30 μ M) e mais 5 min. após adição do 3,5,3',5'-Tetrametilbenzidina (Figura 36; TMB) - (2,8 mM). A leitura foi feita em 652 nm. A concentração solução de HOCl foi determinada espectrofotometricamente, através do seu coeficiente de extinção molar em 292 nm ($350 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; ZGLICZYNSKI; et al.;1971).

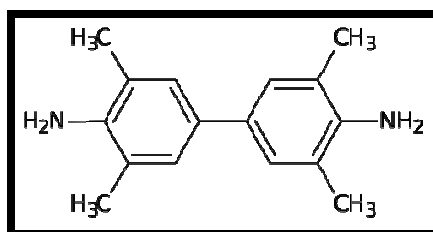


Figura 36 – TMB (3,5,3',5'-Tetrametilbenzidina)
Fonte: www.odemo.blogaliza.org/2006/04/TMB.png

IV. 2.5 ENSAIO COM O $\text{O}_2^{\cdot -}$

O ensaio foi realizado em solução de pirofosfato de sódio (25 mM, pH 8,3), segundo (KAKKAR et al; 1984). Neste sistema o ânion superóxido é gerado pela reação entre metassulfato de fenazina e NADH. O ânion superóxido reage com o NBT para formar uma formazana. A intensidade de cor é diretamente proporcional à concentração do radical (KAKKAR et al., 1984). A intensidade de cor da mistura é determinada em 560 nm.

IV. 3 – SEPARAÇÃO DE PROTEÍNAS

O ensaio utilizado para separação de proteínas das amostras foi proposto, para separar dos compostos fenólicos e os flavonóides, por que essas interferem na dosagem de fenóis e flavonóides totais da amostra. Amostras de polpa de fruta foram eluídas em uma coluna de Sephadex – G25, para a separação das proteínas.

A coleta foi monitorada coletando-se frações de 2mL por tubo de ensaio. Os eluatos foram monitorados através de leitura de absorbância a 280nm (proteína). As frações contendo proteína foram descartadas, e as demais foram juntadas e analisadas quanto ao conteúdo de fenóis e flavonóides totais.

IV. 4 – DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS

A determinação do teor de fenóis totais presentes nas amostras foi realizado por meio do espectrofotometria na região visível utilizando o método de Folin-Ciocalteu com modificações (JAYAPRAKASHA et al.; SINGH et al., 2001).

Para a realização do ensaio foi usado a metodologia segundo JAYAPRAKASHA et al, 2001. O reagente de Folin-Ciocalteu (da Fluka) em junção da solução de Carbonato de Sódio – Na_2CO_3 (7,5%) (da Vetec.) com a amostra (75 μL) em um mesmo meio reacional foi deixado por 30 min. de incubação; as absorbâncias foram medidas a 735nm, seguindo o produto formado.

A curva padrão pode ser feita ou com ácido gálico ou com ácido tânico, para posterior finalização de resultados, usando como parâmetro a curva padrão.

IV. 5 – DETERMINAÇÃO DOS FLAVONÓIDES TOTAIS

Na presença da amostra com cloreto de alumínio a 2% em EtOH (AlCl_3) e Acetato de Sódio 0,1 M, onde essa se complexa com os flavonóides formou-se um cromógeno que apresentou absorção máxima em 425 nm (MARCUCCI et al., 1998).

IV. 6 – ESTUDO COM SISTEMAS CELULARES “EX VIVO” - HEMÓLISE

IV. 6.1 TOXICIDADE SOBRE ERITRÓCITOS - HEMÓLISE

A capacidade hemolítica ou não das frutas foi estudada através da liberação da hemoglobina presente dentro dos eritrócitos (VISSERS et al, 1998). A hemoglobina foi medida pela leitura da absorbância em 414nm. Essa leitura foi efetuada no sobrenadante da suspensão de células a 5% em tampão fosfato de sódio 10mM pH7,4 após a incubação por 4 horas a 37°C.

Os eritrócitos foram obtidos a partir do sangue total coletado em tubo a vácuo contendo EDTA. Essas células foram lavadas com tampão PBS (10mM de fosfato de sódio e 154mM de NaCl pH7,4).

IV. 6.2 TOXICIDADE SOBRE OS ERITRÓCITOS DIANTE AO RADICAL HOCl.

A capacidade de proteção das frutas e seus derivados frente à hemólise provocada pelo radical HOCl foi estudada através da liberação da hemoglobina

presente dentro dos eritrócitos. A liberação da hemoglobina foi medida pela leitura de absorvância em 414nm após 4 horas de incubação a 37°C.

A capacidade de proteção das amostras frente à hemólise provocada pelo radical HOCl foi estudada através da liberação da hemoglobina presente dentro dos eritrócitos (VISSERS et al., 1994). A liberação da hemoglobina foi medida pela leitura de absorvância em 414nm (sobrenadante da suspensão – eritrócitos 5%; tampão fosfato de sódio 10Mm/NaCl 150 mM, pH 7,4) após 4 horas de incubação a 37°C.

IV. 7 – DESCARTE DE RESÍDUOS

No caso de geração de resíduo tóxico, este deve ser descartado de acordo com o planejamento de gerenciamento de resíduos organizado pela Coordenadoria de Análises Clínicas e Hemoterapias (CACH) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP de acordo com a RDC número 306 de 7 de dezembro de 2004 a qual se trata do Regulamento Técnico para o Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde.

Assim sendo, resíduos químicos não tóxicos foram descartados na pia sob água abundante. No caso de material perfurocortantes (exemplo agulhas), estes foram descartados em recipientes de papelão ou plástico rígidos com identificação. Resíduos químicos tóxicos serão armazenados em recipientes de plástico que não reaja com a substância ali contida com identificação.

IV. 8 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos serão feitos em triplicatas ($n=3$) e as análises estatísticas serão realizadas pelo ANOVA onde se estabelece o nível de significância como $p < 0,05$.

V – Resultados e Discussão

"O que eu espero senhores, é que depois de um razoável período de discussão, todo mundo concorde comigo."

(Winston Churchill)



As amostras de frutas foram estudadas frente às espécies reativas de oxigênio e radicais padrões objetos deste trabalho.

V.1 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE

No presente estudo identificou-se em ensaios modelos (em triplicata todos os ensaios), a capacidade de antioxição de radicais e espécies reativas de oxigênio através das amostras (frutas tropicais e exóticas).

V.1.1 – AVALIAÇÃO SOBRE O RADICAL DPPH

O DPPH é um radical padrão estável muito utilizado em estudos sobre ação antioxidante. Apresenta pico máximo de absorção em 531nm, o qual trata-se do comprimento de onda utilizado para avaliar a ação das amostras.

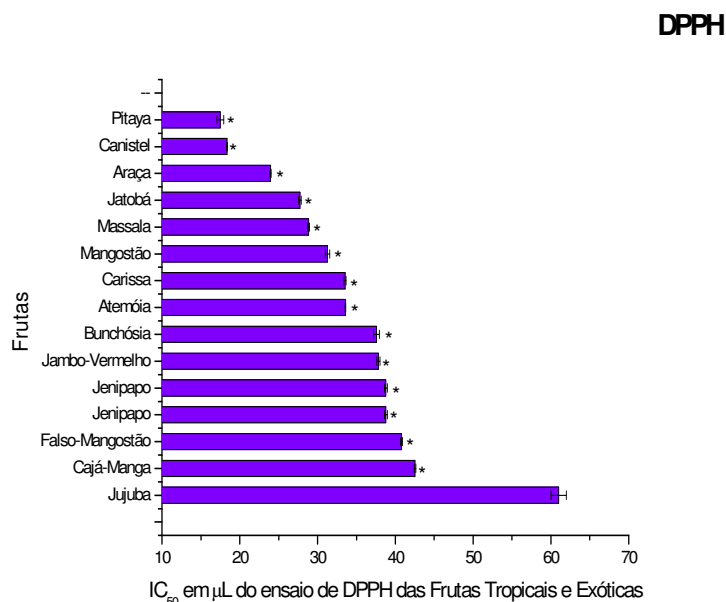


Gráfico 1 – IC₅₀ do efeito de captura sobre o radical DPPH (60µM) pelas amostras em etanol absoluto com incubação de 15 minutos; λ=531nm.

* p< 0,001 da Jujuba com relação à todas as amostras.

Tabela 3 - % de IC₅₀ do Ensaio de DPPH das Frutas Tropicais e Exóticas

| Frutas | % de IC ₅₀ | Desvio Padrão |
|-----------------|-----------------------|---------------|
| Pitaya | 17,5 | 0,43589 |
| Canistel | 18,35333 | 0,05033 |
| Araça | 23,95333 | 0,05033 |
| Jatobá | 27,73333 | 0,15144 |
| Massala | 28,84667 | 0,13317 |
| Mangostão | 31,27 | 0,28054 |
| Carissa | 33,51667 | 0,16073 |
| Atemóia | 33,59 | 0,04583 |
| Bunchósia | 37,57667 | 0,36828 |
| Jambo-Vermelho | 37,80667 | 0,20599 |
| Jenipapo | 38,78333 | 0,18931 |
| Falso-Mangostão | 40,79333 | 0,12342 |
| Cajá-Manga | 42,53 | 0,09539 |
| Jujuba | 61 | 1 |

Todas as amostras mostraram bom potencial antioxidante, contudo as frutas que mostraram melhor potencial seqüestrando o radical DPPH, foram pitaya (IC₅₀17,20%), canistel (IC₅₀17,30%) e Araça (IC₅₀ 23,95%) mostrando que os IC₅₀ dessas foram menores que o IC₅₀ da Jujuba (IC₅₀ 61%) – fruta que mostrou menor potencial antioxidante diante as outras. Todas as amostras atingiram o IC₅₀ do ensaio padrão de DPPH.

V.1.2- AVALIAÇÃO SOBRE O ABTS

Nesse sistema padrão, o radical é gerado pela reação do ABTS com persulfato de potássio, o tempo de reação é de 15 min ao abrigo da luz; o radical gerado apresenta o maior pico de absorção em 734 nm, comprimento de onda utilizado no ensaio.

ABTS

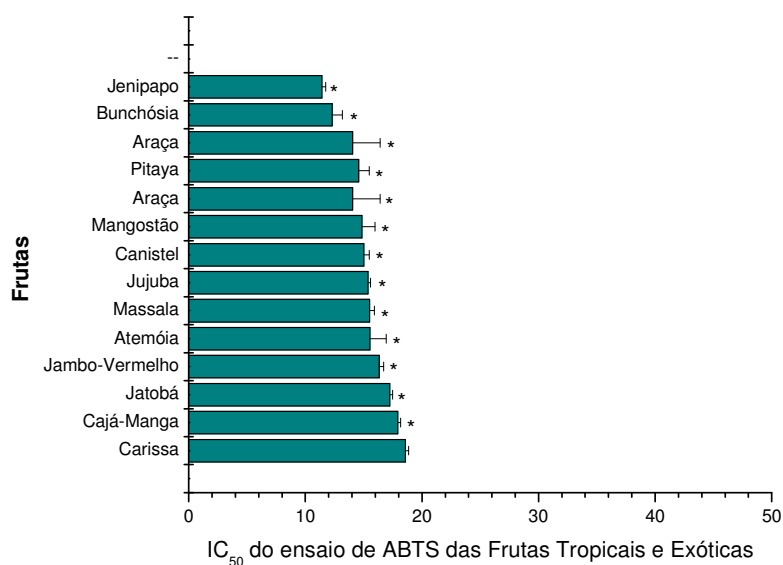


Gráfico 2 – Inibição do radical ABTS^{•+} em tampão fosfato de sódio 10 mM pH 7,4; incubação por 30 minutos. $\lambda = 734\text{nm}$.

* $p < 0,001$ da Carissa com relação à todas as amostras.

Tabela 4 – IC₅₀ do Ensaio de ABTS das Frutas Tropicais e Exóticas

| Fruta | % IC ₅₀ | Desvio Padrão |
|----------------|--------------------|---------------|
| Jenipapo | 11,42667 | 0,31342 |
| Bunchósia | 12,29667 | 0,88218 |
| Araça | 14,05614 | 2,36094 |
| Araça | 14,05667 | 2,37018 |
| Pitaya | 14,57667 | 0,91029 |
| Mangostão | 14,85667 | 1,12296 |
| Canistel | 15,03 | 0,45902 |
| Jujuba | 15,36667 | 0,23714 |
| Massala | 15,50333 | 0,40649 |
| Atemóia | 15,54333 | 1,38655 |
| Jambo-Vermelho | 16,33667 | 0,37581 |
| Jatobá | 17,23667 | 0,25384 |
| Cajá-Manga | 17,92333 | 0,24111 |
| Carissa | 18,59 | 0,27731 |

Houve diferença significativa estatisticamente entre todas as amostras quando comparadas a Carissa.

Os resultados obtidos (gráfico 2) no ensaio padrão com o ABTS^{•+} demonstraram que as frutas utilizadas nos testes apresentaram excelente atividade antioxidante ressaltando as seguintes frutas Jenipapo (11,42%), Bunchósia (12,29%) e Araça (14,05%) onde os IC₅₀ foram menores com relação a Carissa que teve o menor desempenho com relação as outras amostras. As frutas mostraram-se então com uma excelente atividade antioxidante diante ao ensaio padrão, obtendo-se IC₅₀, para todas as amostras, inclusive a de menor desempenho Carissa.

V.1.3 – AVALIAÇÃO SCAVENGER DE H₂O₂

A interferência das amostras na oxidação do TNB pelo peróxido de hidrogênio também foi estudada. O peróxido de hidrogênio, assim como o ácido hipocloroso, oxida o DTNB a TNB com queda da absorbância em 412 nm.

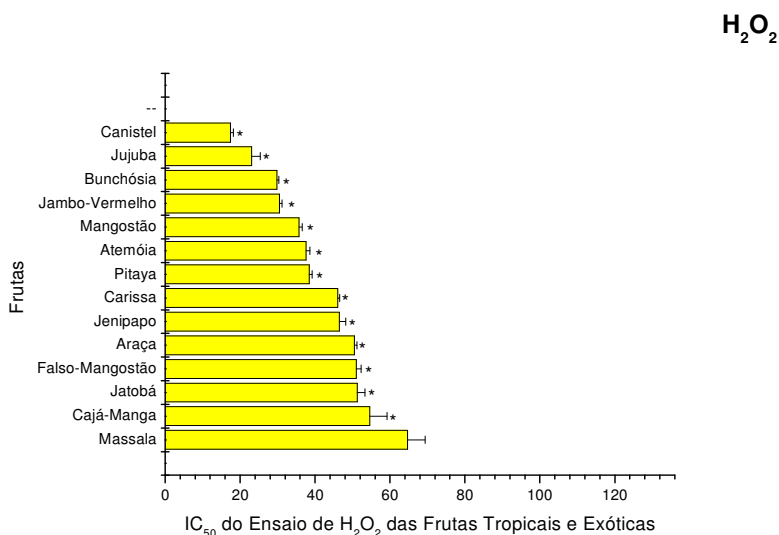


Gráfico 3 – Inibição do radical H₂O₂ em tampão fosfato de sódio 10 mM pH 7,4; incubação por 30 minutos. λ = 734nm.

* p < 0,001 para da Massala com relação à todas as amostras.

Por uma reação de oxidação mais lenta do que a observada com o HOCl, avaliou-se o tempo de incubação necessário para que não houvesse mais variação de absorbância, sendo o tempo de incubação de 2 horas e 30 minutos.

Tabela 5 – Valores de IC₅₀ do Ensaio com H₂O₂ na presença da Frutas Tropicais e Exóticas selecionadas.

| Frutas | IC ₅₀ (%) | Desvio Padrão |
|-----------------|-------------------------|---------------|
| Canistel | 17,5 | 0,722 |
| Jujuba | 23,1 | 2,31093 |
| Bunchósia | 29,8 | 0,56359 |
| Jambo-Vermelho | 30,5 | 0,66731 |
| Mangostão | 35,7 | 0,83008 |
| Atemóia | 37,6 | 1,02569 |
| Pitaya | 38,4 | 0,82928 |
| Carissa | 46,0 | 0,51733 |
| Jenipapo | 46,4 | 1,71097 |
| Araça | 50,5 | 0,66463 |
| Falso-Mangostão | 51,0 | 1,28207 |
| Jatobá | 51,3 | 2,02367 |
| Cajá-Manga | 54,6 | 4,69119 |
| Massala | 64,6 | 4,75689 |

Os resultados obtidos (gráfico 3) nos ensaios com o H₂O₂ demonstraram que as frutas, objeto do estudo, apresentaram bom parâmetro de atividade antioxidante com relação a Massala. As frutas que apresentaram menores IC₅₀ que mostraram melhor resultado de inibição foram Canistel (17,47%), Jujuba (23,06%) e Bunchósia (29,79%).

Pelo já exposto, procurou-se durante o ensaio observar a formação de bolhas na parede da placa, visto a possibilidade da presença de catalase no suco da fruta em estudo. Pois, a catalase poderia estar intervindo no resultado

final, decompondo a espécie reativa H_2O_2 , resultando no final um maior valor de inibição. Não houve a formação de bolhas, isso pode ser indicativo de não atuação da catalase no meio reacional e, portanto, indicando assim que a amostra de suco de fruta é responsável pelo valor de IC_{50} determinado experimentalmente.

V.1.4 – AVALIAÇÃO SOBRE O HOCl

A ação das amostras sobre o ácido hipocloroso, HOCl, foi avaliada através do ensaio de oxidação do DTNB a TNB com queda da absorbância em 655 nm, com um tempo de incubação do meio reacional de 15 minutos.

HOCl

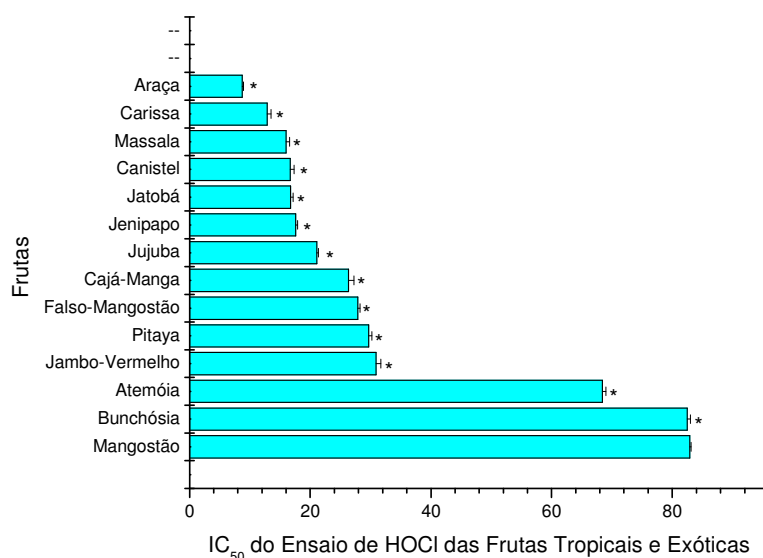


Gráfico 4 – IC_{50} do efeito de captura sobre o HOCl; tampão fosfato de sódio 50mM pH7,4; TMB 2,8mM; incubação de 10 minutos e revelação com TMB; leituras a 652nm. * $p < 0,001$ do Mangostão .

Tabela 6 – IC₅₀ do Ensaio de HOCL das Frutas Tropicais e Exóticas

| Frutas | I% do IC ₅₀ | Desvio Padrão |
|-----------------|------------------------|---------------|
| Araça | 8,7 | 0,26458 |
| Carissa | 12,84 | 0,65207 |
| Massala | 16,01 | 0,54525 |
| Canistel | 16,69667 | 0,62405 |
| Jatobá | 16,75667 | 0,39273 |
| Jenipapo | 17,57667 | 0,29671 |
| Jujuba | 21,1 | 0,23643 |
| Cajá-Manga | 26,35333 | 0,87506 |
| Falso-Mangostão | 27,88 | 0,34117 |
| Pitaya | 29,69667 | 0,50063 |
| Jambo-Vermelho | 30,9 | 0,78581 |
| Atemóia | 68,43333 | 0,55537 |
| Bunchósia | 82,48 | 0,50121 |
| Mangostão | 82,92667 | 0,16166 |

Os dados obtidos mostram eficiente a atividade antioxidante da maioria das amostras, quando comparadas a fruta com maior valor de IC₅₀. Nesse caso O Mangostão (IC₅₀=82,9%). Destacam-se as frutas de Araçá (8,7%), Carissa (12,84%), Massala (16,01%) e Canistel (16,69%), que apresentaram melhor ação antioxidante dentre as outras, pois os IC₅₀ dessas foram menores; já as frutas mangostão (IC₅₀=82,9%), buchósia (IC₅₀=82,5) e atemóia (IC₅₀=68,4) tiveram os IC₅₀ BEM mais alto, mostrando que diante a essa espécie reativa de oxigênio são pouco eficazes, pois necessitam de maior concentração para ter o mesmo efeito de araçá (IC₅₀=8,7).

Todas as amostras mostraram diferença estatística com relação ao Mangostão (fruta de menor potencial antioxidante nesse caso).

V.1.5 – AVALIAÇÃO SOBRE O ENSAIO DE ÂNION SUPERÓXIDO

No sistema gerador de ânion superóxido, esta espécie é gerada pela reação entre NADH e metassulfato de fenzina (PMS). O ânion superóxido produzido é revelado em solução pela reação com o sal de tetrazólio (NBT) gerando como produto formazana com máximo de absorbância em 560 nm.

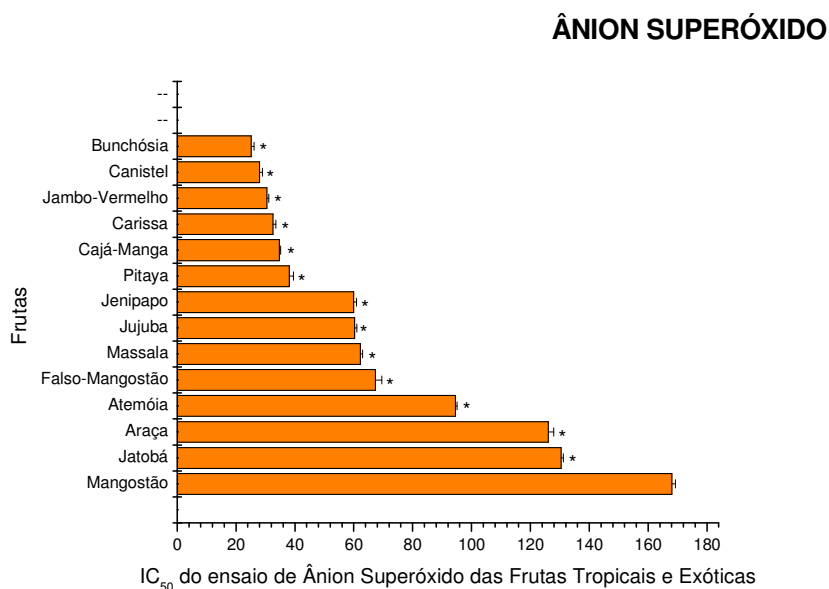


Gráfico 5 – IC₅₀ do efeito de captura sobre o radical superóxido em meio reacional com tampão pirofosfato de sódio 25mM pH8,3, NBT 90µM, NADH 116 µM, PMS 15 µM. Incubação de 2 minutos e adição de ácido acético 5% e 10 minutos de incubação. $\lambda = 560\text{nm}$

* $p < 0,001$ do Mangostão em relação à todas as amostras.

Nesse ensaio (gráfico 5) todas as amostras atingiram também o IC₅₀ esperado. Ressalta-se as amostras Bunchósia (25,13%), Canistel (27,96%) e Jambo Vermelho (30,49%) que obtiveram os melhores potenciais antioxidantes diante as outras amostras, quando comparadas ao Mangostão que teve o menor IC₅₀ de todas, porém todas as frutas atingiram o IC₅₀ no ensaio.

Tabela 7 – IC₅₀ do Ensaio de O₂^{•-} das Frutas Tropicais e Exóticas

| Frutas | % do IC ₅₀ | Desvio Padrão |
|-----------------|-----------------------|---------------|
| Bunchósia | 25,13333 | 0,995 |
| Canistel | 27,96 | 0,98061 |
| Jambo-Vermelho | 30,49 | 0,66731 |
| Carissa | 32,50667 | 0,9711 |
| Cajá-Manga | 34,73333 | 0,41199 |
| Pitaya | 38,08333 | 1,38182 |
| Jenipapo | 60,01 | 0,97216 |
| Jujuba | 60,29667 | 0,77358 |
| Massala | 62,27333 | 0,74568 |
| Falso-Mangostão | 67,37666 | 2,08869 |
| Atemóia | 94,54333 | 0,56074 |
| Araça | 126,1433 | 1,79054 |
| Jatobá | 130,41 | 0,73321 |
| Mangostão | 168,03 | 1,29225 |
| Jatobá | 130,41 | 0,73321 |
| Araça | 126,1433 | 1,79054 |

Apesar de ser considerado pouco reativo em soluções aquosas, tem sido observada lesão biológica secundária na presença de sistemas geradores do O₂^{•-} seja enzimático, fagocítico ou químico (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990).

V.1.6 – SEPARAÇÃO DE PROTEÍNAS

Esse procedimento foi realizado para separar proteína de fenóis e flavonóides, por que os reagentes usados nesses ensaios, interferem primeiramente nas proteínas e depois nos outros constituintes, portanto, separadas as proteínas sobrarão apenas o que interessa na amostra como fenóis e flavonóides totais, podendo ser dosadas sem a intervenção dessas, segue abaixo um exemplo de separação através da eluição em coluna Sephadex- G25.

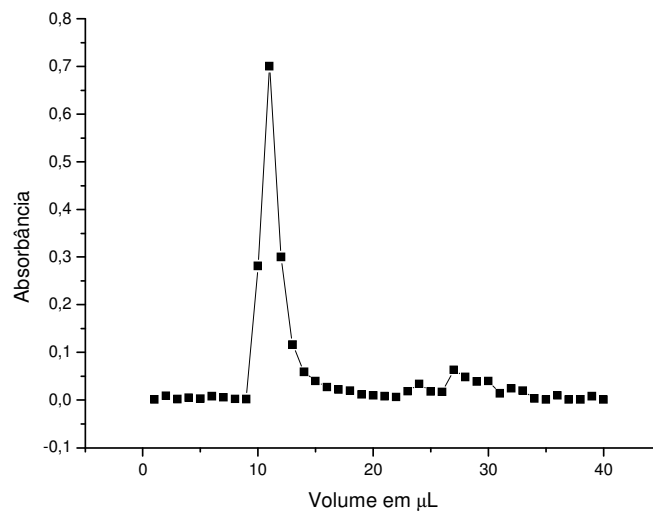
Mangostão

Gráfico 6 – Separação de Proteínas através da coluna “Sephadex G25”

V.1.7 – DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS

A determinação de Fenóis Totais foi realizada usando a técnica de Folin – Ciocateau segundo (DIMITRIOS, 2006), com onda espectrofotométrica de 735 nm, averiguando a sua capacidade antioxidante, atribuída à sua capacidade em complexar íons metálicos, inativar reações radicalares e etc. (DIMITRIOS, 2006). Para o preparo da curva padrão foi usado: ácido gálico dissolvido em etanol 98%.

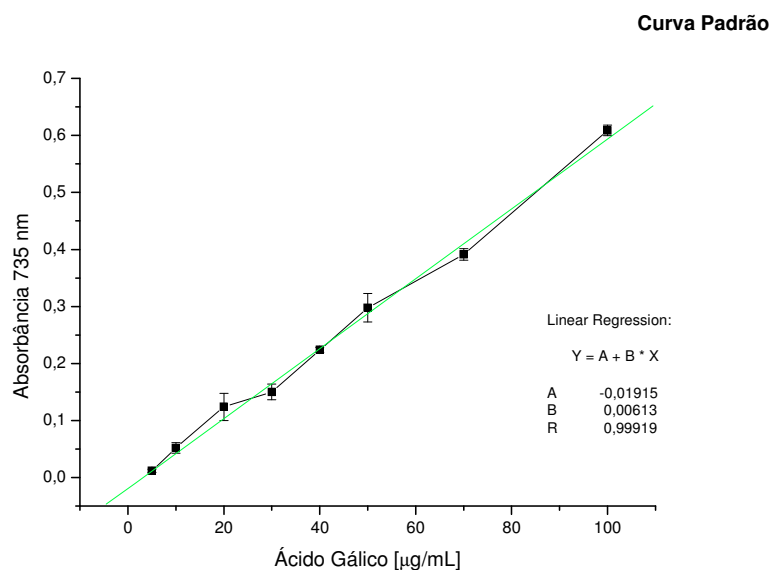


Gráfico 7 – Curva Padrão de Fenóis Totais – Ácido Gálico [$\mu\text{g/mL}$]

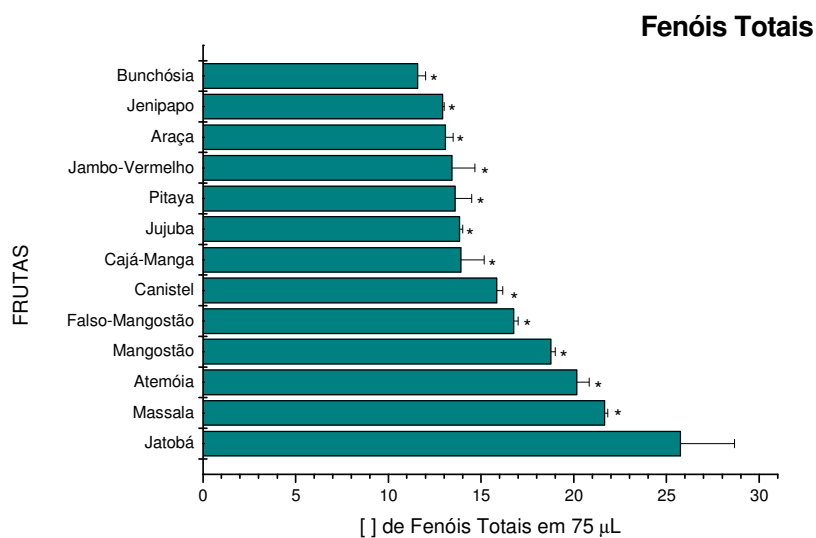


Gráfico 8 – [] de Fenóis Totais ($\mu\text{g/mL}$) em 75 μL de Amostra no meio reacional do reagente de Folin-Ciocalteu, adicionado logo em seguida Carbonato de Sódio (Na_2CO_3). $\lambda = 735 \text{ nm}$

* $P < 0,001$ do Jatobá em relação à todas as amostras.

Tabela 8 – [] dos Fenóis Totais das Frutas Tropicais e Exóticas

| Frutas | [%] IC ₅₀ | Desvio Padrão |
|-----------------|------------------------|---------------|
| Bunchósia | 11,58333 | 0,41667 |
| Jenipapo | 12,91667 | 0,08333 |
| Araça | 13,08333 | 0,41667 |
| Jambo-Vermelho | 13,41667 | 1,25 |
| Pitaya | 13,58333 | 0,91667 |
| Jujuba | 13,83333 | 0,16667 |
| Cajá-Manga | 13,91667 | 1,25 |
| Canistel | 15,83333 | 0,33333 |
| Falso-Mangostão | 16,75 | 0,25 |
| Mangostão | 18,75 | 0,25 |
| Atemóia | 20,16667 | 0,66667 |
| Massala | 21,66667 | 0,16667 |
| Jatobá | 25,75 | 2,91667 |

Foi realizado um ensaio para a determinação da concentração de fenóis totais nas amostras em estudo, e como mostra nosso gráfico e tabela, as frutas que se comportaram melhor obtendo o maior número de fenóis em sua composição foram as seguinte: Bunchósia (11,58%), Jenipapo (12,91%) e Araça (13,08%), contudo, todas apresentaram uma boa concentração de fenóis totais sendo um bom parâmetro para o alimento.

5.1.8 – DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES TOTAIS

Para a determinação de Flavonóides totais foi usado a técnica de MARCUCCI, 1998, para determinar a quantidade de flavonóides presente em 75 µl de cada amostra; o cloreto de alumínio (AlCl₃) na presença do acetato de sódio reage com os flavonóides formando um cromógeno que apresenta absorção máxima a 425 nm.

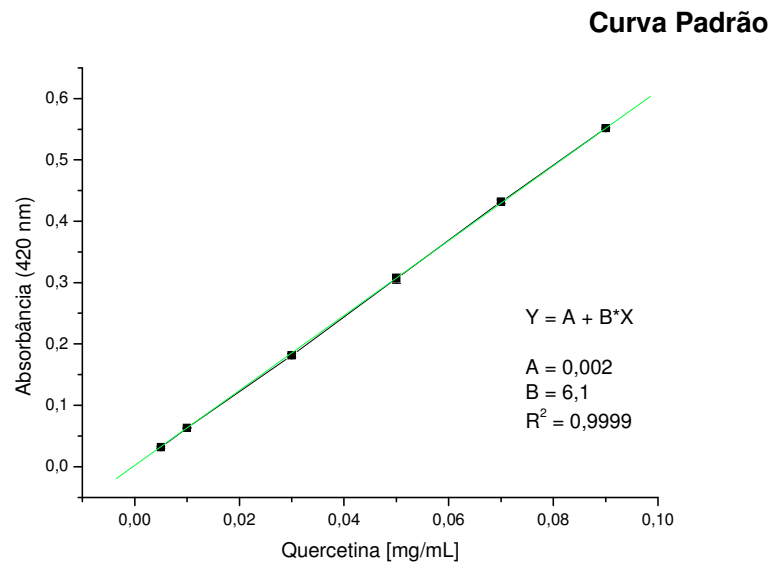


Gráfico 9 – Curva analítica de quercetina (flavonóide)

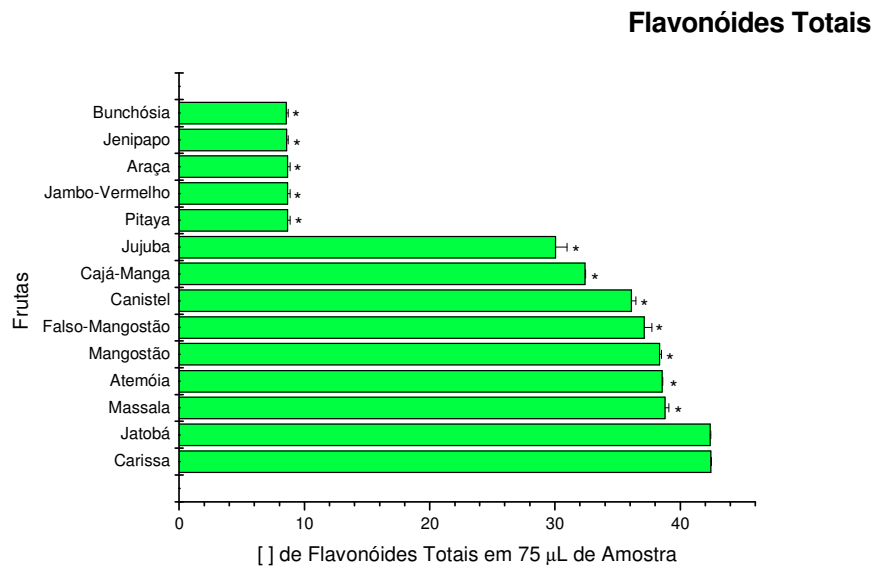


Gráfico 10 – Teor de Flavonóides Totais (mg/mL) em 75 µL de Amostra no meio reacional de Cloreto de Alumínio e acetato de sódio. $\lambda = 425 \text{ nm}$
 * $p < 0,001$ da Carissa em relação à todas as amostras.

Tabela 9 – Teor de flavonóides Totais em 75 µL das Frutas Tropicais e Exóticas

| Frutas | Teor (mg/mL) | Desvio Padrão |
|-----------------|--------------|---------------|
| Bunchósia | 8,55555 | 0,14699 |
| Jenipapo | 8,58543 | 0,12591 |
| Araça | 8,66664 | 0,19245 |
| Jambo-Vermelho | 8,66666 | 0,19245 |
| Pitaya | 8,66667 | 0,19245 |
| Jujuba | 30,05555 | 0,92463 |
| Cajá-Manga | 32,38889 | 0,05556 |
| Canistel | 36,11111 | 0,33793 |
| Falso-Mangostão | 37,11111 | 0,61864 |
| Mangostão | 38,33334 | 0,16667 |
| Atemóia | 38,55556 | 0,05556 |
| Massala | 38,77778 | 0,30932 |
| Jatobá | 42,38889 | 0,05556 |
| Carissa | 42,44444 | 0,05556 |

Foi realizado um teste para a determinação da concentração de flavonóides totais nas amostras em estudo, e como mostra nosso gráfico e tabela, as frutas que se comportaram melhor obtendo o maior número de flavonóides (comprovando assim a presença de fenóis nas amostras) em sua composição foram as seguinte: Bunchósia (8,5%), Jenipapo (8,58%), Araça (8,66%), e Jamboa-Vermelho (8,66%), contudo, todas apresentaram uma boa concentração de flavonóides totais sendo um bom parâmetro para o alimento, mostrando que os alimentos são ricos em compostos antioxidantes, pois compostos flavonóicos, são antioxidantes.

V.2 – ESTUDOS COM SISTEMAS CELULARES “EX VIVOS”

V.2.1 – INTERAÇÃO COM SISTEMAS CELULARES - HEMÓLISE

Avaliou-se a citotoxicidade das amostras frente aos eritrócitos (série vermelha do sangue humano). Essas células são suscetíveis a radicais livres e outras ERO.

Os eritrócitos foram obtidos após coleta de sangue total de pessoas voluntárias hígdas (saudáveis). As amostras foram separadas do soro (ficando apenas série vermelha) após centrifugação em 1500 rpm por 15 minutos. A ação hemolítica dos compostos naturais foi estudada pela liberação de hemoglobina da células (VISSERS et al.,1998); a ação dos compostos naturais sobre a lise promovida pelo HOCl 100 μ M em suspensão de eritrócitos 5% (tampão fosfato de sódio 10mM/NaCl 150mM, pH 7,4; 37°C) foi avaliada pela liberação de hemoglobina pelas células após 4 horas de incubação através das leituras das absorbâncias em 414 nm.

Hemólise

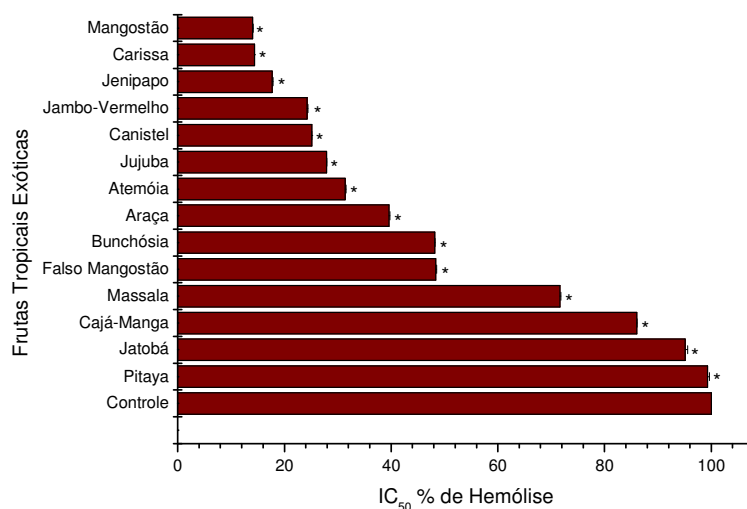


Gráfico 11 – Ação das amostras estudadas sobre a hemólise Induzida pelo HOCl. Meio reacional: HOCl 100 μ M, suspensão de eritrócitos 5%; 4 horas de incubação; 370°C; tampão fosfato de sódio 10mM com NaCl 150mM, pH 7,4; λ - 414 nm.

* $p < 0,001$ do Controle (água Milli-Q) em relação à todas as amostras.

Tabela 10 – IC₅₀ da Hemólise das Frutas Tropicais e Exóticas

| Frutas | Desvio Padrão | |
|------------------------|---------------|---------|
| Mangostão | 14,0521 | 0,09154 |
| Carissa | 14,36667 | 0,06173 |
| Jenipapo | 17,72 | 0,15535 |
| Jambo-Vermelho | 24,26 | 0,12055 |
| Canistel | 25,12 | 0,0611 |
| Jujuba | 27,87667 | 0,06333 |
| Atemóia | 31,33667 | 0,17033 |
| Araça | 39,61333 | 0,20019 |
| Bunchósia | 48,15 | 0,0755 |
| Falso Mangostão | 48,36666 | 0,18559 |
| Massala | 71,63333 | 0,18559 |
| Cajá-Manga | 86,06 | 0,05508 |
| Jatobá | 95,07 | 0,51791 |
| Pitaya | 99,33667 | 0,33168 |

Já foi diretamente realizada a interação das amostras com os eritrócitos na presença do agente HOCl, vendo assim que as frutas já obtiveram

resultados benéficos onde mostraram-se com um bom potencial antioxidante, não exercendo poder hemolítico, sequestrando bem a espécie reativa de oxigênio; com enfoque para Mangostão (14,05%), Carissa (14,36%) e Mangostão (17,72%), que apresentaram menores IC₅₀ mostrando uma melhor resposta no ensaio.

V.3 - REFLEXÃO SOBRE OS DADOS COMO OBJETIVOS

PROPOSTOS

A utilização de produtos naturais com propriedades terapêuticas é tão antiga quanto à civilização humana e, por um longo período, minerais, produtos vegetais e animais foram as principais fontes de substâncias ativas (RATES, 2001). Durante milênios, o homem, empiricamente, aprofundou seus conhecimentos visando à melhoria nas condições de alimentação e a cura de suas enfermidades, demonstrando uma estreita inter-relação entre o uso das plantas e sua evolução (SANTOS, 2006).

A magnitude da biodiversidade brasileira não é conhecida com precisão tal a sua complexidade, estimando-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e micro-organismos (GUERRA e NODARI, 2003).

Em relação à flora, esta é bastante diversificada, em toda a sua extensão, com vegetações de diferentes características e com princípios ativos ainda desconhecidos. De um modo geral, as matas nativas são as maiores representações das riquezas de espécies da flora brasileira (NAPOLITANO et al., 2005).

O Brasil, especialmente nas regiões onde a biodiversidade é especialmente rica, é verificado um amplo conhecimento popular sobre plantas medicinais. A busca de substâncias naturais, de baixo custo e com menores efeitos adversos, tem levado a um número crescente de pesquisa nesta área (NAPOLITANO et al., 2005).

Nesse sentido, a busca por opções terapêuticas para diferentes patologias faz da pesquisa de produtos naturais um campo fértil em opções de moléculas com diferentes atividades biológicas. Por outro lado, devido ao desconhecimento da possível existência da ação tóxica, bem como de sua indicação de uso adequada, as plantas medicinais são muitas vezes utilizadas de forma incorreta, não produzindo o efeito desejado (FELFILI et al., 2002).

O termo radical livre refere-se a um átomo ou molécula altamente reativa, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica. É este não emparelhamento de elétrons da última camada que confere alta reatividade a esses átomos ou moléculas (HALLIWELL, 1994).

Radical livre não é o único responsável como potencial nos processos patogênicos, de origem endógena (intracelular) ou xenobióticos. Em relação ao oxigênio, tem-se espécies envolvidas nos processos danos/doenças que não são radicais livres. Por isso a denominação geral de ERO (FERREIRA & MATSUBARA 1997).

A molécula de oxigênio é muito estável em seu estado fundamental, mas não é estável quando na forma de $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , $^{\bullet}OH$, por poluentes ambientais, radiações ultra-violeta e pelas redução parcial do O_2 . Essas ERO de oxigênio provocam danos oxidativos às biomoléculas, tais como carboidratos, proteínas, lipídios e DNA (DASGUPTA e DE BRATATI, 2004) acelerando o

envelhecimento e estão relacionados ao acidente vascular cerebral, doença de Parkinson, catarata, aterosclerose dentre outras (FERREIRA & MATSUBARA 1997). Entre estas espécies, o $\cdot\text{OH}$ é o considerado mais reativo e provoca graves danos (GUTTERIDGE, 1984). Por exemplo, a oxidação de LDL estimula a internalização de colesterol nos macrófagos, os quais, conseqüentemente, se convertem em células espumosas, contribuindo para a formação da placa de ateroma (HALLIWELL, 1990).

A formação de espécies reativas é equilibrada naturalmente pela existência de biomoléculas com ação antioxidante, substâncias que, quando em pequenas quantidades, são capazes de inibir ou retardar processos oxidativos, como, por exemplo, a lipoperoxidação (ATOUI et al, 2005; CHUN et al, 2005). Diferentes compostos antioxidantes presentes na dieta desempenham importantes funções em retardar o desenvolvimento de doenças crônicas tais como doenças cardiovasculares, câncer, reações inflamatórias e Mal de Alzheimer (VELLOSA, 2007).

Todas as amostras foram feitas em volume (μL), não sabendo ao certo a concentração certa de massa existente na amostra, ou seja, g/mL por exemplo, portanto, as comparações foram feitas entre frutas sem ter usado algum composto como padrão, resultando em tal fruta é melhor que tal fruta no seqüestro do radical livre ou na ERO.

Nos estudos da ação de produtos naturais e outros xenobióticos sobre radicais livres é muito comum utilizar-se de radicais modelos (padrões) não pertencentes aos organismos vivos para se avaliar o potencial de interação com tais moléculas. Dentre estes radicais encontram-se o $\text{ABTS}^{\bullet+}$ e o DPPH,

sendo que, nos resultados obtidos, o radical ABTS se mostrou um radical mais facilmente capturável pelas espécies reativas do oxigênio do que o DPPH.

O peróxido de hidrogênio é necessário à mieloperoxidase para a oxidação de haletos a seus ácidos hipohalosos, sendo, portanto um componente essencial na produção de ácido hipocloroso. O HOCl é um oxidante extremamente deletério ao organismo e responsável pela alteração de diferentes biomoléculas das estruturas celulares levando a alterações importantes constatadas no organismo em diferentes patologias.

As amostras mostraram-se eficientes com relação a essas espécies reativas de oxigênio, todas atingindo a % de IC₅₀ adequada, mostrando ter um bom potencial antioxidante.

O ânion superóxido é uma ERO produzida constantemente no organismo humano em processos fisiológicos, como o *oxidative burst* e a respiração celular, e patológicos (processos inflamatórios exacerbados), sendo ainda uma das principais espécies envolvidas na alteração do tecido epitelial observada ao longo dos anos no processo de envelhecimento. Portanto, o ânion superóxido é um alvo farmacológico importante no que refere à prevenção e tratamento de patologias associadas ao estresse oxidativo.

As frutas mostraram-se eficientes com relação a esse radical biológico, todas atingindo a % de IC₅₀ adequada.

Compostos fenólicos de origem vegetal são economicamente importantes sendo usados nas indústrias alimentícia, química e farmacêutica. Existem diversas metodologias de extração para estas substâncias bioativas, empregando-se geralmente a extração por solventes aquosos ou orgânicos (MeOH, etanol e acetona) ou misturas (OLIVEIRA, 2009). Contudo, há uma

grande dificuldade em estabelecer qual o melhor solvente ou sistema extrativo mais eficiente, já que vários fatores estão envolvidos neste processo, como a espécie, as propriedades físico-químicas das substâncias, o tempo e a temperatura da extração (ANDREO; JORGE, 2006).

Com relação à determinação de fenóis totais, as amostras mostraram-se com baixos teores de fenóis umas às outras, contudo dentro da classe de fenóis totais, sabemos que há várias classes de compostos polifenólicos, os quais, podem estar aí a capacidade antioxidante delas, como por exemplo os flavonóides totais assim dosados.

Os flavonóides são conhecidos por exercerem uma infinidade de propriedades biológicas como antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória, analgésica e antiúlcera e antioxidante (SIMOES, 2003).

A atividade antioxidante de compostos orgânicos é dependente de algumas características estruturais e suas propriedades de oxidação e redução, que incluem, na maioria dos casos, a presença de grupamentos fenólicos. Desta forma, flavonóides, fenilpropanóides e outros compostos aromáticos são os principais alvos da busca por antioxidantes (VELLOSA, 2007).

Podemos também observar, que não só fatores estruturais intrínsecos das moléculas ou a composição dos extratos vegetais influi na avaliação do potencial antioxidante. Nos ensaios realizados verificamos que dependendo das condições de sua realização observou-se diferenças em relação aos respectivos IC_{50} , que pode refletir o favorecimento ou não da interação das amostras com as espécies radicalares ou outras espécies reativas.

No estudo bioquímico da interferência de xenobióticos em processos oxidativos julgou-se necessária a avaliação da ação dos mesmos em células animais. Para tanto, optou-se por estudar a ação sobre eritrócitos de seres humanos, dada a susceptibilidade dos mesmos a radicais livres e outras ERO e aos efeitos que o dano oxidativo sobre tais células podem acarretar ao organismo humano, sendo estas células responsáveis pelo transporte de oxigênio entre os tecidos.

Buscou-se avaliar se as amostras por si só apresentariam algum potencial citotóxico sobre os eritrócitos. Elas foram avaliadas em um mesmo volume na presença de eritrócitos em diferentes tempos de incubação.

Como visto as frutas mostraram-se com potencial benéfico com relação às células vermelhas, provando a sua boa contribuição para com o organismo humano, ou seja, não sendo citotóxico com as células sanguíneas, concluindo que as amostras não são agente hemolíticos.

Avaliando-se os dados apresentados nos diferentes sistemas estudados, os produtos gerados da interferência das amostras na explosão oxidativa poderiam ser obtidos a partir da reação dessas frutas com quaisquer ERO, à medida que todas as amostras mostraram ser capazes de interagir com diferentes radicais livres e espécies reativas não-radicalares, sendo um bom parâmetro antioxidante frente essas mesmas amostras testadas.

Observou-se a importância de se estudar um perfil de ação bioquímica, pois, a despeito do que é habitual de se encontrar em trabalhos semelhantes, se definiu efeitos das atividades antioxidantes das frutas traçando em seu mecanismo da ação, buscando a compreensão da interferência dos mesmos

em processos oxidativos simples a processos oxidativos mais complexos como os observados nos sistemas celulares.

VI – Conclusões

“A morte do homem começa no instante em que ele desiste de aprender”

(Albino Teixeira)



- Os resultados como os experimentos *in vitro*, mostraram uma significativa capacidade antioxidante dos extratos das frutas tropicais e exóticas, analisados em sistemas como HOCl, Ânions Superóxido , H₂O₂, ABTS e DPPH.
- As amostras quando testadas em sistemas *ex vivo* (tratando-se do ensaio de hemólise), se comportaram extremamente favorável com relação às células, provando assim, que essas não possuem poder hemolítico.
- Foi realizado separação de proteínas das amostras, para a dosagem de fenóis e flavonóides totais, concluindo que as frutas obtêm um alto nível desses constituintes.
- Neste trabalho pode-se observar que todas as amostras testadas apresentaram ação sobre os sistemas *in vitro* e *ex-vivo* estudados, assim as frutas em estudo mostraram – se com excelente potencial antioxidante diante aos ensaios modelos, portanto, em todos os ensaios que trabalhou-se com espécies reativas de oxigênio na presença das amostras essas foram suprimidas, comprovando assim a capacidade de captação desses radicais pelas frutas estudadas.

VII – Referências Bibliográficas

"A vida é breve, a arte é longa, a ocasião fugidia, a experiência enganosa, o julgamento difícil."
(Sócrates)



ABTS. Disponível em:

<<http://www.commons.wikimedia.org/wiki/File:ABTS.png>>. Acesso em: 12 jan. 2009.

AHMAD, F. B.; ISMAIL, G. Medicinal plants used by kadazandusun communities around crocker range. ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEC). Disponível em: <<http://www.arbec.com.my/pdf/art1janmar03.pdf>>. Acesso em: 11 abr. 2009.

ALCORN, J.B. The scope and aims of ethnobotany in a developing world. In: SCHULTES, R.E.; von REIS, S. (Eds.). **Ethnobotany: evolution of a discipline**. Portland: Dioscorides Press, 1995.

ALDRIDGE, R. E.; CHAN, T.; van DaLEN, C. J.; SENTHILMOHAN, R.; WINN, M.; VENGE, P.; TOWN, G. I.; KETLLE, A. J. Eosinophil peroxidase produces hypobromous acid in the airways of stable asthmatics **Free radical Biology & Medicine**, v. 33, p. 847-856, 2002.

ALMEIDA, N.M.S. **Frutos nativos do cerrado**. Disponível em: <<http://professoraneusa.files.wordpress.com/2008/04/frutos-do-cerrado.pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2009.

AMAZÔNIA. Atemóia. Frutas da Amazônia. Disponível em: <http://www.maniadeamazonia.com.br/catalogo_ficha.asp?ArvoreID=45&Desc=Araticum--Annona-coriacea> Acesso em: 10 jan. 2010.

AMOROZO, M.C.M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Laverger,. **Acta Botanica Brasilica**. MT, Brasil, v.16, p: 189-203. 2002.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, Amsterdam, v.350 (1), p.103-108, 1996.

ANDREWS, P.C.; KRINSKY, N.I.; Human myeloperoxidase and Hemi-myeloperoxidase. **Methods in Enzimology**, v.12, p. 369-378, 1986.

ARNHOLD, J. Properties, Functions, and Secretion of Human Myeloperoxidase. **Biochemistry**, v.69, p. 4-9, 2004.

ATOUI, A.K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chem.**, v. 89, p. 27-36, 2005.

BABIOR, B. M.; COHEN, H. J. Phagocytes and oxidative stress. **American Journal of Medicine**, v. 109, p. 33-44, 2000.

BALICK, M.J.; COX, P.A. Plants, people and culture. New York - **Scientific American Library**. 1997.

BAST, A. HAENEM G. R. M. M.; DOELMAN C. J. A. Oxidants and antioxidants: state of the art. **American Journal of Medicine**, v. 91, p. 2-13, 1991.

BELLÓ, A. Estresse oxidativo e regulação biológica pelos radicais livres. In: MARRONI, N. P. et al. **Estresse oxidativo e antioxidantes.**, 2002. p.46-61.

BETTIOL NETO, J.E. **Híbrida**. Disponível em: <http://revistagloborural.globo.com/Editoraglobo/componentes/article/edg_article.html>. Acesso em: 25 abr. 2009.

BOVERIS, A.; CADENAS, E.; REITER, R.; CHANCE, B.; JAMIEESON, D. The relation of free radical production to hyperoxia. **Annual Review of Physiology**, v. 48, p. 703-719, 1986.

BRESTEL, E. P. Co-oxidation of luminol and hydrogen peroxide. Implications for neutrophil chemiluminescence. **Biochemical Biophysical Research Communications**, v.126, p. 482-488, 1985.

BRIHEIM, G.; STENDAHL, O.; DAHLGREN, C. Intra-and Extracellular events in luminal-dependent chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes. **Infection and immunity**, v.45, p.1-5, 1984.

CALIFORNIA RARE FRUIT GROWERS. Jujube. 1996. Disponível em: <<http://www.crfg.org/pubs/ff/jujube.html>>. Acesso em: 8 de julho de 2009.

CARVALHO NETO, W. A vegetação natural do Brasil e suas frutas comestíveis. Disponível: <<http://143.107.240.36/portal/Result2000/net/frutas.htm>>. Acesso em: 20 jan. 2009.

CAVALCANTE, I.H.L.; JESUS, N.; MARTINS, A.B.G. Physical and chemical characterization of yellow mangosteen fruits. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28(2), p. 325-327, 2006.

CERUTTI, P.A. Oxidant stress and carcinogenesis. **European Journal of Clinical Investigation**, *Oxford*, v.21, n. 1, p.1-5, 1991.

CERUTTI, P.A. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**, *London*, v.344, n. 8926, p.862-863, 1994.

CHING, T.; JONG, J.; BAST, A.A method for screening hypochlorous acid scavengers by inhibition of the oxidation of 5-thio-2-nitrobenzoic acid: application to anti-asthmatic drugs. **Analytical Biochemistry**, v. 218, p. 377-381, 1994.

COOKISLAND. Falso Mangostão. Disponível em: <http://cookislands.bishopmuseum.org/MM/MX1-4/4P097_Garcxant_RR1_GM_MXa.jpg>. Acesso em: 21 dez. 2009.

CRYSTAL, R. G. Oxidants and respiratory tract epithelial injury pathogenesis and strategies for therapeutic intervention. **American Journal of Medicine**, v. 91; p. 39-44, 1991.

DASGUPTA, N.; DE BRATATI. Antioxidant activity of *Piper betle* L. leaf extract in vitro. **Food Chemistry**, v. 88, p. 219 -224, 2004.

DEGASPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v.5, p. 33-40, 2004.

DIMITRIOS, B.; **Trends Food Science**, v. 17, p. 505, 2006.

DONADIO, L.C.; NACHTIGAL, J. C., SACRAMENTO, C. K. **Frutas exóticas**. Jaboticabal: Funep, p.279, 1998.

DOROSHOW, J.H. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. **Cancer Research**, Baltimore, v.43, n.2, p.460-472, 1983.

DPPH. Disponível em:
<<http://www.commonswikimedia.org/wiki/File:ABTS.png>>. Acesso em: 12 jan. 2009.

DUNFORD, H.B. Horseradish peroxidase: Structure and Kinect Propierts. In: EVERSE, J; EVERSE, K.; GRISHMAN, M.B. **Peroxidase in chemistry and biology**. Boston: CRC, 1991. v.2, p. 1-24.

EATON, J. W. Defenses against hypochlorous acid: Parrying the neutrophil's rapier thrust. **Journal of Laboratory Clinical Medicine**, v.131, p.197-198, 1993.

ELLMAN'S REAGENT. Disponível em:
<http://www.en.wikipedia.org/wiki/Ellman%27s_reagent>. Acesso em: 10 jan. 209.

EPTV. Araçazeiro. Disponível em:
<http://eptv.globo.com/ETG_FOTOS/FLORA/58.jpg>. Acesso em: 03 abr. 2010.

EPTV. Ateemoizeiro. Disponível em: <http://eptv.globo.com/ETG_FOTOS/FLORA/59.jpg>. Acesso em: 03 abr. 2010.

EVELSON, P. A. Oxidative Stress y Apoptosis MARRONI, N.P. Et al. **Estresse oxidativo e antioxidantes**. Porto Alegre: Ulbra, 2002. p. 153-162.

FELFILI, J. M.; NOGUEIRA, P. E.; SILVA JUNIOR, M. C.; MARIMON, B. S.; DELITTI, W. B. C. Composicao floristica e fitossociologia do cerrado sentido restrito no municipio de Agua Boa - MT. **Acta Botânica Brasileira**, v. 16, n. 1, p.103-112, 2002.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Medica Brasileira**, v.43, n. 1, p.61-68, 1997.

FLICKR. **Bunchósia**. Disponível em: <<http://flickr.com/photos/mariasg/3215445681/>>. Acesso em: 29 dez. 2009.

FRIDOVICH, I. **Oxidative stress**. Encyclopedia of life sciences, 2001.

FLOWERS. Pitaya. Disponível em: <<http://www.types-of-flowers.org>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

FRUTAS RARAS. Jambo-Vermelho. Disponível em: <<http://frutasraras.blogspot.com/Frutos>>. Acesso em: 01 jan. 2009.

FRUTAS RARAS. Jatobá. Disponível em: <<http://frutasraras.blogspot.com/Frutos>>. Acesso em: 01 jan. 2009.

FRUTAS RARAS. Jujuba. Disponível em: <<http://frutasraras.blogspot.com/Frutos>>. Acesso em: 01 jan. 2009.

FRUTAS RARAS. Massala. Disponível em:

<http://frutas_raras.blogspot.com/Frutos>. Acesso em: 01 jan. 2009.

GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

HALLIWELL, B.; GUITTERIDGE, J. M. C. (Org.). Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. **Archives of Biochemistry Biophysics**, v. 246, p. 501-514, 1986.

HALLIWELL, B.; GUITTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods Enzymol**, v. 186, p. 01-85, 1990.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization Methodology and mechanism. **Biochemical Pharmacology**, v. 49; p. 1341-1348, 1995.

HAMINIUK, C. W. I. **Comportamento reológico e fracionamento péctico das polpas integrais de araçá (*Psidium cattleianum sabine*) e amora-preta (*Rubus spp*)**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, p.85. 2005.

HAMPTON, M. B.; KETTLE, A. J.; WINTERBOURN, C. C. Inside the neutrophils phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. **Blood**, v. 92, p. 3007-3017, 1998.

HARRINSON, J. E.; SCHULTZ, J. Studies on the Chlorinating activity of myeloperoxidase. **Biological Chemistry**, v. 251, p. 1371-7134, 1976.

HEBBEL , R. P. Erythrocyte antioxidants and membrane vulnerability. **Journal of Laboratory Clinical Medicine**, v. 107, p. 401-404, 1986.

HEIM, K.E.; TAGLIAFERRO, A.R.; BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 572–584, 2002.

HERBÁRIO. Bunchózeiro. Disponível em:

<<http://herbario.iac.sp.gov.br/Relatorios/ConsultaHerbario.asp?Numlac=31071>> Acesso em: 03 abr. 2010.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR , R. L.; **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 1841, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Estrutura da produção brasileira.**

Disponível em: <http://www.brazilianfruit.org.br/informações_para_o_Trade/Estrutura_Trade/estrutura_Trade.asp>. Acesso em: 20 jan. 2009.

JAYPRAKASHA, G. K.; SELVI, T.; SAKARIAH, K. K. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Research International**, v. 36, n.2, p. 117-122, 2001.

JERLICH, A.; FRITZ, G.; KHARRAZI, H.; HAMMEL, M.; TSCHABUSCHNIG, S.; GLATTER, O.; SCHAUR, R.J. Comparison of HOCl traps with myeloperoxidase inhibitors in prevention of low density lipoprotein oxidation. **Biochimica et Biophysica Acta.**, v.1481, p.109-118, 2000.

JOYNER, G. The carissa 2004. Disponível em: <<http://www.quisqualis.com/08natpljoy.html>>. Acesso em 29 set. 2008.

KAKKAR, P.; DAS, B.; VISWANATHAN, P. N. A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase. **Journal of Biochemistry and Biophysics**, v. 2, p. 130-132, 1984.

KAVATI, R. **As cultivares da atemóia**. CATI. Disponível em: <http://www.cati.sp.gov.br/Cati/_tecnologias/plantas_frutiferas/cultiv_atem.php>. Acesso em: 26 jan. 2009.

LAPENNA, D. E CUCCUROLLO, F. Hypochlorous acid and its Pharmacological Antagonism: An update picture. **General Pharmacology**, v. 27, p. 1145, 1996.

LAURINDO, F. R. M.; PEDRO, M. A.; DA LUZ, P. L. Oxygen-derived free radicals as signaling mediators in the vascular system. **Ciência e Cultura**, v. 46, n. 4, p. 18-27, 1996.

LIMA N. N., RECHIA C. G. V., GANTER J. L. M. S., REICHER F. AND SIERAKOWSKI M. R. Oligosaccharides derived from the yloglucan isolated from the seeds of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*. Department of Biochemistry and § Department of Chemistry, Universidade Federal do Paraná. 1995.

LORENZI, H.; SARTORI; S. F.; BACHER; L. B.; LACERDA, M. T. C. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas: (de consumo *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. p. 640.

LORENZI, H. e MATOS, F.J.A.. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum. 2008.

MACAU. Massala. Disponível em: <<http://macua.blogs.com/photos/turismo/massala>> Acesso em: 17 mai. 2010.

MALLAVARAPU, G. O. Contribution of medicinal plants to modern medicine. **Journal of Med. Plants to Modern Med.** 22/4A-23/1A, p. 572 -578, 2001.

MANGOSTÃO ORIGINAL. MANGOSTÃO. Disponível em: <<http://www.mangostaoriginal.com/>> Acesso em: 28 jan. 2010.

MARCUCCI, M. C., WOISKY, R. G.; SALANTINO, A. Uso de Cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis. **Mensagem Doce**, v. 46, 1998.

MARTINS, L.; COUTINHO, E. L.; PANZANI, C. R.; XAVIER, N. J. D. **Frutíferas Nativas do Brasil e Exóticas**. Campinas: CATI Edições, 2002. p. 112.

MARTINS, S. T.; MELO, B. Spondias. 2009. Núcleo de Estudo em fruticultura no Cerrado, Instituto de Ciências Agrárias – Universidade Federal de Uberlândia. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/caja.html>.> Acesso em: 28 dez. 2009.

MATHY-HERTERT, M.; BOURGEOIS, E.; GRULKE, S.; DEBY-DUPONT, G.; CAUDRON, I.; DEBY, C.; LAMY, M.; SERTEYN, D. Purification of mieloperoxidase from equine polymorphonuclear leucocytes. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.62, p. 127-132, 1998.

MAZZONI, M. C.; SCHMIDT-SHONBERN, G. W. Mechanisms and consequences of cell activation in microcirculation. **Cardiovascular Research**, v. 32, p. 709-719, 1996.

MERTENS, A.; HOLVOET, P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. **The FASEB Journal**, v.15, p.2073-2084, 2001.

MIDIIVILLE. Araça. Disponível em: <<http://www.midiaville.com.br/UserFiles/Image/frutas/araca2p.jpg>>. Acesso em: 29 dez. 2009.

MINNIS, P.E. In: **Ethnobotany: a reader**. Norman: Introduction. U. Oklahoma Press. 2000.

MORTON, J. F. **Fruits of warm climates**. Miami: Creative Resource System, 1987. p. 505.

NAPOLITANO, D.R.; MOINEO, J.R.; SOUZA, M.A.; PAULA, J.E.; ESPINDOLA, L.S. Down-modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian Cerrado. **Journal Ethnopharmacology**, v. 99, p. 37-41, 2005.

NUTRICAL. Jenipapo. Disponível em: <<http://www.nutricau.com.br/jenipapo.jpg>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

O'BRIEN, P. I.; PAUL, K. G. The molar absorptivity of horseradish peroxidase. **Acta Chemica Scandinavica Ser. B**, v. 31, p. 373-375, 1976.

O'BRIEN, P. I.; Peroxidases. **Chemico-Biological Interactions**, v. 129, p. 113-119, 2000.

PELLEGRINI, N.; RE, R.; YANG, M.; EVANS, C. R. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6 sulfonic acid radical cation decolorization assay. **Methods Enzymology**, v. 299, p. 379-389, 1999.

PLANTAMED. Jatobá. Disponível em: <<http://www.plantamed.com.br/plantaservas/especies/index.html>> Acesso em: 23 jan. 2010.

PLANTAMED. Jujuba. Disponível em: <<http://www.plantamed.com.br/plantaservas/especies/index.html>> Acesso em: 26 jan. 2010.

PLANTA MUNDO. Árvore do Falso Mangostão. Disponível em: <<http://plantamundo.com/adm/fotos/Garcinia%20xantochymus%201%20S.jpg>>. Acesso em: 04 abr. 2010.

PLANTZAFRICA. Massala. Disponível em: <<http://www.plantzafrica.com/plantqrs/strychspin.htm>> Acesso em: 28 jan. 2010.

PINCEMAIL, J.; DEBY, C.; THIRION, A.; DE BRUYN-DISTER, M.; GOUTIER, R. Human myeloperoxidase activity is inhibited in vitro by quercetin. Comparison with three related compounds. **Experientia**, v. 44, p. 450-453, 1988.

PINTO, E.P.P; AMOROZO, M.C.M. & FURLAN, A. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica - Itacaré, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** v.20, p. 751-762, 2006.

PLANTZAFRICA. Massala. Disponível em: <<http://www.plantzafrica.com/plantqrs/strychspin.htm>> Acesso em: 28 jan. 2010.

PODREZ, E. A.; ABU-SOU, H. M.; HAZEM, S. L. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. **Free Radicals Biology Medicine**, V. 28, p. 1717-1725, 2000.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603–613, 2001.

REPINE, J. E.; BAST, A.; LANKHORST, I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. **American Journal Respiratory Critical Care Medicine**, v. 156, p. 341-357, 1997.

REYES, A. E. L. Falso Mangostão. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/trilhas/fruit/fr15.php>>. Acesso em: 14 jul. 2008.

ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Farmacognosia e farmacobiocologia**. São Paulo: Editorial Premier, p. 372, 1997.

RODRIGUES , H. G.; DINIZ, Y. S., FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.; FERNANDES, A. A. H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito de rutina na concentração de colesterol-HDL. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 16, p. 315-320, 2003.

ROGEZ, H.; BUXANT, R.; MIGNOLET, E.; SOUZA, J. N. S.; SILVA, E. M.; LARONDELLE, Y. Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **European Food Research and Technology**, v. 218, p. 380-384, 2004.

ROSS, D.; MOLDEUS, P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In: VigoPelfrey C (ed): **Membrane lipid oxidation**. Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 151-170.

SACRAMENTO, C. K. **Mangostanzeiro (*Garcinia mangostona L.*)**. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2001. p.66. (Série Frutas Pontenciais).

SACRAMENTO, C. K. **Mangostanzeiro (*Garcinia mangostona L.*)**. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2007. p.101. (Frutas Exóticas).

SANTOS H. P., BUCKERIDGE M. S. The Role of the Storage Carbon of Cotyledons in the Establishment of Seedlings of *Hymenaea courbaril* Under Different Light Conditions. **EMBRAPA Uva e Vinho**. p. 491-495, 2004.

SANTOS, C.A.P. Extratos vegetais em cosméticos. **Cosmetic Toiletries**, v. 18, p. 96-103, 2006.

SEOW, W. K.; THONG, Y. H.; NELSON, R. D.; MACFARLANE, G. D.; HERZBERG, M. C. Nicotine-induced release of elastase and eicosonoids by human neutrophils. **Inflammation**, v. 18, p. 119-127, 1994.

SHINOHARA, N. K. S.; SIQUEIRA, L. P.; LIMA, R. M. T.; ANDRADE, S. A. C.; LIMA FILHO, J. L.; PAIVA, J. E.; CARVALHO, P. M. Caracterização físico-química do mangostão amarelo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA TROPICAL, Vitória, **Anais...**2008.

SIMÕES C. M. O; SCKENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5 ed. rev. ampl. Porto Alegre /Florianópolis: UFSC / UFRGS , 2003.

SINGH, B. et al. Biodegradation of tannic acid in am vitro ruminal sistem. **Livestock Production Science**, v. 68, n. 2-3, p. 259-262, 2001.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R; LAMUELA-REVENTÓS, R. S.; **Methods in Enzymology**, V. 299, p. 152, 1999.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, *Berlin*, v.215 (2), p.213-219, 1993.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SILVA JUNIOR, J. F.; BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I. E. Recursos genéticos e melhoramento de fruteiras nativas e exóticas em Pernambuco.Disponível: <<http://www.cpatia.embrapa.br/catalogo/livrorg/fruteirasnativas.pdf> > acesso em: 1 de jul. 2008.

SOARES, J. R.; DINIS, T. C.; CUNHA, A. P.; ALMEIDA, L. M. Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. **Free Radical Research.**, v. 26, p. 469-478, 1997.

SOARES, E. B.; GOMES, R. L. F.; CARNEIRO, J. G. M.; NASCIMENTO, F.N.; SILVA, I.C.V.; COSTA, J.C.L. Caracterização física e química de frutos de cajazeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 518-519, 2006.

SUN, T.; HO, C. T. Antioxidant activities of buckwheat extracts. **Food Chemistry**, v. 90, p. 743-749, 2005.

TERRASTOCK. Caja-Manga. Disponível em: <<http://www.terrastock.com.br/images/full/B6766.jpg>>. Acesso em 20 de out. 2009.

TISKITA. Canistel: Disponível em: <http://www.tiskitalodge.co.cr/fruit_collection/images/canistel.jpg>. Acesso em 29 dez 2009.

TNB. Disponível em: <www.commons.wikimedia.org/wiki/File:TNB.png>. Acesso em: 12 jan. 2009.

TODA FRUTA. Atemóia: pinha com sabor um pouco ácido. Disponível: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=4080>. Acesso em: 23 abr. 2009.

TORRES, R.L.; TORRES, I.L.S.; GAMARO, G.D.; FONTELLA, F.U.; SILVEIRA, P.P.; MOREIRA, J.S.R.; LACERDA, M.; AMORETTI, J.R.; RECH, D.; DALMAZ, C.; BELLÓ, A.A. Lipid peroxidation and total radical-trapping potential of the lungs of rats submitted to chronic and sub-chronic stress. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, p.185-192, 2004.

TREKNATURE. Carissa. Disponível em: <<http://www.treknature.com/gallery/Asia/India/photo149718.htm>>. Acesso em: 22 dez. 2009.

TYPESOFFLOWERS. Pitaya. Disponível em: <<http://www.typesofflowers.org>>. Acesso em: 17 mai. 2010.

UFSC. Ciências Biológicas. Disponível em: <<http://www.cienciasbiologicas.ufsc.br/>>. Acesso em 19. Jan. 2010.

VELIOGLU, Y.S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B.D. Antioxidant Activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 46, n.10, p. 4113 -4117, 1998.

VENGLARIK, C. J.; CALLE, J. G.; WIGLEY, A. F.; MALLE, E.; WATANABE, N.; FORMAN, H. J. Hypochlorous acid alters bronchial epithelial cell membrane properties and prevention by extracellular glutathione. **Journal of Applied Physiology**, v.10, p.1152, 2003.

VELLOSA, JCR. **Avaliação da capacidade antioxidante de extratos vegetais de plantas brasileiras e sua contribuição ao estudo de inibição da enzima mieloperoxidase**. 129 f., 2005. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, 2005.

VELLOSA, J.C.R.; BARBOSA, V.F.; OLIVEIRA, O.M.M.F. Pesquisa de produtos naturais: plantas e radicais livres. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, 119-130, 2007.

VIEIRA, F. C. Panorama da fruticultura brasileira. **Preços Agrícolas**, p.42, 2000.

VISSERS, MC; STERN, A; KUYPERS, F; VAN DEN BERG, JJ; WINTERBOURN, CC. Membrane changes associated with lysis of red blood cells by hypochlorous acid. **Free Radical Biology Medicine**, v. 16, p. 703–12, 1994.

WEIJL, N.I., CLETON, F.J., OSANTO, S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. **Cancer Treatment Reviews**, London, v.23, n.4, p.209-240, 1997.

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

WOODS, A. A.; DAVIES, J. J. Fragmentation of extracellular matrix by hypochlorous acid. **Biochemistry Journal**, v. 376, p. 219-227, 2003.

YEN , G. C.; LAI, H. H.; CHOU, H. Y. Nutric oxide scavenging and antioxidant effects of *Uraria crinite* root. **Food Chemistry**, v. 74, p. 471-478, 2001.

YUE, K. T.; TAYLOR, K. L.; POWERS, L. S. X-Ray absorption and resonance raman spectroscopy of human myeloperoxidase at neutral and acid pH. **Biochemica et Biophysica Acta**, v. 1338, p. 282-294, 1997.

ZGLICZYNSKI, T.J.M.; STELMASZYNSKA, T.; DOMANSKA, J.; OSTROWISKI, W. Chloramines as intermediates of oxidation reaction of amino acids by myeloperoxidase. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 235, p. 419-424, 1971.

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