

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ESTUDOS QUANTITATIVOS DE COMPOSTOS
ANTIOXIDANTES EM SANGRA-D'ÁGUA (*Croton urucurana*
Baill.)

Autor: Vinicius Cozadi de Souza
Orientador: Carlos Frederico de Souza Castro

RIO VERDE - GO
SETEMBRO – 2013

ESTUDOS QUANTITATIVOS DE COMPOSTOS
ANTIOXIDANTES EM SANGRA-D'ÁGUA (*Croton urucurana*
Baill.)

Autor: Vinicius Cozadi de Souza
Orientador: Carlos Frederico de Souza Castro

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - campus Rio Verde - Área de concentração Ciências Agrárias.

RIO VERDE - GO
SETEMBRO - 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
Elaborada por Igor Yure Ramos Matos – Bibliotecário CRB1 - 2819

S713e Souza, Vinicius Cozadi de.

Estudos Quantitativos de Compostos Antioxidantes em Sangra-D'Água (*Croton urucurana* Baill.) / Vinicius Cozadi de Souza. – 2013.

53 f.: il., fig. tabs.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Frederico de Souza Castro.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus de Rio Verde, 2013.

Biografia.

Inclui índice de tabelas, figuras e lista de símbolos, siglas, abreviações e unidades.

1. Sangra-D'Água. 2. *Croton urucurana* Baill. 3. Planta Medicinal. I. Autor. II. Título.

CDU: 633.88

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AGRÁRIAS-GRONOMIA**

**ESTUDOS QUANTITATIVOS DE COMPOSTOS
ANTIOXIDANTES EM SANGRA-D' ÁGUA (*Croton
urucurana* Baill.)**

Autor: Vinicius Cozadi de Souza
Orientador: Dr. Carlos Frederico de Souza Castro

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de
Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em 27 de setembro de 2013.

Prof. Dr. Jair Pereira de Melo Júnior
Avaliador externo
FESURV/RV

Prof^a. Dra. Geovana Rocha Plácido
Avaliadora interna
IFGoiano/RV

Prof. Dr. Carlos Frederico de Souza Castro
Presidente da banca
IFGoiano/RV

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar ao meu lado em mais uma prova de vida, pois sem fé e perseverança, eu não chegaria a lugar algum. Agradeço ao meu orientador, Carlos Frederico, pela sua disponibilidade, acompanhamento e esclarecimento exercido durante a execução do trabalho. Aos professores do curso de pós-graduação, com os quais adquiri muitos conhecimentos ao longo desses dois anos de preparação para mestre. Agradeço à minha namorada Fernanda, sempre ao meu lado, aos meus pais e à minha irmã, que sempre acreditaram na minha vitória. Ao meu grande amigo Jair Pereira de Melo Junior, que, com seus conselhos, sempre tenho a acrescentar. E a todos que participaram de forma direta ou indireta até a chegada desta conquista. Muito obrigado!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Vinicius Cozadi de Souza, filho de José Marcio de Souza e Gisa Cozadi, nascido em 17 de julho de 1980, na cidade de Lavras – Minas Gerais.

Formado em Farmácia e Bioquímica pela UNIRV – Universidade de Rio Verde, especializações lato sensu em Farmacologia pela UFLA – Universidade Federal de Lavras e Farmácia clínica pela AFARP – Associação dos Farmacêuticos de Ribeirão Preto.

Trabalha na UNIRV como técnico nos laboratórios acadêmicos da universidade e professor de Bioquímica.

Aluno concluinte do curso de pós-graduação stricto sensu nível mestrado em Ciências Agrárias do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

ÍNDICE

| | Página |
|--|--------|
| INTRODUÇÃO | 1 |
| REVISÃO DE LITERATURA..... | 4 |
| Cerrado | 4 |
| Família Euphorbiaceae | 6 |
| Genero Croton..... | 6 |
| <i>Croton urucurana</i> Baill | 7 |
| Radicais livres | 9 |
| Antioxidantes | 11 |
| Compostos Fenólicos | 12 |
| Alelopatia..... | 14 |
| Referências Bibliográficas..... | 15 |
| OBJETIVOS | 18 |
| CAPÍTULO I: Avaliação da Atividade Antioxidantes e Potencial Alelopático de Extratos de Sangra-D'Água (<i>Croton Urucurana</i> Baill.) | 19 |
| CONCLUSÃO GERAL | 35 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| Figura 1 - Distribuição espacial das classes de uso da terra no Bioma Cerrado..... | 5 |
| Figura 2 - Sangra D'água (<i>Croton urucurana</i> Baill)..... | 8 |
| Figura 3 - Seiva da Sangra D'água..... | 9 |
| Figura 4 - Espécies Reativas de Oxigênio – (EROs) | 10 |
| Figura 5 - Estrutura química do Butil Hdroxi Tolueno – (BHT)..... | 12 |
| Figura 6 - Estrutura química do Ácido Ascórbico | 12 |
| Figura 7 - Estrutura básica das antocianinas, um conhecido flavonoide, R R' e R'' caracterizam os diferentes tipos de antocianinas | 13 |
| Figura 8 - Estrutura química de uma catequina da classe dos flavonoides | 13 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | Página |
|--|--------|
| Tabela 1 - Teor de Fenóis Totais e atividade antioxidante dos extratos metanólico e hexânico de <i>C. urucurana</i> | 28 |
| Tabela 2 - Valores médios de germinação de <i>Solanum lycopersicum</i> submetido a diferentes extratos de <i>C. urucurana</i> | 29 |
| Tabela 3 - Valores médios do índice de velocidade de germinação de <i>Solanum lycopersicum</i> submetido a diferentes extratos de <i>C. urucurana</i> | 29 |
| Tabela 4 - Efeitos dos extratos hexânicos de <i>C. urucurana</i> sobre o alongamento da radícula e hipocótilo das espécies alvo..... | 31 |
| Tabela 5 – Efeitos dos extratos metanólicos de <i>C. urucurana</i> sobre o alongamento da radícula e hipocótilo das espécies alvo..... | 31 |
| Tabela 6 - Valores do percentual de necrose de <i>Lactuca sativa</i> submetida a diferentes concentrações do extrato hexânico de <i>C. urucurana</i> | 32 |

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

| Sigla | Significado | Unidade |
|------------------|--|---------------------|
| | Mililitro | mL |
| | Metros | m |
| | quilômetro quadrado | km ² |
| | Microlitro | µL |
| | Nanômetro | nm |
| | Partes por milhão | ppm |
| | Equivalentes de ácido gálico por grama | EAG.g ⁻¹ |
| | Miligrama | mg |
| | Grama | g |
| | Quilograma | kg |
| | Micrômetro | µm |
| | Grau <i>Celsius</i> | °C |
| EE | Extrato Etanólico | |
| EH | Extrato Hexânico | |
| DPPH | 1,1-difenil-2-picrilhidrazil | |
| IVG | Índice de Velocidade de Germinação | |
| FT | Fenóis Totais | |
| CE ₅₀ | Concentração Efetiva 50% | |
| EROs | Espécies Reativas de Oxigênio | |
| BHT | Butil Hidroxi Tolueno | |
| UV | Ultravioleta | |

RESUMO

Croton urucurana Baill. (Euphorbiaceae), popularmente conhecida como Sangra D'água, é uma árvore de pequeno a médio porte, heliófila, de crescimento rápido e ciclo de vida curto, abundante em diversas formações florestais brasileiras. Sua importância medicinal se deve ao uso de sua resina e de sua casca para estancar sangramento, acelerar a cicatrização e evitar infecções. A planta apresenta também propriedades antibactericidas, anti-hemorrágicas, antivirais e antioxidantes, sendo utilizada também para combater úlceras no estômago e no intestino. Esta planta apresenta um arsenal metabólico capaz de produzir, transformar e acumular inúmeras substâncias não relacionadas de forma direta à manutenção da vida do organismo produtor. Assim, esse trabalho foi desenvolvido para avaliar as concentrações de fenóis totais pelo Método de *Folin-Ciocalteu*, a atividade antioxidante dos metabólitos secundários presentes pelo método do sequestro do radical livre estável DPPH e a atividade alelopática dos extratos metanólicos das partes aéreas e cascas da planta alvo. Os resultados de fenóis totais mostraram uma concentração de 276 ± 6 mg EAG / g para o extrato metanólico das cascas e de 130 ± 6 mg EAG / g para o extrato metanólico das folhas. Já para o método DPPH dos mesmos extratos, os resultados mostraram atividade antioxidante com CE_{50} de $19,4 \pm 0,6$ ppm para as folhas e de $10,1 \pm 0,2$ ppm para as cascas. Ambos os extratos apresentaram atividade antioxidante mais elevada do que o BHT, um antioxidante difundido comercialmente, que apresentou uma CE_{50} média de 220 ± 7 ppm em nossos ensaios. Nos bioensaios realizados com extratos de *C. urucurana*, foi observado um número significativo de necroses nas plântulas de alface quando submetidas aos extratos hexânicos das cascas. Todos os extratos de *C. urucurana* testados sobre as sementes de *Lactuca sativa* cv Grand Rapids (Alface) e *Brassica oleracea* L. cv. Capitata (repolho)

não apresentaram efeito sobre sua germinação nem sobre o IVG. Observou-se efeito inibitório nos extratos de hexano das cascas com germinação média de 8%, e metanólicos das folhas e cascas apresentaram efeito inibitório sobre a germinação de sementes de *S. Lycopersicum* somente na concentração de 10.000 ppm. As análises dos valores médios do IVG evidenciaram efeito inibitório sobre as sementes de *S. lycopersicum*. Quanto aos testes de comprimento das radículas, todos os extratos influenciaram na inibição de todas as sementes, em todas as concentrações testadas, com destaque para as sementes de *S. lycopersicum*, com maior inibição do crescimento da radícula com os extratos metanólicos das folhas, com 7,28 mm, e cascas com 10,82 mm, sendo esses valores de inibição na concentração de 10.000 ppm. Para o comprimento do hipocótilo, somente o extrato hexânico das folhas não apresentou efeito inibitório sobre as sementes de *B. oleracea*. As demais espécies alvo, *L. sativa* e *S. lycopersicum*, apresentaram inibição quando submetidas aos extratos hexânicos e metanólicos das folhas e cascas.

Palavras-chave: Sangra D'água, *Croton urucurana*, antioxidantes, *Folin-Ciocalteu*, alelopatia.

ABSTRACT

Croton urucurana Baill. (Euphorbiaceae) is a tree of small to medium size, heliophile, rapid growth, and short life cycle, abundant in Brazilian forest formations in general, popularly known in Brazil as Sangra D'água. Its medicinal importance is due to the use of its resin and bark for stopping the bleeding, accelerating healing, and preventing infection. This plant also has antibacterial, anti-hemorrhagic, antiviral, and antioxidant properties and is also used to combat ulcers in the stomach and intestine. This plant have a metabolic arsenal able to produce, process, and accumulate numerous substances not related directly to the life maintenance of the producer organism. Thus, this study aimed to evaluate the concentrations of total phenolics by *Folin-Ciocalteu* method, the antioxidant activity of present secondary metabolites by DPPH free radical scavenging method (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), and allelopathic activity of methanol extracts of the aerial parts and barks of the target plant. Results of total phenol showed concentration of 276 ± 6 mg gallic acid equivalents-GAE/g for bark methanolic extract and 130 ± 6 mg GAE/g for methanolic leaves extract. For the DPPH method used for the same extracts, results showed antioxidant activity with effective concentration- EC_{50} of 19.4 ± 0.6 ppm for leaves and 10.1 ± 0.2 ppm for the barks. Both extracts showed higher antioxidant activity than the synthetic antioxidant butylated hydroxy toluene-BHT, an antioxidant commercially widespread, which showed a mean EC_{50} of 220 ± 7 ppm in this study. In bioassays with *C. urucurana* extracts, significant number of necrosis was noted in lettuce seedlings when subjected to the barks' hexane extracts. All *C. urucurana* extracts tested on seeds of *Lactuca sativa* cv. Grand Rapids (Lettuce) and *Brassica oleracea* L. cv. Capitata (cabbage) had no effect on their germination or on the germination speed index-GSI. Inhibitory effect was observed in the bark's hexane extracts with average germination of 8%; methanolic extract of leaves and barks showed

inhibitory effect on the germination of *S. lycopersicum* seeds only for concentration of 10,000 ppm. The analysis of the GSI mean values showed inhibitory effect on *S. lycopersicum* seeds. Testing the rootlets length, it was observed that all extracts influenced on the all seeds inhibition in all tested concentrations, highlighting the *S. lycopersicum* seeds that had greater inhibition on rootlet growth using leaves' methanolic extracts with inhibition of mm 7.28 mm and barks' methanolic extracts with inhibition of 10.82 mm; these inhibition values were concentrated in 10,000 ppm. For hypocotyl length, only the leaves' hexane extract showed no inhibitory effect on the of *B. oleracea* seeds. The other target species, *L.sativa* and *S.lycopersicum*, showed inhibition when subjected to hexanolic and methanolic extracts originated from leaves and bark.

Keywords: Sangra D'água, *Croton urucurana*, antioxidants, *Folin-Ciocalteu*, allelopathy.

INTRODUÇÃO

Croton urucurana Baill. (Euphorbiaceae), popularmente conhecida como sangra d'água e sangue-de-dragão, é uma árvore pioneira, de pequeno a médio porte, heliófila, de crescimento rápido e ciclo de vida curto, abundante em diversas formações florestais brasileiras. Sua importância medicinal se deve uso de sua resina e de sua casca para estancar sangramento, acelerar a cicatrização e evitar infecções. A planta apresenta também propriedades antibactericidas, anti-hemorrágicas, antivirais e antioxidantes, sendo utilizada para combater úlceras no estômago e no intestino (SCALON et al., 2008).

Segundo Roesler et al. (2007), a oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Entretanto, o metabolismo do oxigênio nas células vivas também leva à produção de radicais livres. Sendo assim, oxidantes são compostos produzidos pelo metabolismo normal do corpo e, se não controlados, podem provocar danos extensivos.

Os organismos vivos têm sistemas antioxidantes endógenos para manter a formação de radicais livres em níveis toleráveis. Estes sistemas não são totalmente eficientes. Quando os danos a biomoléculas são excessivos, eles podem levar a alterações de funções celulares, contribuindo para o surgimento de várias patologias, particularmente aquelas degenerativas, associadas ao envelhecimento, como as doenças cardiovasculares, as neuropatias e o câncer (BOSCOLO et al., 2007).

Os compostos típicos que têm atividade antioxidante pertencem à classe dos fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonoides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido fólico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis. Antioxidantes fenólicos são antioxidantes primários que agem como terminais para os radicais livres.

O balanço entre o *stress* oxidativo e as funções antioxidantes dos organismos vivos parece desempenhar um papel na carcinogênese. Estudos clínicos e epidemiológicos têm mostrado evidências de que antioxidantes fenólicos de cereais, frutas e vegetais são os principais fatores que contribuem para a baixa e significativa redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas encontradas em populações cujas dietas são altas na ingestão desses alimentos (ROESLER et al., 2007).

Segundo Wink (1990) e López (2010), os vegetais apresentam um arsenal metabólico capaz de produzir, transformar e acumular inúmeras substâncias não relacionadas de forma direta à manutenção da vida do organismo produtor. Nesse grupo, são encontradas substâncias cuja produção e acúmulo estão restritos a um número limitado de organismos, com bioquímica e metabolismo específicos, caracterizando-se como elementos de diferenciação e especialização. Esse conjunto metabólico costuma ser definido como metabolismo secundário, cujos produtos, embora não necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e para a perpetuação de sua espécie em seu ecossistema.

López (2010) afirma que quando falamos das propriedades terapêuticas das plantas medicinais, nós nos referimos aos princípios ativos que elas contêm para sua utilização em diferentes patologias. Hoje em dia, aceita-se a ideia de que muitos dos metabólitos secundários produzidos pelas plantas como os alcaloides, glicosídeos cianogênicos, terpenos, saponinas, taninos e antraquinonas são aleloquímicos, que apresentam caracteres adaptativos, têm se diversificado durante a evolução pela seleção natural a fim de proteger as plantas contra vírus, bactérias, fungos, plantas concorrentes e contra os herbívoros.

De acordo com Moraes et al. (2006), nas plantas, a síntese de metabólitos secundários antioxidantes que absorvem em 300-400 nm é significativamente aumentada por radiação UV, fornecendo, portanto, um alto nível de proteção contra oxidantes prejudiciais gerados termicamente ou pela luz. Além disso, embora plantas medicinais sejam raramente utilizadas como antioxidantes em medicina tradicional, suas características terapêuticas poderiam ser sustentadas, em parte, pela sua capacidade varredora de radicais livres que podem estar envolvidos em muitas doenças. Câncer, enfisema, cirrose, aterosclerose e artrites têm sido correlacionados com estresse oxidativo. Os organismos em geral são protegidos contra os danos causados pelos radicais livres por enzimas como superóxido desmutase e catalase, ou compostos como ácido ascórbico, tocoferol e glutatona. Quando os mecanismos da proteção antioxidante

se tornam ineficientes por fatores como idade, a deterioração das funções fisiológicas pode ocorrer, resultando em doenças e aceleração do envelhecimento. Entretanto, suplementos alimentares antioxidantes podem ser usados para ajudar o corpo humano a reduzir os danos oxidativos.

De forma geral, denominam-se antioxidantes as substâncias que, presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato. Os radicais formados pelos antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (SOUSA et al., 2007).

Pesquisas sobre a Sangra D' água (*Croton urucurana* Baill), tanto na área da saúde quanto no ramo de defensivos agrícolas, ainda são escassas, sinalizando para um aprofundamento e maior dedicação para melhor caracterização química dos compostos ativos, principalmente os antioxidantes, como também para a otimização das condições de cultivo para a produção de compostos bioativos.

O presente trabalho tem como objetivos a obtenção de extratos vegetais brutos de partes aéreas e cascas de *C. urucurana* Baill, a quantificação dos fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu, a determinação da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre estável DPPH e a avaliação do potencial alelopático desses extratos.

REVISÃO DE LITERATURA

Cerrado

Biomass são as maiores comunidades bióticas e geográficas que são convenientes de serem reconhecidas. Eles correspondem, grosso modo, às regiões climáticas, ainda que outros controles ambientais sejam algumas vezes importantes. Eles são equivalentes ao conceito de principais formações vegetais na Ecologia Vegetal, mas são definidos em termos de todos os organismos vivos e de suas interações com o meio (e não apenas com o tipo de vegetação dominante). Tipicamente, biomas distintos são reconhecidos para todas as principais regiões climáticas no mundo, enfatizando as adaptações dos organismos aos seus ambientes (BATALHA, 2011)

Cerrado é o nome regional dado às savanas brasileiras, que se distribuía por cerca de 85% do grande platô ocupado pelo Brasil Central e representava cerca de 1,5 a 2 milhões de km², ou aproximadamente 20% da superfície do Brasil (Figura 1). Trata-se de uma das principais áreas de ecossistemas tropicais da Terra, sendo um dos centros prioritários para a preservação da biodiversidade do planeta (SILVÉRIO, 2012)

Segundo Costa et al. (2010), o Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, superado apenas pela Amazônia. É uma formação savânica tropical e está localizado, principalmente, na região central do país, ocupando cerca de 23,1% do território brasileiro. Este bioma inclui considerável variedade de fisionomias vegetais que englobam formações florestais, savânicas e campestres. É considerado uma das 34 áreas prioritárias para conservação mundial, os denominados hotspots, ou seja, área prioritária de conservação da biodiversidade.

De acordo com Sano et al. (2008), o Cerrado ocupa uma área de 204,7 milhões de hectares na porção central do Brasil e engloba parte dos estados da Bahia, Goiás,

Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Piauí, São Paulo e Tocantins, além do Distrito Federal (Figura 1).

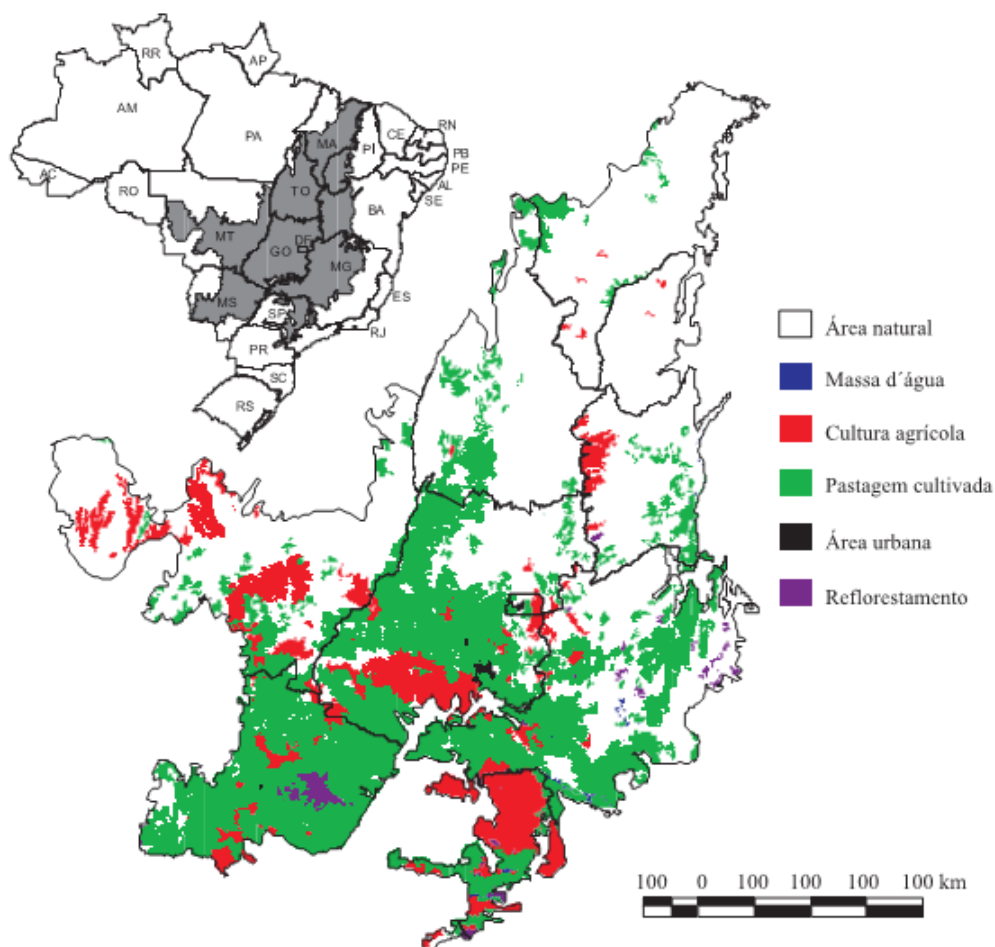


Figura 1 – Distribuição espacial das classes de uso da terra no Bioma Cerrado.
Fonte: Sano et al. (2008).

Costa et al. (2010) afirmam que a imagem popularmente construída do Cerrado é a de um ambiente pobre em espécies animais e vegetais, caracterizado pela escassez de água e de nutrientes do solo e pela presença de plantas tortuosas e secas em razão das queimadas frequentes. As imagens divulgadas do bioma são estereotipadas e não revelam sua realidade, que apresenta vários cenários de belezas naturais.

O Cerrado constitui a segunda maior vegetação brasileira, abrangendo em torno de 2.000.000 km². Nutricionalmente, seus solos são ácidos e de baixa fertilidade natural. O clima é estacional, com duas estações bem definidas, uma seca e outra úmida. Ainda não completamente conhecida, a flora do Cerrado é riquíssima, sendo estimada em 3.000 espécies, sendo 1.000 delas do extrato arbóreo-arbustivo e 2.000 do herbáceo-subarbustivo. Como famílias de maior expressão, destacam-se as Leguminosas

(Mimosaceae, Fabaceae e Caesalpiniaceae) entre as lenhosas, e as Gramíneas (Poaceae) e Compostas (Asteraceae), entre as herbáceas (SILVA; SILVA e BORGES, 2008).

Família Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae, uma das maiores das Angiospermae, com cerca de 300 gêneros e aproximadamente 7.500 espécies, está distribuída em todo o mundo. As plantas desta família são árvores, arbustos, ervas, e alguns gêneros são plantas trepadeiras (VUNDA, 2011).

Segundo Steinmann (2002), ela está em sexto lugar na diversidade depois de Orchidaceae, Asteraceae, Fabaceae, Poaceae e Rubiaceae.

De acordo com Conejero (2003), suas espécies estão distribuídas em todas as regiões tropicais e subtropicais do globo, principalmente na América e na África. No Brasil, ocorrem 72 gêneros e cerca de 1.100 espécies difundidas em todos os tipos de vegetação.

Conforme Steinmann (2002), as Euphorbiaceae são dicotiledôneas e pertencem à ordem Euphorbiales. A variação morfológica na família é enorme, o que dificulta sua caracterização, salvo por muitas espécies por possuírem látex.

A família Euphorbiaceae possui muitos representantes utilizados na medicina popular e, quimicamente, vem se destacando pela produção de látex rico em diterpenos e óleos voláteis (VUNDA, 2011).

Gênero *Croton*

Croton é um gênero da família Euphorbiaceae que compreende cerca de 1300 espécies, amplamente distribuídas nas regiões tropicais. Várias espécies desempenham um papel importante há muito tempo na medicina tradicional da África, Ásia e América do Sul (MOTTA et al; 2011).

De acordo com Nardi (2006), várias espécies do gênero *Croton* são descritas como plantas medicinais, o que significa que alguns delas tiveram suas atividades biológicas avaliadas. Entre essas plantas já estudadas, estão *C. lechleri*, *C. cajucara* e *C. urucurana*.

Segundo Salatino (2007), algumas espécies de *Croton* podem conter látex, que é de cor vermelha em algumas espécies, sendo essa característica normalmente associada a propriedades medicinais.

De acordo com Motta (2011), o látex vermelho da *C. draconoides* Mull. Arg., da *C. lechleri* Müll. Arg., da *C. palanostigma* Klotzsch e da *C. urucurana* Baill, popularmente conhecidas como "sangre de drago" (sangue de dragão) é utilizado medicinalmente por comunidades indígenas e rurais.

Algumas espécies de *Croton* apresentam múltiplas atividades, como a *Croton cajucara*, tendo sido descritas atividades citotóxica, gastroprotetor, antiulcerogênica, redutores de glicose e triglicéridos e atividades antígenotóxicas. Além dos estudos citados, muitos outros estão em desenvolvimento sobre as atividades biológicas de extratos, frações e componentes ativos das plantas deste gênero (NARDI et al., 2006).

De acordo com Salatino (2007), o gênero também é rico em componentes com atividades biológicas, principalmente diterpenoides como ésteres de forbol, clerodânicos, labdano, kaurane, traquilobânico, pimarane etc. O gênero *Croton* também é rico em alcaloides ativos. Várias espécies do gênero são aromáticas, indicando a presença de constituintes de óleos voláteis.

Segundo Motta et al. (2011), as espécies do gênero *Croton* apresentam fontes abundantes de substâncias ativas contra o câncer, como diterpenoides (clerodânico, furoclerodano e diterpenos acíclicos) e alcaloides (por exemplo taspina).

Dutra et al. (2011) afirmam que essas várias espécies de *Croton* têm forte potencial econômico, principalmente para a indústria farmacêutica, devido aos diversos metabólitos secundários que conferem propriedades terapêuticas a muitas espécies.

***Croton urucurana* Baill**

A espécie Sangra D'água, de acordo com sua descrição botânica, pertence ao reino Plantae, filo Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Malphigiales, família Euphorbiaceae, subfamília Crotonoiedae, gênero *Croton*.

A espécie é uma árvore, de médio a grande porte, com cerca 10 a 12m de altura, comumente encontrada no cerrado goiano, particularmente em Rio Verde – GO (Figura 2).



Figura 2 – Sangra D'água (*Croton urucurana* Baill)
Fonte: Adaptada de arvores.brasil.nom.br.

Segundo Milo et al. (2002), a *C. urucurana* também é encontrada na Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul.

Rao et al. (2007) complementam que a *C. urucurana* ainda pode ser encontrada no Paraguai, Uruguai, Argentina e norte do Brasil.

De acordo com Peres e colaboradores (1997), sua casca, quando ferida, libera uma seiva vermelho-sangue, sendo por esta razão que algumas espécies de *Croton* são popularmente conhecidas como Sangue de Drago ou Sangra d'água (Figura 3).



Figura 3 – Seiva da Sangra D'água

Fonte: Adaptada de laszlo.ind.br/campanhas/sangue_de_dragao_laszlo.pdf.

De acordo com Milo et al. (2002), a espécie cresce em solos arenosos e úmidos, sujeitos a inundações em épocas de chuvas, bem como na beira de rios. Três diferentes produtos dessa espécie são utilizados na medicina popular: o látex, a casca e a goma.

Preparações de *C. urucurana* são usadas popularmente de forma oral ou tópica. No primeiro caso, são usadas contra disenteria, no tratamento de câncer, reumatismos, dor, e no segundo caso, diretamente sobre feridas, ulcerações, dermatites (ZUCHINALLI, 2009).

Radicais livres

Entende-se por radical livre um átomo ou molécula altamente reativa que, em sua última camada eletrônica, possui um número ímpar de elétrons. Nesta definição, podemos citar o hidrogênio, o oxigênio molecular e a maioria dos íons de metais de transição (HECK et al., 2011).

Segundo Cocuzza (2011), o radical livre é altamente reativo quimicamente, sendo definido como qualquer átomo, molécula ou fragmento de molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados nas suas camadas de valência. Essa última propriedade permite que os radicais livres reajam com as moléculas mais próximas, tornando-as, assim, novos radicais livres, iniciando uma reação em cadeia, com rápida oxidação de biomoléculas vizinhas, podendo representar influência negativa no funcionamento normal das células ao redor. Desta maneira, apesar de serem

convencionalmente chamados de radicais livres de oxigênio, existe uma tendência de mudança da nomenclatura para espécies reativas de oxigênio ou simplesmente moléculas altamente reativas.

Segundo Heck et al. (2011), utilizamos a terminologia EROs (Espécies Reativas de Oxigênio), em que estão incluídos os radicais livres e também outras espécies que, embora não possuam elétrons desemparelhados, são também altamente reativas. Em contrapartida à geração de tais agentes agressores, existe o sistema de defesa antioxidante, pelo qual a célula, para se proteger, atua em duas linhas: a primeira linha detoxifica o agente antes que ele cause a lesão; já a segunda repara a lesão ocorrida.

As EROs são espécies químicas presentes nos sistemas biológicos, principalmente em células eucarióticas, que, pelo seu metabolismo energético, dependem de oxigênio. A Figura 4 mostra um bom exemplo de EROs, em que a cadeia transportadora de elétrons, localizada na membrana interna da mitocôndria, recebe quatro elétrons e quatro prótons, resultando na formação de duas moléculas de H_2O , cuja redução parcial de oxigênio será feita por adição de um elétron de cada vez, gerando intermediários reativos. Seus principais radicais são o superóxido ($O_2^{\cdot-}$), a hidroperoxila (HO_2^{\cdot}), a hidroxila (OH^{\cdot}) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

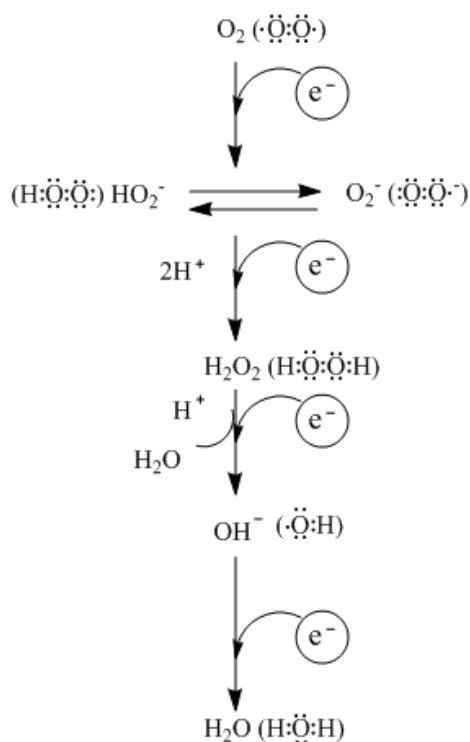


Figura 4 – Espécies Reativas de Oxigênio - (EROs)

Fonte: Adaptada de radlivres2010-1.blogspot.com.br/2010/07/especies-reativas-de-oxigenio-ocorrem.html.

Conforme Barbosa et al. (2010), os mecanismos de geração de radicais livres ocorrem, normalmente, nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma. Tais mecanismos podem, especialmente, ser favorecidos pelos íons ferro e cobre. A mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons, é a principal fonte geradora de radicais livres.

Antioxidantes

Mendonça (2009) postula em sua dissertação que os antioxidantes são substâncias que, em baixas concentrações, quando comparados à do substrato oxidável, inibem significativamente a oxidação, podendo adiar seu início ou reduzir sua taxa. Os compostos antioxidantes fazem parte do sistema de defesa dos organismos vivos, tendo uma ação sistemática em vários meios, sendo produzidos pelo organismo ou obtidos na nutrição.

Os antioxidantes protegem os sistemas biológicos contra os efeitos potencialmente danosos de reações das espécies reativas ao oxigênio, com diversos alvos celulares (PEREIRA, 2009).

Nassif (2011) afirma que os antioxidantes podem desativar radicais por meio de dois mecanismos: de transferência de átomo de hidrogênio e de transferência de elétron. Demonstra também que a energia de dissociação e o potencial de ionização são os fatores que principalmente determinam o mecanismo e a eficiência dos antioxidantes.

Os compostos antioxidantes são responsáveis por inibir e reduzir possíveis lesões causadas pelos radicais livres em organismos vivos como os vegetais.

Conforme Oliveira et al. (2010) relatam, os compostos com atividade antioxidante têm sido encontrados em vegetais, sementes oleaginosas, cereais, frutos e plantas medicinais.

Os antioxidantes comumente utilizados comercialmente são o Butil Hidroxi Tolueno (BHT) e o ácido ascórbico (Figuras 5 e 6)

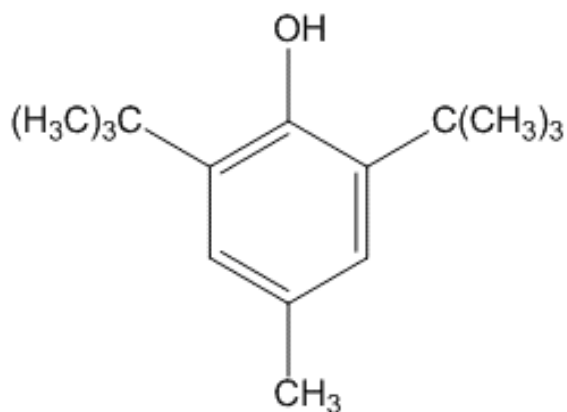


Figura 5. Estrutura química do Butil Hdroxi Tolueno – (BHT)

Fonte: Adaptada de <http://www.bht.novainternational.net>

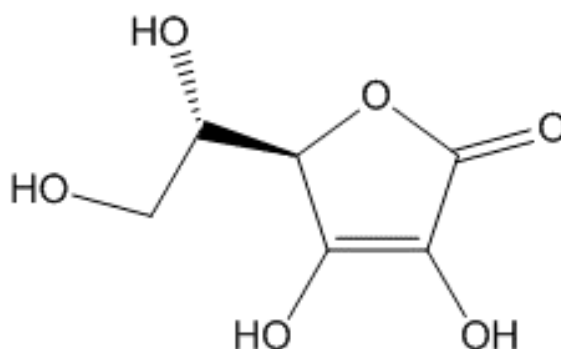


Figura 6. Estrutura química do ácido ascórbico

Fonte: Adaptada de acidoascorbico.com

Compostos fenólicos

De acordo com Ângelo (2007), os compostos fenólicos são estruturas químicas constituintes de hidroxilas e anéis aromáticos, encontrados nas formas simples ou poliméricas, o que lhes confere poder antioxidante. Os compostos fenólicos podem ser naturais ou sintéticos. Nos vegetais, são encontrados nas formas livres ou complexadas, provenientes de açúcares e proteínas.

Para Naczk e Shahidi (2004), os compostos fenólicos originam-se do metabolismo secundário de vegetais e são essenciais para o seu crescimento e reprodução, podendo se formar também em condições de estresse como infecções, fermentos, radiações UV, entre outros. Haida (2011) afirma que estes compostos também são importantes para o desenvolvimento e mecanismo de defesa das plantas, sendo capazes de modular a atividade de muitas enzimas, sugerindo, deste modo, o

envolvimento nos processos bioquímicos e fisiológicos não somente nas plantas como também em animais e humanos.

Souza et al. (2007) acrescentam que esses compostos se enquadram em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácido benzoico e cinâmico), cumarinas, flavonoides, como ilustrado nas Figuras 7 e 8, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas.

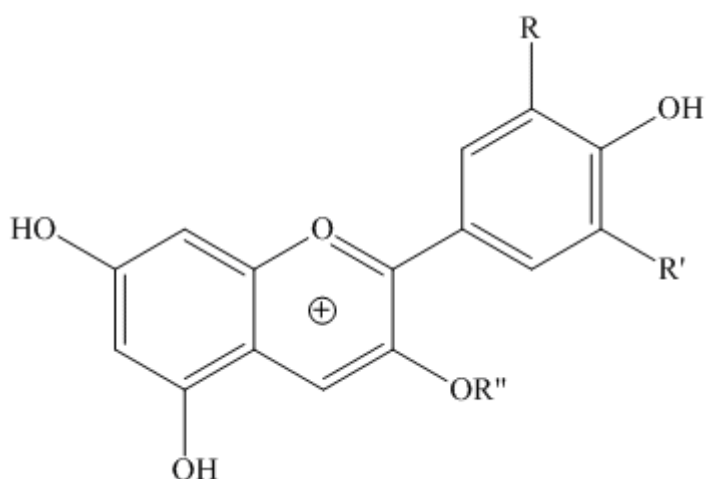


Figura 7. Estrutura básica das antocianinas, um conhecido flavonoide, R R' e R'' caracterizam os diferentes tipos de antocianinas

Fonte: Adaptada de canalciencia.ibict.br/pesquisa/0244-Antocianinas-quimica-corantes-naturais.html.

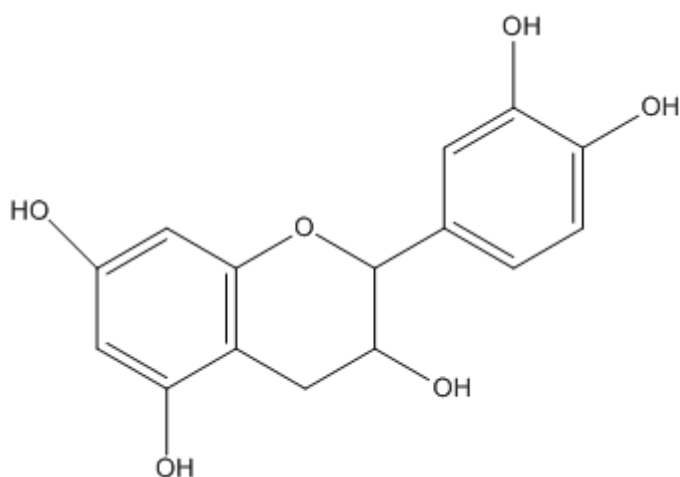


Figura 8. Estrutura química de uma catequina, da classe dos flavonoides

Fonte: Adaptada de <http://qnint.s bq.org.br/qni/visualizarTema.php?idTema=69>.

Os antioxidantes primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação

em cadeia. Os principais e mais conhecidos antioxidantes deste grupo são os polifenóis (PEREIRA, 2009).

Alelopatia

A alelopatia é definida como qualquer efeito direto ou indireto, benéfico ou prejudicial, de uma planta ou de microrganismos sobre outra planta, pela produção de compostos químicos (aleloquímicos) liberados no ambiente. Esse fenômeno ocorre em comunidades naturais de plantas e pode, também, interferir no crescimento das culturas agrícolas, alterando a densidade populacional e o desenvolvimento das plantas (RODRIGUES et al., 2012).

Segundo Oliveira et al. (2011), os aleloquímicos são substâncias alelopáticas ou fitotoxinas e estão presentes em todos os tecidos das plantas, incluindo folhas, flores, frutos, raízes, rizomas, caules e sementes. Considera-se que todos os órgãos da planta têm potencial para armazená-los, mas sua quantidade e o caminho percorrido diferem de espécie para espécie.

De acordo com Rodrigues et al. (2012), os aleloquímicos, pertencentes a diversos grupos como terpenoides, esteroides, alcaloides, taninos, fenóis, cumarinas e flavonoides, são encontrados e distribuídos em concentrações variadas nas diferentes partes da planta, durante seu ciclo de vida. Quando essas substâncias são liberadas em quantidades suficientes, podem causar efeitos na germinação de sementes, no crescimento e/ou no desenvolvimento de plantas já estabelecidas, uma vez que interferem na divisão celular, na permeabilidade das membranas, na ativação de enzimas e na produção de hormônios pela planta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Angelo PM, Jorge N. Phenolic compounds in foods – A brief review. Rev. Inst. Adolfo Lutz. 2007; 66: 1-9.

Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RCG, De Paula SO, Minim V PR, Bressan J. Stress oxidative: concept, implications and factors modulatory. Rev. Nut. 2010; 23: 629-643.

Batalha MA. The Brazilian cerrado is not a biome. Biota Neotrop. 2011; 11: 21-24.

Boscolo OH, Mendonça-Filho RFW, Menezes FS, Senna-Valle L. Antioxidant activity of some plants sandbank mentioned as medicinal. Rev. Bras. Pl. Med. 2007; 9: 8-12.

Cocuzza MAS. Assessing the impact of clinical varicocele in testicular volume, semen parameters and levels of oxygen free radicals in the semen of men with proven fertility. [tese]. São Paulo, Brasil: Universidade de São Paulo; 2011.

Conegero LS, Ide RM, Nazari AS, Sarragiotto MH. Chemical Constituents of *Alchornea glandulosa* (Euphorbiaceae). Quím. Nov. 2003; 26: 825-827.

Costa TB, Santos MP, Laranjeiras DO, Guimarães LD. The vision of the Cerrado biome in elementary school in the city of Goiânia and its relationship with the textbooks used as a teaching tool. Polyph. 2010; 21(1): 317-337.

Dutra LM, Silva KA, Ramos LM, Costa MB. Fitoquímica de *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae): Identificação, isolamento e avaliação citotóxica de metabólitos secundários. IX Seminário de Iniciação Científica, VI Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação e Semana Nacional de Ciência e Tecnologia; 19-21 de outubro de 2011; Universidade Estadual de Goiás. Anápolis: 2011. 1-4.

Haida KS, Baron A, Silva FJ, Arceles ML, Fernandes A, Andrezza AP et al. Property Sequestering Radicals and Determination of total phenolic content of sage and eucalyptus. Rev. Saúd. Pesq. 2011; 4: 61-66.

Heck RM, Roese A, Piriz MA, Mesquita MK, Ceolin T. Medicinal Plants and Nursing: A New Perspective in the Fight to Free Radicals. *Cogit. Enf.* 2011; 16: 122-126.

López PVA. Bioprospecting of extracts from *Croton urucurana* Baill and their endophytic fungi. [dissertação]. Curitiba, Brasil: Universidade Federal do Paraná; 2010.

Mendonça AC. Polyamines and Antioxidant Activity in Comparison with Natural and Synthetic Products. [dissertação]. Belo Horizonte, Brasil: Universidade Federal de Minas Gerais; 2009.

Milo B, Risco E, Vila R, Iglesias J, Canigual S. Characterization of a Fucoarabinogalactan, the Main Polysaccharide from the Gum Exudate of *Croton urucurana*. *J. Nat. Prod.* 2002; 65: 1143-1146.

Morais SM, Catunda Júnior FEA, Silva ARA, Martins Neto JS. Antioxidant Activity of Essential Oils from Croton Species of Northeastern Brazil. *Quim. Nov.* 2006; 29: 907-910.

Motta LB, Furlan CM, Santos DYAC, Salatino MLF, Duarte-Almeida JM, Negri G, et al. Constituents and antiproliferative activity of extracts from leaves of *Croton macrobothrys*. *Rev. Bras. Farmacog.* 2011; 21: 972-977.

Naczki M., Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromat.* 2004; 1054: 95-111.

Nardi GM, Dalbó S, Monache FD, Pizzolatti MG, Ribeiro-do-Valle RM. Antinociceptive effect of *Croton celtidifolius* Baill (Euphorbiaceae). *J. Ethnopharm.* 2006; 107: 73-78.

Nassif DB. Activity Antioxidant and Phenolic Compounds in Refrigerant of Cola and Guaraná. [Monografia]. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2011.

Oliveira I, Pereira JA, Bento A, Baptista P. Free radical scavenging activity of the arbutus (*Arbutus unedo* L.). *Act. Portug. Hortic.* 2010; 16: 173-178

Oliveira LGA, Belinelo VJ, Almeida MS, Aguilar EB, Vieira Filho SA. Alelopatia de *Emilia sonchifolia* (L.) DC. (Asteraceae) na Germinação e Crescimento Inicial de Sorgo, Pepino e Picão Preto. *Encic. Biosf.* 2011; 7(12): 1-10.

Pereira MG. Application of natural antioxidants in mechanically separated meat (CMS) for birds. [Dissertação]. Santa Maria, Brasil: Universidade Federal de Santa Maria; 2009.

Peres MTLP, Monache FD, Cruz AB, Pizzolatti MG, Yunes RA. Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). *J. Ethnopharmac.* 1997; 56: 223-226.

Rao VS. Dragon's blood from *Croton urucurana* (Baill.) attenuates visceral nociception in mice. *J. Ethnopharmac.* 2007; 113: 357–360.

Rodrigues APDC, Laura VA, Pereira SR, Deiss C. Allelopathy of two brachiaria species in seeds of three species of stylosanthes. *Cienc. Rural.* 2012; 42; 1758-1763.

Roesler R, Malta LG, Carrasco LC, Holanda RB, Sousa CAS, Pastore GM. Antioxidant activity of cerrado fruits. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2007; 27: 53-60.

Salatino A, Salatino MLF, Negri, N. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of Croton species (Euphorbiaceae). *J. Braz. Chem. Soc.* 2007; 18: 11-33.

Sano EE, Rosa R, Brito JLS, Ferreira LG. Semi-detailed mapping of land use in Cerrado. *Pesq. Agropec. Bras.* 2008; 43: 153-156.

Scalon SPQ, Kodama FM, Scalon Filho H, Mussury RM. Seedling growth of bleeds waterline (*Croton urucurana* Baill.) Under shade and gibberellin application; *Rev. Bras. Pl. Med.* 2008; 10: 61-66.

Silva JD, Silva ASS, Borges ECL. Study on Indicators Natural Flora of the Cerrado. *Simpoets.* 2008; 139-146.

Silvério MDO. Antioxidant potential allelopathic inhibitor of tyrosinase and baru (*Dipteryx alata vogel*). [dissertação]. Rio Verde, Brasil: Instituto Federal Goiano; 2012.

Soares SE. Antioxidants such as phenolic acids. *Rev. Nutr.* 2002; 15: 71-81.

Sousa CMM, Rocha e Silva H, Vieira-Junior GM, Ayres MCC, Costa CL, Araújo DS, et al. Antioxidant activity and total phenolics five medicinal plants. *Quím. Nov.* 2007; 30: 351-355.

Steinmann VW. Diversity and endemism of the Family Euphorbiaceae in Mexico. *Act. Botan. Mex.* 2002; 61: 61-93.

Vunda SLL. Study of Chemical and Biological Species of Croton (Euphorbiaceae) native of Rio Grande do Sul. [dissertação]. Porto Alegre, Brasil. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2011.

Zuchinalli A. Study Chemical Properties, Structural and Biological Species Plant *Croton urucurana*. [dissertação]. Florianópolis, Brasil. Universidade Federal de Sant Catarina. 2009.

Wink M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochem.* 2003; 64: 3-19.

OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivos obter extratos vegetais brutos de partes aéreas e cascas de *C. urucurana* Baill, quantificar os fenóis totais dos extratos pelo método de Folin-Ciocalteu, determinar a atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre estável DPPH e avaliar o potencial alelopático desses extratos.

CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTES E POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATOS DE SANGRA-D'ÁGUA (*Croton urucurana* Baill.)

RESUMO

A *Croton urucurana* Baill., conhecida como Sangra D'água, tem importância pelo seu uso medicinal. Este trabalho foi realizado para avaliar as concentrações de fenóis totais, a atividade antioxidante e a atividade alelopática dos extratos vegetais. Os resultados de fenóis totais mostraram uma concentração de 276 ± 6 mg EAG/g para o extrato metanólico das cascas e de 130 ± 6 mg EAG/g para o extrato metanólico das folhas. Já para o método DPPH, os extratos metanólicos apresentaram atividade antioxidante com CE_{50} de $19,4 \pm 0,6$ ppm para as folhas e de $10,1 \pm 0,2$ ppm para as cascas. Ambos os extratos apresentaram atividade antioxidante mais elevada do que o BHT, um antioxidante difundido comercialmente, que apresentou uma CE_{50} média de 220 ± 7 ppm em nossos ensaios. Observou-se efeito inibitório nos extratos hexânicos das cascas com germinação média de 8% e metanólicos das folhas e cascas sobre as sementes de tomate somente na concentração de 10.000 ppm. Quanto aos testes de desenvolvimento das radículas, todos os extratos influenciaram na inibição de todas as sementes e em todas as concentrações testadas. Para o comprimento do hipocótilo, o

extrato hexânico das folhas não apresentou efeito inibitório sobre as sementes de repolho.

Palavras-chave: Sangra D'água, *Croton urucurana*, antioxidantes, *Folin-Ciocalteu*, alelopatia.

INTRODUÇÃO

Segundo Roesler et al. (2007), a oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Entretanto, o metabolismo do oxigênio nas células vivas também leva à produção de radicais livres. Sendo assim, oxidantes são compostos produzidos pelo metabolismo normal do corpo e, se não controlados, podem provocar danos extensivos.

Os organismos vivos têm sistemas antioxidantes endógenos para manter a formação de radicais livres em níveis toleráveis. Estes sistemas não são totalmente eficientes. Quando os danos a biomoléculas são excessivos, eles podem levar a alterações das funções celulares, contribuindo para o surgimento de várias patologias, particularmente aquelas degenerativas, associadas ao envelhecimento, como as doenças cardiovasculares, as neuropatias e o câncer (BOSCOLO et al. 2007).

Os compostos típicos que apresentam atividade antioxidante pertencem à classe de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonoides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido fólico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis. Antioxidantes fenólicos são antioxidantes primários que agem como terminais para os radicais livres.

O balanço entre o *stress* oxidativo e as funções antioxidantes dos organismos vivos parece desempenhar um papel na carcinogênese. Estudos clínicos e epidemiológicos têm mostrado evidências de que antioxidantes fenólicos de cereais, frutas e vegetais são os principais fatores que contribuem para a baixa e significativa redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas encontradas em populações cujas dietas são altas na ingestão desses alimentos (ROESLER et al., 2007).

De acordo com López (2010), os vegetais apresentam um arsenal metabólico capaz de produzir, transformar e acumular inúmeras substâncias não relacionadas de forma direta para a manutenção da vida do organismo produtor. Nesse grupo, encontram-se as substâncias cuja produção e acúmulo estão restritos a um número limitado de organismos, com bioquímica e metabolismo específicos, caracterizando-se

como elementos de diferenciação e especialização. Esse conjunto metabólico costuma ser definido como metabolismo secundário, cujos produtos, embora não necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e para a perpetuação de sua espécie em seu ecossistema.

López (2010) afirma que, quando falamos das propriedades terapêuticas das plantas medicinais, nós nos referimos aos princípios ativos que elas contêm para sua utilização em diferentes patologias. Hoje em dia, aceita-se a ideia de que muitos dos metabólitos secundários produzidos pelas plantas estão diretamente envolvidos nos mecanismos que permitem a adequação da planta ao seu meio.

Conforme Wink (2003), citado por López (2010), inúmeras evidências experimentais sustentam o fato de que muitos metabólitos secundários como os alcaloides, glicosídeos cianogênicos, terpenos, saponinas, taninos, antraquinonas são aleloquímicos que apresentam caracteres adaptativos e que têm se diversificado durante a evolução pela seleção natural a fim de proteger as plantas contra vírus, bactérias, fungos, plantas concorrentes e contra os herbívoros.

De acordo com Morais et al. (2006), nas plantas, a síntese de metabólitos secundários antioxidantes que absorvem em 300-400 nm é significativamente aumentada por radiação UV, fornecendo, portanto, um alto nível de proteção contra oxidantes prejudiciais gerados termicamente ou pela luz. Além disso, embora plantas medicinais sejam raramente utilizadas como antioxidantes em medicina tradicional, suas características terapêuticas poderiam ser sustentadas devido, em parte, à sua capacidade varredora de radicais livres que podem estar envolvidos em muitas doenças. Câncer, enfisema, cirrose, aterosclerose e artrites têm sido correlacionados com estresse oxidativo. Os organismos em geral são protegidos contra os danos causados pelos radicais livres por enzimas como superóxido desmutase e catalase, ou compostos como ácido ascórbico, tocoferol e glutatona. Quando os mecanismos da proteção antioxidante se tornam ineficientes por fatores como idade, pode ocorrer deterioração das funções fisiológicas, resultando em doenças e aceleração do envelhecimento. Entretanto, suplementos alimentares antioxidantes podem ser usados para ajudar o corpo humano a reduzir os danos oxidativos.

De forma geral, denominam-se antioxidantes as substâncias que, presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato. Os radicais formados pelos antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados por reação com outro

radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (SOUSA et al., 2007).

Croton urucurana Baill. (*Euphorbiaceae*), popularmente conhecida como sangra d'água e sangue-de-dragão, é uma árvore pioneira, de pequeno a médio porte, heliófila, de crescimento rápido e ciclo de vida curto, abundante em diversas formações florestais brasileiras. Sua importância medicinal se deve ao uso da sua resina e da sua casca para estancar sangramento, acelerar a cicatrização e evitar infecções. A planta apresenta também propriedades antibactericidas, anti-hemorragicas, antivirais e antioxidantes, sendo utilizada para combater úlceras no estômago e no intestino (SCALON et al., 2008).

Pesquisas com a Sangra D'água, *C. urucurana*, tanto na área da saúde quanto no ramo de defensivos agrícolas, ainda são escassas, sinalizando para o aprofundamento e maior dedicação para melhor caracterização química dos compostos ativos, principalmente os antioxidantes, como também para a otimização das condições de cultivo para a produção de compostos bioativos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante e os alelopáticos de extratos das folhas e cascas da espécie *C. urucurana*.

MATERIAIS E MÉTODO

Coleta, secagem e preparo dos extratos.

A coleta das folhas e cascas de *C. urucurana* foi feita na cidade de Rio Verde – GO, em outubro de 2011, nas proximidades da represa do bairro Interlagos, identificada pelo GPS nas coordenadas de S 17° 47.206' W 50° 56.935'. Ao mesmo tempo, separou-se uma amostra das folhas com inflorescências para o preparo da exsicata, que foi enviada para o Herbário Jatainense Germano Guarim Neto, localizado na Universidade Federal de Goiás (UFG), campus Jataí – GO, para identificação, recebendo o registro HJ - 5667.

O material foi levado para secagem em estufa com circulação forçada de ar, a 38°C por 5 dias. As folhas e cascas foram trituradas separadamente em moinho até a formação de um pó fino, que foi acondicionado, separadamente, em 2 frascos de vidro de 2 kg e macerado em hexano, sendo adicionado mais solvente a cada 2 dias por um período de 7 dias para o preparo do extrato bruto.

Filtrou-se separadamente o hexano embebido no pó das cascas e das folhas e, em seguida, procedeu-se à destilação sob pressão reduzida, em evaporador rotativo, para separar o solvente do extrato. O procedimento foi repetido por mais duas vezes até garantir a completude da extração, obtendo os extratos brutos hexânicos das folhas e cascas. O mesmo método foi utilizado para o preparo do extrato bruto metanólico das folhas e cascas de *C. urucurana*.

Ao final do procedimento, foram obtidos quatro extratos, sendo dois hexânicos e dois metanólicos das folhas e das cascas, tendo o rendimento dos extratos sido calculado pela equação:

$$\text{Rendimento (\%)} = (\text{massa do extrato/massa do material vegetal}) \times 100.$$

Ensaio alelopático

As soluções de extratos hexânicos e metanólicos foram preparadas em três concentrações: 10.000, 1.000 e 100 ppm. Começou-se pela dissolução de 200 mg de cada extrato em 20 mL dos solventes hexano e metanol, respectivamente. E as demais soluções foram preparadas por diluições sucessivas.

Os testes de germinação foram realizados conforme descrito por Mourão Júnior & Souza Filho (2010). Foram recortadas folhas de papel germtest em formato circular e postas em placas de Petri. Foi aplicado 1,0 ml do extrato ou de água destilada (controle negativo) e as placas foram colocadas para secar em estufa a 40 °C por cerca de 5 a 10 minutos. O procedimento foi feito em quatro replicatas com 25 sementes comerciais de *Lactuca sativa* cv Grand Rapids (alface), *Lycopersicon esculentum* Miller (tomate) e *Brassica oleracea* L. cv. capitata (repolho) (RAS, 2009). As placas de Petri foram colocadas em câmara de germinação a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. A germinação foi avaliada após 24, 48, 72, 96 e 120h. Os valores para o índice de velocidade de germinação foram calculados de acordo com Souza Filho, Guillon e Santos (2010):

$$\text{IVG} = [N_1 / 1 + N_2 / 2 + N_3 / 3 + \dots N_n / n] \times 100$$

Em que N_1 , N_2 , N_3 e N_n são as proporções de sementes germinadas no primeiro, segundo, terceiro e enésimo dia após a semeadura nas placas de Petri, respectivamente. Assim, o IVG pode variar de 0 (se nenhuma semente germinar) a 100 (se todas as sementes germinarem no primeiro dia).

Ensaio para Desenvolvimento de Plântulas

Seguiu-se a metodologia descrita por Mourão Júnior & Souza Filho (2010), utilizando as mesmas soluções nas concentrações de 10.000, 1.000 e 100 ppm, tendo sido recortadas folhas de papel germtest em formato circular e colocadas nas placas de Petri. Foi aplicado 1,0 ml do extrato ou de água destilada (controle negativo), e as placas foram levadas para secar em estufa a 40 °C por cerca de 5 a 10 minutos. O procedimento foi feito em triplicata com 10 sementes comerciais de *Lactuca sativa* cv Grand Rapids (alface), *Lycopersicon esculentum* Miller (tomate) e *Brassica oleracea* L. cv. capitata (repolho) pré-germinadas (2 a 3 dias de germinação). Foram aplicados 2 mL de água em cada placa para manter as amostras úmidas. As placas de Petri foram colocadas em câmara de germinação a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. As medições das radículas e do hipocótilo foram realizadas após cinco dias, com a indicação de deformidades e necroses.

Determinação de fenóis totais – Método Folin-Ciocalteu

A determinação do teor de fenóis totais presentes nas amostras dos extratos das folhas foi feita, utilizando o método de Folin–Ciocalteu, citado por Bonoli et al. (2004). Foram preparadas quatro soluções dos extratos brutos, casca e folha hexânica e metanólica, nas concentrações de 10 mg para 10 mL de solvente (1.000ppm). Os testes foram feitos em triplicata para as quatro amostras separadamente em beckeres, transferindo-se alíquotas de 250 µL da amostra, 500 µL de Na₂CO₃, 250 µL do reagente de Folin e 4000 µL de água destilada. A solução ficou em repouso por 25 min e procedeu-se à leitura da absorbância a 750 nm em espectrofotômetro. O teor de fenóis totais (FT) foi determinado através de uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (10 a 350 µg/mL) e expresso como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato, conforme a equação:

$$\text{Abs} = 0,0628 [\text{EAG ppm}] - 0,0521, R^2 = 0,9973$$

Determinação da atividade antioxidante – Método do DPPH

A metodologia usada foi descrita por Cottica e colaboradores (2011). De forma resumida, diferentes volumes de soluções hidroetanólicas dos extratos ($1,0 \text{ mg.mL}^{-1}$) foram adicionadas a 2,0 mL de uma solução metanólica de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) a $0,1191 \text{ mmol.L}^{-1}$, tendo o volume final sido ajustado para 4,0 mL com metanol e mantidos ao abrigo da luz por 30 minutos. Em seguida, a absorbância foi medida a 517 nm. Todos os ensaios serão feitos em triplicata. Os padrões positivos usados foram o BHT (butil-hidróxi-tolueno) e o ácido ascórbico. As médias dos percentuais da atividade antioxidante das amostras serão calculadas e, através de análise gráfica e da regressão linear, será obtida a concentração efetiva 50% (CE_{50}).

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância através programa ASSISTAT 7.6 beta, ao nível de 5% de probabilidade (SILVA e AZEVEDO, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rendimento dos extratos de *C. urucurana*

Do material vegetal seco e moído, foram obtidos os extratos brutos com os respectivos rendimentos de: hexano folhas, 1%; hexano cascas, 2,7%; metanol folhas, 3%; e metanol cascas, 3,1%.

Determinação da atividade antioxidante e fenóis totais em extratos de *C. urucurana*

A Tabela 1 mostra que a análise dos fenóis totais indicou sua presença somente nos extratos metanólicos, sendo que, nos extratos hexânicos, sua concentração estava abaixo do limite de detecção. O extrato metanólico das cascas apresentou um teor de $276 \pm 6 \text{ mg EAG / g extrato seco}$, enquanto para o extrato metanólico das folhas o teor de fenóis totais foi relativamente menor ($130 \pm 6 \text{ mg EAG / g extrato}$

seco). Assim, podemos observar que, para a Sangra d'água, os compostos fenólicos concentram-se preferencialmente na sua casca.

De acordo com os estudos de Cordeiro et al. (2012), as duas classes de compostos antioxidantes potentes encontrados nas cascas de *C. urucurana* são as proantocianinas e as catequinas, pertencentes à família dos flavonoides. Já os estudos fitoquímicos de Rao et al. (2007) revelaram que os principais componentes da seiva vermelha de *C. urucurana* são proantocianidinas, tais como galocatequinas e epigalocatequinas, também com propriedades antioxidantes e antinociceptivas. Esses compostos também são responsáveis pela atividade antiulcerogênica (CORDEIRO et al., 2012).

Conforme dados do trabalho de Port's (2013), foram feitas infusões das folhas de *Croton sp.* e obtidos apenas 26,02 mg EAG / g de compostos fenólicos totais em folhas secas, menor quantidade em comparação com nossos resultados. Possivelmente, isto se deve à metodologia utilizada e por terem sido adotadas as folhas como amostra, ao passo que nosso trabalho indica maior concentração de fenóis totais nas cascas de *Croton urucurana*.

Zuchinalli (2009), em seus estudos de fenóis totais em *C. urucurana*, encontrou teores de 19,4 mg de EAG/g de extrato hexânico, 81,2 mg de equivalentes de ácido gálico/grama de extrato em acetato de etila e 99,6 mg de equivalentes de ácido gálico/grama de extrato etanólico. Comparando estes resultados com os resultados do presente trabalho, nota-se que obtivemos teores de fenóis totais superiores: 276 ± 6 mg EAG / g extrato metanólicos das cascas de *C. urucurana*. Supõe-se esse aumento tenha sido causado pela maior polaridade do solvente usado para os processos de extração.

Horst (2008) fez seus testes dos teores de fenólicos nas frações do particionamento em outra espécie de cróton, a *C. celtidifolius*, tendo a quantidade de compostos fenólicos totais na fração acetona atingido o valor de 473,82 mg EAG/g.

Como os compostos fenólicos são conhecidos antioxidantes, deu-se preferência à avaliação da atividade antioxidante somente nos extratos metanólicos, pois os extratos hexânicos não apresentaram teores significativos de compostos fenólicos. A avaliação do potencial antioxidante foi feita pelo método do sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Para o extrato metanólico de folhas, obteve-se uma CE_{50} de $19,4 \pm 0,6$ ppm, e para o extrato metanólico das cascas, a CE_{50} foi igual a $10,1 \pm 0,2$ ppm.

Resultados encontrados por Zuchinalli (2009) mostram que o extrato acetato de etila de cascas de *C. urucurana* foi o que apresentou maior capacidade de sequestro de radicais livres, com um valor de $CE_{50} = 36,0$ ppm, seguido do extrato etanólico, com $CE_{50} = 99,5$ ppm. Tais valores são inferiores os obtidos neste trabalho, em que o extrato metanólico das cascas de *C. urucurana* apresentou uma capacidade antioxidante quase quatro vezes superior aos valores encontrados por Zuchinalli (2009).

Trabalhos de Rossi et al. (2011) indicaram fraca capacidade antioxidante para o óleo essencial de *C. lechleri*. Entretanto, os dados obtidos para a atividade antioxidante mostram que ela é superior ao BHT e comparável ao ácido ascórbico, tendo o extrato metanólico das cascas apresentado a maior atividade antioxidante.

Isto sugere que o teor de compostos fenólicos bem como a atividades antioxidante dependem fortemente dos métodos de produção dos extratos testados.

A variabilidade de componentes presentes em óleos essenciais de *Croton* spp. tem sido evidenciada em diversos trabalhos como os de Moraes et al. (2006) e Simionatto et al. (2007), que mostram que, dependendo da espécie de cróton estudada, obtêm-se compostos fenólicos diferentes, como, por exemplo, para *C. zenhtneri*, obtêm-se para-Anisalaldeído e E-Anetol; para *C. nepetaefolius*, temos α -Copaeno e metil-Eugenol; para *C. argyrophylloides*, foram encontrados α -Pineno e 1,8-Cineol; e para *C. urucurana*, o α -bisabolol e α -eudesmol.

Levando em conta esses resultados, nota-se que o extrato metanólico das cascas tem maior quantidade de compostos antioxidantes quando comparado ao extrato metanólico das folhas, o que pode ser evidenciado pela maior concentração de compostos fenólicos no extrato metanólico das cascas. Podemos inferir que a casca da sangra d'água é rica em compostos fenólicos, com atividade antioxidante significativa. Além disso, ambos os extratos metanólicos de folhas e cascas apresentaram atividade antioxidante mais elevada do que o BHT, um antioxidante difundido comercialmente, que apresentou uma CE_{50} média de 220 ± 7 ppm em nossos ensaios. Esses extratos só não têm atividade antioxidante mais potente do que o ácido ascórbico ($CE_{50} = 4,38 \pm 0,03$ ppm), outro antioxidante muito utilizado em indústrias de medicamentos.

Os dados supracitados indicam que a planta tem potencial para ser explorada comercialmente e que o solvente metanol apresentou maior capacidade na extração dos compostos antioxidantes; além disto, os dados permitem inferir que as cascas de *C. urucurana* apresentam teores de compostos antioxidantes superiores em comparação com as folhas.

Tabela 1 – Teor de Fenóis Totais e atividade antioxidante dos extratos metanólico e hexânico de *C. urucurana*.

| | mg EAG / g extrato seco | CE ₅₀ (ppm) |
|------------------------|-------------------------|------------------------|
| Extrato hexano folhas | N.D. | - |
| Extrato metanol folhas | 130 ± 6 | 19,4 ± 0,6 |
| Extrato hexano cascas | N.D. | - |
| Extrato metanol cascas | 276 ± 6 | 10,1 ± 0,2 |
| Ácido ascórbico | | 4,38 ± 0,03 |
| BHT | | 220 ± 7 |

Resultados do potencial alelopático para os extratos de *C. urucurana*

Ferreira e Aquila (2000) afirmam que a germinação é menos sensível aos compostos aleloquímicos do que o crescimento da plântula. Eles demonstram que as substâncias alelopáticas podem induzir o aparecimento de anomalias nas plântulas, dando ênfase à necrose da radícula.

Em função dos escassos estudos de alelopátia em *C. urucurana*, é difícil a comparação dos dados obtidos no presente trabalho.

Cândido et al. (2013) observaram menores porcentagens de germinação e reduções do índice de velocidade de germinação (IVG) pela fração de acetato de etila do caule e das folhas em alface e extrato etanólico bruto do caule e das folhas em cebola, que não ultrapassaram 70%. Os autores afirmam ainda que o efeito inibitório é pouco pronunciado.

Todos os extratos de *C. urucurana* testados sobre as sementes de *Lactuca sativa* cv Grand Rapids (Alface) e *Brassica oleracea* L. cv. capitata (repolho) não apresentaram efeito sobre sua germinação nem sobre o IVG, o que corrobora os resultados obtidos por Cândido et al. (2013).

A Tabela 2 mostra efeito inibitório dos extratos de hexano das cascas com germinação média de 8% e metanólicos das folhas e cascas sobre a germinação de sementes de *S. Lycopersicum* somente na concentração de 10.000 ppm, sendo que nas concentrações de 1.000 e 100 ppm não foram observados quaisquer efeitos. Além disso, para a concentração de 10.000 ppm, o efeito inibitório foi mais pronunciado com os extratos hexânicos das cascas e metanólicos das folhas.

Tabela 2 – Valores médios de germinação de *Solanum lycopersicum* submetidos a diferentes extratos de *C. urucurana*

| | Extrato hexano cascas | Extrato metanol folhas | Extrato metanol cascas |
|------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| Controle | 86,00 a | 96,00 a | 91,00 a |
| 10.000 ppm | 8,00 b | 9,00 b | 25,00 b |
| 1.000 ppm | 73,00 a | 77,00 a | 87,00 a |
| 100 ppm | 86,00 a | 91,00 a | 91,00 a |

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A Tabela 3 mostra que valores médios do IVG provocaram efeito inibitório sobre as sementes de *S. lycopersicum*. Os extratos hexano casca e metanol folha tiveram efeitos sobre o IVG nas concentrações de 10.000 ppm com 1,60% e 1,93% e 1.000 ppm com 16,83% e 18,56%, respectivamente, o que indica serem os extratos com maior poder inibitório. Com o extrato metanol casca, a inibição ocorreu somente na concentração de 10.000 ppm com 5,45%. O extrato hexano folhas, embora não tenha efeito sobre a germinação, inibiu sua velocidade.

Tabela 3 – Valores médios do índice de velocidade de germinação de *Solanum lycopersicum* submetidos a diferentes extratos de *C. Urucurana*

| | Extrato hexano folhas | Extrato hexano cascas | Extrato metanol folhas | Extrato metanol cascas |
|-----------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| Controle | 25,06 a | 25,88 a | 26,63 a | 25,03 a |
| 10.000ppm | 19,75 b | 1,60 c | 1,93 c | 5,45 b |
| 1.000ppm | 24,83 a | 16,83 b | 18,56 b | 21,93 a |
| 100ppm | 25,25 a | 24,33 a | 25,18 a | 25,01 a |

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

As Tabelas 4 e 5, quanto ao comprimento das radículas, mostram que todos os extratos influenciaram na inibição de todas as sementes, em todas as concentrações testadas.

Com foco para as sementes de *L. sativa*, os resultados inibitórios foram mais significativos nas concentrações de 10.000 e 1.000 ppm, com destaque para os extratos hexânicos das cascas, com 7,30 mm e 6,05 mm, e metanólicos das cascas, com 6,98 mm e 7,66 mm.

As sementes de *S. lycopersicum* sofreram maior inibição do crescimento da radícula com os extratos metanólicos das folhas com 7,28 mm e das cascas com 10,82 mm, tendo esses valores de inibição a concentração de 10.000 ppm.

E para as sementes de *B. oleracea*, mais uma vez os extratos metanólicos das folhas com 23,85 mm e metanólico das cascas com 20,24 mm inibiram fortemente o crescimento das radículas na concentração de 10.000 ppm.

Nota-se que a concentração com maior poder inibitório é a de 10.000 ppm em qualquer dos extratos testados, ressaltando ainda que os extratos metanólicos são os mais potentes, com maior poder de inibição do crescimento das radículas.

Para o comprimento do hipocótilo, somente o extrato hexânico das folhas não apresentou efeito inibitório sobre as sementes de *B. oleracea*. As demais espécies alvo (*L. sativa* e *S. lycopersicum*) apresentaram inibição quando submetidas aos extratos hexânicos e metanólicos das folhas e cascas.

Para as sementes de *L. sativa*, os maiores índices de inibição foram para os extratos hexânico das cascas com 5,58 mm em 10.000 ppm, 5,66 mm em 1.000 ppm e 7,36 mm em 100 ppm. Para o extrato metanólico das cascas, os resultados obtidos foram de 6,94 mm em 10.000 ppm, de 6,57 mm em 1.000 ppm e de 9,33 mm em 100 ppm. Vale ressaltar que houve influência para o extrato metanólico das folhas com 13,14 mm na concentração de 10.000 ppm.

Com as sementes de *S. lycopersicum*, novamente, observamos que os extratos metanólicos apresentaram maior poder inibitório, com 13,77 mm para as folhas e 11,87 mm para as cascas, na concentração de 10.000 ppm.

Por último, as plântulas de *B. oleracea* apresentaram o menor efeito inibitório sobre o seu desenvolvimento, quando submetidas aos quatro extratos testados.

Pode-se observar, pelos dados das Tabelas 4 e 5, que os extratos hexânico e metanólico das cascas apresentaram efeitos significativos sobre o crescimento da radícula e hipocótilo de *L. sativa*, sendo considerados os extratos com maior poder inibitório para esta espécie alvo.

Desta forma, evidencia-se que os efeitos alelopáticos de *C. urucurana* Ball. dependem fortemente da espécie alvo utilizada.

Tabela 4 – Efeitos dos extratos hexânicos de *C. urucurana* sobre o alongamento da radícula e hipocótilo das espécies alvo

| Comprimento da Radícula (mm) | | | | | | |
|--------------------------------|-----------------------|----------|----------|-----------------------|----------|---------|
| | Extrato hexano folhas | | | Extrato hexano cascas | | |
| | Alface | Tomate | Repolho | Alface | Tomate | Repolho |
| Controle | 34,08 a | 59,64 a | 60,97 a | 35,47 a | 68,96 a | 52,24 a |
| 10.000 ppm | 22,31 b | 38,40 b | 32,68 c | 7,30 c | 24,25 c | 25,52 b |
| 1.000 ppm | 31,36 ab | 53,72 ab | 46,56 ac | 6,05 c | 41,95 bc | 50,68 a |
| 100 ppm | 27,88 ab | 55,82 ab | 60,82 ab | 14,15 b | 49,70 b | 54,97 a |
| Comprimento do hipocótilo (mm) | | | | | | |
| Controle | 28,16 a | 50,18 a | 36,21 a | 25,39 a | 41,69 a | 30,38 a |
| 10.000 ppm | 21,52 b | 32,37 b | 27,45 a | 5,58 b | 17,49 c | 20,21 b |
| 1.000 ppm | 21,63 b | 40,22 b | 28,97 a | 5,66 b | 23,41 c | 27,27 a |
| 100 ppm | 23,24 b | 41,80 ab | 31,64 a | 7,36 b | 32,00 b | 30,66 a |

Tabela 5 – Efeitos dos extratos metanólicos de *C. urucurana* sobre o alongamento da radícula e hipocótilo das espécies alvo

| Comprimento da Radícula (mm) | | | | | | |
|--------------------------------|------------------------|---------|----------|------------------------|---------|----------|
| | Extrato metanol folhas | | | Extrato metanol cascas | | |
| | Alface | Tomate | Repolho | Alface | Tomate | Repolho |
| Controle | 44,36 a | 87,86 a | 51,80 a | 34,62 a | 94,48 a | 68,14 a |
| 10.000 ppm | 13,97 c | 7,28 d | 23,85 c | 6,98 c | 10,82 d | 20,24 c |
| 1.000 ppm | 15,17 c | 38,09 c | 34,55 bc | 7,66 c | 36,17 c | 30,08 bc |
| 100 ppm | 22,50 b | 60,56 b | 38,90 b | 13,48 b | 74,66 b | 36,97 b |
| Comprimento do hipocótilo (mm) | | | | | | |
| Controle | 32,78 a | 50,23 a | 35,65 a | 25,68 a | 84,58 a | 39,67 a |
| 10.000 ppm | 13,14 c | 13,77 c | 30,73 b | 6,94 b | 11,87 c | 23,15 c |
| 1.000 ppm | 16,20 bc | 25,34 c | 31,23 ab | 6,57 b | 24,65 c | 28,39 bc |
| 100 ppm | 21,26 b | 38,03 b | 31,76 ab | 9,33 b | 67,59 b | 29,44 b |

Nos bioensaios feitos com extratos de *C. urucurana*, foi observado um número significativo de necroses nas plântulas de alface quando submetidas aos extratos hexânicos das cascas. A incidência de tais necroses aumentou com a concentração do extrato, Tabela 6, chegando a 80% das plântulas aos 10.000 ppm, a 63% das plântulas aos 1.000 ppm e a 47% das plântulas aos 100 ppm.

Tabela 6 – Valores do percentual de necrose de *Lactuca sativa* submetida a diferentes concentrações do extrato hexânico de *C. Urucurana*.

| Extrato hexano cascas | |
|-----------------------|-----|
| 10.000 ppm | 80% |
| 1.000 ppm | 63% |
| 100 ppm | 47% |

Conclusão

Foram encontrados compostos fenólicos somente nos extratos metanólicos, devido à maior polaridade do solvente. A atividade antioxidante foi superior ao do controle, BHT, e comparável ao ácido ascórbico, o que indica um potencial uso da espécie como fonte de compostos antioxidantes. Para os quatro extratos testados, somente o *S. lycopersicum* apresentou inibição sobre a sua germinação. Para o IVG, os extratos hexano casca e metanol folha causaram os maiores efeitos inibitórios, sendo que a semente do tomate foi a única afetada. Todos os extratos testados influenciaram no desenvolvimento tanto dos hipocótilos quanto das radículas de todas as espécies alvo. O extrato hexânico das cascas causou necrose nas plântulas de alface em todas as concentrações testadas. Assim, podemos concluir que a espécie Sangra d'água (*C. urucurana*) contém, em seus extratos de folhas e cascas, compostos com atividade antioxidante e alelopática em quantidade significativa.

Referências

Bonoli M, Verardo V, Marconi E. Phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: Comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. J. Agric. Food Chem. 2004; 52 (16): 5195-5200.

Boscolo OH, Mendonça-Filho RFW, Menezes FS, Senna-Valle L. Antioxidant activity of some plants sandbank mentioned as medicinal. Rev. Bras. Pl. Med. 2007; 9: 8-12.

Cândido ACS, Silva CB, Simionatto E, Bigaton D, Scalon SPQ, Peres MTLP. Atividade fitotóxica de *Croton doctoris* S. Moore. Ciênc. Rural. 2013; 43: 645-652.

Cordeiro KW, Pinto LA, Formagio ASN, Andrade SF, Kassuya CAL, Freitas KC. Antiulcerogenic effect of *Croton urucurana* Baillon bark. Jour. Ethnopharm. 2012; 143: 331-337.

Cottica SM, Sawaya ACHF, Eberlin MN, Franco SL, Zeoula LM, Visentainer JV. Antioxidante activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. J. Braz. Chem. Soc. 2011; 22 (5): 929-935.

Ferreira AG, Aquila MEA. Alelopatia: Uma Área Emergente da Ecofisiologia. R. Bras.Fisiol.Veg. 2000; 12: 175-204.

Horst E, Análise Química e Biológica dos Constituintes Fenólicos de *Croton celtidifolius* Baill. [dissertação], Florianópolis, Brasil. Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

PVA. Bioprospecting of extracts from *Croton urucurana* Baill and their endophytic fungi. [dissertação]. Curitiba, Brasil. Universidade Federal do Paraná; 2010.

Morais SM, Catunda Júnior FEA, Silva ARA, Martins Neto JS. Antioxidant Activity of Essential Oils from Croton Species of Northeastern Brazil. Quim. Nov. 2006; 29: 907-910.

Mourão Júnior M, Souza Filho APS. Diferenças no padrão da atividade alelopática em espécies da família Leguminosae. Plant. Dan. 2010; 28: 939-951.

Port's OS, Chisté RC, Godoy HT, Prado MA. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. Food. Res. Intern. 2013; 53: 875-881.

Rao VS. Dragon's blood from *Croton urucurana* (Baill.) attenuates visceral nociception in mice. J. Ethnopharm. 2007; 113: 357-360.

RAS - Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sec. Def. Agrop. 2009; 32-33.

Roesler R, Malta LG, Carrasco LC, Holanda RB, Sousa CAS, Pastore GM. Antioxidant activity of cerrado fruits. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2007; 27: 53-60.

Rossi D, Guerrini A, Maietti S, Bruni R, Paganetto G, Poli, F, et al. Chemical fingerprinting and bioactivity of Amazonian Ecuador *Croton lechleri* Müll Arg. (Euphorbiaceae) stem bark essential oil: A new functional food ingredient? Food Chem. 2011; 126: 837-48.

Scalon Spq, Kodama Fm, Scalon Filho H, Mussury Rm. Seedling growth of bleeds waterline (*Croton urucurana* Baill.) under shade and gibberellin application; Rev. Bras. Pl. Med. 2008; 10: 61-66.

Silva FAS, Azevedo CAV. Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance. In: World Congress on Computers in Agriculture. Americ. Soc. Agric. Biol. Eng. 2009; 7: 1-10.

Simionatto E, Bonani VFL, Morel AF, Poppi NR, Raposo Júnior JL; Stuker CZ, et al. Chemical Composition and Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Activities of the Essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) Stem Bark. J. Braz. Chem. Soc. 2007; 18: 879-885.

Sousa CMM, Rocha e Silva H, Vieira-Junior GM, Ayres MCC, Costa CL, Araújo DS, et al. Antioxidant activity and total phenolics five medicinal plants. Quím. Nova. 2007; 30: 351-355.

Souza Filho APS, Guilhon GMSP, Santos LS. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório: revisão crítica. P. daninha. 2010; 28: 689-697.

Wink M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochem. 2003; 64: 3-19.

Zuchinalli A. Study Chemical Properties, Structural and Biological Species Plant *Croton urucurana*. [dissertação]. Florianópolis, Brasil. Universidade Federal de Santa Catarina. 2009.

CONCLUSÃO GERAL

Assim, podemos concluir que a espécie sSangra d'água (*C. urucurana*) contém, em seus extratos de folhas e cascas, compostos com atividades antioxidantes e alelopáticas significativas.