

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL  
COORDENAÇÃO DO CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

ANA MARIA AMREIN

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE  
DE *Praxelis sanctopaulsensis* (BL Robins.) RM King & H. Robins**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TOLEDO  
2017

ANA MARIA AMREIN

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE  
DE *Praxelis sanctopaulsensis* (BL Robins.) RM King & H. Robins**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, da Coordenação de Processos Químicos – COPEQ – Da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito para obtenção do título de Tecnólogo.

Orientadora: Tatiana Shioji Tiuman  
Coorientador: Anderson Valdiney Gomes Ramos

TOLEDO  
2017

**TERMO DE APROVAÇÃO  
DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**ANA MARIA AMREIN**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE  
*Praxelis sanctopaulsensis* (BL Robins.) RM King & H. Robins**

Trabalho apresentado como forma de avaliação para o Trabalho de Conclusão de Curso II do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, *Campus* Toledo, e aprovado pela banca examinadora abaixo.

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tatiana Shioji Tiunan  
UTFPR – Câmpus Toledo  
Orientadora

---

Prof Dr Ricardo Fiori Zara  
UTFPR – Câmpus Toledo  
Avaliador

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Solange Maria Cottica  
UTFPR – Câmpus Toledo  
Avaliadora

Toledo, dezembro de 2018.

*OBS: O Termo de Aprovação assinado está na coordenação do curso de Tecnologia em Processos Químicos.*

## ERRATA

A planta utilizada no desenvolvimento deste trabalho de conclusão de curso foi submetida a uma nova identificação após as atividades propostas nesse trabalho estarem concluídas. Na nova identificação verificou-se que a planta se tratava de uma outra espécie botânica da mesma família. Os dados da identificação estão abaixo:

Planta: *Vernonanthura nudiflora* (Less.) H.Rob.

Código de registro: HUPG 21694

Local de depósito da exsicata: Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (HUPG).

Botânica responsável pela identificação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marta Regina Barrotto do Carmo - Departamento de Biologia Geral - UEPG.

## RESUMO

*Praxelis sanctopaulensis* (BL Robins.) RM King & H. Robins é uma planta da família Asteraceae. Plantas dessa família tem sido muito estudadas devido a sua alta atividade biológica. Com o aumento da resistência microbiana vem aumentando a busca por fontes antibióticas naturais, assim como se tem aumentado as buscas por antioxidantes de fontes vegetais, devido ao aumento de doenças causadas pelo estresse oxidativo. Então realizou-se a atividade antimicrobiana dos extratos da planta em bactérias Gram negativas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella typhi* e Gram positivas: *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*. E realizou-se também a atividade antioxidante pelos métodos de captura de radical DPPH e ABTS, e o conteúdo de fenólicos e flavonoides. Os extratos da planta não apresentaram atividade antimicrobiana para *E. coli*, os melhores resultados para esta análise foram para a fração acetato de etila que inibiu quase todas as bactérias testadas. Os extratos não tiveram poder bactericida, apenas bacteriostático. As frações acetato de etila e butanólica apresentaram melhores resultados para atividade antioxidante, onde o conteúdo fenólico total foi de 526,80 e 426,19 mg EAG g<sup>-1</sup> para as duas frações das partes aéreas respectivamente, 284,40 e 234,97 mg EAG g<sup>-1</sup> para as flores. O conteúdo de flavonoides foi de 97,13 e 82,07 mg EQ g<sup>-1</sup> para partes aéreas e 77,74 e 75,62 mg EQ g<sup>-1</sup> para flores para as duas frações, respectivamente. Para DPPH o IC<sub>50</sub> das frações foram próximos, com valores de 13,38 e 15,25 µg mL<sup>-1</sup> para partes aéreas, 10,75 e 15,54 µg mL<sup>-1</sup> para as duas frações das flores, respectivamente. Para ABTS os resultados foram mais satisfatórios para as partes aéreas com valores de 2011,50 e 1724,34 µmol Trolox g<sup>-1</sup> de extrato das frações acetato de etila e butanólica. Os resultados obtidos através deste trabalho mostram que *Praxelis sanctopaulensis* apresenta potencial antimicrobiano e antioxidante, de forma que estudos adicionais devem ser realizados.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Produtos naturais. Compostos fenólicos. Extratos vegetais. Microdiluição.*

## ABSTRACT

*Praxelis sanctopaulensis* (BL Robins.) RM King & H. Robins is a plant of the Asteraceae family. Plants of this family have been much studied due to their high biological activity. With the increase of microbial resistance, the search for natural antibiotic sources has increased, as well as the search for antioxidants from vegetable sources has increased, due to the increase of diseases caused by oxidative stress. The antimicrobial activity of plant extracts was then carried out on Gram negative bacteria: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella typhi*; and Gram positive bacteria: *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. It was also carried out the antioxidant activity by the radical capture methods DPPH and ABTS, and the phenolic and flavonoid content. The extracts of the plant did not present antimicrobial activity for *E. coli*, the best results for this analysis were for the ethyl acetate fraction that inhibited almost all the bacteria tested. The extracts did not have bactericidal, only bacteriostatic power. The ethyl acetate and butanolic fractions presented better results for antioxidant activity, where the total phenolic content was 526,80 and 426,19 mg EAG g<sup>-1</sup> for the two fractions of the aerial parts respectively, 284,40 and 234,97 mg EAG g<sup>-1</sup> for flowers. The content of flavonoids was 97.13 and 82.07 mg EQ g<sup>-1</sup> for aerial parts and 77.74 and 75.62 mg EQ g<sup>-1</sup> for flowers for the two fractions, respectively. For DPPH the IC 50 of the fractions were close, with values of 13.38 and 15.25 µg mL<sup>-1</sup> for aerial parts, 10.75 and 15.54 µg mL<sup>-1</sup> for the two flower fractions, respectively. For ABTS the results were more satisfactory for the aerial parts with values of 2011.50 and 1724.34 µmol Trolox g<sup>-1</sup> of ethyl acetate and butanolic fractions extract. The results obtained through this work show that *Praxelis sanctopaulensis* presents a great antioxidant potential, with which it is necessary to continue the studies using its extracts to study the other properties that this plant.

**KEY WORDS:** *Natural products. Phenolic compounds. Plant extracts. Microdilution.*

**LISTA DE TABELAS**

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1</b> - Classificação botânica de <i>Praxelis sanctopaulensis</i> .....  | 11 |
| <b>Tabela 2</b> - Frações extraídas da planta <i>Praxelis sanctopaulensis</i> seus respectivos rendimentos.....                  | 18 |
| <b>Tabela 3</b> - Preparo das soluções para curva padrão .....   | 20 |
| <b>Tabela 4</b> - Resultado do teste de microdiluição em mg mL <sup>-1</sup> para a planta <i>Praxelis sanctopaulensis</i> ..... | 23 |
| <b>Tabela 5</b> - Resultados da análise antioxidante pelos métodos de captura de radical.....                                    | 26 |
| <b>Tabela 6</b> - Resultados dos fenólicos e flavonoides totais para <i>Praxelis sanctopaulensis</i> . ....                      | 28 |

## SUMÁRIO

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>1</b>   | <b>INTRODUÇÃO</b> .....   | <b>7</b>  |
| <b>1.1</b> | <b>Objetivo</b> .....   | <b>9</b>  |
| 1.1.1      | Objetivo geral .....  | 9         |
| 1.1.2      | Objetivos específicos .....   | 9         |
| <b>2</b>   | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....                                      | <b>10</b> |
| <b>2.1</b> | <b>Utilização das plantas</b> .....                                     | <b>10</b> |
| <b>2.2</b> | <b>Praxelis sanctopaulensis</b> .....                                   | <b>10</b> |
| <b>2.3</b> | <b>Atividade antimicrobiana por método de microdiluição</b> .....       | <b>12</b> |
| <b>2.4</b> | <b>Sinergismo</b> .....   | <b>12</b> |
| <b>2.5</b> | <b>Antioxidantes Naturais</b> .....                                     | <b>13</b> |
| <b>2.6</b> | <b>Métodos para determinação da atividade antioxidante</b> .....        | <b>14</b> |
| 2.6.1      | DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) .....                             | 14        |
| 2.6.2      | ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico) .....             | 14        |
| <b>2.7</b> | <b>Determinação de compostos Fenólicos e Flavonoides</b> .....          | <b>16</b> |
| 2.7.1      | Fenólicos Totais .....  | 16        |
| 2.7.2      | Flavonoides .....   | 16        |
| <b>3</b>   | <b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....  | <b>17</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Determinação da atividade antimicrobiana por microdiluição</b> ..... | <b>18</b> |
| <b>3.2</b> | <b>Análises para determinação da atividade antioxidante</b> .....       | <b>19</b> |
| 3.2.1      | DPPH .....  | 19        |
| 3.2.2      | ABTS .....  | 20        |
| 3.2.3      | Fenólicos Totais .....  | 21        |
| 3.2.4      | Flavonoides .....   | 22        |
| <b>4</b>   | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....                                     | <b>23</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Avaliação da atividade antimicrobiana</b> .....                      | <b>23</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Avaliação da atividade antioxidante</b> .....                        | <b>25</b> |
| <b>5</b>   | <b>CONCLUSÃO</b> .....  | <b>29</b> |
| <b>6</b>   | <b>REFERÊNCIAS</b> .....  | <b>30</b> |



## 1 INTRODUÇÃO

*Praxelis sanctopaulensis* (BL Robins.) RM King & H. Robins é uma planta da família Asteraceae, segunda maior família de Angiospermas, com cerca de 25.000 espécies que estão distribuídas ao redor do mundo (FUNK et al., 2009). Plantas dessa família vêm sendo extensivamente estudadas devido a sua composição química e atividade biológica. Oliveira-filho et al. (2015) e Maia et al. (2011) já desenvolveram estudos antimicrobianos e toxicológicos na planta *Praxelis clematidea*.

*Praxelis* é um gênero bastante existente na América do Sul e devido ao seu poder de adaptação é encontrada em diversos biomas. No Brasil está em maioria nas regiões de cerrado e também sobrevive a condições variadas de clima, como em regiões subtropicais, tropicais e até em regiões temperadas (CANCELLI et al., 2010).

Devido à evolução científica, as habilidades medicinais das plantas vêm ganhando espaço. Há uma certa busca para o isolamento de seus compostos para posterior estudo de seus efeitos no organismo animal (ALVIM et al., 2006).

Sabe-se que houve um aumento elevado da resistência dos microrganismos a vários tipos de drogas. Isso ocorre devido ao uso incorreto de antimicrobianos. Então buscam-se alternativas diversas para combater a atividade desses patógenos, como exemplo a utilização de plantas como medicamento. O uso de plantas com propriedades medicinais é bem comum e a ONU estima que mais ou menos 80% da população de alguns países dependem de plantas como única fonte de medicamento disponível (WHO, 1998).

Além da atividade antimicrobiana, a atividade antioxidante de extratos naturais também vem sendo estudada ao longo do tempo. A produção dos radicais livres, nos seres vivos é controlada por compostos que são denominados de antioxidantes, alguns podem ser de origem endógena ou serem adquiridos na alimentação diária. Os radicais livres e outros oxidantes, são considerados grandes causadores de doenças como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras (SOUSA, et al., 2007). Por esse motivo as pesquisas aumentaram em relação à atividade antioxidante de produtos naturais, já que os flavonoides, que

estão presentes na maioria das plantas são considerados uma importante fonte de redução de oxidantes (NASCIMENTO, et al., 2011).

Devido à grande demanda de estudo em extratos naturais e suas habilidades terapêuticas, o aumento de estudos nas plantas da família Asteraceae e a busca por alternativas aos medicamentos sintéticos pretende-se determinar a atividade antimicrobiana e antioxidante em extratos de *Praxelis sanctopaulensis*.

A atividade antimicrobiana dos extratos de *Praxelis sanctopaulensis* foi avaliada com a intenção de posteriormente desenvolver um medicamento natural para o tratamento de doenças relacionadas com microrganismos já que os microrganismos estão cada vez mais resistentes a antibióticos sintéticos. Logo se vê a importância de se descobrir alguma planta que possua uma atividade antimicrobiana capaz de curar infecções bacterianas sem causar danos à saúde humana. Junto a isso realizar a análise antioxidante nos extratos de *Praxelis sanctopaulensis* é de extrema importância, já que os radicais livres, que são combatidos por compostos antioxidantes, são muito preocupantes nos dias de hoje devido ao número elevado de doenças, algumas graves, que podem ser causadas por estresse oxidativo.

## 1.1 Objetivo

### 1.1.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho é determinar a atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos de *Praxellis sanctopaulensis*.

### 1.1.2 Objetivos específicos

Determinar a atividade antimicrobiana de extratos de *Praxellis sanctopaulensis* contra bactérias Gram positivas e Gram negativas.

Determinar a atividade antioxidante do extrato de *Praxellis sanctopaulensis* por métodos colorimétricos, onde se destacam aqueles que relacionam a habilidade de um antioxidante em neutralizar os radicais livres como DPPH e ABTS.

Determinar o conteúdo de compostos fenólicos e flavonóides nos extratos de *Praxelis sanctopaulensis*.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Utilização das plantas

As plantas são o único recurso medicinal e terapêutico de muitas comunidades e seu uso no tratamento de doenças é bem antigo, sendo utilizado até a atualidade. Desde as regiões mais pobres até as grandes cidades se observa o comércio de plantas medicinais em feiras e mercados populares (MACIEL et al., 2002). A procura por medicamentos em compostos naturais também tem tido muita relevância no meio científico, pois, a atividade biológica descoberta nas plantas pode ser utilizada contra diversas patologias humanas (ALVARENGA et al., 2016).

Plantas que possuem substâncias que podem inibir o crescimento de patógenos ou até mata-los, são consideradas grandes candidatas para o desenvolvimento de novos antibióticos (AHMAD et al., 2001).

As plantas produzem metabólitos secundários que são uma grande fonte de substâncias bioativas. O interesse científico nesses metabólitos cresceu devido a busca pelos efeitos terapêuticos de fontes vegetais, principalmente os extratos de plantas, que mostram grande potencial para o desenvolvimento de antimicrobianos (OLIVEIRA-FILHO et al., 2015)

As plantas geralmente não são utilizadas como antioxidantes na medicina, porém, suas propriedades terapêuticas são, em maioria, sua capacidade de combater radicais livres, que são causadores de muitas doenças (MORAIS et al., 2006). A utilização de antioxidantes naturais para consumo tem aumentado. Um exemplo de antioxidante natural são os compostos fenólicos, que são um dos vários inibidores de radicais livres nas plantas e estão relacionados com uma diminuição de doenças relacionadas com o estresse oxidativo (DROGE, 2002).

### 2.2 *Praxelis sanctopaulensis*

Asteraceae é a maior família do grupo das Angiospermas, contendo aproximadamente 25.000 espécies distribuídas em 1.535 gêneros. Na América do Sul encontra-se cerca de 20% dos gêneros existentes (FUNK et al., 2009; MAIA et al., 2011). *Praxelis* é um gênero conhecido pelo seu poder de adaptação em diversos biomas (CANCELLI et al., 2010). A classificação botânica da planta *Praxelis sanctopaulensis* está disposta na Tabela 1.

**Tabela 1** - Classificação botânica de *Praxelis sanctopaulensis*.

|                |                       |
|----------------|-----------------------|
| <b>Divisão</b> | Angiosperma           |
| <b>Classe</b>  | Magnoliopsíidas       |
| <b>Ordem</b>   | Asterales             |
| <b>Família</b> | Asteraceae            |
| <b>Tribo</b>   | Eupatorieae           |
| <b>Gênero</b>  | <i>Praxelis</i> Cass. |

**FONTE:** TROPICOS, 1989.

A representação a planta *Praxelis sanctopaulensis* está disposta na Figura 1.

**Figura 1 - *Praxelis sanctopaulensis*.****A****B**

Legenda: Foto A representa as flores da planta, e a foto B as partes aéreas junto com as flores. Fonte: UNICAMP.

*Praxelis sanctopaulensis* é uma erva nativa da América do sul, havendo relatos de sua distribuição no Brasil em alguns estados, como Bahia, Alagoas, Pernambuco, Amazonas e Mato Grosso. Estudos científicos sobre a família Asteraceae identificaram os flavonoides como importantes marcadores quimiotaxonômicos dessa família (MAIA et al., 2011). *Praxelis* produz sementes pequenas e geralmente possuem cor escura (YING ZHANG & TING LIANG YAN, 2014).

As plantas da família Asteraceae tem sido muito estudadas no mundo científico devido a sua elevada atividade biológica, e algumas conduziram o desenvolvimento de fármacos e inseticidas (OLIVEIRA-FILHO et al., 2015) (KHAN et al., 2010).

Praxelis tem sido muito estudada principalmente em suas características biológicas, resistência ao estresse, assim como estudos químicos (WEI et al., 2007; KAN et al., 2009<sup>a</sup>, 2009b; MAIA et al., 2011)

### **2.3 Atividade antimicrobiana por método de microdiluição**

Os métodos de diluição em caldo geralmente relacionam a proporção de crescimento microbiano no meio líquido e a concentração da substância ensaiada. A proporção seria a densidade da turbidez provocada pelo microrganismo (PINTO et al., 2003).

Este tipo de método fornece resultados quantitativos, não é influenciado pela velocidade de crescimento microbiano, considerado um método barato, é 30 vezes mais sensível do que outros métodos utilizados na literatura, pode ser utilizado para um grande número de amostras além de requerer uma quantidade muito pequena de amostra (OSTROSKI et al., 2008).

A microdiluição em caldo envolve o uso de volumes pequenos de meios de cultura em placas de 96 poços. Atualmente o método de diluição é utilizado para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) necessária para inibir um microrganismo. Comparando-se a microdiluição com várias técnicas é possível observar que a microdiluição em caldo é uma das melhores para se determinar a atividade antimicrobiana de extratos, pois permite que o extrato se difunda com mais facilidade no meio (ALVES et al., 2008).

### **2.4 Sinergismo**

É extremamente necessário o estudo das associações de plantas de uso medicinal com antibióticos utilizados, principalmente as interações com alguns antimicrobianos. Para isso realiza-se o estudo *in vitro* para determinar o grau de sinergismo das plantas em relação a alguns antibióticos (SARAIVA et al., 2013).

O sinergismo refere-se à interferência que uma substância pode causar na ação de outra. Existem interações desejáveis, que possuem um objetivo de reduzir efeitos adversos, prolongar a duração do efeito, impedir o surgimento de resistência bacteriana ou permitir uma diminuição da dose. E existem interações indesejáveis, como exemplo o aumento do custo do tratamento sem incremento de nenhum benefício (CANTOS e ONOFRE, 2010).

Os fitoterápicos encontrados no mercado são extratos de plantas, e muitos profissionais acreditam que a atividade sinérgica entre os componentes individuais ou misturas é uma parte muito importante da sua eficácia terapêutica (WILLAMSON, 2001). O sinergismo literalmente explica isso, o efeito que a combinação de substâncias apresenta, proporcionando uma maior atividade do que a esperada, aumentando assim o efeito terapêutico (ENDO, 2007).

## **2.5 Antioxidantes Naturais**

Os antioxidantes naturais têm sido muito estudados como substituintes dos sintéticos, principalmente na indústria de alimentos. Estão relacionadas com o consumo de antioxidantes naturais além de manter as propriedades organolépticas e químicas dos alimentos, evitar os processos de oxidação, bem como a prevenção de doenças e manutenção da saúde humana. Dentre os compostos naturais com atividade antioxidante destacam-se as enzimas, vitaminas e compostos fenólicos, que são os antioxidantes de maior abundância na natureza (BOROSKI et al., 2015).

Os antioxidantes são importantes para a saúde humana pois são os removedores da maioria dos radicais livres. As defesas dos antioxidantes contra os radicais livres geralmente são enzimáticas, estas estão em maior número no organismo e podem ser intra ou extracelulares. Deve existir um equilíbrio entre a produção de radicais livres e o consumo de antioxidantes para que se mantenha um funcionamento normal do organismo humano (FERREIRA e ABREU, 2007).

Os radicais livres provocam danos oxidativos, e são os principais causadores de diversas doenças. Os antioxidantes atuam de diversas formas para combater esses radicais, eles impedem sua formação, interceptam os radicais livres, que são gerados do metabolismo celular, impedindo que os mesmos ataquem lipídios e

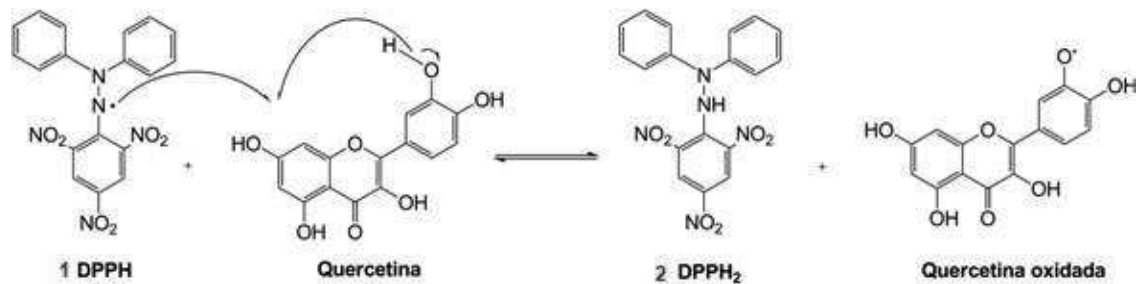
proteínas, além de reparar os danos deixados pelos radicais livres no organismo (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

## 2.6 Métodos para determinação da atividade antioxidante

### 2.6.1 DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)

Esse método baseia-se na transferência de elétrons por ação de um antioxidante ou radical. O DPPH possui cor púrpura e durante o teste é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, que possui coloração amarela. A atividade também pode ser definida pelo desaparecimento da absorção, podendo ser monitorada pelo decréscimo da absorvância (NASCIMENTO et al., 2011). O DPPH é um radical livre, bem estável em relação a deslocalização do elétron desemparelhado pela molécula, esta que confere ao DPPH uma cor violeta, que tem como característica uma banda de absorção em etanol de 520nm. Este teste se baseia na medida da capacidade de uma substância em capturar o radical livre da molécula de DPPH, reduzindo-o a hidrazina. A reação do radical livre DPPH com um antioxidante (AH) ou com uma espécie radicalar (R) ocorre de acordo com a Figura 2.

**Figura 2.** Fórmula estrutural do radical DPPH e reação com um composto antioxidante



. **FONTE:** Adaptado, Sociedade Brasileira de Química.

Substâncias capazes de doar um átomo de hidrogênio (antioxidante) para a solução de DPPH pode reduzir o radical livre estável e mudar a cor da solução (MILARDOVIC et al., 2006).

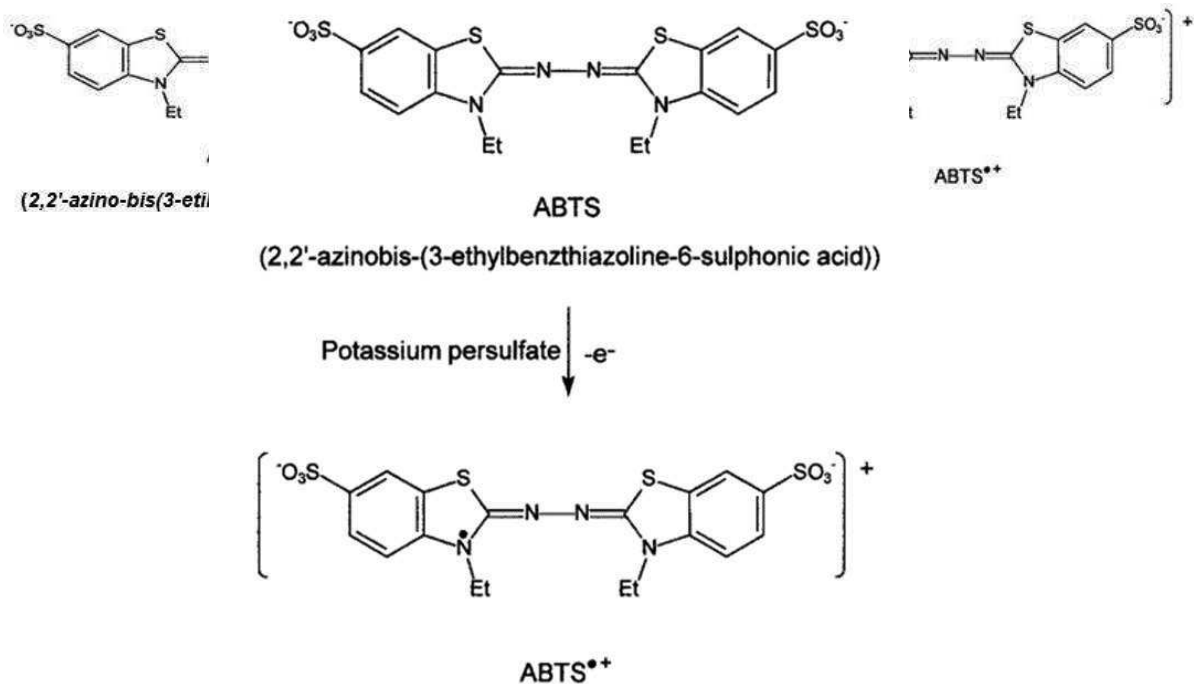
### 2.6.2 ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico)

A técnica é também conhecida como método antioxidante de equivalente trolox (TEAC), quando o padrão trolox é utilizado para expressar os resultados. É um

método de captura de radical livre, nesse caso um cátion ABTS, utilizado tanto para amostras hidrofílicas quanto lipofílicas (SÁNCHEZ; MORENO, 2002). Tem uma ampla aplicação como, plantas medicinais, vinhos, óleos essenciais, e isso se deve a sua alta sensibilidade, rapidez, resultados confiáveis, além de ser um cátion radical bem estável. Se a amostra possuir atividade antioxidante, ela irá reduzir o cátion radical ABTS presente na solução, que retorna ao seu estado neutro (BOROSKI et al., 2015).

O método ABTS constitui a base dos métodos espectrofotométricos que tem sido aplicado para a análise de atividade antioxidante total em soluções de compostos puros, a base de água e bebidas (RE et al., 1999). Uma das metodologias mais utilizadas para análise antioxidante é a captura do cátion radicalar 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfônico), que é gerado através de uma reação enzimática, química ou eletroquímica. Também pode reagir de forma energética com compostos fenólicos, aonde é transformado em uma forma incolor de ABTS<sup>+</sup> (BORGES et al., 2011). A reação do ABTS em cátion radicalar ABTS<sup>+</sup> está disposta na figura 3.

**Figura 3.** Reação do ABTS com persulfato de potássio, formando o cátion radicalar.



**FONTE:** Pannala et al., 2001, adaptado.



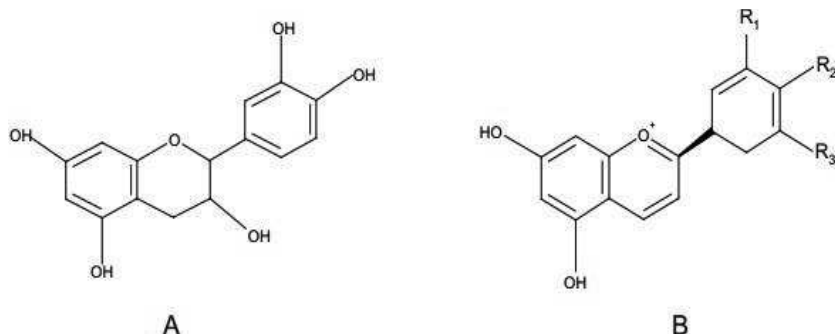
## 2.7 Determinação de compostos Fenólicos e Flavonoides

### 2.7.1 Fenólicos Totais

O principal reagente empregado nessa metodologia é o Folin-Ciocalteu. É caracterizado como um método não específico, porém, de boa reprodutibilidade e fácil execução. Se baseia nas reações de oxirredução com compostos fenólicos, onde detecta a presença dos compostos fenólicos na amostra, entretanto não apresenta os dados qualitativos e quantitativos dos constituintes fenólicos (BOROSKI et al., 2015).

Os compostos fenólicos originam-se do metabolismo secundário das plantas, e são essenciais para seu crescimento e reprodução. São um grupo de fitoquímicos diversificados derivados de fenilalanina e tirosina, além de atuarem como antipatogênicos, são importantes para a pigmentação das plantas (ANGELO E JORGE, 2007). Alguns dos compostos fenólicos mais encontrados nas plantas estão representados na figura 4.

**Figura 4** - Principais compostos fenólicos encontrados nas plantas.



**FONTE:** SILVA et al, 2010.

*Legenda: Foto A representam as catequinas, e a B as antocianinas.*

### 2.7.2 Flavonoides

São compostos fitoquímicos muito estudados, pois possuem uma alta capacidade antioxidante. As informações qualitativas e quantitativas são facilmente obtidas com métodos cromatográficos, mas a metodologia espectrofotométrica permite uma estimativa do teor desses compostos em determinadas amostras. Esses métodos de determinação baseiam-se em uma reação de complexação dos flavonoides com o alumínio. Como solvente utiliza-se metanol ou etanol para obter-

se uma solubilização completa e mais rápida do padrão de quercetina, que geralmente é aplicado na curva padrão de calibração (BOROSKI et al., 2015).

Os flavonoides apresentam-se em diversos vegetais, e podem ser encontrados nas frutas, folhas e demais partes da planta, mas estão na forma de glicosídeos (ANGELO e JORGE, 2007). Esse tipo de composto não participa do metabolismo primário das plantas, porém podem interferir nas interações da planta com o ambiente, e podem ser sintetizados quando a planta encontra-se em condições adversas (CARRIÓN et al., 2017).

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

As partes aéreas e flores de *P. sanctopaulensis* foram coletadas no dia 07 de Março de 2016, no município de Ponta Grossa – Paraná. A espécie foi identificada pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marta Regina Barroto do Carmo, do Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

Os extratos utilizados nesse trabalho foram preparados na Universidade Estadual de Maringá (UEM). As partes aéreas e flores da espécie vegetal foram secas em estufa, e posteriormente trituradas com o auxílio de um moinho de facas, resultando em aproximadamente 765,0 g (partes aéreas) e 270,22 g (flores).

O material vegetal foi submetido a uma extração com etanol P.A, por maceração exaustiva a frio. Em seguida, foi filtrado e a solução obtida, evaporada à pressão reduzida com auxílio de um concentrador de amostras à vácuo Rocket Synergy à temperatura de 35°C. Este procedimento foi realizado por 6 vezes, e após a máxima eliminação do solvente orgânico obteve-se aproximadamente 42,2 e 22,0 gramas de extrato bruto das partes aéreas e flores, respectivamente.

O extrato bruto foi solubilizado em uma mistura de MeOH/H<sub>2</sub>O 1:1 (400 mL), e em seguida foi submetido à uma partição com 3 x 100 mL de cada um dos solventes orgânicos em um gradiente crescente de polaridade (hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol). As frações extraídas da planta e seus rendimentos estão dispostas na Tabela 2.

**Tabela 2** - Frações extraídas da planta *Praxelis sanctopaulensis* seus respectivos rendimentos.

| Frações                 | Partes aéreas (g) | Flores (g) |
|-------------------------|-------------------|------------|
| Fração hexânica         | 16,0              | 9,48       |
| Fração diclorometano    | 3,75              | 1,80       |
| Fração acetato de etila | 3,68              | 2,23       |
| Fração butanólica       | 6,65              | 1,97       |
| Fração Hidrometanólica  | 6,82              | 3,12       |

**FONTE:** Autoria Própria

### 3.1 Determinação da atividade antimicrobiana por microdiluição

Para determinação da atividade antimicrobiana foi utilizado o método de microdiluição em caldo.

As bactérias utilizadas neste teste foram: *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458 ), *Salmonella enterica Typhi* (ATCC 6539), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 77736).

Primeiramente foi preparado o caldo Mueller Hinton e então adicionou-se 100 µL nos 96 poços da microplaca.

Em seguida pesou-se 10 mg de extrato e diluiu-se em 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) e 900 µL de caldo Mueller Hinton, o extrato foi bem agitado até sua dissolução completa. Então, 100 µL de extrato foram adicionados no primeiro poço da coluna a partir daí realizou-se uma diluição seriada até o penúltimo poço da coluna.

Para preparo da suspensão bacteriana foi realizado o repique da bactéria 24 horas antes. Preparou-se um tubo com salina estéril adicionando 5 mL de NaCl 0,85% em água destilada e esterilizou-se em autoclave por 20 minutos a 121 °C, e em seguida a suspensão bacteriana foi adicionada na salina até estar comparável com a escala de 0,5 de Mc Farland.

Realizou-se a diluição da suspensão bacteriana de 1:20 adicionando 50 µL de suspensão em 950 µL de caldo MH, e por fim adicionou-se 10 µL da suspensão em cada poço da placa. A microplaca foi incubada por 24 horas há 35 °C em câmara úmida.

Após 24 horas realizou-se a leitura para determinar a CIM dos extratos observando-se a menor concentração do extrato ou fração capaz de inibir o crescimento microbiano. Porém, como alguns extratos já eram turvos, para facilitar a visualização do crescimento adicionou-se uma solução de cloreto de trifeniltetrazólio (CTT) 0,5%, que após 3 horas de incubação a 35 °C deixou os poços onde havia crescimento microbiano de cor avermelhada.

A CBM (Concentração Bactericida Mínima) foi determinada inoculando o conteúdo dos poços onde não houve crescimento em placas de petri com ágar Mueller Hinton. Após 24 horas de incubação, a concentração bactericida mínima foi determinada considerando a menor concentração do extrato ou fração que matou 99,9% dos microrganismos.

### **3.2 Análises para determinação da atividade antioxidante**

As metodologias que foram utilizadas estão de acordo com Boroski et al (2015), com algumas modificações.

#### **3.2.1 DPPH**

Para o preparo da solução de DPPH 0,071 mmol L<sup>-1</sup>, foram dissolvidos 7 mg de DPPH em metanol e o volume foi completado em um balão volumétrico de 250 mL. Esta solução deve ser preparada apenas no dia da análise, e deve ser bem protegida da luz durante o preparo e realização das análises.

Para o preparo do extrato a ser analisado foram pesados 20 mg da amostra e dissolveu-se em 10,0 mL de metanol, onde a solução apresentou uma concentração de 2,0 mg mL<sup>-1</sup>.

Primeiramente pipetou-se volumes da solução de extrato (de 5 a 6 concentrações) e adicionou-se em cubetas ou tubos de ensaio. Em seguida foram adicionados 2,0 mL da solução de DPPH. Após 30 minutos (no abrigo da luz) realizou-se a leitura das amostras em espectrofotômetro UV-vis 190-1100nm PHARO 300 - feixe simples Merck no comprimento de onda de 517 nm. Utilizou-se como branco o metanol. O teste foi realizado em triplicata. Os resultados foram expressos em IC<sub>50</sub>.

### 3.2.2 ABTS

Para o preparo da solução estoque de ABTS ( $7,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ) dissolveu-se 192,0 mg do sal ABTS em água destilada, em um balão volumétrico de 50 mL (completou-se até o menisco). Essa solução foi homogeneizada e armazenada em frasco âmbar ao abrigo da luz.

No preparo da solução de persulfato de potássio ( $140 \text{ mmol L}^{-1}$ ) dissolveu-se 378,40 mg do sal persulfato de potássio em água destilada, em balão volumétrico de 10 mL (completou-se o volume até o menisco). Em seguida a solução foi homogeneizada e armazenada em frasco de vidro âmbar ao abrigo da luz.

O radical  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  foi preparado a partir da reação de 5,0 mL da solução estoque de ABTS com 88  $\mu\text{L}$  da solução de persulfato de potássio. A mistura foi mantida no escuro, em um frasco de vidro âmbar, à temperatura ambiente, por 16 horas. Em seguida, diluiu-se 1,0 mL desta mistura (cátion ABTS) em álcool etílico (aproximadamente 54,0 mL) até obter uma absorvância de  $0,700 \text{ nm} \pm 0,05 \text{ nm}$  em um comprimento de onda de 734 nm (utilizou-se álcool etílico como branco).

Para realização da curva padrão preparou-se uma solução padrão Trolox ( $2000 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) dissolvendo 25 mg de trolox em álcool etílico e o volume de 50,0 mL foi completado em um balão volumétrico com álcool etílico, homogeneizou-se a solução.

A partir da solução padrão de trolox ( $2.000 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), foram preparadas, em balões volumétricos de 10,0 mL, soluções variando a concentração de 100  $\mu\text{M}$  a 2.000  $\mu\text{M}$ , conforme a Tabela 3.

**Tabela 3** - Preparo das soluções para curva padrão

| Solução Padrão de Trolox (mL) | Álcool Etílico (mL) | Concentração final ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) |
|-------------------------------|---------------------|---|
| 0,5                           | 9,5                 | 100   |
| 2,5                           | 7,5                 | 500   |
| 5,0                           | 5,0                 | 1.000   |
| 7,5                           | 2,5                 | 1.500   |
| 10                            | 0                   | 2.000   |

**FONTE:** Autoria Própria

Determinou-se a curva padrão transferindo uma alíquota de 30  $\mu\text{L}$  de cada solução de trolox (100  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$ , 1.000  $\mu\text{M}$ , 1.500  $\mu\text{M}$  e 2.000  $\mu\text{M}$ ) para as cubetas de plástico ou para tubos de ensaio e em seguida adicionou-se 3,0 mL da solução do radical  $\text{ABTS}^+$ . Após 6 minutos realizou-se a leitura em espectrofotômetro em 734 nm. A análise foi realizada em triplicata.

Para o preparo das amostras pesou-se 10 mg (0,0100 g) de cada extrato em balões volumétricos de 10,0 mL e solubilizou-se em álcool etílico, resultando em uma concentração de 1,0  $\text{mg mL}^{-1}$ .

A partir do balão de 1,0  $\text{mg mL}^{-1}$ , foram realizadas no mínimo 4 diluições diferentes em outros balões. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 30  $\mu\text{L}$  de cada diluição do extrato para as cubetas ou tubos de ensaio. Em seguida, foi adicionado 3,0 mL da solução do radical  $\text{ABTS}^+$ . Após 6 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-vis 190-1100nm PHARO 300 - feixe simples Merck em 734 nm. O teste foi realizado em triplicata. Os resultados foram expressos em Equivalente Trolox  $\text{g}^{-1}$  de extrato.

### 3.2.3 Fenólicos Totais

As soluções dos extratos foram preparadas em metanol, sob proteção da luz, a concentração final dessa solução foi de 2,5  $\text{mg mL}^{-1}$ . A solução foi homogeneizada em ultrassom para obter melhor solubilização.

A solução padrão de ácido gálico foi preparada sob proteção da luz pela dissolução de 0,010 g em 50 mL de água destilada, onde perfaz-se uma concentração final de 200  $\text{mg L}^{-1}$ . Para realizar a curva de calibração foram feitas diluições dessa solução, para concentrações entre 0 e 200  $\text{mg L}^{-1}$ .

Em 250  $\mu\text{L}$  da solução de extrato, foram adicionados 250  $\mu\text{L}$  do reagente de Folin-Ciocalteu, 500  $\mu\text{L}$  da solução saturada de carbonato de sódio e por fim adicionou-se 4,0 mL de água destilada. Os tubos foram homogeneizados e mantidos ao abrigo da luz por 25 minutos, depois a solução foi centrifugada a 3000 rpm. O procedimento para preparo do branco seguiu as mesmas etapas acima, porém substituiu-se a solução de extrato por metanol. A medida da absorvância foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis 190-1100nm PHARO 300 - feixe simples

Merck no comprimento de onda de 725 nm. Os resultados foram expressos em equivalente ao ácido gálico  $\text{g}^{-1}$  de extrato.

#### 3.2.4 Flavonoides

A solução de cloreto de alumínio 5% foi preparada pela adição de 5 g do sal em 100 mL de metanol, sob agitação magnética, utilizando o sobrenadante da solução.

Os extratos das amostras que foram testadas, foram preparados em metanol, sob proteção da luz, tendo como concentração final  $2,5 \text{ mg mL}^{-1}$  de metanol.

O padrão quercetina foi utilizado para construção da curva de calibração. A solução padrão de quercetina foi preparada, sob proteção de luz, realizando a dissolução de 10 mg de quercetina em um balão volumétrico de 5 mL, adicionando metanol até o menisco. Em seguida foram efetuadas as diluições em metanol para obter-se as concentrações entre  $0\text{-}100 \text{ mg mL}^{-1}$ , assim construiu-se a curva de calibração.

Em  $500 \mu\text{L}$  da solução de extrato, da amostra que foi testada, adicionou-se  $250 \mu\text{L}$  da solução de cloreto de alumínio 5% e  $4,25 \text{ mL}$  de metanol. Os tubos foram agitados e mantidos em temperatura ambiente por 30 minutos. O branco foi preparado nas mesmas condições acima, porém substituindo a solução de extrato por metanol. A leitura da absorvância foi realizada em um comprimento de onda de 425 nm em um espectrofotômetro UV-Vis 190-1100nm PHARO 300 - feixe simples Merck. Os resultados foram expressos em equivalente a quercetina  $\text{g}^{-1}$  de extrato.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação da atividade antimicrobiana

Os resultados obtidos no teste de microdiluição foram expressos em  $\text{mg mL}^{-1}$  e estão dispostos na Tabela 4. Como controle positivo utilizou-se o antibiótico ampicilina, que tem atividade contra bactérias Gram positivas e Gram negativas.

**Tabela 4** - Resultado do teste de microdiluição em  $\text{mg mL}^{-1}$  para a planta *Praxelis sanctopaulensis*.

| Amostras | Bactérias Gram positivas |      |           |      | Bactérias Gram negativas |     |               |      |          |      |
|----------|--------------------------|------|-----------|------|--------------------------|-----|---------------|------|----------|------|
|          | B. subtilis              |      | S. aureus |      | E. coli                  |     | K. pneumoniae |      | S. typhi |      |
|          | PA                       | FLR  | PA        | FLR  | PA                       | FLR | PA            | FLR  | PA       | FLR  |
| EB       | -                        | -    | 5,00      | 5,00 | -                        | -   | -             | -    | -        | -    |
| F. HX    | 5,00                     | -    | -         | -    | -                        | -   | -             | 5,00 | -        | 5,00 |
| F. AC    | 1,25                     | 1,25 | 0,63      | 5,00 | -                        | -   | 1,25          | 1,25 | -        | 0,63 |
| F. BT    | -                        | 1,25 | -         | 5,00 | -                        | -   | 1,25          | -    | -        | -    |
| F. DC    | 5,00                     | 2,50 | -         | 5,00 | -                        | -   | -             | -    | -        | -    |
| F. HM    | -                        | -    | -         | -    | -                        | -   | -             | -    | -        | -    |
| AMPC.    | 0,49                     |      | 0,24      |      | 0,98                     |     | 0,98          |      | 0,49     |      |

Legenda: PA = Partes aéreas; FLR = Flores; EB = Extrato Bruto; F. HX= Fração hexânica; F.AC = Fração acetato de etila; F. BT = Fração butanólica; F. DC = Fração diclorometano; F.HM = Fração hidrometanólica; AMPC = Ampicilina. Para os extratos as concentrações foram expressas em  $\text{mg mL}^{-1}$ , e para o antibiótico (Ampicilina) em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

**Fonte:** Autoria Própria.

As frações que mais se destacaram foram a acetato de etila e a butanólica, sendo que a primeira não apresentou atividade antimicrobiana apenas para *E. coli* (Flores e partes aéreas) e *S. typhi* (partes aéreas). Dentre as bactérias testadas as mais sensíveis a fração acetato de etila (flores) foi a *Salmonella typhi* ( $0,625 \text{ mg mL}^{-1}$ ), seguida da *Staphylococcus aureus* ( $0,625 \text{ mg mL}^{-1}$ ), *Klebsiella pneumoniae* ( $1,25 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e por fim *Bacillus subtilis* ( $1,25 \text{ mg mL}^{-1}$ ). Essa alta atividade da fração acetato de etila pode ser explicada pela sua composição, aonde existem estudos que comprovam que essa fração possui alta quantidade de lactona, um composto fenólico que já foi estudado e provado ser citotóxico (FERRARI, 2008; JORDÃO et al., 2000).

Chaibub et al. (2013) realizou a mesma análise antimicrobiana utilizando a planta *Spiranthera odoratissima* para três bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *B. subtilis*. Os



resultados nesse trabalho também foram melhores para a fração acetato de etila, com valores próximos de CIM ao de *Praxelis sanctopaulensis* para a bactéria *Bacillus subtilis*, que para *S. odoratissima* foram de 0,391 mg mL<sup>-1</sup> e para *P. sanctopaulensis* foram de 0,625 mg mL<sup>-1</sup>.

Um fator muito importante é a inibição pelas frações acetato de etila e butanólica da bactéria Gram negativa *Klebsiella pneumoniae*, ela apresenta resistência a cerca de 95% dos antibióticos farmacêuticos, e isso gerou um problema de saúde pública, já que essa alta resistência apresentada por essa bactéria causou mortes no Brasil no ano de 2010 (BRADFORD, 2001; MINISTÈRIO DA SAÚDE, 2010). A CIM para essa bactéria foi de 1,25 mg mL<sup>-1</sup> para ambas as frações das flores, apresentando a mesma inibição para a fração acetato de etila das partes aéreas.

*Praxelis clematidea* (Asteraceae) planta da mesma família que *Praxelis sanctopaulensis* não apresentou nenhuma atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram positivas e negativas no trabalho de Oliveira-Filho (2015). Isso mostra que *Praxelis sanctopaulensis* possui algumas propriedades a mais frente a outra planta do mesmo gênero.

A fração diclorometano não apresentou significativa atividade antimicrobiana a mesma fração da planta *Acmela brasiliensis* Spreng (Asteraceae) não apresentou atividade para bactérias Gram negativas, assim como para *P. sanctopaulensis*, apenas para bactérias Gram positivas como *S. aureus* (SARTORI, 2005). Esses resultados confirmam alguns estudos anteriores onde a fração diclorometano possui atividade antimicrobiana, mas não tão elevada, e apenas para bactérias Gram positivas, e nos mesmos estudos dizem que os flavonoides apolares presentes nessa fração são responsáveis pela sua atividade (SCHLEMPER et al., 1998; SARTORI, 2005).

Estudos mostram a presença de ácido caurenóico nas frações mais polares da planta (fração acetato de etila e butanólica) *A. brasiliensis*. Esse composto tem sua atividade somente nas paredes celulares das bactérias Gram positivas, não apresentando nenhuma atividade contra Gram negativas (BLOCK et al., 1998), isso também comprova os resultados obtidos para as frações polares de *P.*

*sanctopaulensis*, que tiveram maior inibição das bactérias *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*.

Observando os resultados no geral, as frações das flores tiveram mais atividade do que as frações das partes aéreas. Isso pode estar relacionado com a diferença na composição das partes da planta. Na planta *Acmela brasiliensis* Spreng (Asteraceae) realizou-se a análise de cromatografia em camada delgada com extratos de diferentes partes da planta, flores e partes aéreas (caule e raízes), e essa análise demonstrou que alguns fenólicos e flavonoides só estão presentes nas flores da planta.

Os flavonoides são geralmente sintetizados pelas plantas para sua defesa contra infecções microbianas, justificando a atividade antimicrobiana presente nos flavonoides (BLOCK et al., 1997; BRESCIANI et al., 2000). Isso indica que podem existir compostos flavonoides nas flores com uma atividade maior do que nas partes aéreas.

Como os melhores resultados para esta análise nos extratos de *Praxelis sanctopaulensis* mostraram que a fração acetato de etila e a fração butanólica tem a maior atividade antimicrobiana, isso pode indicar a maior presença de compostos fenólicos e flavonoides nessas frações.

As bactérias Gram positivas apresentaram-se mais suscetíveis aos extratos da planta do que as bactérias Gram negativas. Isso pode ser explicado pela diferença na parede celular dessas bactérias, as Gram positivas possuem parede celular menos complexas e maior permeabilidade (RANG, 1997).

As concentrações bactericidas foram realizadas, porém nenhuma fração teve poder bactericida e sim bacteriostático, aonde somente inibe o crescimento da bactéria sem causar sua morte.

#### **4.2 Avaliação da atividade antioxidante**

O DPPH é um radical livre bem estável e possui baixa reatividade com a maioria das substâncias. Logo, apenas compostos com capacidade redutora forte são capazes de reagir com o radical DPPH (SANTOS et al., 2007). Isso acentua ainda mais a atividade antioxidante dos extratos da planta, já que as inibições de algumas frações foram com concentrações baixas. A fração acetato inibiu 50% do

DPPH com concentrações de 10 e 13  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , para flores e partes aéreas respectivamente.

O cátion radicalar ABTS consegue medir a atividade antioxidante de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (KUSKOSKI et al, 2005), que também é extremamente vantajoso para os extratos, já que eles são extraídos com solventes diferentes e que apresentam comportamentos diferentes de polaridade.

Para os testes de captura de radical DPPH e ABTS (Tabela 5) *P. sanctopaulensis* demonstrou melhores resultados para a fração acetato de etila, tanto para as flores quanto para as partes aéreas. A equação da reta e  $R^2$  da curva padrão Trolox foram:

$$y = -0,0003x + 0,669; R^2 = 0,9937$$

**Tabela 5** - Resultados da análise antioxidante pelos métodos de captura de radical DPPH e ABTS para *Praxelis sanctopaulensis*.

| Amostras | Partes aéreas     |                   | Flores            |                  |
|----------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
|          | ABTS              | DPPH              | ABTS              | DPPH             |
| EB       | 577,37 $\pm$ 2,0  | 35,32 $\pm$ 0,09  | 389,71 $\pm$ 6,1  | 40,58 $\pm$ 0,32 |
| F. HX    | <100              | 187,71 $\pm$ 0,94 | <100              | >500             |
| F. DC    | 409,09 $\pm$ 1,2  | 96,75 $\pm$ 0,67  | 426,14 $\pm$ 2,6  | 63,71 $\pm$ 0,96 |
| F. AC    | 2012,65 $\pm$ 6,6 | 13,09 $\pm$ 2,1   | 1407 $\pm$ 6,1    | 10,75 $\pm$ 0,39 |
| F. BT    | 1726,37 $\pm$ 9,0 | 15,1 $\pm$ 0,31   | 1103,75 $\pm$ 1,4 | 15,54 $\pm$ 1,0  |
| F. HM    | 916,91 $\pm$ 1,4  | 46,64 $\pm$ 0,54  | 954,2 $\pm$ 5,1   | 65,79 $\pm$ 1,7  |

Legenda: Resultados do ABTS representados em  $\mu\text{mol}$  de Trolox  $\text{g}^{-1}$  de extrato. Resultados do DPPH representados em  $\text{IC}_{50}$  em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . PA = Partes aéreas; FLR = Flores; EB = Extrato Bruto; F. HX= Fração hexânica; F.AC = Fração acetato de etila; F. BT = Fração butanólica; F. DC = Fração diclorometano; F.HM = Fração hidrometanólica;

**Fonte:** Autoria Própria

Estudos na fração acetato de etila de outras plantas em trabalhos como de Grael et al. (2000) mostraram que essa fração possui flavonoides, um dos produtos do metabolismo secundário das plantas que está sendo muito estudado devido a suas propriedades fitoquímicas. A lactona é outro composto que está presente na fração acetato de etila e segundo Carvalho Junior et al. (2014) a planta *Eugenia*

*copacabanensis* Kiaersk possui elevada quantidade de compostos com lactona e grande atividade antioxidante. Essas lactonas são denominados marcadores taxonômicos da família Asteraceae, além das plantas desta família serem consideradas com alta atividade antioxidante, e muito promissoras para obtenção de novos fármacos (FERRARI, 2008). Andrade et al. (2007) também observou resultados significativamente maiores no teste DPPH para a fração acetato de etila em relação com a diclorometano e extrato bruto da planta *Acacia podalyriifolia*, e essa atividade é explicada pela quantidade elevada de compostos fenólicos nessa fração.

O extrato bruto, apresentou valores de IC<sub>50</sub> para DPPH de 35,32 e 40,48 µg mL<sup>-1</sup> e para ABTS 577,37 e 389,71 µmol Trolox g<sup>-1</sup> de extrato para as partes aéreas e flores respectivamente. Como o extrato bruto contém todas as frações que foram separadas da planta, esse potencial antioxidante deve-se a presenças marcantes da fração acetato e butanólica.

Merino (2014) estudou a planta *S. westermanii* (Asteraceae), na realização da atividade antioxidante pela captura de radical DPPH a fração da planta que apresentou melhores resultados foi a fração acetato de etila com valores de 26,982 µg mL<sup>-1</sup>. A mesma fração da planta *P. sanctopaulensis* apresentou melhores resultados frente a DPPH com valores de 13,09 e 10,75 µg mL<sup>-1</sup> para flores e partes aéreas, respectivamente, e comparando os resultados das outras frações de *P. sanctopaulensis* com as de *S. westermanii* vemos que *Praxelis* foi melhor na inibição do radical DPPH.

Em estudos nas frações de três espécies diferentes de *Eugenia* mostraram também que para todas essas espécies os melhores resultados foram para fração acetato de etila e butanólica (MAGINA et al., 2009).

O método ABTS nos dá a medida da atividade antioxidante que se encontra no alcance dos carotenoides e compostos fenólicos presentes nas plantas (RE et al., 1998). Esse método é mais comumente visto para determinação de atividade antioxidante em frutas, e polpas de frutas (SOARES et al., 2008; VIEIRA et al., 2011). Porém podemos ver a alta atividade antioxidante das frações acetato de etila e butanólica comparando com o Trolox (composto com atividade antioxidante conhecida). Com 1000 µmol de trolox o radical ABTS é inibido em 50% e com 2000 µmol em cerca de 80%. A fração acetato de etila obteve um valor para as partes

aéreas de 2012,65  $\mu\text{mol}$  de Trolox  $\text{g}^{-1}$  de extrato, isso significa que esta fração inibiu cerca de 80% do radical ABTS, e a fração butanólica com um valor de 1726,37  $\mu\text{mol}$  de Trolox  $\text{g}^{-1}$  de extrato inibiu quase a mesma quantidade (BOROSKI et al., 2015).

Estudos já apresentaram a presença de flavonoides e fenólicos em plantas, Oliveira-Filho (2015) identificou esses compostos na planta *Praxelis clematidea*, Ferrari (2008) realizou estudos fitoquímicos em frações extraídas de plantas e também identificou a presença de fenólicos. Já que a maior parte da atividade antioxidante nas plantas se dá pela presença de compostos fenólicos, que são produtos do metabolismo secundário das plantas, realizou-se a determinação desses compostos na *P. sanctopaulensis*.

A fração acetato e butanólica apresentaram maior conteúdo de fenólicos e flavonoides em relação às outras frações (Tabela 6). Acredita-se que isso seja devido à polaridade do solvente já que em outros trabalhos como o de Magina et al. (2009) também há maiores quantidades desses compostos nessas mesmas frações para três espécies de Eugenia. Os resultados de conteúdos de fenólicos e flavonoides totais foram expressos em equivalente ao ácido gálico (EAG) e quercetina (EQ) respectivamente. A equação da reta para o ácido gálico foi  $y = 0,0056x + 0,0026$ , com um  $R^2$  no valor de 0,9990; para quercetina  $y = 0,0068x - 0,0054$ , com um  $R^2$  no valor de 0,9986.

**Tabela 6** - Resultados dos fenólicos e flavonoides totais para *Praxelis sanctopaulensis*.

| Amostras | Partes aéreas     |                  | Flores            |                  |
|----------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|
|          | FT $\pm$ DP       | FLT $\pm$ DP     | FT $\pm$ DP       | FLT $\pm$ DP     |
| EB       | 113,20 $\pm$ 0,14 | 78,05 $\pm$ 0,89 | 61,03 $\pm$ 0,82  | 32,63 $\pm$ 0,75 |
| F. HX    | 9,80 $\pm$ 0,18   | 36,25 $\pm$ 0,34 | 8,53 $\pm$ 0,53   | 19,20 $\pm$ 0,25 |
| F. DC    | 56,15 $\pm$ 0,31  | 42,51 $\pm$ 0,46 | 57,60 $\pm$ 0,77  | 44,52 $\pm$ 0,74 |
| F. AC    | 526,80 $\pm$ 1,35 | 97,13 $\pm$ 4,85 | 284,40 $\pm$ 0,59 | 77,74 $\pm$ 0,43 |
| F. BT    | 426,19 $\pm$ 2,1  | 82,07 $\pm$ 6,86 | 234,97 $\pm$ 1,88 | 75,62 $\pm$ 1,01 |
| F. HM    | 177,27 $\pm$ 0,97 | 22,44 $\pm$ 5,64 | 54,03 $\pm$ 0,44  | 9,55 $\pm$ 0,71  |

Legenda: PA = Partes aéreas; FLR = Flores; EB = Extrato Bruto; F. HX= Fração hexânica; F.AC = Fração acetato de etila; F. BT = Fração butanólica; F. DC = Fração diclorometano; F.HM = Fração hidrometanólica; FT = Fenólicos, FLT = Flavonoides; DP= Desvio Padrão.

Observando os resultados pode-se verificar que realmente o conteúdo de fenólicos e flavonoides tem coerência com os resultados das análises antioxidantes, pois as frações com maiores quantidades de FT e FLT foram as que se destacaram nos testes de captura de radical DPPH e ABTS. A fração hexânica por exemplo teve o menor resultado antioxidante e apresentou baixos valores para FT e FLT. Rosset et al. estudaram a fração hexânica em *Anacardium humile* (Anacardiaceae) e verificou que essa parte da planta não possui quantidade considerável de compostos fenólicos, por isso apresentou uma inibição de 15% contra radical DPPH.

Com os resultados dos conteúdos de fenólicos e flavonoides pode-se observar que a atividade antimicrobiana pode ter sido influenciada pela presença desses compostos, já que as frações que apresentaram maior conteúdo de fenólicos e flavonoides também apresentaram melhor atividade antimicrobiana.

No geral as partes aéreas apresentaram melhores resultados do que as flores para todas as análises antioxidantes realizadas. Há uma pequena discrepância para a fração acetato de etila, em relação a quantidade de fenólicos e flavonoides. Essa fração apresenta maiores valores para as partes aéreas, mas pelo método DPPH seu melhor resultado foi para as flores. Isso pode ser explicado pela diferença entre as flores e as partes aéreas e também devido a presença de outros compostos com capacidade antioxidantes nessa parte da planta, necessitando-se de estudos fitoquímicos detalhados nessa fração para determinar-se quais são esses compostos.

## 5 CONCLUSÃO

As frações da planta *Praxelis sanctopaulensis* que apresentaram melhor atividade antimicrobiana foram a fração acetato de etila e butanólica, dentre elas o melhor desempenho estando na primeira delas. Porém, assim como todas as frações, elas também foram insuficientes para inibir o crescimento de *Escherichia coli*.

De acordo com os resultados, observou-se que os extratos da planta *Praxelis sanctopaulensis* apresentaram no geral, boa atividade antioxidante, exceto para a fração hexânica (flores) que não apresentou um bom potencial antioxidante frente radical DPPH e ABTS. As frações acetato de etila e butanólica apresentaram o

melhor desempenho para antioxidante e conteúdo de compostos fenólicos e flavonóides.

Com isso mais estudos devem ser realizados nos extratos da planta, para determinação e estudo de sua composição química, e principalmente de sua citotoxicidade, verificando se os extratos apresentam propriedades nocivas as células, para posterior aplicação como um fitoterápico ser válida, já que potencial antimicrobiano e antioxidante são apresentados pela planta.

## 6 REFERÊNCIAS

AHMAD I. AND BEG A.Z.; Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian plants against multi-drug resistant human pathogens, **Journal of Ethnopharmacol.** 74: 113-123. 2011.

ALVARENGA, Felipe Queiroz; MOTA, Bárbara Caroline Ferreira; ROYO, Vanessa de Andrade; LAURENTIZ, Rosangela da Silva; MENEZES, Elytania Veiga. Atividade antimicrobiana in vitro das folhas de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) contra micro-organismos da mucosa oral. **Revista odontológica UNESP.**, vol.45, n.3, pp.149-153. Epub June 14, 2016. ISSN 1807-2577. 2016.

ALVES, Everton G.; VINHOLIS, Adriana Helena C.; CASEMIRO, Luciana Assirati; FURTADO, Nieve Araçari J. C.; SILVA, Márcio Luis A.; CUNHA, Wilson Roberto; MARTINS, Carlos Henrique Gomes. *Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras.* **Química Nova**, Vol. 31, No. 5, 1224-1229, 2008.

ALVIM, N.A.T.; FERREIRA, M.A.; CABRAL, I.E.; ALMEIDA FILHO, A.J. O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.14, n.3, p.1-9, 2006.

ANDRADE, C. A. D.; COSTA, Camila Klocker; BORA, Karina; MIGUEL, Marilis Dallarmi; MIGUEL, Obdúlio Gomes; KERBER, Vitor Alberto. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 231-235, abr./jun. 2017.

ANGELO, Priscila Milene. JORGE, Neuza. Compostos Fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 1-9, 2007.

ANVISA, **Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactérias de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada, Sexta Edição.** Vol. 23, No. 2, 2003.

ATCC. **The essentials of life science research**. Disponível em: <<https://www.atcc.org/>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

BIANCHI, Maria de Lourdes Pires; ANTUNES, Lusânia Maria Gregg; Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas 12 (02). 123-130, 1999.

BLOCK, L. C. **Determinação dos princípios ativos de *Wedelia paludosa* D.C. (Compositae)**. Monografia de conclusão de curso de Farmácia da Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí-SC, 1997.

BLOCK, L. C. et al. Chemical and pharmacological examination of *Wedelia paudosa*. **Journal Ethnopharmacol.**, v.61, p. 85-89, 1998a.

BORGES, Luiz L.; LÚCIO, Tathiana C.; GIL, Eric de Souza; BARBOSA, Eduardo F.; Uma Abordagem Sobre Métodos Analíticos para Determinação da Atividade Antioxidante em Produtos Naturais; **Enciclopédica Biosfera, Centro Científico Conhecer – Goiânia**, Vol. 7, N. 12; 2011.

BOROSKI, Marcela; VISENTAINER, Jesuí V.; COTTICA, Solange Maria; MORAIS, Damila R.; **Antioxidantes – Princípios e Métodos Analíticos**, 2015.

BRADFORD, P.A. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. **Revista Clinica Microbiol.** v.14, n.4, p.933-951, 2001.

BRESCIANI, L.F.V.; CECHINEL-FILHO, Valdir; YUNES, Rosendo A.; Comparative study of diferente parts of *Wedelia paludosa* by gas chromatography. **Natural Product Letters**, v. 14, n. 4, p. 247-254, 2000.

CARRIÓN-CABRERA, José L; JARAMILLO-JARAMILLO, Carmita; DUTÁN-TORRES, Fausto; CUN-CARRIÓN, Jorge; GARCÍA, Pedro A.; ROJAS DE ASTUDILLO, Luisa; Variación del Contenido de Alcaloides, Fenoles, Flavonoides y Taninos en *Moringa oleífera* Lam. en Función de su Edad y Altura. **Bioagro** 29, 53-60, 2017.

CHAIBUB, B.A., OLIVEIRA, T.B., FIUZA, T.S., BARA, M.T.F., TRESVENZOL, L.M.F., & PAULA, J.R. Composição química do óleo essencial e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial, extrato etanólico bruto e frações das folhas de *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil.. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** [S.L], v. 15, n. 2, Nov/Jul 2013.

**DPPH**, <[http://qnint.sbq.org.br/qni/popup\\_visualizarMolecula.php?id=4J4NcOscwSWQozPv\\_U900znaLVcJT9yuEtosdRR6-OUaLje9-uzD1r0zo9HWIFgxKcELr89FjeGeQhTJYPGT2Q](http://qnint.sbq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=4J4NcOscwSWQozPv_U900znaLVcJT9yuEtosdRR6-OUaLje9-uzD1r0zo9HWIFgxKcELr89FjeGeQhTJYPGT2Q)> Acesso em 19 de novembro de 2017. Sociedade Brasileira de Química.

Droge W **Free radicals in the physiological control of cell function**. *Physiol Rev* 82: 47-95, 2002.



ENDO, Eliana Harue. **Efeito Antifúngico de Extrato Bruto e Frações de *Punica granatum* Contra *Candida albicans***. 57 f., Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Fundação Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmácia e Farmacologia, 2007.

FERRARI, Fernanda C.; **Estudo Fitoquímico da Fração Acetato de Etila, Avaliação da atividade anti-inflamatória in vitro e in vivo e da Toxicidade em camindongos de *Lychnophora trichocarpa* Spreng**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas). Escola de Farmácia. Universidade Federal de Ouro Preto. 2008.

FERREIRA, Isabel CFR; ABREU, Rui MV; **Stress Oxidativo, Antioxidantes Fitoquímicos**. Bioanálise, Ano IV, N° 2, 2007.

FUNK VA, SUSANNA A, STUESSY TF, ROBINSON H **Systematics, Evolution, and Biogeography of the Compositae**. IAPT, Bratislava, 2009.

GRAEL, C. F., VICHNEWSKI, W., SOUZA, G. E., LOPES, J. L., ALBUQUERQUE, S., CUNHA, W. R. A study of the trypanocidal and analgesic properties from *Lychnophora granmongolense* (Duarte) Semir & Leitão Filho. **Phytotherapy Research**, 14, (3), 203-206, 2000.

JORDÃO, C.O., ALBUQUERQUE, S., LOPES, N.P., Lopes, J.L.C. Estudo fitoquímico e ensaios biológicos de *Lychnophora gardneri* SCHULTZ-BIP. In: **Reunião Anual da SBQ, 23**, Poços de Caldas. Resumo/0107, 2000.

JUNIOR, Almir Ribeiro De Carvalho; GOMES, Geovany Amorim; CARVALHO, Rafaela Oliveira Ferreira E Mário Geraldo De. **CONSTITUINTES QUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FOLHAS E GALHOS DE *Eugenia copacabanensis* Kiaersk (Myrtaceae)**. **Química Nova**, [S.L], v. 37, n. 3, p. 477-482, fev. 2014.

KAN, L., XIE, G., WANG, J., 2009a. Effect of drought stress on the growth and eco-physiologic characteristics of invasive plant *Eupatorium catarium* seedlings. **Chinese Journal of Tropical Crops**. 30, 425–432.

KAN, L., XIE, G., WANG, J., 2009b. Seed germination of *Eupatorium catarium* under salt stress. **Chinese Journal of Tropical Crops**.. Agric. 29, 26–31.

KHAN, Abdul Latif et al., Secondary Metabolites from *Inula britannica* L. and Their Biological Activities. **Molecules**, 15, 1562-1577, 2010.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI\_FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

MACIEL, Maria Aparecida et al.; Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares; **Química Nova**, Vol. 25, No. 3, 429-438, 2002.

MAGINA, M. A.; GILIOLI, Andressa; MORESCO, Henrique H.; COLLA, Guilherme; PIZZOLATTI, Moacir G.; BRIGHENTE, Inês M. C.; Atividade antioxidante de três

espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, [S.L], v. 29, n. 3, p. 376-382, ago./out. 2009.

MAIA, Gabriela Lemos de Azevedo; FALCÃO-SILVA, Vivyanne dos Santos; AQUINO, Pedro Gregório Vieira; ARAÚJO-JUNIOR, João Xavier; TAVARES, Joseane Fechine; SILVA, Marcelo Sobral; RODRIGUES, Luiz Cezar; SIQUEIRA-JUNIOR, José Pinto; BARBOSA-FILHO, José Maria. Flavonoid from *Praxelis cematidea* R.M. King and Robinson Modulate Bacterial Drug Resistance; **Molecules**, 16, 4828-4835, 2011.

MILARDOVIC, Stjepan; IVEKOVIC, Damir; GRABARIC, Bozidar S.; A Novel Amperometric Method for Antioxidant Activity Determination Using DPPH free radical, **Bioelectrochemistry** 68, 175-180, 2006.

MORAIS, Selene Maia; MORAIS, Selene Maia; CATUNDA JÚNIOR, Francisco Eduardo Aragão; SILVA, Ana Raquel Araújo; MARTINS NETO, Jason Stone; RONDINA, Davide; CARDOSO, José Henrique Leal. Atividade Antioxidante de Óleos Essenciais de Espécies de *Croton* do Nordeste do Brasil. **Química Nova**, Vol. 29, no. 5, 907-910, 2006.

NASCIMENTO, Juliana Couto; LAGE, Luiz Fernando O.; CAMARGOS, Cláudio R. Dayrell; AMARAL, Juliana Coelho; COSTA, Lucas Martins; SOUSA, Adriana Nascimento; OLIVEIRA, Franciêlda Queiroz. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonoides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira Farmácia** 92: 327-332, 2011.

OLIVEIRA, Thais de Freitas; FERREIRA, Joilson S.; BOA SORTE, Paulo Marcos Fernandes; REIS, Veronica Massena; BALDANI, José Ivo; SCHWAB, Stefan. Concentração Mínima Inibitória (CMI) de antibióticos para oito estripes de bactérias diazotróficas da Coleção de Culturas da Embrapa Agrobiologia. **EMBRAPA**, 2009.

OLIVEIRA-FILHO, A. A.; FERNANDES, H.M.B.; SOUSA, J.P.; MEIRELES, D.R.P.; MAIA G.L.A.; BARBOSA-FILHO, J.M.; PESSOA, H.L.F.; LIMA, E.O.; Antimicrobial Effect of the Chloroform Phase of *Praxelis clematidea* R.M King & Robinson. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical research**, 7(3); 420-423, 2015.

PANNALA, A. S., CHAN TS, O'BRIEN PJ, RICE-EVANS CA. Flavonoid B-Ring Chemistry and Antioxidant Activity: Fast Reaction Kinetics. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S.L], v. 262, n. 5, p. 1161-1168, mar. 2001.

PINTO T. J. A., KANEKO T. M., OHARA M. T. Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos. 2.ed. **São Paulo: Atheneu Editora**, p. 325, 2003.

**Plantas aquáticas e palustres do Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www2.ib.unicamp.br/profs/volker/plant-aq/familias/Asteraceae.html#Topo>>. Acesso em: 16 de junho de 2017.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 3 ed, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1997, 692p.

RE, Roberta; PELLEGRINI, Nicoletta; PROTEGGENTE, Anna; PANNALA, Ananth; YANG, Min; RICE-EVANS, Catherine. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

ROSSET, George Isac; WINCK, Cristiane Regina; CARDOSO, Claudia Andéa Lima; JELLER, Alex Haroldo; POPPI, Nilva Ré. **Identificação dos constituintes da fração hexânica de Anacardium humile (Anacardiaceae) empregando CG-EM**. Sociedade Brasileira de Química.

SANTOS, Marcelo Henrique; BATISTA, Bruno Lemos; DUARTE, Stella Maris da Silveira; ABREU, Celeste Maria Patto; GOUVÊA, Cibele Marli Cação Paiva.

Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**. 30, 604-610, 2007.

SARAIVA, A.M; SARAIVA, C.L.; CORDEIRO, R.P.; SOARES, R.R.; XAVIER, H.S.; CAETANO, N.; Atividade antimicrobiana e sinérgica das frações das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engl. frente a clones multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista brasileira de plantas medicinais**. vol.15, n.2, pp.199-207. ISSN. 2013 .

SARTORI, Maria R. K.; **Atividade antimicrobiana de frações de extratos e compostos puros obtidos das flores da *Acmela brasiliensis* SPRENG (*Wedelia paludosa*) (Asteraceae)**. 2005, 81 f.; Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Centro de Ciências da Saúde. Universidade do Vale do Itajaí. 2001. Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da saúde. **Revista Clipping**. De 12 de novembro de 2010.

SILVA, Marília Cardoso; COSTA, Renata Silva; SANTANA, Andréa dos Santos; KOBLITZ, Marília Gabriela. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-681, 2010.

SOARES, M.; WELTER, Lucas; GONZAGA, Lucinao; LIMA, Alessandro; MANCINI-FILHO; FETT, Roseane. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 727-732, jul./set. 2008.

SOUSA CMM, SILVA HR, VIEIRA GM, AYRES MCC, COSTA CS, ARAÚJO DS. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, 30(2): 351-355, 2007.

TROPICOS.ORG. **Missouri Botanical Garden**. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Name/50312233>>. Acesso em: 16 de Junho de 2017.  
**Vernonanthura nudiflora (Less.) H.Rob. UFRGS**. <[http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open\\_sp.php?img=14190](http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=14190)> Acesso em 25 de novembro de 2017.

VIEIRA, Luanne Moraes; SOUSA, Mariana S. Bezerra; MANCINI-FILHO, Jorge; Lima, Alessandro. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais1. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 3, p. 888-897, set. 2011.

WEI, C., GUO-YU, L., FENG, A., JU-SHENG, J., ZHEN-HUI, W., QIU-BO, C., XIN-MIN, W. Niche characteristics of *Eupatorium catarium* community in Hainan. **J. Northwest For. Univ.** China 22, 24–27, 2007. 35

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review*. **Geneva: WHO**, 45 p., 1998.

YING ZHANG, Lei Li; TING LIANG YAN, Qiang Liu. Complete chloroplast genome sequences of *Praxelis* (*Eupatorium catarium* Veldkamp), an important invasive species. **Elsevier**, Gene 549, 58-69, 2014.