

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

**POTENCIAL ALELOPÁTICO, ANTIOXIDANTE E  
INIBIDOR DE TIROSINASE DE AROEIRA- PRETA  
(*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.)**

Autor: Letícia de Melo Vieira  
Orientador: Dr. Carlos Frederico de Souza Castro

Rio Verde - GO  
Fevereiro - 2013

**POTENCIAL ALELOPÁTICO, ANTIOXIDANTE E  
INIBIDOR DE TIROSINASE DE AROEIRA- PRETA**  
*(Myracrodruon urundeuva Fr. All.)*

Autor: Letícia de Melo Vieira  
Orientador: Dr. 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 – câmpus Rio Verde - Área de concentração Ciências Agrárias.

Rio Verde - GO  
Fevereiro - 2013

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

POTENCIAL ALELOPÁTICO, ANTIOXIDANTE E INIBIDOR DE  
TIROSINASE DE AROEIRA-PRETA (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.)

Autora: Leticia de Melo Vieira  
Orientador: Dr. Carlos Frederico de Souza Castro

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias – Área de concentração  
Ciências Agrárias – Ciências Agrárias

APROVADA em 06 de fevereiro de 2013.

Prof. Dr. Takeshi Kamada  
*Avaliador externo*  
FESURV/RV

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Sandra Zago Falone  
*Avaliadora interna*  
IFGoiano/RV

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

*Dedico este trabalho,*

*Aos meus pais Vilmar e Rosa, que  
sempre estiveram ao meu lado  
mesmo estando longe, que nunca  
deixaram esmoecer diante das  
dificuldades que surgiram no  
decorrer desta jornada.*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus, pela saúde, vida e perseverança.*

*Ao meu marido Wellington Rogério, pelo afeto incondicional, a quem muito admiro e agradeço pela paciência e estímulo.*

*Aos meus pais, pelo carinho e esforço imensurável, que fizeram com que eu chegasse até aqui.*

*A minha família, por sempre me apoiar, seja qual for à decisão tomada.*

*Ao Instituto Federal Goiano câmpus Rio Verde, pelo apoio institucional.*

*Ao meu orientador Dr. Carlos Frederico de Souza Castro, com o qual aprendi dentre tantas coisas, a superar limites não medindo esforços.*

*Aos professores da banca: Dr. Takeshi Kamada e Dra. Juliana Rodrigues Donadon, por aceitarem participar como membros avaliadores.*

*A todos os professores, que fazem parte do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, pelo incentivo.*

*A turma do PPGCA 2011/1, pela união carinho e amizade, em especial à Gessiane, pela sabedoria transmitida e inestimável esforço por estar sempre ajudando.*

*A Bióloga Érica Virgínia Estêfane de Jesus Amaral, do Laboratório de Botânica do Herbário Jataiense, pelas informações, identificação e depósito do exemplar da espécie em estudo.*

*Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias.*

*Às alunas de iniciação científica: Alline e Andressa, pelo apoio e amizade.*

*Ao Edvaldo e o Sr. Benjamin (FESURV), pelo auxílio na coleta do material vegetal.*

*A todos, que direta ou indiretamente contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.*

*Muito Obrigada!*

## BIOGRAFIA DA AUTORA

**LETÍCIA DE MELO VIEIRA** - filha de Vilmar Vieira e Rosa Aparecida de Melo Vieira, nasceu no dia 09 de junho de 1989, na cidade de Anápolis, Goiás. Graduou-se em fevereiro de 2010, em Química Licenciatura, pela Universidade Estadual de Goiás (UEG) – Anápolis - Goiás. Em janeiro de 2010, iniciou a carreira profissional como professora da Unidade Integrada SESI SENAI de Rio Verde, ministrando aulas para os cursos Técnicos em Mecânica Industrial e Eletrotécnica. Em maio de 2010, foi aprovada no concurso público para provimento de cargo de professor PIII da Secretaria Estadual de Educação, no município de Rio Verde. Em 2011, iniciou no mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, no Instituto Federal Goiano câmpus Rio Verde, sob a orientação do Professor Dr. Carlos Frederico de Souza Castro.

## ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS .....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES .....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
INTRODUÇÃO .....	177
REVISÃO DE LITERATURA.....	199
Plantas Medicinais.....	199
Metabólitos Secundários.....	21
Cerrado .....	255
Família Anacardiaceae .....	28
O gênero <i>Myracrodruon</i> .....	29
A espécie <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (aroeira-preta) .....	30
Constituintes Químicos da Espécie <i>M. urundeuva</i> Fr. All. ....	31
Atividades Biológicas.....	35
Alelopatia.....	35
Atividade Antioxidante .....	36
Compostos Fenólicos .....	377
Hiperpigmentação da pele .....	39
REFERÊNCIAS.....	42
OBJETIVOS.....	52
CAPÍTULO I - Efeito alelopático da aroeira-preta em sementes de alface ( <i>Lactuca sativa</i> L.), tomate ( <i>Solanum Lycopersicum</i> L.) e repolho ( <i>Brassica oleracea</i> L.).....	53



CAPÍTULO II - Fenóis totais, atividade antioxidante e inibição da tirosinase de extratos de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All.....	66
CONCLUSÃO GERAL .....	81

## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO I	
TABELA 1 – Massa de material vegetal e quantidade de extrato obtido .....	57
TABELA 2 – Efeito dos extratos brutos no índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de alface .....	58
TABELA 3 – Efeito dos extratos brutos no percentual de germinação (G%) em sementes de alface .....	58
TABELA 4 – Efeito dos extratos brutos metanólicos folhas/cascas do caule no desenvolvimento de plântulas de alface .....	59
TABELA 5 – Efeito dos extratos brutos no índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de repolho .....	59
TABELA 6 – Efeito dos extratos brutos no percentual de geminação (G%) em sementes de repolho .....	60
TABELA 7 – Efeito dos extratos brutos metanólicos folhas/cascas do caule no desenvolvimento de plântulas de repolho .....	60
TABELA 8 – Efeito dos extratos brutos no índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de tomate .....	61
TABELA 9 – Efeito dos extratos brutos no percentual de germinação (G%) em sementes de tomate .....	61

TABELA 10 – Efeito dos extratos brutos metanólicos folhas/cascas do caule no desenvolvimento de plântulas de tomate .....	62
---	----

## CAPÍTULO II

TABELA 1 – Teor de Fenóis Totais (FT) expressos em Equivalentes de Ácido Gálico (EAG) .....	73
---	----

TABELA 2 – Determinação da capacidade de sequestrar radicais livres (DPPH) .....	73
--	----

TABELA 3 – Atividade de ativação/inibição da enzima tirosinase .....	76
--	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estruturas químicas da quinina (a) estriquinina (b) reserpina (c) .....	21
Figura 2. Estrutura química da helenalina. ....	233
Figura 3. Visão simplificada das rotas envolvidas na biossíntese dos metabólitos secundários e suas interconversões com o metabolismo primário.....	244
Figura 4. Área central do Cerrado no Brasil.....	255
Figura 5. Vegetação nativa remanescente na área central do Cerrado em 2002.....	266
Figura 6. Foto de <i>M. urundeuva</i> Fr. All.(a) coletada na reserva legal da FESURV – Universidade de Rio Verde; tronco (b) e parte aérea (c).....	311
Figura 7. Estruturas químicas do ácido gálico e sua forma metilada e o flavonoide glicosilado quercetina e sua aglicona quercitrina.....	333
Figura 8. Estrutura química das urundevina A (1), urundevina B (2) e urundevina C (3) isoladas da entrecasca da <i>M. urundeuva</i> Fr. All. ....	344
Figura 9. Ligações dos átomos de cobre sítio ativo da enzima tirosinase .....	39
Figura 10. Biossíntese da melanina.....	40

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

CE <sub>50</sub> .....	Concentração Efetiva 50%
DPPH .....	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
DOPA .....	Dioxifenilalanina
EAG.g <sup>-1</sup> .....	Equivalentes de Ácido Gálico por Grama
Fr. All .....	Freire Allemão
FT .....	Fenóis Totais
FESURV .....	Fundação do Ensino Superior de Rio Verde
g .....	Gramas
G% .....	Percentual de Germinação
IVG .....	Índice de Velocidade de Germinação
mg .....	Miligramas
mL .....	Mililitros
µL .....	Microlitros
µm .....	Micrômetros
MUCH .....	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Casca Hexano
MUCM .....	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Casca Metanol
MUFH .....	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Folha Hexano
MUFM .....	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Folha Metanol
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> .....	Carbonato de sódio
nm .....	Nanômetros
OMS .....	Organização Mundial da Saúde

## RESUMO

A rica biodiversidade do Brasil se distribui em diferentes regiões, dentre elas o Cerrado, que ocupa 21% do território brasileiro. A grande diversidade de espécies vegetais presentes nesse ecossistema fornece material para a realização de estudos especializados, na procura de novos medicamentos para diferentes patologias. A espécie *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. conhecida como aroeira-preta, é uma espécie arbórea nativa com excelentes propriedades físicas, químicas e biológicas, pertence à família Anacardiaceae e que apresenta vários usos medicinais, principalmente usos contra febres, cistites e uretrites (problemas do trato urinário), diarreias, tosse e bronquite, gripes e inflamações em geral. Este trabalho teve como objetivo avaliar as atividades alelopática, antioxidante e inibidora da enzima tirosinase pelos extratos das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* Fr. All. O material vegetal foi coletado no câmpus da FESURV - Universidade de Rio Verde no estado de Goiás, Brasil. As folhas e cascas do caule foram separadas, secas em estufa com ventilação de ar forçada à temperatura de 40°C e em seguida, pulverizadas em moinho de facas. Os extratos brutos foram obtidos pelo método de maceração a frio, em solventes por ordem crescente de polaridade. Analisando os potenciais alelopáticos dos extratos orgânicos das folhas e cascas do caule, por meio de bioensaios de germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), repolho (*Brassica oleracea* L.) e tomate (*Solanum Lycopersicum* L.). Para determinação do teor de fenóis totais dos extratos de *M. urundeuva* utilizou-se o reativo de *Folin-Ciocalteu*, enquanto na avaliação da atividade antioxidante se empregou o método do sequestro do radical livre DPPH. Para avaliação *in vitro* da capacidade de inibição da enzima tirosinase utilizando a enzima tirosina. Para o bioensaio de alelopatia, o extrato metanólico das folhas apresentou inibição no IVG das sementes de alface, na concentração de 10.000 µg mL<sup>-1</sup>. Extratos metanólicos das folhas e cascas do

caule de *M. urudeuva* Fr. All. inibiram o comprimento radicular das plântulas de alface. Com a adição dos extratos brutos metanólicos, observou-se interferência no desenvolvimento de plântulas de repolho, evidenciando o potencial alelopático de *M. urundeuva* no crescimento de radícula e hipocótilo dessa espécie. Houve diferenças significativas no IVG de sementes de tomate na presença do extrato hexânico das folhas. Os resultados de fenóis totais indicaram uma concentração de 77 mg EAG g<sup>-1</sup> e 194 mg EAG g<sup>-1</sup> nos extratos hexânico e metanólico das folhas e 45 mg EAG g<sup>-1</sup> e 193 mg EAG g<sup>-1</sup> nos extratos hexânico e metanólico das cascas do caule. Os potenciais antioxidantes dos extratos indicaram que o extrato metanólico das cascas do caule (10,9 ± 0,5 µg mL<sup>-1</sup>), em comparação ao hexânico (12,9 ± 0,2 µg mL<sup>-1</sup>) e ao BHT (220 ± 7,0 µg mL<sup>-1</sup>), possui uma maior atividade antioxidante. No ensaio de inibição da tirosinase, o extrato metanólico das cascas do caule apresentou um percentual de inibição da enzima de 42% após uma hora.

**Palavras-chave:** planta medicinal, cerrado, metabólitos secundários.

## ABSTRACT

The rich biodiversity of Brazil is distributed in different regions, including the Cerrado, which comprises 21% of the Brazilian territory. The great diversity of plant species in this ecosystem provides material for specialized studies in the search for new medicines for different pathologies. The species *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. known as aroeira-preta, is a native tree species with excellent physical, chemical and biological properties, belongs to the family Anacardiaceae and which features several medicinal uses, mainly used against fevers, cystitis and urethritis (urinary tract problems), diarrhea, cough and bronchitis, colds and inflammation. This work aimed to evaluate the allelopathic, antioxidant and tyrosinase inhibiting activities of leaves and bark of *M. urundeuva* Fr. All. The plant material was collected in the campus of the FESURV - University of Rio Verde, in the State of Goiás, Brazil. The leaves and bark of the stem were separated, dried in an oven with forced air ventilation at a temperature of 40° C and then grinded in a knife-mill. The crude extracts were obtained by cold maceration, with ascending order of polarity solvents. It was analyzed the potential allelopathic activity of leaves and barks of the stem through seed germination bioassays of lettuce (*Lactuca sativa* L.), cabbage (*Brassica oleracea* L.) and tomato (*Solanum Lycopersicum* L.). Folin-Ciocalteu reagent was used to determine the total phenols content of extracts of *M. urundeuva*, while the antioxidant activity was measured by the free radical DPPH scavenging assay. In vitro evaluation experiments to measure inhibition of the enzyme tyrosinase. For the bioassay of allelopathy, methanolic extract of leaves showed inhibition in IVG in seeds of lettuce, in concentration of 10.000 µg mL<sup>-1</sup>. Methanolics extracts from the leaves and bark of the stem of *M. urundeuva* Fr. All. inhibited the root length of seedlings of lettuce.



The addition of the methanolic crude extracts showed interference in the development of seedlings of cabbage, evidencing the allelopathic potential of *M. urundeuva* on radicle growth and hypocotyl. There were significant differences in the IVG tomato seeds, in the presence of hexane extract of leaves. The results of total phenols showed a concentration of 77 mg EAG g<sup>-1</sup> and 194 mg EAG g<sup>-1</sup> leaf hexane and methanolic extracts and 45 mg EAG g<sup>-1</sup> and 193 mg g<sup>-1</sup>. EAG in methanolic and hexane extracts of the bark of the stem. The antioxidant potential of extracts indicated that the methanolic extract of bark of stem ( $10.9 \pm 0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), compared to hexane ( $12.9 \pm 0.2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) and BHT ( $220 \pm 7.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), has a greater antioxidant activity. Tyrosinase inhibition test, the methanolic extract of bark of the stem presented a percentage of enzyme inhibition of 42% after an hour.

**Key words:** medicinal plant, cerrado, secondary metabolite.

## INTRODUÇÃO

A natureza, de forma geral, produz a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. Contudo, o Reino Vegetal é o que tem fornecido grande parte dos metabólitos secundários, muitos destes de grande valor agregado pelas aplicações como medicamentos, cosméticos, alimentos e agroquímicos (VIEGAS JUNIOR & BOLZANI, 2006).

No Brasil, a biodiversidade observada nas florestas tropicais e savanas, oferece uma grande variedade de compostos farmacológicos e terapêuticos com atividades biológicas. Ainda assim, apenas uma fração de sua diversidade biológica como fonte de drogas é caracterizada e avaliada (BRAZ FILHO, 2010).

A rica diversidade do Brasil se distribui em diferentes biomas, dentre eles o Cerrado, que é considerado o segundo maior bioma do Brasil e da América do Sul, abrangendo, aproximadamente um quarto do território brasileiro, com cerca de dois milhões de km<sup>2</sup> (SILVA, 2010). A ampla variedade de espécies presentes nesse ecossistema fornece material para a realização de estudos especializados na procura de novos fármacos para diferentes doenças (MANS; ROCHA; SCHWARTSMANN, 2000).

Este trabalho visa colaborar com o conhecimento das atividades biológicas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae) através da busca de princípios ativos. Para isto foram avaliadas algumas etapas como preparação dos extratos hexânicos e metanólicos das folhas e cascas do caule do vegetal, e realizados ensaios biológicos para a verificação das possíveis atividades:

- a) Alelopática, verificando o índice de velocidade de germinação (IVG), percentual de germinação (G%) e o comprimento do hipocótilo e da raiz em plântulas de

*Lactuca sativa* L. cv. Verônica, *Brassica oleracea* cv. Coração de Boi e *Solanum lycopersicum* cv. Santa Cruz Kada.

b) Antioxidante, pelo método do sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e determinação do teor de fenóis totais utilizando o reagente *Folin-Ciocalteu*;

c) Inibitória da enzima tirosinase, a partir da avaliação *in vitro* da inibição da enzima.

## REVISÃO DE LITERATURA

### **Plantas Medicinais**

As plantas medicinais são os principais componentes da medicina tradicional. O uso de plantas para o tratamento de doenças que acometem os seres humanos é uma prática milenar e ainda hoje aparece como o principal recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos (VEIGA JUNIOR, PINTO, MACIEL, 2005). Além disso, as plantas medicinais têm sido a forma principal e mais acessível de terapia para os menos privilegiados da população mundial, nos dias atuais (ESPINOSA, BIESKI, MARTINS, 2012).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), através das suas recomendações aos países em desenvolvimento, é uma força motriz formidável na popularização da medicina herbal, particularmente com relação à validação científica e preservação do conhecimento etnobotânico de plantas medicinais (BRASIL, 2005).

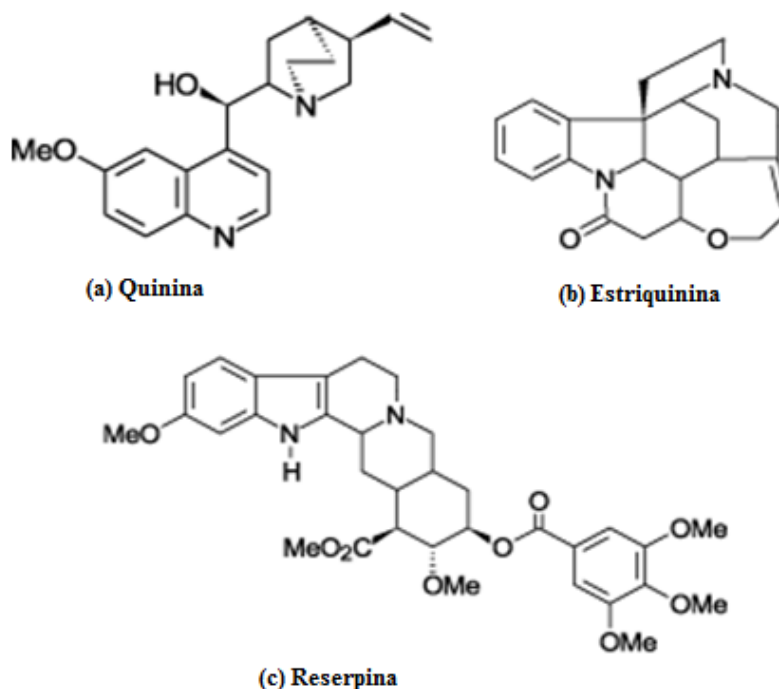
Apesar da ocorrência de grandes avanços na medicina moderna, as plantas medicinais ainda desempenham importante papel na saúde mundial. Avalia-se que cerca de 30% de todos os medicamentos avaliados como agentes terapêuticos são derivados de produtos naturais (CALIXTO, 2005). O Brasil não apenas possui um dos mais altos níveis mundiais de biodiversidade, mas também exibe uma riqueza de conhecimento tradicional acumulado pelos habitantes locais que têm acesso direto com a natureza e com os produtos da biodiversidade (ALBUQUERQUE et al., 2007).

As plantas desenvolvem naturalmente, processos essenciais de biossíntese que são responsáveis pela formação, acúmulo e degradação de inúmeras substâncias orgânicas no interior das células que formam seus diversos tecidos. Embora o mesmo processo ocorra também com os organismos animais, são especialmente as de origem vegetal que têm encontrado emprego em diversas áreas das ciências aplicadas à alimentação e à saúde (SILVA, MIRANDA, CONCEIÇÃO, 2010).

A todo o momento são descritas na literatura novas moléculas, algumas de relevante ação farmacológica, como por exemplo, o taxol, obtido de plantas do gênero *Taxus*, que após sua produção em escala industrial, está disponível no mercado farmacêutico, constituindo uma grande esperança para pessoas portadoras de câncer nos ovários e pulmões; a forskolina, obtida de *Coleus barbatius*, que apresenta promissores efeitos contra hipertensão, glaucoma, asma e certos tumores; e a artemisinina, presente em *Artemisia annua*, que exerce potente atividade antimalárica etc (CECHINEL FILHO & YUNES, 1998).

Entretanto além dos benefícios, observam-se muitas reações tóxicas associadas a plantas, levando à necessidade de estudos criteriosos relativos à sua utilização. Vários autores têm mostrado a importância dos estudos químicos e farmacológicos, em diversas espécies vegetais, pela elevada produção de metabólitos secundários, podendo ser medicinais ou tóxicos, principalmente nas espécies dos ecossistemas tropicais (BRITO & BRITO, 1993).

O final dos anos 1920 e toda a década de 1930 foram marcados pelo grande número de trabalhos sobre o isolamento e a identificação de substâncias de natureza esteroideal. Devido, principalmente aos estudos de Wieland e Windaus e colaboradores, o principal representante dessa classe, o colesterol, teve sua estrutura determinada (WOODWARD et al., 1951). No entanto, sua síntese só foi realizada, independentemente em 1951, por Robinson e Woodward. No ano seguinte, este último sintetizou a cortisona. A genialidade deste químico, considerado o mais expressivo do século XX, pode ser avaliada através de suas sínteses dos alcaloides quinina (a) (1945), estriquinina (b) (1954) e reserpina (c) (1958) (Figura 1) (PINTO et al., 2002).



**Figura 1.** Estruturas químicas da quinina (a), estriquinina (b) e reserpina (c).  
Fonte: PINTO et al., 2002.

O isolamento e estudo de substâncias naturais é uma preocupação central das ciências químicas e biológicas por mais de 200 anos. Estima-se que 80% da população dos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento são quase completamente dependentes da medicina caseira utilizando plantas para suas necessidades primárias de saúde (BRAZ FILHO, 2010).

## Metabólitos Secundários

Os compostos químicos produzidos, degradados ou transformados são denominados de metabólitos. Estes são historicamente agrupados em duas grandes categorias: os metabólitos primários (ou princípios imediatos) e secundários (ou princípios ativos) (MUÑOZ, 1996).

Os metabólitos secundários são obtidos através do metabolismo animal ou vegetal. O metabolismo pode ser determinado como o conjunto de reações químicas (designadas como anabólicas, catabólicas ou biotransformação) que continuamente estão ocorrendo em cada célula de um organismo (CROZIER, JAGANATH, CLIFFORD, 2006). Estas reações visam, primeiramente, ao aproveitamento de nutrientes para satisfazer as exigências

fundamentais da célula: ATP (energia), NADPH (poder redutor) e biossíntese das substâncias essenciais a sua sobrevivência (macromoléculas celulares) (SANTOS, 2002).

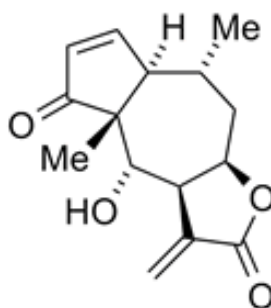
Os metabólitos secundários são aqueles que não são necessários para que o organismo vegetal possa nascer, crescer, desenvolver e reproduzir. Porém, são eles que participam e possibilitam a interação do organismo com o meio em que vivem. Grande parte destes metabólitos são produzidos pelas plantas em resposta direta a um estímulo ambiental (MOREIRA et al., 2006).

Muitos produtos do metabolismo secundário têm funções ecológicas importantes nos vegetais, como por exemplo, protegem as plantas contra herbivoria e contra infecção por micro-organismos patogênicos, agem como atrativos para animais polinizadores e dispersores de sementes ou atuam como agentes na competição planta-planta e nas simbioses planta-organismo (TAIZ & ZEIGER, 2009).

A composição destes componentes secundários nas plantas é influenciada por três fatores principais: hereditários (composição genética), ontogênicos (estágio de desenvolvimento) e ambientais (ROBBERS, SPEEDIE, TYLER, 1997).

Os efeitos genéticos, por exemplo, são as plantas do mesmo gênero que, apesar de, se assemelharem fenotipicamente, apresentam uma composição genética diferente. Exemplo disto são espécies de *Eucalyptus* spp. que possuem grandes variações no teor de eucaliptol (metabólito secundário) e nos componentes afins nos óleos voláteis (GOBBONETO & LOPES, 2007).

Em relação à ontogenia bem como dos diferentes órgãos vegetais, também são de considerável importância e podem influenciar não só a quantidade total de metabólitos produzidos, mas também as proporções relativas dos componentes da mistura (DOAN, ERVIN, FELTON, 2004). Como por exemplo, as lactonas sesquiterpênicas produzidas em *Arnica montana*, consideradas os principais princípios ativos desta planta utilizada como anti-inflamatório; enquanto plantas jovens acumulam majoritariamente derivados da helenalina (Figura 2), a concentração destes compostos é reduzida para praticamente zero após aproximadamente seis semanas contadas a partir da formação das folhas; por outro lado, os níveis de compostos do tipo diidrohelenalina aumentam muito e então se mantêm constantes por um longo período (SCHMIDT, BOMME, ALFERMANN, 1998).



**Figura 2.** Estrutura química da helenalina.  
 Fonte: SCHMIDT, BOMME, ALFERMANN, 1998.

De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais. Por exemplo, muitas plantas que contêm alcaloides acumulam concentrações maiores desses componentes nas regiões úmidas do que nas regiões semiáridas; isso, porém, pode estar relacionado com o solo, que em geral é pobre em nitrogênio nas regiões áridas, sendo necessárias boas fontes de nitrogênio para que haja boa produção de alcaloides (KUTCHAN, 2001).

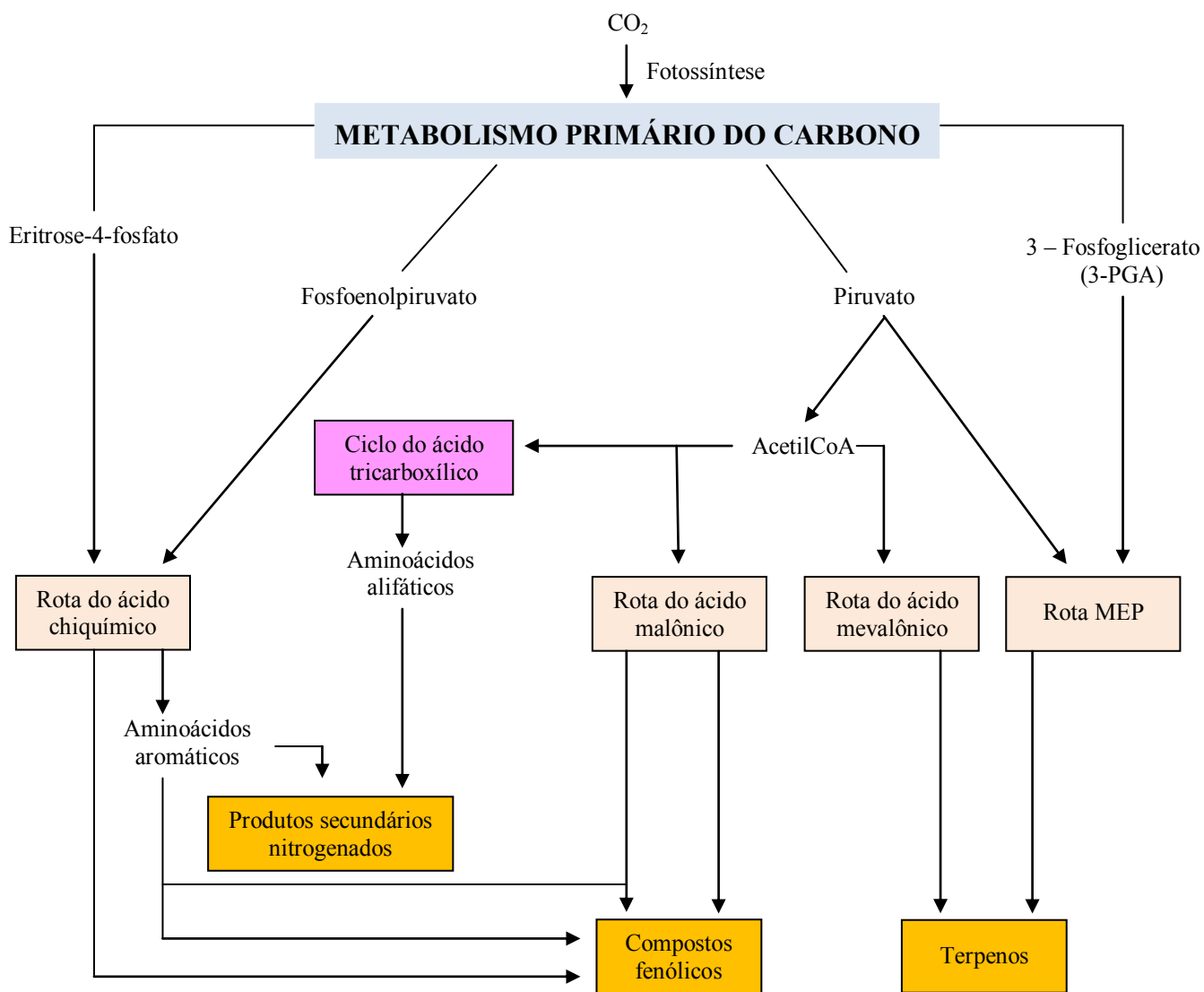
Ainda dentro dos fatores ambientais, as condições de coleta, estabilização e estocagem, podem alterar os teores dos compostos bioativos, podendo promover rearranjos, oxidações e reduções destas moléculas (DINIZ, 2007).

Quando se tem um produto natural de origem vegetal, este terá atividades importantes para a planta, e geralmente estará associado à medicina popular ou ainda como medicamentos, produção de cosméticos, matéria-prima para a química fina, ou mais recentemente como nutracêutico nos seres humanos (SIMÕES-PIRES et al., 2006).

A necessidade de se obter substâncias químicas naturais oriundas do metabolismo das plantas, sem terem sofrido transformações no decorrer dos processos de sua obtenção, é muito importante na medicina moderna (BIAVATTI et al., 2007). Primeiro porque podem fornecer fármacos extremamente importantes, os quais dificilmente seriam obtidos via síntese química, como por exemplo, os alcaloides da *Papaver somniferum*. Em segundo lugar, as fontes naturais fornecem compostos que podem ser levemente modificados, tornando-os mais eficazes ou menos tóxicos. Em terceiro lugar, os produtos naturais podem ser utilizados como protótipos para obtenção de fármacos com atividades terapêuticas semelhantes aos compostos originais (TUROLLA & NASCIMENTO, 2006).



Por fim os metabólitos secundários vegetais podem ser divididos em três grupos quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (Figura 3). Sendo que os terpenos se formam por unidades isoprênicas de cinco carbonos e são inibidores do forrageio para muitos herbívoros. Os compostos fenólicos são produzidos principalmente a partir da rota do ácido chiquímico e desempenham várias funções importantes nas plantas. Os compostos nitrogenados são sintetizados basicamente a partir de aminoácidos aromáticos (TAIZ & ZAIGER, 2009).



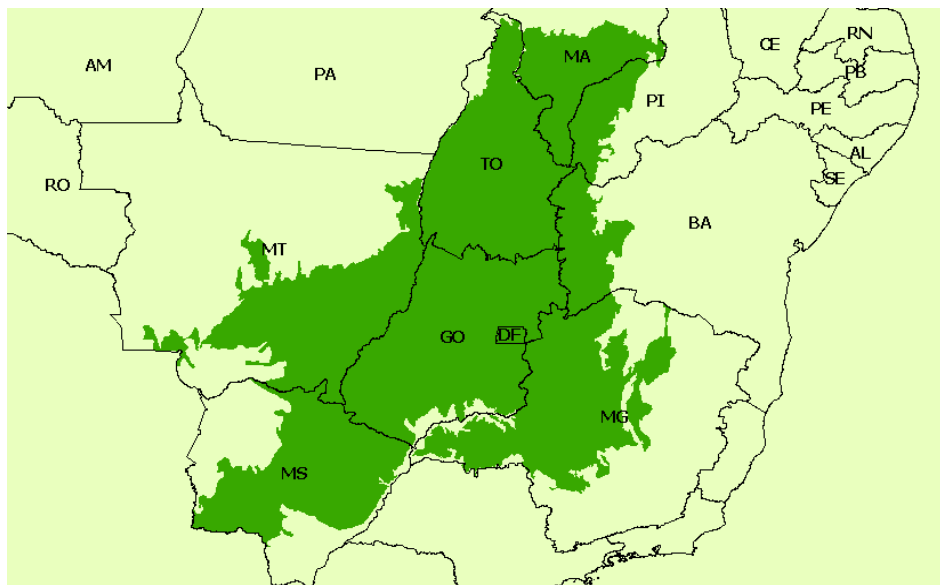
**Figura 3.** Visão simplificada das rotas envolvidas na biossíntese dos metabólitos secundários e suas interconversões com o metabolismo primário.

Fonte: TAIZ & ZEIGER, 2009.

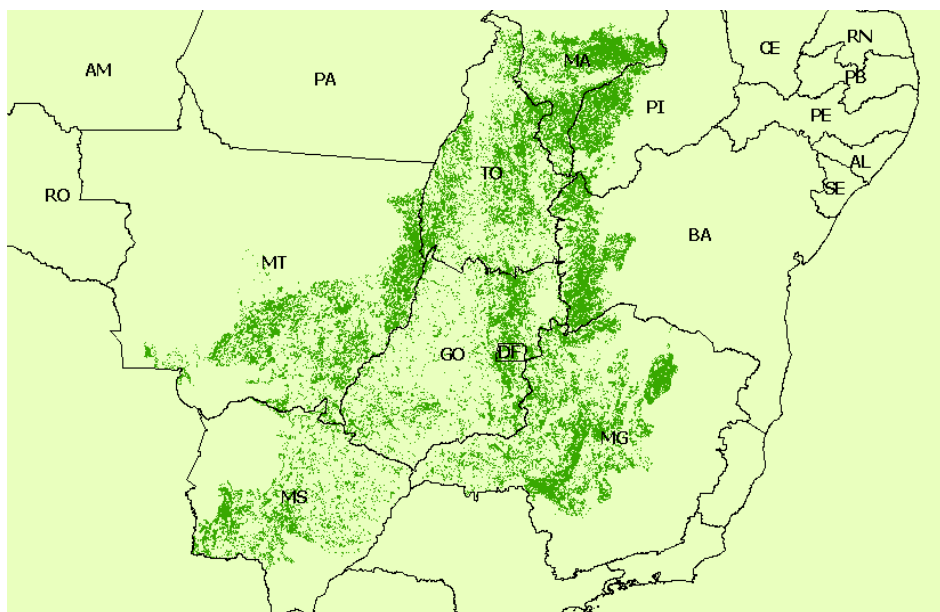
## Cerrado

O Brasil é um dos dois países mais ricos do mundo em termos de biodiversidade, abrigoando dois dos 34 hotspots de biodiversidade mundiais de prioridades de conservação: a Mata Atlântica e o Cerrado (MITTERMEIER et al., 2004). Este domínio fitogeográfico abriga uma grande variedade de fisionomias, englobando formações florestais, savânicas e campestres (GOODLAND & POLLARD, 1973; RIBEIRO & WALTER, 2008).

O termo cerrado é geralmente utilizado para indicar o conjunto de ecossistemas (savanas, matas, campos e matas de galeria) que ocorrem no Brasil Central (EITEN, 1977). É a segunda maior formação vegetal brasileira, com uma área total de cerca de dois milhões de km<sup>2</sup>, sendo superado em área apenas pela Amazônia (OLIVEIRA FILHO & RATTER, 2002) (Figura 4). Cerca de 55% da área original do Cerrado (Figura 5) - que corresponde a 880.000 km<sup>2</sup>, superior a área desmatada da Amazônia Brasileira - já foi desmatada ou transformada pela ação humana (MACHADO et al., 2004).



**Figura 4.** Área central do Cerrado no Brasil.  
Fonte: MACHADO et al., 2004.



**Figura 5.** Vegetação nativa remanescente na área central do Cerrado em 2002.

Fonte: MACHADO et al., 2004.

Este ocupa 21% do território nacional, sendo considerado um complexo vegetacional de grande heterogeneidade fitofisionômica (BORLAUG, 2002), ele é considerado um *hotspot* por causa de suas espécies endêmicas e ameaças constantes de seu território (ORME et al., 2005).

Segundo Proença et al. (2000), o Cerrado é o mais brasileiro dos biomas sul-americanos, com exceção de algumas pequenas áreas na Bolívia e no Paraguai, ele está totalmente inserido no território nacional. A abrangência deste domínio engloba desde o Amapá e Roraima até o Paraná. No sentido longitudinal, aparece desde Pernambuco, Alagoas, Sergipe, até o Estado do Pará e Amazonas, com encraves dentro da Floresta Amazônica (RIGONATO & ALMEIDA, 2003).

Este bioma é apontado como grande detentor de diversidade biológica, sendo a formação savânica com maior diversidade vegetal do mundo, especialmente quando se consideram as espécies lenhosas. Mendonça et al. (1998) fizeram extensa compilação referente à diversidade do cerrado brasileiro, sendo apontados, no total, 6.671 táxons nativos, distribuídos em 170 famílias e 1.140 gêneros.

O Cerrado é muito rico no fornecimento de matérias-primas de origem vegetal. Entre as diversas plantas medicinais que ocorrem na região central destacam o velame (*Macrosiphonia velame* (St. Hil.) Muell. Arg.), cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium humile*

St. Hill.), ipê-roxo (*Tabebuia impetigiosa* (Mart. ex DC.) Standl.), arnica (*Lychnophora ericoides* Less.) (GUARIM NETO & MORAIS, 2003).

Das espécies constituintes dessa paisagem as enunciadas com poder medicinal foram: algodãozinho (*Cochlospermum regium* Mart et Schl), anador (*Alternanthera* sp.), assa-peixe (*Vernonia* sp.), bananeira (*Salvertia convallariodora* A.St. Hil.), bureré, cabelo-de-nego (*Oureata hexasperma* St. Hil. Bail), carrapicho (*Acanthospermum* sp.), Essas plantas compõem um quadro representativo das várias espécies de plantas medicinais existentes no cerrado brasileiro (RIGONATO & ALMEIDA, 2003).

A vegetação do Cerrado é descrita como uma fonte rica em metabólitos secundários, apresentando potencial para uma vasta gama de atividades biológicas. Uma justificativa razoável para isto é que estas plantas estão sujeitas a situação de estresse consideravelmente maior, atribuído ao clima peculiarmente árido e quente dessas regiões (LIÃO, 1997).

É sujeito a regular e previsível seca anual, que é um dos principais determinantes da estrutura e função do ecossistema. Alta irradiância e temperatura do ar, juntamente com a baixa umidade relativa, ocasionam uma alta demanda evaporativa durante a estação da seca.

Os solos favoráveis para o Cerrado são das classes de Latossolo Vermelho-Escuro, Latossolo Vermelho-Amarelo e Latossolo Roxo. Apesar das boas características físicas, são solos fortes moderadamente ácidos (pH entre 4,5 e 5,5), com carência generalizada dos nutrientes essenciais, principalmente fósforo e nitrogênio. Esse déficit de nutrientes do solo se manifesta de forma heterogênea (RIBEIRO & WALTER, 2008). Segundo Rizzini (1997 p. 240) “o cerrado exhibe enorme variabilidade estrutural ainda mais acentuada pelas amplas variações edáficas”.

Sendo ainda pobres em matéria orgânica, porque as folhas e outros órgãos que caem sobre o solo dessecam pelo calor intenso e ar seco, fragmentando e dispersando pelo vento, bem como destruída pela ação das queimadas (LIÃO, 1994). Estes fatores em conjunto, levam a intensificação pela competição por nutrientes, conduzindo as plantas à produção de compostos químicos que possibilitem a adaptação ao ecossistema.

A pobreza dos solos, portanto, não se constitui em obstáculo para a ocupação de grandes extensões de terra pela agricultura moderna, especialmente a cultura da soja, um dos principais itens da pauta de exportações do Brasil, e as pastagens plantadas. Cerca de

metade da extensão territorial original do Cerrado foram transformados em pastagens plantadas, culturas anuais e outros tipos de uso (KLINK & MACHADO, 2005).

A conservação do Cerrado, considerada uma das mais ricas savanas do mundo, é de extrema importância para a estabilidade da biodiversidade mundial (MITTERMEIER et al., 2005). A diversidade de ecossistemas no Cerrado faz desse bioma um celeiro de plantas medicinais, com atividades biológicas consideráveis, sobretudo para estudos de novos compostos potencialmente ativos.

Dentre as espécies vegetais do Cerrado, estão aquelas pertencentes à ordem Sapindales. Esta é constituída por famílias, com espécies predominantemente lenhosas com distribuição predominante nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo; ocorrendo também nas regiões temperadas. Pertencentes à ordem Sapindales, tem-se famílias Anacardiaceae R. Br. (1818), Biebersteiniaceae Endl. (1841), Burseraceae Kunth (1824), Kirkiaceae (Engl.) Takht. (1967), Meliaceae Juss. (1789), Nitrariaceae Bercht. & J.Presl (1820), Peganaceae (Engl.) Tieghm. ex Takht. (1987), Tetradiclidaceae (Engl.) Takht. (1986), Rutaceae Juss. (1789), Sapindaceae Juss. (1789), Simaroubaceae DC. (1811) (APG II, 2003).

## **Família Anacardiaceae**

A família Anacardiaceae tem distribuição pantropical, sendo constituída por cerca de 80 gêneros e 800 espécies, presente em ambientes secos e úmidos, principalmente em terras baixas nas regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo, estendendo até regiões temperadas (PELL et al., 2011). No Brasil, estão catalogados 14 gêneros com 57 espécies de Anacardiaceae, sendo que 14 delas são restritas ao país (SILVA-LUZ & PIRANI, 2010).

São geralmente árvores ou arbustos com canais resinosos que, quando expostos por injúrias, têm um cheiro característico. Esta família é caracterizada pela presença de canais secretores ou ductos resiníferos de látex e terpenos, também mostrando compostos como taninos e cristais de oxalato de cálcio no parênquima e sílica em algumas células do tecido do xilema (CRONQUIST, 1981)

Muitas espécies de Anacardiaceae são conhecidas por serem plantas frutíferas de alto valor econômico, tais como: caju (*Anacardium occidentale* L.), manga, (*Mangifera indica* L.), pistache (*Pistacia vera* L.), cajá-manga (*Spondias cytherea* Sonn.), cajá (*S.*

*mombim* L.), ciriguela (*S. purpurea* L.), arruda (*S. tuberosa*); ou por produzirem boa madeira como a aroeira-preta (*M. urundeuva* Fr. Allemão) e aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) (BARROSO et al., 1991).

Muita importância é dada a estas espécies por apresentarem grande variedade de atividades farmacológicas, tais como: antimicrobiana, anti-inflamatória, antitumoral e antioxidante. Além disso, espécies da família Anacardiaceae têm mostrado bastante promissoras na busca de substâncias bioativas (CORREIA et al, 2006).

Segundo Correia et al. (2006) os gêneros mais estudados nesta família são *Mangifera*, *Rhus* (*Toxicodendron*), *Anacardium*, *Spondias*, *Lannea*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Pistacia*, *Lithraea*, *Tapirira* e *Melanorrhoea*. Dos quais *Mangifera*, *Rhus* e *Anacardium* destacam pelo número de investigações referentes à composição química de suas espécies e atividades biológicas de seus extratos e metabólitos.

Quanto aos constituintes químicos já isolados dos extratos de diversas espécies de Anacardiaceae, observando que esta se mostra rica em flavonoides, terpenos, esteroides, xantonas e, principalmente, dos lipídios fenólicos e derivados. Destacando-se que entre os flavonoides, os bioflavonoides são os mais frequentes (CHAVES et al., 2010).

Dentre os terpenoides, dois triterpenos isolados de *Schinus terebinthifolius* são caracterizados como inibidores específicos da fosfolipase A<sub>2</sub>. Além disso, extratos de *Schinus terebinthifolius* e de *Schinus weinmannifolia* apresentaram atividade antirradicalar em ensaios de peroxidação lipídica e com DPPH (VELÁSQUEZ et al., 2003).

No Brasil, os gêneros mais conhecidos são *Anacardium*, *Rhus*, *Mangifera* e *Myracrodruon* (CORREIA et al., 2006).

## **O gênero *Myracrodruon***

Gênero sul-americano, com apenas duas espécies, *Myracrodruon urundeuva* Freire Allemão e *Myracrodruon balansae* (Engler) D. A. Santin ocorrentes no Brasil, Bolívia, Paraguai e norte da Argentina (SANTIN & LEITÃO-FILHO, 1991).

Espécies de plantas do gênero *Myracrodruon* foram e estão sendo estudadas química e farmacologicamente e, com isto, muitos compostos foram isolados e identificados. Diferentes classes de compostos orgânicos existentes nessas espécies foram

relatadas, incluindo óleos essenciais, taninos, lignanas, chalconas, flavonoides entre outros (GRISSI, 2010).

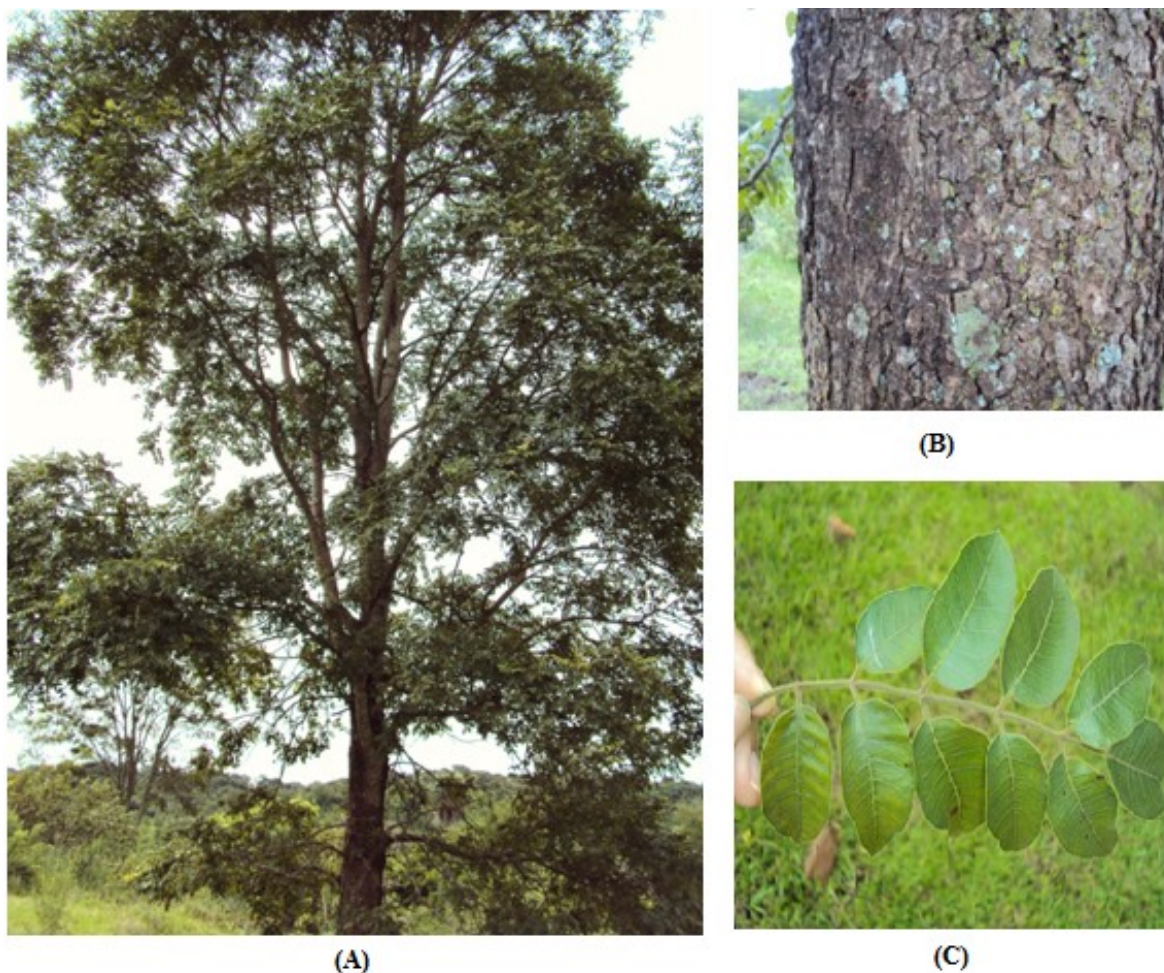
### **A espécie *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (aroeira-preta)**

*M. urundeuva* Fr. All. é conhecida popularmente como aroeira-preta, sendo uma espécie da família Anacardiaceae de distribuição natural limitada à América do Sul, nativa no Brasil e mais amplamente distribuída nas regiões nordeste, sudeste e centro-oeste, ocorrendo também na região da Bolívia, Paraguai e Argentina (DORNELES et al., 2005).

No Brasil, a espécie ocorre nas regiões nordeste, sudeste e centro-oeste, agregada aos ambientes secos de Cerrado, Savanas e Caatingas (SANTIN, 1989). Até 1991, *Myracrodruon* era um subgênero do gênero *Astronium*, o gênero *Myracrodruon* foi revelado e a espécie *Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl. passou a ser denominada de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (SANTIN, 1989; SANTIN & LEITÃO-FILHO, 1991).

Trata-se de uma planta decídua, heliófila e seletiva xerófila que ocorre em agrupamentos densos, tanto em formações abertas e secas, como em formações fechadas e úmidas, podendo atingir 20 metros de altura na Caatinga, Cerrado e em zonas de transição cerrado-floresta estacional, e 35 metros nas florestas pluviais (LORENZI, 1992).

Seu tronco pode chegar a mais de um metro de diâmetro, encimado por larga copa e ramos flácidos (Figura 6), com madeira pardo-avermelhada de elevada resistência mecânica e considerável durabilidade, sendo praticamente imputrescível por possuir em sua casca aproximadamente 15% de tanino – composto químico com efeitos fungicidas e inseticidas, que a protege da ação de herbívoros e fungos patogênicos (QUEIROZ et al., 2002a; PACHECO et al., 2006).



**Figura 6.** Foto de *M. urundeuva* Fr. All.(a) coletada na reserva legal da FESURV – Universidade de Rio Verde; tronco (b) e parte aérea (c).

Fonte: Arquivo pessoal.

Geralmente, a espécie floresce entre julho e setembro, e a maturação dos frutos ocorre de setembro a outubro (LORENZI, 1992). A espécie é caracterizada por apresentar caducifolia nos meses mais secos, coincidindo com a época de floração (ANDRADE et al., 2000).

A aroeira-preta possui folhas alternas, imparipenadas, com cinco a sete pares de folíolos, ovalado-obtusos, pubescentes em ambas as faces. Suas flores são em panículas, purpúreas com pelos brancos e suas sementes, de comportamento ortodoxo, estão contidas dentro de frutos drupáceos, pequeninos, globoso-ovais com exocarpo fortemente lignificado e envoltório membranáceo liso. A germinação é epígena e fanerocotilar ocorrendo em aproximadamente dois dias (QUEIROZ et al., 2002a; SILVA et al., 2002; ESAM, 2007; GUERRA, 2008).



Por sua importância como recurso médico e da madeira, esta planta foi identificada como uma espécie prioritária para conservação (VIEIRA et al., 2002). Além da lista atual elaborada pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA 2012), *M. urundeuva* Fr. All. também está na lista de plantas ameaçadas de extinção que foi desenvolvida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 2012). A aroeira foi classificada como vulnerável, pelas práticas predatórias de exploração e seu potencial para a extinção (MONTEIRO et al., 2012).

Além do uso extensivo da madeira, a aroeira é ameaçada pelas técnicas agressivas de coleta de cascas usadas para atender as demandas de indústrias farmacêuticas, bem como para o comércio em mercados locais e feiras (OLIVEIRA et al., 2007.; ALBUQUERQUE et al., 2008 a, b; MELO et al., 2009).

Como qualquer grande árvore, *M. urundeuva* Fr. All. abriga grande número de organismos da flora e fauna sob a copa, e é considerada uma espécie-chave do ecossistema (GAINO et al., 2011). Estudos realizados pelo Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) indicam que um pedaço de aroeira-preta do tamanho de uma caixa de fósforos suporta seis toneladas de carga, sem se deformar (MAINIERI & CHIMELO, 1989; BRAGA, 1990).

A aroeira-preta também possui alto poder medicinal, em suas entrecascas encontram vários componentes fitoquímicos que possuem propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes para várias afecções, principalmente ginecológicas e ferimentos cutâneos; anti-histamínicas e analgésicas (BERGER et al., 2007);

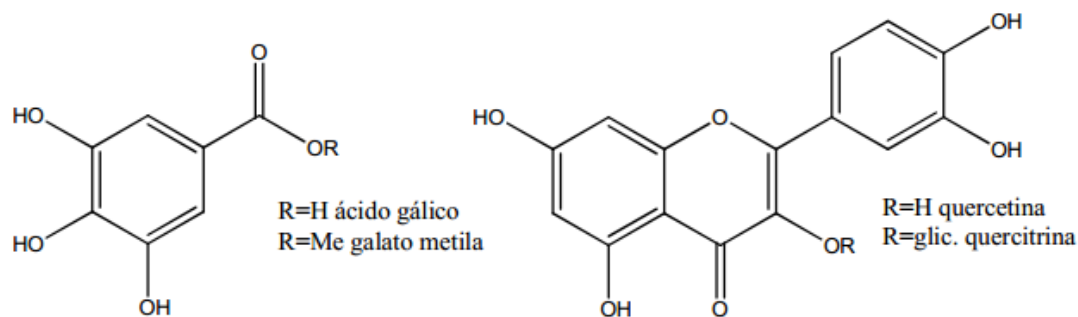
As raízes são usadas no tratamento de reumatismo e as folhas são indicadas para o tratamento de úlceras (ALMEIDA et al., 1998); suas folhas quando maduras servem de alimentação para o gado. No centro-oeste os locais de sua ocorrência refletem solos férteis, sendo usada como um indicador de padrão de terras boas para a agricultura (SANTIN, 1989).

É uma das espécies indicadoras de cerradão mesotrófico, dentro da área de cerrado do Brasil Central (Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais), ocorrendo em solos com pH e teor de cálcio mais altos. O preparo e a manutenção de mudas em viveiro também mostram que a aroeira-preta é exigente em nutrientes (QUEIROZ et al., 2002).

## Constituintes Químicos da Espécie *M. urundeuva* Fr. All.

A espécie *M. urundeuva* Fr. All. possui altas concentrações de compostos fenólicos, especialmente taninos, e certo número de estudos demonstraram os efeitos terapêuticos destes compostos (CHAVES et al., 1998; MORAIS et al., 1999; QUEIROZ et al., 2002; VIANA et al., 1997; MONTEIRO et al., 2006).

Bendassoli et al.(2011) isolaram da espécie o ácido gálico, a sua forma metilada, o galato de metila, o flavonoide glicosilado quercetina e sua aglicona, a quercetrina (Figura 7), com os resultados preliminares, pôde-se concluir que tanto a quercetrina quanto o galato de metila, possuem grande potencial inseticida. Verificando também que a glicose presente no flavonoide e que a hidroxila metilada no ácido gálico aumentam a atividade inseticida.

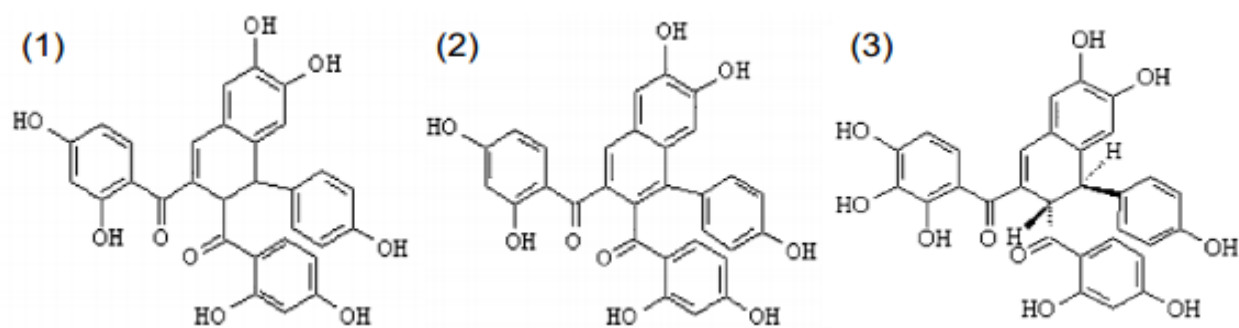


**Figura 7.** Estruturas químicas do ácido gálico e sua forma metilada e o flavonoide glicosilado quercetina e sua aglicona quercitrina.

Fonte: Bendassoli et al., 2011.

Chalconas, uma subclasse da família dos flavonoides, são amplamente conhecidas pelas suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidante. Albuquerque et al. (2011)., mostraram pela primeira vez que chalconas diméricas isoladas das casca do caule de *M. urundeuva* Fr. All. apresentaram atividade anti-inflamatória, e foram eficazes na conjuntivite alérgica em ratos.

Estudos realizados a partir da sua entrecasca resultaram na separação de sete frações químicas, sendo duas com substâncias bioativas de atividade farmacológica: uma chalcônica – as chalconas diméricas: urundeuquina A, B e C (Figura 8) e outra tânica – os taninos condensados: tipo catéquico e pirogálico (NOBRE-JUNIOR et al., 2009).



**Figura 8.** Estrutura química das urundevina A (1), urundevina B (2) e urundevina C (3) isoladas da entrecasca da *M. urundeuva* Fr. All.

Fonte: NOBRE-JÚNIOR, 2009.

Queiroz et al. (2002) mostraram que a presença de fisetina no extrato etéreo indicou que os taninos da aroeira-preta são do tipo profisetidinas, e que a elevada quantidade de extrativos fenólicos classifica essa madeira como rica em metabólitos secundários, que podem ou não estar associados com a lignina e que, provavelmente, são os principais responsáveis pela larga resistência natural de *M. urundeuva* Fr. All. a degradação química e biológica.

### Atividades Biológicas

Um único vegetal é capaz de produzir milhares de substâncias químicas diferentes, em que apenas uma ou algumas são responsáveis pela atividade terapêutica ou tóxica. Os testes biológicos e farmacológicos são importantes para localizar a atividade biológica procurada no extrato da planta e nas numerosas frações obtidas nas diferentes etapas de purificação e separação (HOSTETTMANN, QUEIROZ, VIEIRA, 2003).

### Alelopatia

Em 1937, o alemão Hans Molish conceituou pela primeira vez a alelopatia, sendo este termo citado por diversos autores ao longo dos anos. Atualmente a alelopatia é definida, pela *International Allelopathy Society* como sendo os processos que envolvem a

produção de metabólitos secundários por plantas e micro-organismos que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos com efeitos positivos e negativos (DIAS et al., 2005).

Apesar de ser uma atividade biológica de ampla possibilidade de aplicação, as investigações em alelopátia são concentradas nas interações entre espécies vegetais cultivadas e na prospecção de novas moléculas com propriedades herbicidas. Os herbicidas são compostos que realizam o controle químico de plantas daninhas (CARMO et al., 2007).

A busca por herbicidas que possam ser extraídos de fontes naturais é essencialmente importante para as plantas medicinais, uma vez que não é recomendado o uso de agrotóxicos sintéticos no cultivo destas, podendo ter contaminação com resíduos tóxicos, ocasionando problemas para a saúde, além de causar redução na concentração dos princípios ativos do vegetal (REIS & MARIOT, 2001).

Os compostos que mais frequentemente causam efeitos alelopáticos pertencem aos grupos dos ácidos fenólicos, cumarinas, terpenoides, flavonoides, alcaloides, glicosídeos, cianogênicos, derivados do ácido benzoico, taninos e quinonas complexas (PIÑA-RODRIGUES & LOPES, 2001).

Para avaliar o potencial alelopático de uma determinada planta são realizados bioensaios de germinação de sementes de espécies cultivadas, tais como alface (*Lactuca sativa* L.), repolho (*Brassica oleracea* var. Capitata L.) e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), sendo facilmente encontradas e bastante sensíveis a vários aleloquímicos (SOUZA et al., 2007).

A principal vantagem do uso de sementes destas espécies como alvo de estudos alelopáticos reside na sensibilidade das sementes, mesmo em baixas concentrações de aleloquímicos, o processo de germinação pode ser comprometido. Além disso, a germinação é rápida, em aproximadamente 24 horas, possui crescimento linear, é insensível às diferenças de pH em ampla faixa de variação e aos potenciais osmóticos das soluções (COELHO et al., 2011).

Atualmente, a alelopátia se caracteriza como uma nova ciência prioritária nos países desenvolvidos, e está se tornando corrente na maioria dos países do mundo (MALHEIROS & PERES, 2001). Os estudos multidisciplinares entre agronomia e a área de produtos naturais são convenientes, as estratégias utilizadas para a descoberta de um aleloquímico são similares às usadas na descoberta de novas drogas: envolvem testes

químicos preliminares dos extratos brutos e testes de bioatividade de substâncias puras (GHISALBERTI, 2008).

## **Atividade Antioxidante**

Existem fatores de diversas ordens associados ao estresse oxidativo, como: hábitos de vida considerados inapropriados (consumo de álcool, dieta inadequada, exercício físico realizado de forma extrema e exposição à radiação não ionizante ultravioleta e outras ondas curtas); condições ambientais impróprias e envelhecimento. Há também patologias crônicas (*diabetes mellitus*, hipertensão arterial, entre outras) e patologias degenerativas (Mal de Alzheimer e Mal de Parkinson) associadas ao estresse redox (HALLIWELL, 2001).

O estresse oxidativo é uma condição biológica em que ocorre desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a sua desintoxicação através de sistemas biológicos que as removam ou reparem os danos por elas causados (VASCONCELOS et al., 2007).

Muitas doenças e processos degenerativos são associados com a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO's), as quais são formadas durante o metabolismo normal das células aeróbias ou podem ainda ser induzidas por processos físicos ou reações químicas (HENSLEY et al., 2000).

Espécies reativas incluem, em cada grupo, não só os radicais ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $\cdot OH$ ,  $NO\cdot$ ), mas também intermediários neutros ou carregados ( $H_2O_2$ ,  $NO_3^-$ ) e outras espécies capazes de formar radicais livres no organismo humano ( $^1O_2^*$ ,  $O_3$ , Fe, Cu) (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007).

Dentre os antioxidantes enzimáticos mais estudados, destacam as superóxido dismutases, consideradas como a linha de frente de defesa antioxidante, embora possam exibir atividade peroxidásica, na presença de excesso de  $H_2O_2$ ; destacam-se também a catalase e as glutatonas peroxidases, encarregadas de reduzir peróxidos geradores de radicais  $\cdot OH$  e  $\cdot OR$ , respectivamente (OLIVEIRA et al., 2009).

Quanto aos antioxidantes de baixo peso molecular, os chamados antioxidantes "químicos", devem incluir algumas vitaminas (C, E e A). A vitamina E é a designação dada a um grupo de compostos antioxidantes lipossolúveis, entre os quais o  $\alpha$ -tocoferol é a forma mais ativa. É encontrada em lipoproteínas e membranas, atuando no bloqueio da

reação em cadeia da peroxidação lipídica, através do sequestro do radical peroxila (SOUSA, 2007).

O uso de antioxidantes naturais tem aumentado com as descobertas das propriedades dos componentes que são produzidos pelas plantas através do metabolismo secundário. Atribui-se à presença de compostos fenólicos, destacando os flavonoides, a atividade antioxidante dos compostos produzidos pelos vegetais, podendo estes atuar como agentes redutores, sequestradores de radicais livres, quelantes de metais ou desativadores do oxigênio singlete e/ou exibir simultaneamente, mais de uma dessas funções (HALLIWELL et al., 2001).

O termo antioxidante tem natureza multiconceitual. No entanto, 'antioxidante' pode ser definido como uma classe heterogênea de moléculas naturais, que presentes em baixas concentrações, comparativamente às biomoléculas que protegeriam, são geralmente usados para inibir, prevenir ou retardar a deterioração pela oxidação (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007).

A tendência atual dos consumidores é procurar cada vez mais produtos naturais, causada pela crescente preocupação com a saúde, tornando necessário o estudo do uso de condimentos e ervas aromáticas como antioxidantes naturais em substituição aos convencionais BHA e BHT amplamente utilizados (MARIUTTI & BRAGAGNOLO, 2007).

Muitos estudos são feitos para identificar compostos antioxidantes com atividade farmacológica e baixa toxicidade. Neste contexto, a etnofarmacologia representa o meio mais importante de encontrar moléculas de importância terapêutica. As misturas das ervas usadas podem apresentar uma atividade antioxidante oriunda do seu conteúdo de substâncias antioxidantes que agem provavelmente de forma sinérgica. Esta hipótese e a ausência de toxicidade são importantes para entender o uso desde o tempo antigo até os dias atuais (MORAIS & BRAZ-FILHO, 2007).

## **Compostos Fenólicos**

Compostos fenólicos são constituintes ubíquos de plantas superiores encontrados em uma ampla variedade de alimentos vegetais comumente consumidos, tais como frutas,

legumes, cereais e em bebidas de origem vegetal, como vinho, chá e café (FARAH, 2006). Estes compostos são metabólitos secundários de plantas geralmente envolvidos na defesa contra a radiação ultravioleta ou a agressão por agentes patogênicos.

Os fenólicos são definidos quimicamente como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (MALACRIDA & MOTTA, 2005).

Diversos compostos fenólicos são descritos em alimentos vegetais e podem ser agrupados em diferentes classes de acordo com a sua estrutura química básica (tais como o tipo e o número de anéis de fenol), e em subclasses diferentes, de acordo com as substituições específicas na estrutura básica, de associação com hidratos de carbono e formas polimerizadas (MANACH et al., 2004).

As frutas são importantes fontes de compostos fenólicos, principalmente as de coloração vermelha ou azul. Estes compostos apresentam vários efeitos biológicos, dos quais podem ser citados: ações antioxidantes; antimicrobiana; antiplaquetária; efeitos antialérgicos; anti-inflamatória e vasodilatadora. Já para os vegetais, apresentam função de defesa, incluindo defesa contra fatores externos e internos (AHERNE & O'BRIEN, 2002).

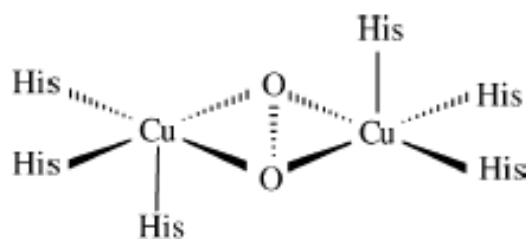
A presença de compostos fenólicos, tais como flavonoides, ácidos fenólicos, antiocianinas, além dos já conhecidos; vitaminas C, E e carotenoides contribuem para os efeitos benéficos destes alimentos. Somando-se a isto, estudos têm demonstrado que polifenóis naturais possuem efeitos significativos na redução do câncer, e evidências epidemiológicas demonstram correlação inversa entre doenças cardiovasculares e consumo de alimentos fonte de substâncias fenólicas, possivelmente por suas propriedades antioxidantes (BROINIZI et al., 2007)

No grande grupo dos compostos fenólicos, os flavonoides e os ácidos fenólicos são os que mais se destacam e, são considerados os antioxidantes fenólicos mais comuns de fontes naturais. Estas substâncias apresentam amplamente distribuídas no reino vegetal; sendo, desta maneira, encontradas em todas as frutas e outros vegetais (KARAKAYA, 2004).

## Hiperpigmentação da Pele

Hiperpigmentação da pele são desordens de pigmentação que têm origem numa produção exagerada de melanina. Essas manchas surgem em virtude de fatores como envelhecimento, alterações hormonais, inflamações, alergias e exposição solar, dentre outros. Diversas substâncias são utilizadas no tratamento de hiperpigmentações, tanto sozinhas, quanto em associações. Pode-se citar, por exemplo, a hidroquinona, o ácido glicólico, o ácido retinoico e o ácido kójico como agentes despigmentantes de grande importância (GONCHOROSKI & CÔRREA, 2005).

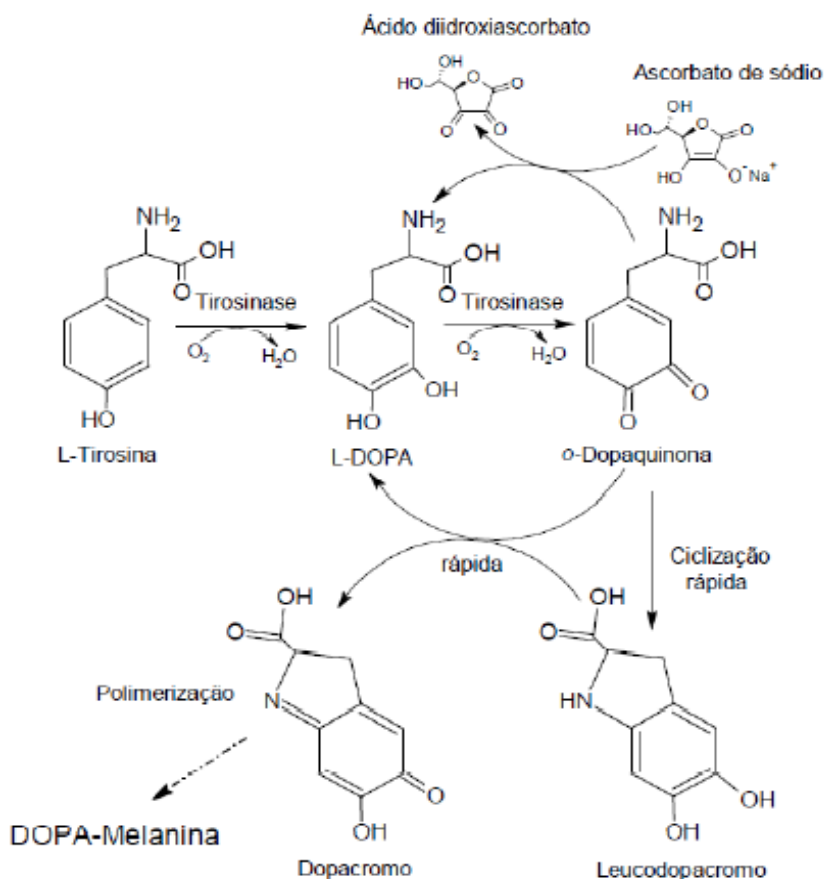
A biossíntese de melanina nas plantas, micro-organismos e células de mamíferos é produzida a partir de uma enzima essencial conhecida como tirosinase (fenol oxidase) (Figura 9).



**Figura 9.** Ligações dos átomos de cobre sítio ativo da enzima tirosinase.  
Fonte: MIYAZAWA et al., 2003.

A melanina é formada através de uma série de reações oxidativas envolvendo o aminoácido tirosina na presença da enzima tirosinase (PARVEZ et al, 2007). As melaninas podem ser classificadas em dois grupos: eumelaninas e feomelaninas (LIN & FISCHER, 2007). As eumelaninas são pigmentos negros ou marrons, geralmente insolúveis, formados por sequências de reações oxidativas a partir da tirosina, L-Dopa, dopamina ou outras catecolaminas. As feomelaninas são pigmentos de cores mais claras como vermelho ou amarelo, e podem ser obtidas de forma semelhante às eumelaninas, possuindo como precursores a cisteína ou a glutatona (SANCHEZ-FERRER et al., 1995) (Figura 10).





**Figura 10.** Biossíntese da melanina.

Fonte: FARIA et al., 2007.

Nos vegetais a tirosinase catalisa as reações iniciais na formação de melanina, a partir de tirosina, mas também oxida compostos fenólicos, vários aminoácidos e proteínas que promovem o escurecimento dos tecidos vegetais quando danificada (CAIXEIRO et al., 2012). Considerando que algumas substâncias isoladas de plantas apresentam atividade sobre a tirosinase, principalmente as que possuem estrutura fenólica, tais como flavonoides, taninos, tocoferóis e derivados do ácido cinâmico, a flora brasileira constitui uma fonte potencial na descoberta de novos agentes (MACRINI et al., 2009).

Alterações na distribuição das melaninas podem levar a origem de uma série de doenças dermatológicas, entre as quais existem as resultantes da acumulação excessiva de pigmentação da pele, tais como melasma, manchas da idade e danos relacionados actínicas. Pelos efeitos indesejáveis causados ou associados à ação da tirosinase, há um crescente interesse em compostos que podem inibir esta enzima, assim eficientemente atuando em desordens da pigmentação (ZAHED et al., 2005)

Diversos inibidores naturais e sintéticos da tirosinase são identificados. Eles podem ser classificados de acordo com a interferência causada nas etapas da melanogênese, tais como (CHANG, 2009):

- agentes redutores (que causam redução da o-dopaquinona à L-DOPA);
- sequestrantes da o-dopaquinona;
- substratos enzimáticos alternativos (compostos fenólicos, cujos produtos quinoídes de reação absorvem numa diferente faixa espectral que o dopacromo);
- inativadores não específicos enzimáticos (como alguns ácidos e bases que desnaturam a enzima);
- inativadores específicos da tirosinase (também chamados de substratos suicidas, já que se ligam irreversivelmente à enzima) e;
- inibidores específicos da tirosinase (se ligam reversivelmente à tirosinase reduzindo sua capacidade catalítica). Somente os inibidores específicos da enzima são considerados inibidores verdadeiros.

## REFERÊNCIAS

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.

ALBUQUERQUE, A. P.; MONTEIRO, J. M.; RAMOS, M. A.; AMORIM, E. L. C. Medicinal and magic plants from a public market in Northeastern Brazil. **Journal Ethnopharmacology**, v. 110, p. 76-91, 2007.

ALBUQUERQUE, R. J. M.; LEAL, L. K. A. M.; BANDEIRA, M. A.; VIANA, G. S. B.; RODRIGUES, L. V. Chalcones from *Myracrodruon urundeuva* are efficacious in guinea pig ovalbumin-induced allergic conjunctivitis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 6, p. 953-962, 2011.

ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, T. A. S.; RAMOS, M. A.; NASCIMENTO, V. T.; LUCENA, R. F. P.; MONTEIRO, J. M.; ALENCAR, N. L. & ARAÚJO, E. L. How ethnobotany can aid biodiversity conservation: reflections on investigations in the semi-arid region of NE Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 18, n. 1, p. 127-150, 2008a.

ALBUQUERQUE, U. P.; LUCENA, R. F. P.; LINS-NETO, E. F. M. Seleção e escolha dos participantes da pesquisa. *In*: ALBUQUERQUE, U. P.; LUCENA, R. F. P.; CUNHA, L. V. F. C. **Métodos e Técnicas na Pesquisa Etnobotânica**. 2ª Ed. Recife. Comunigraf Editora/NUPEEA, p. 21-41, 2008b.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. 188p.

ANDRADE, M. W.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A. Micropropagação da Aroeira-Preta (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, p. 174-180, 2000.

ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, p. 399-436, 2003.

BARROSO, G. M., PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. v. 2, Viçosa: Imprensa Universitária, 1991. p. 114-126.

BENDASSOLLI, R. H.; SARRIA, A. L. F.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; BARBOSA, A. O.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Atividade inseticida de substâncias isoladas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae), para o controle de formigas cortadeiras (*Atta Sexdens* Rubropilosa). **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2011.

BERGER, A. P. A.; RANAL, M.; LOPES, S. W.; DORNELES, M. C.; SANTANA, D. G.; PEREIRA, R. S. Emergência de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão

(Anacardiaceae) do vale do Rio Araguari, MG. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1029-1031, 2007.

BIAVATTI, M. W.; MARENSI, V.; LEITE, S. N.; REIS, A. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 640-653, 2007.

BORLAUG, N. E. Feeding a word of 10 million people: the miracle ahead. 2002. In: R. Bailey (ed.). Global warming and other eco-myths, p. 29-60. Competitive Enterprise Institute, Roseville, EUA.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste: especialmente do Ceará**. 4<sup>a</sup> ed., Natal: Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 1960. 315 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Produzir e aplicar conhecimento na busca de universalidade e da EQUIDADE, com qualidade da assistência à saúde da população**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Anais da 2<sup>a</sup> Conferência Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde. SCTIE / DECIT, CNS. Brasília, 2005. 272 p.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n.1, p. 229-239, 2010.

BRITO, A. R. M. S. & BRITO, A. A. S. Forty years of Brazilian medicinal plant research. **Journal Ethnopharmacology**, v. 49, n. 2, p. 53-67, 1993.

BROIZINI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI-FILHO, J. Evaluation of the Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Naturally Contained in By-products of the Cashew Apple (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 902-908, 2007.

CAIXEIRO, J. M. R.; GONÇALVES, V. T.; OLIVEIRA, M. C. C.; SANT'ANNA, C. M. R.; RUMJANEK, V. M.; DACOSTA, J. B. N. Dialkylphosphorylhydrazones as potent tyrosinase inhibitors. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 5, p. 804-809, 2012.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal review. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, n.1-2, p.131-134, 2005.

CARMELLO-GUERREIRO, S. M. & PAOLI, A. A. S. Aspectos morfológicos anatômicos da semente de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem. - Anacardiaceae), com notas sobre paquicalaza. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n.1, p. 222-228, 1999.

CARMO, F. M. S.; BORGES, E. E. L.; TAKAKI, M. M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, p 697-705, 2007.

CECHINEL FILHO, V. & YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n.1, p. 99-105, 1998.

CHANG, T. S. An updated review of tyrosinase inhibitors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 6, p. 2440-2475, 2009.

CHAVES, M. H.; CITÓ, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D.; COSTA, D. A.; OLIVEIRA, C. A. A.; COSTA, A. F.; BRITO JÚNIOR, F. E. M. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 106-112, 2010.

CHAVES, M. C.; SANTOS, F. A.; MENEZES, A.M.S.; RAO, V. S. N. Experimental evaluation of *Myracrodruon urundeuva* bark extract for antidiarrheal activity. **Phytotherapy Research**, v. 12, n. 1, p. 549-552, 1998.

COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; OLIVEIRA, A. K.; DIOGENES, F. E. P. Atividade alelopática de extrato de sementes de juazeiro. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n.1, p. 108-111, 2011.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, n.6, p. 1287-1300, 2006.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Columbia Univ. Press: New York, Estados Unidos da América, 1981. p. 1262.

CROZIER, A.; JAGANNATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Phenols, polyphenols and tannins: an overview. In: CROZIER, A.; CLIFFORD, M. N.; ASHIHARA, H. **Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet**. Ames, Iowa – EUA. Blackwell Publishing, 2006. p. 1-24.

DIAS, J. F. G.; CIRIO, G. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Contribuição ao estudo alelopático de *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss, Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 15, n. 3, p. 220-223, 2005.

DINIZ, A. C. B. Alteração dos metabólitos secundários em plantas de *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae) submetidas à secagem e ao congelamento. **Acta Botânica Brasílica**, v. 21, n. 2, p. 443-450, 2007.

DOAN, A. T.; IRVIN, G.; FELTON, G. Temporal effects on jasmonate induction of anti-herbivore defense in *Physalis angulata*: seasonal and ontogenetic gradients. **Biochemical System and Ecology**, v. 32, n. 2, p.117-126, 2004.

DORNELES, M. C.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Germinação de diásporos recém-colhidos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) ocorrente no cerrado do Brasil Central. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 2, 2005.

EITEN, G. Delimitação do conceito de Cerrado. **Arquivos do Jardim Botânico**, Rio de Janeiro, v. 21, 1977, p. 125-134.

ESAM, ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE MOSSORÓ. Parque Zoobotânico. Disponível em: <<http://www.esam.br/zoobotanico/vegetais/aroeira.htm>> Acesso em: 24 junho 2012.

ESPINOSA, M. M.; BIESKI, I. G. C.; MARTINS, D. T. O. Probability sampling design in ethnobotanical surveys of medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 0-0, julho, 2012.

FARAH, A. & DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Braz. Journal of Plant Physiology**, v.18, n.1, p. 23-36, 2006.

FARIA, R. O.; MOURE, V. R.; AMAZONAS, M.; KRIEGER, N.; MITCHELL, D. A.; The biotechnological potential of Mushroom tyrosinases. **Food Technology and Biotechnology**, v. 45, n. 3, p. 287-294, 2007.

GAINO, A. P. S. C.; MORAES, M. L. T.; MOREIRA, J. P.; CARDIN, L. T.; MORAES, M. A.; SILVA, A. M.; FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M. Mating system in *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae): implications for conservation genetics. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, n. 4, p. 545-551, 2011.

GHISALBERTI, E. L. Detection and isolation of Bioactive Natural Products. *In*: COLEGATE, S. M.; MOLYNEUX, R. Journal Bioactive natural products. **Determination, isolation, and structural determination**. CRC Press: NW, 2<sup>a</sup> ed., 2008. p. 13-15.

GRISSI, F. A. **Aspectos fisiológicos de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), sob níveis distintos de saturação hídrica em ambiente protegido, e área ciliar em processo de recuperação**. 2010. 126f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GONCHOROSKI, D. D. & CÔRREA, G. M. Tratamento de hiperemia pós-inflamatória com diferentes formulações clareadoras. **Infarma**, v. 17, n. 3/4, p. 84-88, 2005.

GOODLAND, R. J. & POLLARD, R. The Brazilian Cerrado vegetation: a fertility gradient. **Journal of Ecology**, v. 61, p. 219-224, 1973.

GUARIM NETO, G. & MORAIS, R.G. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botânica Brasílica**, v. 17, n. 4, p. 561-584, 2003.

GUERRA, C. R. S. B. **Conservação genética *ex situ* de populações naturais de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. em sistema silvipastoril.** 2008. 108f. Tese (Doutorado em Agronomia) – UNESP, Ilha Solteira, São Paulo.

HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine.** 4ª ed. Oxford: Oxford University Press, 2007. p. 53, 436, 497.

HALLIWELL, B. Free radicals and other reactive species in disease. *In: Encyclopedia of Life sciences.* Nature Publishing Group, 2001. p. 1-7.

HENSLEY, K.; ROBINSON, K. A.; GABBITA, S. P.; SALSMAN, S.; FLOYD, R. A. A reactive oxygen species, cell signaling and cell injury. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 28, n. 10, p.1456-1462, 2000.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de Plantas Superiores.** São Carlos: EdUFSCar, 2003. p. 54.

IBAMA –INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Portaria Normativa N°. 37, de 3 de abril de 1992.** Torna pública a lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçada de extinção. Brasília: Diário Oficial da União, de 03 de Abril de 1992.

KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 44, n. 6, p. 453-64, 2004.

KLINK C.A. & MACHADO R. B. Conservation of Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**. v. 19, p. 707-713, 2005.

KUTCHAN, T. M. Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. **Plant Physiology**, v. 125, p. 58-60, 2001.

LIÃO, L. M. **Alcaloides Sesquiterpênicos Piridínicos e Triterpenos Quinonametídeos Degradados de *Salacia campestris* (Hippocrateaceae).** 1997. 183f. Tese (Doutorado em Química) Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

LIÃO, L. M. **Triterpenos Quinona-Metídeos de *Salacia campestris* (Hippocrateaceae).** 1994. 145f. Dissertação (Mestre em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

LIN, J. Y.; FISHER, D. E. Melanocyte biology and skin pigmentation. **Nature**, v. 445, n. 7130, p. 843-850, 2007.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras.** São Paulo: Plantarum, 1992. 352 p.

MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; PEREIRA, P. G. P.; CALDAS, E. F.; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro.** Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional, Brasília, DF, 2004.

MAINIERI, C.; CHIMELO, J. P. **Fichas características de madeiras brasileiras**. São Paulo: IPT, 1989. 49p.

MALACRIDA, C. R. & MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 659-664, 2005.

MALHEIROS, A. & PERES, M. T. L. P. Alelopatia: interações químicas entre espécies. *In*: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001. p. 503-523.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MANS, D. R.; ROCHA, A. B.; SCHWARTSMANN, G. Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. **Oncologist**, v. 5, n. 3, p. 185-98, 2000.

MARIUTTI, L. R. B. & BRAGAGNOLO, N. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentício. **Brazilian Journal Food & Technology**. v. 10, n. 2, p. 96-103, 2007.

MELO, J.G.; AMORIM, E. L. C. & ALBUQUERQUE, U.P. Native medicinal plants commercialized in Brazil – priorities for conservation. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.156, p. 567-580, 2009.

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E. 1998. Flora vascular do cerrado. p. 287- 556. *In*: M. S. & S. P. Almeida (Eds.) **Cerrado: ambiente e flora**. Embrapa- CPAC. Planaltina, DF.

MITTERMEIER, R. A; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; BRANDON, K. A brief history of biodiversity conservation in Brazil. **Conservation Biology**. v. 3, p. 601-611, 2005.

MITTERMEIER, R. A.; ROBLES, P.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C. G.; LAMOREUX, J.; FONSECA, G. B. Hotspots Revisited: Earth's biologically richest and most endangered ecoregions. **Conservation International**, Mexico City: CEMEX, 2004. 350 p.

MIYAZAWA, M.; OSHIMA, T., KOSHIO, K., ITSUZAKI, Y., & ANZAI, J. Tyrosinase Inhibitor from Black Rice Bran. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6953-6956, 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). Instrução Normativa n° 6, de 23 de setembro de 2008. **Lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de**



**extinção.** Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, v. 145, n. 185, 24 set. 2008. Seção 1, p. 75-83.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; LINS NETO, E.M.F.; ARAÚJO, E.L. & AMORIM, E.L.C. Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. **Journal of Ethnopharmacology**, v.105, p. 173-186, 2006.

MONTEIRO, J. M.; ARAUJO, E. L.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Valuation of the aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão): perspectives on conservation. **Acta Botânica Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 125-132, 2012.

MORAIS, S. M. & BRAZ FILHO, R. **Produtos naturais – estudos químicos e biológicos.** Fortaleza: EdUECE, 2007. 240 p.

MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; QUEIROZ, C. R. A. A. Studies on polyphenols and lignin of *Astronium urundeuva* wood. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 10, p. 447-452, 1999.

MOREIRA, M. D.; PICANÇO, M. C.; SILVA, E. M.; MORENO, S. C.; MARTINS, J. C. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: VENZON M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças.** Viçosa: EPAMIG: CTZM, 2006, p. 89-120.

MUÑOZ L. B. F. **Plantas Medicinales y Aromaticas:** Estudio, Cultivo y Procesado. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid, 1996.

NOBRE-JÚNIOR, H. V.; OLIVEIRA, R. A.; MAIA, F. D.; NOGUEIRA, M. A.; MORAES, M. O.; BANDEIRA, M. A.; ANDRADE, G. M.; VIANA, G. S. Neuroprotective effects of chalcones from *Myracrodruon urundeuva* on 6-Hydroxydopamine-Induced cytotoxicity in rat mesencephalic cells. **Neurochemical Research**, v. 34, p. 1066–1075, 2009.

OLIVEIRA, R. L. C.; LINS, E. M. F.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. Conservation priorities and population structure of woody medicinal plants in an area of Caatinga vegetation (Pernambuco State, NE Brazil). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 132 (1-3), p. 189-206, 2007.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. & RATTER, J. A. Vegetation physiognomies and woody flora of the Cerrado biome. In OLIVEIRA, PS. and MARQUIS, RJ. (Eds.). **The cerrados of Brazil:** Ecology and natural history of a Neotropical savanna. New York: Columbia University Press, 2002, 398 p.

ORME, C. D. L.; DAVIES, R. G.; BURGESS, M.; EIGENBROD, F.; PICKUP, N.; OLSON, V. A.; WEBSTER, A. J.; DING T-S, RIDGELY, R. S.; STATTERSFIELD, A. J.; BENNETT, P. M.; BLACKBURN, T. M.; GASTON, K. J.; OWENS, I. P. F. Global hotspots of species richness are not congruent with endemism or threat. **Nature**, v. 436, p. 1016-1019, 2005.

- PACHECO, M. V.; MATOS, V. P.; FERREIRA, R. L. C.; FELICIANO, A. L. P.; PINTO, K. M. S. Efeito de temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE). **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 359-367, 2006.
- PARVEZ, S.; KANG, M.; CHUNG, H. S.; BAE, H. Naturally occurring tyrosinase inhibitors: mechanism and applications in skin health, cosmetic and agriculture industries. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 9, p. 805-816, 2007.
- PELL, S. K.; MITCHELL, J. D.; MILLER, A. J.; LOBOVA, T. A. Anacardiaceae, *In: Flowering Plants*. Eudicots, The Families and Genera of Vascular Plants, Springer-Verlag, v. 10, 2011. p. 7-50.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, B. M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, v.8, n.1, p.130-136, 2001.
- PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P. “Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas”. **Química Nova**, v. 25, supl. 1, p. 45-61, 2002.
- PROENÇA, C.; OLIVEIRA, R. S.; SILVA, A. P. **Flores e frutos do cerrado**. Ed. UnB, Brasília, 2000, 226p.
- QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.
- REIS, M. S. & MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agrônômicos de plantas medicinais. *In: SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2ª ed. Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/UFRS, p. 41-62, 2001.
- RIBEIRO, J. F. & WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. *In: Sano, S.; Ribeiro, J. P.; Almeida, S.P. Cerrado: ecologia e flora*. Embrapa Cerrados, Planaltina, v. 1, p. 151-199, 2008.
- RIGONATO, V. D. & ALMEIDA, M. G. A singularidade do Cerrado: A Interrelação das populações tradicionais com as fitofisionomias. *In: VIII EREGEO – Encontro Regional de Geografia. A geografia no mundo da diversidade*. Cidade de Goiás, 2003.
- RIZZINI, C. T. **Árvores e Madeiras Úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira**. 2ª ed. São Paulo, Edgard Blucher, 1995. 296p.
- RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos**. 2ª ed. Rio de Janeiro, Âmbito Cultural Edições Ltda., 1997. p. 240.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. Sao Paulo: Editorial Premier, 1997. 327p.

SANCHEZ-FERRER A.; RODRIGUEZ-LOPES J. N.; GARCIA-CANOVAS, F.; GARCIA-CARMONA, F.; Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1247, n. 1, p. 1-11, 1995.

SANTIN, D. A. & LEITÃO-FILHO, H. F. Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon* Freire Allemão (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 14, n. 2, p. 133-145, 1991.

SANTIN, D. A. **Revisão taxonômica do gênero *Astronium* Jacq. e revalidação do gênero *Myracrodruon* Fr. Allem. (Anacardiaceae)**. 1989. 178p. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade Estadual de Campinas – Instituto de Biologia, Campinas, 1989.

SANTOS, R. I. Metabolismo Básico e origem dos metabólitos secundários. *In*: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4ª ed. Porto Alegre/Florianópolis. Editora da Universidade, 2002, p.333-365.

SCHMIDT, T. J.; BOMME, U.; ALFERMANN, A. W. Sesquiterpene lactone content in leaves of in vitro and field cultivated *Arnica Montana*, **Planta Medica**, v. 268, n. 64 1998.

SILVA, J. S. Considerações sobre a ocupação do Cerrado na microrregião do sudoeste de Goiás: modernização versus degradação. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.3, n.1, p. 89-99, 2010.

SILVA, L. M. M.; RODRIGUES, T. J. D.; AGUIAR, I. B. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Árvore**, v. 26, p. 691-697, 2002.

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas do Cerrado, da área de proteção ambiental municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 2, 2010.

SILVA-LUZ, C. L., PIRANI, J. R. 2012. Anacardiaceae. *In*: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <Acesso em 25 de agosto de 2012> (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB004394>)

SIMÕES-PIRES, C. A.; FARIAS, F. M.; MARSTON, A.; QUEIROZ, E. F. Indole monoterpenes with antihemostatic activity from *Psychotria myriantha*: Chemotaxonomic Significance. **Natural Product Communications**, v. 1, p. 1101-1106, 2006.

SOUSA, C. M. M. Fenóis totais e atividade antioxidante. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, C. S. M.; SILVA, W. L. P.; GUERRA, A. M. N. M.; CARDOSO, M. C. R.; TORRES, S. B. Alelopatia do extrato aquoso de folhas de aroeira na germinação de sementes de alface. **Revista Verde**, v. 2, n. 2, p. 96-100, 2007.

- TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ªed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 819p.
- TUROLLA, M. S. R. & NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, p. 289-306, 2006.
- VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n.5, p. 1323-3, 2007.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. e MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005
- VELÁZQUEZ, E.; TOURNIER, H. A.; MORDUJOVICH, B. P.; SAAVEDRA, G.; SCHINELLA, G. R. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. **Fitoterapia**, v. 74 (1-2), p. 91-97, 2003.
- VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. A. M.; MOURA, L. C.; SOUZA-FILHO, M. V. P.; MATOS, F. J. A.; RIBEIRO R. A. Analgesic and anti-inflammatory effects of the tannin fraction from *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Phytotherapy Research**, v. 11, p. 118-122, 1997.
- VIEGAS JUNIOR, C; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.
- VIEIRA, R. F.; SILVA, S. R.; ALVES, R. B. N.; SILVA, D. B.; WETZEL, M. M. V. S.; DIAS, T. A. B.; UDRY, M. C.; MARTINS, R. C. **Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas: Resultados da 1ª Reunião Técnica**. Brasília, Embrapa/IBAMA/CNPq, 2002.
- WOODWARD, R. B.; SONDEHEIMER, F.; TAUB, D.; HEUSLER, K.; McLAMORE, W. M.; **Journal American Chemical Society**, 73, p. 2403-2404, 1951.
- ZAHED, L.; ZAHREDDINE, H.; NOUREDDINE, B.; REBEIZ, N.; SHAKAR, N.; ZALLOUA, P. HADDAD, F. Molecular basis of oculocutaneous albinism type in Lebanese patients. **Journal Human Molecular Genetics**, v. 50, p. 317-319, 2005.

## OBJETIVOS

- Obter extratos brutos hexânico e metanólico das folhas e das cascas do caule de *M. urundeuva* Fr. All;
- Avaliar a atividade alelopática;
- Avaliar a capacidade antioxidante pelo método do sequestro radical livre DPPH;
- Quantificar teor de fenóis totais utilizando o reagente de *Folin-ciocalteau*;
- Avaliar a capacidade de inibição da enzima tirosinase pelos extratos brutos hexânico e metanólico.

## CAPÍTULO I

### **EFEITO ALELOPÁTICO DA AROEIRA-PRETA SOBRE SEMENTES DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.), TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) E REPOLHO (*Brassica oleracea* L.)**

*ALLELOPATHIC EFFECT OF AROEIRA-PRETA ON SEEDS OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.), TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.) AND CABBAGE (*Brassica oleracea* L.)*

**RESUMO:** Alelopatia pode ser definida como efeito maléfico ou benéfico que uma planta exerce sobre a outra por meio de compostos químicos liberados no meio ambiente. No presente trabalho, foram investigados os efeitos alelopáticos de extratos hexânicos e metanólicos das folhas e cascas do caule de aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All), na germinação e no crescimento inicial da alface, repolho e tomate. Os extratos obtidos foram preparados nas concentrações de 10.000, 1.000 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Para a germinação foram avaliados a porcentagem de germinação (G%) e o índice de velocidade de germinação (IVG). O crescimento inicial foi avaliado pelo comprimento (radicular e da parte aérea). O extrato metanólico das folhas apresentou inibição no IVG das sementes de alface, na concentração de 10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Extratos metanólicos das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* Fr. All. reduziram o comprimento radicular das plântulas de alface. Com a adição dos extratos brutos metanólicos, observou-se interferência no desenvolvimento de plântulas de repolho, evidenciando o potencial alelopático de *M. urundeuva* no crescimento de radícula e hipocótilo dessa espécie. Houve diferenças significativas no IVG de sementes de tomate, na presença do extrato hexânico das folhas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Alelopatia, *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Porcentagem de Germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG).

## INTRODUÇÃO

O termo alelopatia é empregado para caracterizar interações bioquímicas entre todos os tipos de plantas. Interações como essas ocorrem pela ação de substâncias químicas, os chamados aleloquímicos produzidos através do metabolismo secundário das plantas e liberadas no meio ambiente (RICE, 1984). Estes são sintetizados em diferentes órgãos das plantas, como raízes, folhas, flores e frutos (DELACHIAVE et al., 1999) e sua concentração nos tecidos dependem de diversos fatores, como temperatura, pluviosidade, luminosidade, entre outros.

A produção de aleloquímicos pelas plantas tem fundamental importância no que diz respeito à autodefesa (MACÍAS *et al.*, 2007). Esse mecanismo de defesa das plantas foi adquirido ao longo de um processo de evolução e representa um importante mecanismo ecológico que influencia direta e indiretamente as plantas adjacentes (CHOU, 2006), que é propiciada pela liberação dos aleloquímicos por diferentes formas (volatilização, exsudação radicular, lixiviação e decomposição de resíduos).

Efeitos fisiológicos ocasionados por interações alelopáticas, frequentemente observados, são inibição da porcentagem e velocidade da germinação e redução do crescimento inicial, sendo estas respostas secundárias de efeitos primários que ocorrem no processo metabólico das plantas afetadas (PEDRO *et al.*, 2006).

A espécie *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. conhecida popularmente como aroeira-preta, aroeira-do-cerrado, aroeira-do-sertão é um arbusto da família Anacardiaceae, de distribuição natural limitada à América do Sul, nativa no Brasil e mais amplamente distribuída nas regiões nordeste, sudeste e centro-oeste, ocorrendo também na região da Bolívia, Paraguai e Argentina (DORNELES *et al.*, 2005).

O porte da aroeira varia conforme a região de sua ocorrência, podendo atingir 30 metros de altura. Geralmente, a espécie floresce entre julho e setembro, e a maturação dos frutos ocorre de setembro a outubro (LORENZI, 1992; ANDRADE *et al.*, 2000). Possui madeira dura, elástica, resistente a cupins, de alta densidade e de longa durabilidade, sendo utilizada para diversos fins. A aroeira-preta também possui amplo uso medicinal, em suas entrecascas encontram vários componentes fitoquímicos que possuem propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes para várias afecções, principalmente ginecológicas e ferimentos cutâneos; anti-histamínicos e analgésicos (BERGER *et al.*, 2007).

Bioensaios laboratoriais envolvendo investigações alelopáticas tem demonstrado grande importância, em laboratório, pode-se controlar vários parâmetros que na natureza interagem simultânea e sequencialmente, além de mudarem constantemente (INDERJIT E DAKSHINI, 1995). Pesquisas alelopáticas são necessárias, porque pouco se conhece a respeito das potencialidades das plantas e o benefício que as mesmas podem proporcionar (FERREIRA *et al.*, 1992).

Para avaliar a ação dos aleloquímicos são realizados bioensaios com sementes sensíveis; as mais utilizadas como indicadores de alelopatia são *Lactuca sativa* L. (alface),

*Solanum lycopersicum* L. (tomate) e *Brassica oleracea* L. (repolho), por serem de fácil aquisição e manuseio (ALVES et al., 2004).

Baseado nas informações etnofarmacológicas da *M. urundeuva* Fr. All este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial alelopático dos extratos hexânico e metanólico obtidos a partir das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* Fr. All. por meio de bioensaios laboratoriais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Química Tecnológica, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano câmpus Rio Verde, no município de Rio Verde, Goiás, Brasil, no primeiro trimestre de 2012.

### **Material Vegetal**

A coleta das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* Fr. All foi realizada na unidade de conservação do câmpus da FESURV - Universidade de Rio Verde, na Fazenda Fontes do Saber (17°46'29,6''S e 50°57'34,8''W) no mês e identificada por comparação no Herbário Jataiense da Universidade Federal de Goiás, Jataí, GO (excicata HJ 5612).

Após a coleta, o material vegetal foi seco em estufa com circulação de ar a 40°C por 48 horas. Em seguida, as folhas e cascas do caule foram trituradas até a obtenção de um pó homogêneo e armazenadas sob refrigeração até o seu uso.

### **Preparação dos Extratos**

Inicialmente foi usado hexano, na proporção de 50 g do material vegetal (folhas e cascas do caule, em frascos separados) para 500 mL do solvente durante dois dias. Em seguida, a solução foi filtrada. O filtrado, agrupado e evaporado, resultou nos extratos de *M. urundeuva*: hexânico das folhas (MUHF) e hexânico das cascas do caule (MUHC). O resíduo vegetal foi então extraído com metanol usando a mesma proporção acima fornecendo os extratos: metanólico das folhas (MUMF) e metanólico das cascas do caule (MUMC). O rendimento dos extratos foi calculado pela expressão: Rendimento (%) = (massa do extrato/massa do material vegetal) x 100.



### Bioensaio de Alelopatia

Para verificar os efeitos dos extratos, foram realizados testes de germinação em placas de Petri esterilizadas (nove cm de diâmetro), sendo cada placa forrada com folha de papel filtro ao fundo e umedecidas com 1,0 mL dos extratos obtidos. Após a completa evaporação do solvente, os papéis de filtro contidos nas placas foram umedecidos com 3,0 mL de água destilada. Após o primeiro dia de incubação, as placas foram umidificadas com 1,0 mL de água destilada, diariamente.

A concentração de 100% correspondeu à solução de 10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  do extrato seco no respectivo solvente. A partir da concentração inicial, foram feitas diluições obtendo as concentrações de 1.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para cada extrato testado, com quatro repetições para cada tratamento. Para o controle negativo foi usada água destilada. O delineamento experimental adotado foi inteiramente ao acaso com quatro tratamentos e quatro repetições, com 25 sementes por parcela de alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Verônica, repolho (*Brassica oleracea* L.) cv. Coração de Boi e tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Santa Cruz Kada obtidas no comércio local.

As placas de Petri identificadas pelas sementes e extratos permaneceram em estufa, a 25°C e 12 horas de fotoperíodo por 120 horas. A contagem da germinação foi realizada após 24 h, 48 h, 72 h, 96 h e 120 h, tendo como critério para germinação a ruptura da testa e emissão da raiz primária. A cada observação foi realizada a quantificação do número acumulativo de sementes germinadas (dois mm de protusão radicular) (FERREIRA E ÁQUILA, 2000). Para análise da germinação, foram avaliados a porcentagem de germinação (%G) e o índice de velocidade de germinação (IVG) (MAGUIRE, 1962).

Porcentagem média de germinação (G%):

$G\% = (N/A) \cdot 100$ , em que G% = germinação; N= número total de sementes germinadas; A = número total de sementes colocadas para germinar.

Índice de Velocidade de Germinação (IVG):

$IVG = (G_1/N_1) + (G_2/N_2) + \dots + (G_n/N_n) \cdot 100$ , em que G = número de sementes germinadas; N = é o número de dias da semente à 1ª, 2ª, ... enésima avaliação.

A avaliação da pós-emergência foi realizada à semelhança do bioensaio de germinação, com diferença do fotoperíodo, que foi de 24 horas. Cada placa de Petri de 9,0 cm recebeu 10 sementes pré - geminadas e, ao final do período de dois dias de crescimento, foram medidos os comprimentos da radícula e do hipocótilo, com auxílio de um

paquímetro digital (DIGIMESS®). O delineamento experimental adotado foi inteiramente ao acaso com quatro tratamentos e três repetições, com 10 sementes por parcela de alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Verônica, repolho (*Brassica oleracea* L.) cv. Coração de Boi e tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Santa Cruz Kada obtidas no comércio local.

Os resultados obtidos foram submetidos à ANOVA e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, usando o programa Assistat 7.6 Beta.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados percentuais obtidos da extração pelo método de maceração à frio, os rendimentos obtidos foram de 12,21% para o extrato metanólico das folhas e 13,00% para o extrato metanólico das cascas do caule, sendo que os extratos hexânicos apresentaram rendimentos menores (Tabela 1). Estes dados podem sugerir a diferença de biodisponibilidade de metabólitos secundários encontrados nos diferentes órgãos vegetais, tanto em conteúdo como nas proporções disponíveis considerando também que a produção e/ou concentração de metabólitos secundários, entre eles os aleloquímicos, podem ser aumentadas por diversos fatores ambientais como estresse hídrico, deficiência de nutrientes e temperatura e outros (GOBBO-NETO; LOPES, 2007), situações frequentemente encontradas no Cerrado.

**TABELA 1.** Massa de material vegetal e quantidade de extrato obtido.

<i>Material Vegetal Seco (g)</i>	<i>Solventes</i>	<i>Massa de extrato obtido (g)</i>	<i>%</i>	<i>Códigos</i>
Folhas	Hexano	11,7932	3,06	MUFH
	Metanol	47,0013	12,21	MUFM
Cascas do caule	Hexano	2,9746	0,94	MUCH
	Metanol	41,1200	13,00	MUCM

M = *Myracrodruon*; U= *urundeuva*; F= Folha; C= Casca; H= Hexano; M= Metanol

Os resultados da Tabela 2 mostram que o extrato metanólico das folhas apresentou inibição sobre as sementes de alface, na concentração de 10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Segundo Rice (1984), estímulos e inibições no desenvolvimento das plantas na presença de extratos de outras plantas são comumente encontrados quando se trabalha com substâncias alelopáticas. Este fato pode ser relacionado à concentração na qual estas substâncias se

encontram, visto que estas podem estimular ou inibir o crescimento das plantas em concentrações apropriadas. Esse fato pode ser observado quando as concentrações de 1.000 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  não alteraram o IVG das sementes de alface comparados ao controle.

**TABELA 2.** Efeito dos extratos brutos no índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de alface.

<i>Tratamentos</i> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>IVG</i>			
	<i>MUFM</i>	<i>MUCM</i>	<i>MUFH</i>	<i>MUCH</i>
Controle	78,7 $\pm$ 20,7 a	88,6 $\pm$ 6,1 a	92,7 $\pm$ 8,3 a	95,1 $\pm$ 3,8 a
10.000	45,3 $\pm$ 6,0 b	84,4 $\pm$ 9,9 a	96,3 $\pm$ 2,6 a	93,9 $\pm$ 6,0 a
1.000	88,0 $\pm$ 19,6 a	92,5 $\pm$ 3,4 a	96,2 $\pm$ 1,3 a	95,4 $\pm$ 3,2 a
100	91,3 $\pm$ 5,5 a	92,6 $\pm$ 1,6 a	96,5 $\pm$ 3,0 a	83,4 $\pm$ 21,4 a

M = *Myracrodruon*; U= *urundeuva*; F= Folha; C= Casca; H= Hexano; M= Metanol; Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Os efeitos das concentrações dos extratos brutos metanólico e hexânico das folhas e cascas do caule no percentual de germinação das sementes de alface estão representados na Tabela 3. Observa-se que as germinações não foram influenciadas pelos extratos nas diferentes concentrações, quando comparadas com o grupo controle, não apresentando inibição considerável, não houve diferenças significativas entre os efeitos dos tratamentos e a testemunha para germinação.

**TABELA 3.** Efeito dos extratos brutos no percentual de germinação (G%) em sementes de alface.

<i>Tratamentos</i> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>G%</i>			
	<i>MUFM</i>	<i>MUCM</i>	<i>MUFH</i>	<i>MUCH</i>
Controle	99,0 $\pm$ 2,0 a	100,0 $\pm$ 0,0 a	100,0 $\pm$ 0,0 a	95,0 $\pm$ 6,0 a
10.000	100,0 $\pm$ 0,0 a	98,0 $\pm$ 2,3 a	99,0 $\pm$ 2,0 a	98,0 $\pm$ 4,0 a
1.000	100,0 $\pm$ 0,0 a	100,0 $\pm$ 0,0 a	100,0 $\pm$ 0,0 a	100,0 $\pm$ 0,0 a
100	99,0 $\pm$ 2,0 a	100,0 $\pm$ 0,0 a	99,9 $\pm$ 2,0 a	98,0 $\pm$ 2,3 a

M = *Myracrodruon*; U= *urundeuva*; F= Folha; C= Casca; H= Hexano; M= Metanol; Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

O crescimento inicial da raiz das sementes de alface foi afetado com o aumento da concentração dos extratos. Extratos metanólicos das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* Fr. All. reduziram o comprimento radicular das plântulas de alface. Com relação ao desenvolvimento do hipocótilo, todas as concentrações de extratos testadas (10.000, 1.000 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de folhas e cascas do caule não provocaram alterações significativas. Os

resultados destes ensaios estão dispostos na Tabela 4. Em geral, as raízes são mais sensíveis às substâncias presentes nos extratos quando comparadas com as demais estruturas das plântulas (CHON et al., 2000). Provavelmente, ao fato das raízes estarem em contato direto e prolongado com o extrato (aleloquímicos) em relação às demais estruturas das plântulas (CHUNG et al., 2001) e/ou a um reflexo da fisiologia distinta entre as estruturas (AQUILA et al., 1999).

**TABELA 4.** Efeito dos extratos brutos metanólicos folhas/cascas do caule no desenvolvimento de plântulas de alface expressos em milímetros (mm).

<i>Tratamentos (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</i>	<i>MUFM</i>		<i>MUCM</i>	
	<i>Raiz</i>	<i>Hipocótilo</i>	<i>Raiz</i>	<i>Hipocótilo</i>
Controle	29.1 ± 8.0 ab	23.1 ± 1.0 a	29.1 ± 8.0 b	23.1 ± 1.0 a
10.000	28.8 ± 5.7 c	21.3 ± 1.4 a	15.3 ± 14.0 c	20.0 ± 1.7 a
1.000	28.4 ± 14.2 bc	21.0 ± 0.1 a	36.1 ± 3.5 a	23.0 ± 7.9 a
100	28.4 ± 5.6 a	23.5 ± 8.6 a	15.9 ± 10.8 c	21.7 ± 3.2 a

M = *Myracrodruon*; U= *urundeuva*; F= Folha; C= Casca; H= Hexano; M= Metanol; Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Na Tabela 5, estão os dados do Índice de Velocidade de Germinação (IVG) das sementes de repolho nos tratamentos propostos. Nota-se que a adição dos extratos não proporcionou diferenças significativas no IVG, demonstrando que o potencial alelopático varia conforme a espécie receptora (SOUZA FILHO et al., 2007)

**TABELA 5.** Efeito dos extratos brutos no índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de repolho.

<i>Tratamentos (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</i>	<b>IVG</b>			
	<i>MUFM</i>	<i>MUCM</i>	<i>MUFH</i>	<i>MUCH</i>
Controle	33.8 ± 4.0 a	32.0 ± 1.8 a	37.8 ± 5.3 a	31.3 ± 8.1 a
10.000	34.8 ± 5.0 a	32.3 ± 3.3 a	36.8 ± 6.7 a	32.6 ± 4.6 a
1.000	37.5 ± 3.8 a	31.3 ± 1.2 a	37.2 ± 2.4 a	31.2 ± 5.7 a
100	36.0 ± 5.9 a	30.6 ± 1.1 a	33.7 ± 2.8 a	31.5 ± 2.0 a

M = *Myracrodruon*; U= *urundeuva*; F= Folha; C= Casca; H= Hexano; M= Metanol; Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Observou-se na Tabela 6, que os extratos brutos metanólicos e hexânicos das folhas e cascas do caule não interferiram significativamente no processo de germinação das sementes de repolho. Embora não tenham afetado a percentagem de germinação, estas concentrações do extrato causaram alta percentagem de plântulas anormais, evidenciando que os extratos das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* têm efeito alelopático na germinação de sementes de repolho. As plântulas anormais apresentaram as extremidades

da raiz primária necrosadas, ausência de epicótilo, geotropismo negativo, sementes intumescidas e apenas a radícula, resultados também obtidos por Oliveira et al.(2012).

**TABELA 6.** Efeito dos extratos brutos no percentual de germinação (G%) em sementes de repolho.

<i>Tratamentos</i> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<b>G%</b>			
	<i>MUFM</i>	<i>MUCM</i>	<i>MUFH</i>	<i>MUCH</i>
Controle	95.0 $\pm$ 2.0 a	90.0 $\pm$ 4.0 a	90.0 $\pm$ 5.2 a	76.0 $\pm$ 17.3 a
10 000	93.0 $\pm$ 3.8 a	86.0 $\pm$ 5.2 a	89.0 $\pm$ 11.5 a	78.0 $\pm$ 8.3 a
1 000	91.0 $\pm$ 6.0 a	87.0 $\pm$ 5.0 a	93.0 $\pm$ 3.8 a	82.0 $\pm$ 10.6 a
100	91.0 $\pm$ 6.0 a	86.0 $\pm$ 4.0 a	90.0 $\pm$ 5.2 a	82.0 $\pm$ 7.7 a

M = *Myracrodruon*; U= *urundeuva*; F= Folha; C= Casca; H= Hexano; M= Metanol; Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si

Com a adição dos extratos brutos metanólicos, observou-se interferência no desenvolvimento de plântulas de repolho, evidenciando o potencial alelopático de *M. urundeuva* no crescimento de radícula e hipocótilo dessa espécie (Tabela 7). Extratos metanólicos das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* Fr. All. (10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) reduziram o comprimento radicular e afetaram das plântulas de repolho. Ao comparar o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo após a aplicação de ambos os extratos, observa-se que nas concentrações de 1.000 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ao invés de inibição, ocorreu o efeito alelopático positivo, porque os valores obtidos são maiores que do grupo controle.

**TABELA 7.** Efeito dos extratos brutos metanólicos folhas/cascas do caule no desenvolvimento de plântulas de repolho expressos em milímetros (mm).

<i>Tratamentos</i> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>MUFM</i>		<i>MUCM</i>	
	<i>Raiz</i>	<i>Hipocótilo</i>	<i>Raiz</i>	<i>Hipocótilo</i>
Controle	51.3 $\pm$ 12.8 a	23.6 $\pm$ 9.0 a	51.3 $\pm$ 12.8 a	23.6 $\pm$ 9.0 b
10.000	26.5 $\pm$ 6.4 b	22.7 $\pm$ 2.6 a	12.6 $\pm$ 8.7 b	11.2 $\pm$ 4.1 c
1.000	53.4 $\pm$ 1.4 a	29.2 $\pm$ 1.6 b	56.5 $\pm$ 21.1 a	26.2 $\pm$ 1.5 b
100	53.8 $\pm$ 7.3 a	25.2 $\pm$ 10.0 ab	60.7 $\pm$ 0.9 a	32.0 $\pm$ 6.5 a

M = *Myracrodruon*; U= *urundeuva*; F= Folha; C= Casca; H= Hexano; M= Metanol; Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Na Tabela 8, são apresentados os efeitos dos extratos brutos em que se verifica interferência no IVG de sementes de tomate, na presença do extrato hexânico das folhas.

**TABELA 8.** Efeito dos extratos brutos no índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de tomate.

<i>Tratamentos</i> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>IVG</i>			
	<i>MUFM</i>	<i>MUCM</i>	<i>MUFH</i>	<i>MUCH</i>
Controle	24.2 $\pm$ 2.0 a	27.6 $\pm$ 1.2 a	25.7 $\pm$ 2.1 a	27.8 $\pm$ 1.7 a
10.000	20.3 $\pm$ 2.9 a	25.3 $\pm$ 1.4 a	17.4 $\pm$ 4.1 ab	26.5 $\pm$ 3.5 a
1.000	23.8 $\pm$ 1.0 a	26.1 $\pm$ 3.2 a	12.7 $\pm$ 10.9 b	27.1 $\pm$ 1.5 a
100	22.9 $\pm$ 7.4 a	26.6 $\pm$ 1.8 a	23.5 $\pm$ 1.7 ab	28.1 $\pm$ 2.4 a

M = *Myracrodruon*; U= *urundeuva*; F= Folha; C= Casca; H= Hexano; M= Metanol; Ambos significativos ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Na Tabela 9, estão os dados do percentual de germinação (G%) das sementes de tomate nos tratamentos propostos. Que por sua vez a adição dos extratos não proporcionou diferenças estatísticas significativas no G%.

**TABELA 9.** Efeito dos extratos brutos no percentual de germinação (G%) em sementes de tomate.

<i>Tratamentos</i> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>G%</i>			
	<i>MUFM</i>	<i>MUCM</i>	<i>MUFH</i>	<i>MUCH</i>
Controle	89.0 $\pm$ 5.0 a	87.0 $\pm$ 4.0 a	94.0 $\pm$ 5.2 a	89.0 $\pm$ 6.8 a
10.000	84.0 $\pm$ 3.3 a	86.0 $\pm$ 4.0 a	73.0 $\pm$ 12.4 a	93.0 $\pm$ 6.8 a
1 000	88.0 $\pm$ 11.8 a	88.0 $\pm$ 8.6 a	50.0 $\pm$ 41.9 a	84.0 $\pm$ 7.3 a
100	76.0 $\pm$ 24.2 a	89.0 $\pm$ 6.0 a	87.0 $\pm$ 3.8 a	91.0 $\pm$ 5.0 a

M = *Myracrodruon*; U= *urundeuva*; F= Folha; C= Casca; H= Hexano; M= Metanol; Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

O crescimento inicial das plântulas de tomate foi afetado pelas diferentes concentrações dos extratos. Os efeitos do extrato metanólico das folhas e cascas do caule indicam interferência positiva sobre o desenvolvimento da raiz e hipocótilo, observando que quanto menores as concentrações dos extratos maiores foram os valores de comprimento de raízes obtidos, em todas as concentrações testadas. Verificando diferenças significativas nos valores do hipocótilo e crescimento da raiz, quando se comparou a concentração de 10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  com as demais concentrações e o grupo controle para o extrato metanólico das folhas e das cascas do caule, respectivamente. Extratos metanólicos das cascas do caule de *M. urudeuva* Fr. All. a 10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  reduziram o comprimento do hipocótilo e afetaram das plântulas de tomate.

**TABELA 10.** Efeito dos extratos brutos metanólicos folhas/cascas do caule no desenvolvimento de plântulas de tomate expressos em milímetros (mm).

Tratamentos ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	MUFM		MUCM	
	Raiz	Hipocótilo	Raiz	Hipocótilo
Controle	6.0 $\pm$ 1.3 a	21.3 $\pm$ 5.0 a	6.0 $\pm$ 1.3 a	21.3 $\pm$ 5.0 a
10.000	25.2 $\pm$ 14.9 b	20.0 $\pm$ 3.0 a	12.8 $\pm$ 14.9 a	13.9 $\pm$ 3.0 b
1.000	64.5 $\pm$ 21.9 c	48.8 $\pm$ 10.9 b	63.3 $\pm$ 21.9 b	35.7 $\pm$ 3.4 c
100	79.2 $\pm$ 19.8 d	55.1 $\pm$ 15.8 b	67.4 $\pm$ 19.8 b	41.3 $\pm$ 2.8 c

M = *Myracrodruon*; U = *urundeuva*; F = Folha; C = Casca; H = Hexano; M = Metanol; Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

## CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados, pode-se concluir que os extratos metanólicos das folhas e cascas do caule de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All apresentam potencial alelopático, por causar efeitos inibitórios, confirmados pela redução ou aumento da germinação.

O extrato metanólico das folhas apresentou inibição no IVG das sementes de alface, na concentração de 10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Extratos metanólicos das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* Fr. All. reduziram o comprimento radicular das plântulas de alface. Com a adição dos extratos brutos metanólicos, observou-se interferência no desenvolvimento de plântulas de repolho, evidenciando o potencial alelopático de *M. urundeuva* no crescimento de radícula e hipocótilo dessa espécie. Houve diferenças significativas no IVG de sementes de tomate, na presença do extrato hexânico das folhas.

Os efeitos do extrato metanólico das folhas e cascas do caule indicam interferência positiva sobre o desenvolvimento das raízes das sementes de repolho e tomate, observando que quanto menores as concentrações dos extratos maiores foram os valores de comprimento de raízes obtidos. Pode-se observar que a germinação das sementes se mostrou menos sensíveis aos aleloquímicos presentes nos extratos do que o crescimento das plantas.

## AGRADECIMENTOS

A Bióloga Érica Virgínia Estêfane de Jesus Amaral do Laboratório de Botânica do Herbário Jataiense, pelas informações, identificação e depósito do exemplar da espécie em estudo; ao IF Goiano câmpus Rio Verde pela infraestrutura e equipamentos cedidos.

---

**ABSTRACT:** Allelopathy can be defined as harmful or beneficial effect that a plant carries on the other through chemical compounds released into the environment. In this study were investigated the effects of allelopathic signals hexanes and methanolics extracts from the leaves and bark of stem of aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) on germination and initial growth of lettuce, cabbage and tomatoes. The extracts obtained were prepared at concentrations of 10.000, 1000 and 100  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . For germination were assessed the percentage of germination (G%) and the germination speed index (IVG). Initial growth was evaluated by length (shoot and from the seedling shoot). The methanolic extract of leaves showed inhibition in seeds of lettuce, IVG in concentration of 10.000  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . Methanolics extracts from the leaves and bark of the stem of *M. urundeuva* Fr. All. reduced root length of seedlings of lettuce. With the addition of crude methanolics extracts, there was interference in the development of seedlings of cabbage, evidencing the allelopathic potential of *M. urundeuva* on radicle growth and hypocotyl. There were significant differences in the IVG tomato seeds, in the presence of hexane extract of leaves.

**KEY WORDS:** Allelopathy. *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Germination Percentage and Germination Speed Index (IVG).

---

## REFERÊNCIAS

ALVES, M. C. S.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECCO, R.; TORRES, S. B.; Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1083-1086, nov. 2004.

ALVES, S. M.; SANTOS, L. S. **Natureza química dos agentes alelopáticos**. In: Souza Filho, A. P. S. & Alves, S. M. (Eds). Alelopatia princípios básicos e aspectos gerais. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Brasil, p. 25-48, 2002.

ANDRADE, M. W., LUZ, J. M. Q., LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A. Micropropagação da Aroeira-Preta (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.1, p.174-180, 2000.

AQUILA, M. E. A.; UNGARETTI, J. A. C.; MICHELIN, A. Preliminary observation on allelopathic activity in *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae**, v. 502, p. 383-388, 1999.



BERGER, A. P. A.; RANAL, M.; LOPES, S. W.; DORNELES, M. C.; SANTANA, D. G.; PEREIRA, R. S. Emergência de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) do vale do Rio Araguari, MG. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, sup. 2, p. 1029-1031, 2007.

CHON, S. U.; COUTTS, J. H.; NELSON, C. J. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal**, 92: 715-720, 2000.

CHOU, C. H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 5, p. 609-630, 1999.

CHOU, C. H. **Introduction to allelopathy**. In: REIGOSA, M. J.; PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L. (Eds). *Allelopathy: A physiological process with ecological implications*. Springer, Dordrecht, Holanda, p.1-9, 2006.

CHUNG, I. M.; AHN, J. K.; YUN, S. J. Assessment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. *Crop Protection*, v. 20, n. 10, p. 921-928, 2001

OLIVEIRA, A. K.; COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; DIOGENES, F. E. P. Atividade alelopática de extratos de diferentes órgãos de *Caesalpinia ferrea* na germinação de alface. **Ciencia Rural**, v.42, n.8, p. 1397-1403, 2012.

DELACHIAVE, M. E. A. P.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Efeitos alelopáticos de grama-seda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n.1, p. 194-197, 1999.

DORNELES, M. C.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Germinação de diásporos recém-colhidos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) ocorrente no cerrado do Brasil Central. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 2, 2005.

FERREIRA, A. G. & ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p.175-204, 2000.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A.; JACOBI, U. S.; RIZVI, V. **Allelopathy in Brazil**. In: Rizvi, S. J. H.; Rizvi, V. (Eds). *Allelopathy: Basic and applied aspects*. Chapman & Hall, London, UK, p.243- 250, 1992.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007

INDERJIT; DAKSHINI, K. M. M. On laboratory bioassays in allelopathy. **The Botanical Review**, v. 61, n.1, p. 28-44, 1995.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. São Paulo: Plantarum, 1992. v.1. 368p.

MACÍAS, F. A.; MOLINILLO, J. M. G.; VARELA, R. M.; GALINDO, J. C. G. Allelopathy - A natural alternative for weed control. **Pest Management Science**, v. 63, p. 327-348, 2007.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

OLIVEIRA, A. K.; COELHO, M. F. B.; MAIA, S. S. S.; DIOGENES, F. E. P. Atividade alelopática de extratos de diferentes órgãos de *Caesalpinia ferrea* na germinação de alface. **Ciencia Rural**, v.42, n.8, p. 1397-1403, 2012

PEDRO, N.; GONZÁLEZ, L.; REIGOSA, M. J. 2006. **Allelopathy and abiotic stress**. In: REIGOSA, M. J.; PEDROL, N.; GONZÁLEZ, L. (Eds). *Allelopathy: A physiological process with ecological implications*. Springer, Dordrecht, Holanda, p.171-209.

RICE, E. L. **Allelopathy**. 2<sup>th</sup> ed. Academic Press, New York, USA, 422p, 1984.

SOUZA FILHO, A. P. S.; DUARTE, M. L. R. Atividade alelopática do filtrado de cultura produzido por *Fusarium solani*. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 227-230, 2007.

## CAPÍTULO II

### Fenóis totais, atividade antioxidante e inibição da enzima tirosinase de extratos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae)

**RESUMO:** Os radicais livres e outros oxidantes demonstram ser parcialmente responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas à produção de espécies reativas de oxigênio. Além disto, os compostos fenólicos são reconhecidamente detentores de elevada atividade antioxidante, que geralmente estão envolvidos em tratamentos de problemas de pigmentação da pele, que resultam em hiperpigmentações. Sendo assim este trabalho foi realizado para avaliar o conteúdo de fenóis totais, atividade antioxidante e a capacidade de inibição da tirosinase dos extratos das folhas e cascas do caule da espécie *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Para determinação do conteúdo de fenóis totais dos extratos orgânicos de *M. urundeuva* utilizou-se o reativo *Folin-Ciocalteu*, na avaliação da atividade antioxidante empregando o radical livre DPPH, enquanto que os testes de inibição da enzima tirosinase foram realizados utilizando L-tirosina. Os resultados de fenóis totais mostraram uma concentração de 77 mg EAG g<sup>-1</sup> e 194 mg EAG g<sup>-1</sup> nos extratos hexânico e metanólico das folhas e 45 mg EAG g<sup>-1</sup> e 193 mg EAG g<sup>-1</sup> nos extratos hexânico e metanólico das cascas do caule. O potencial antioxidante dos extratos indicaram que o extrato metanólico das cascas do caule (10,9 ± 0,5 µg mL<sup>-1</sup>), em comparação ao hexânico (12,9 ± 0,2 µg mL<sup>-1</sup>) e ao BHT (220 ± 7,0 µg mL<sup>-1</sup>), possui uma atividade antioxidante levemente mais acentuada. No ensaio de inibição da tirosinase, o extrato metanólico das cascas do caule demonstrou um percentual de inibição da enzima de 42% após uma hora.

**Palavras-chave:** compostos fenólicos, DPPH, hiperpigmentação, tirosinase.

**ABSTRACT:** Free radicals and other oxidants had demonstrated to be partially responsible by aging and degenerative diseases associated with the production of reactive oxygen species. In addition, the phenolic compounds are recognized as holders of high antioxidant activity, which usually are involved in treatment of pigmentation problems, which result in hyper pigmentation. So this study was carried out to evaluate the content of total phenols, antioxidant activity and inhibition of tyrosinase, in extracts from leaves and bark of the stem of the species *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. For determination of content of total phenols from organic extracts of *M. urundeuva*, was used Folin-Ciocalteu reagent, in the evaluation of antioxidant activity was the DPPH free radical, while the enzyme tyrosinase inhibition tests were performed using L-tyrosine. The results of total phenols showed a concentration of 77 mg EAG g<sup>-1</sup> and 194 of hexane and methanolic extracts from the leaves and 45 mg EAG g<sup>-1</sup> and 193 mg EAG g<sup>-1</sup> of hexane and methanolic extracts of the bark of the stem. The antioxidant potential

of extracts indicated that the methanolic extract of bark of stem ( $10.9 \pm 0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), compared to hexane ( $12.9 \pm 0.2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) and BHT ( $220 \pm 7.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), presented a slightly higher antioxidant activity. For the tyrosinase enzyme inhibition test, the methanolic extract of bark of the stem indicated a 42% of the enzyme inhibition after an hour.

**Key words:** phenolics compounds, DPPH, hyperpigmentation, tyrosinase.

## INTRODUÇÃO

A rica biodiversidade do Brasil se distribui em diferentes regiões, dentre elas o Cerrado que é um tipo fitofisionômico de vegetação, e está localizado basicamente no Planalto Central do Brasil. Considerado o segundo maior bioma do país, este abrange 21% do território brasileiro e possui uma vasta flora endêmica, com mais de 500 espécies medicinais as quais são largamente utilizadas pela população brasileira (Bourlaug, 2002).

Dentre as espécies nativas do cerrado, encontra-se *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Pertencente à família Anacardiaceae é uma espécie tropical dióica, popularmente conhecida como aroeira-do-campo, aroeira-preta ou urundeuva, que se distribui nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste (Almeida et al., 1998). A árvore é caducifólia, atinge de 5 a 20 m de altura e 30 a 60 cm de DAP (diâmetro a altura do peito, 1,30 m do solo) (Carvalho, 2003). Geralmente, a espécie floresce entre julho e setembro, e a maturação dos frutos ocorre de setembro a outubro (Lorenzi, 1992).

Sua utilização se aplica ao fornecimento de madeira, como planta medicinal e na indústria de curtimento de couro (Andrade et al., 2000). A madeira, muito utilizada na construção civil, apresenta grande resistência mecânica e é praticamente imputrescível (Queiroz, Moraes & Nascimento, 2002). Seu potencial farmacológico e uso popular surgem como uma alternativa terapêutica. Atribuído, sobretudo a folhas e cascas do caule, as propriedades medicinais da aroeira-preta se aplicam ao tratamento das afecções urinárias, respiratórias, ação antiinflamatória e cicatrizante (Andrade et al., 2000).

A casca da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) é muito rica em taninos e outros compostos fenólicos, contendo também, flavonóides, taninos e seus percussores, além de duas chalconas dimétricas (Matos, 2002).

Os compostos fenólicos incluem mais de oito mil estruturas químicas que podem ser classificados pelo número e arranjo de seus átomos de carbono, sendo divididos em pelo menos dez grupos, a saber: fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, isocumarinas, naftoquinonas, xantonas, estilbenes, antraquinonas, flavonóides e ligninas (Crozier et al., 2009).

Diversos pesquisadores têm realizado estudos biológicos e farmacológicos de compostos fenólicos. Esses estudos têm ampliado as propriedades farmacológicas desses compostos, uma delas é a atividade antioxidante (Okuda & Ito, 2011). Várias substâncias fenólicas são importantes antioxidantes, uma vez que possuem esqueleto carbônico propício para a estabilização de radicais livres (Larrauri et al., 1996).

Lachman et al. (2010) mostraram que uma grande variedade de fontes vegetais biossintetizam compostos que possuem atividade antioxidante e podem ser utilizados como uma fonte natural de substâncias que possuem a capacidade de sequestrar os radicais livres.

Estudos têm demonstrado que os radicais livres são os principais causadores de diversas doenças degenerativas, tais como doenças cardiovasculares, neurológicas e algumas formas de câncer (Prior et al., 1998). Os antioxidantes presentes nas plantas podem atuar como agentes redutores, seqüestradores de radicais livres, inibidores de enzimas e como quelantes de metais (Wang & Lin, 2000).

Atualmente existe um grande número de plantas medicinais cujo potencial terapêutico tem sido estudado em uma variedade de modelos experimentais, e cujos mecanismos de ação têm sido investigados quanto à atividade de inibição enzimática. Estes estudos têm providenciado informações úteis para o desenvolvimento de novas farmacoterapias a partir dessas plantas para o tratamento de várias patologias (Sousa et al., 2008).

Uma dessas patologias é a hiperpigmentação da pele, que pode ser dependente tanto de um aumento do número de melanócitos quanto da atividade melanogênica de enzimas, como a tirosinase. A tirosinase (EC 1.14.18.1) é a enzima chave na produção de melanina em mamíferos. Esta atua oxidando monofenóis à orto-difenóis e estes à ortoquinonas. Seu substrato principal em

mamíferos é o aminoácido tirosina que é oxidado à L-DOPA (L-3,4-diidroxifenilalanina) e este após diversas reações químicas e enzimáticas polimeriza-se formando a melanina (Sánchez-Ferrer et al., 1994).

A melanina é um biopolímero heterogêneo, pigmentado polifenólico de alto peso molecular, desempenha um papel importante na proteção da pele humana dos efeitos nocivos da radiação UV do sol, sendo responsável pela cor da pele, do cabelo e dos olhos (Chang, 2009; Passeron, Mantoux, Ortonne, 2005).

Em função de desenvolver terapias ou profilaxias para tratar ou prevenir desordens de hiperpigmentação a inibição da atividade da tirosinase tem sido geralmente o alvo. Há muitas formas de realizar essas terapias, como mecanismos competitivos ou não competitivos que interferem na atividade catalítica da tirosinase, por exemplo, interrupção da maturação ou diminuição da estabilidade da tirosinase, os quais reduziram a síntese e deposição de melanina (Ando et al., 2007).

O desenvolvimento e a caracterização de novos inibidores da enzima tirosinase são extremamente úteis, devido a seus potenciais para aplicações na prevenção de hiperpigmentações. Dessa forma, tornam-se necessárias pesquisas de agentes despigmentantes que inibem a tirosinase, sendo de extrema importância a descoberta de substâncias naturais obtidas através de extratos de plantas, com tal propriedade (Sousa, 2011).

Considerando que a aroeira-preta apresenta características medicinais, alimentícias, ornamentais e industriais reunindo em única espécie um potencial múltiplo de aplicações e que se trata de espécie ainda muito pouco estudada, objetivou-se neste trabalho determinar os fenóis totais, a atividade antioxidante e a capacidade de inibição da tirosinase presentes na espécie *Myracrodruon urudeuva* Fr. All. conhecida popularmente como aroeira-preta.

## **MATERIAL E MÉTODO**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Química Tecnológica, do Instituto Federal Goiano câmpus Rio Verde, no município de Rio Verde, Goiás, Brasil.

### **Material Vegetal**

A coleta da parte aérea e cascas do caule de *M. urundeuva* Fr. All. foi realizada na unidade de conservação do câmpus da FESURV - Universidade de Rio Verde na Fazenda Fontes do Saber (17°46'29,6''S e 50°57'34,8''W) e identificada por comparação no Herbário Jataiense da Universidade Federal de Goiás, Jataí, GO (excicata HJ 5612).

Após a coleta, o material vegetal foi seco em estufa com circulação de ar à 40°C por 48 horas. Em seguida, as folhas e cascas do caule foram trituradas até a obtenção de um pó homogêneo e armazenadas sob refrigeração, até o seu uso.

### **Preparação dos Extratos**

Inicialmente foi usado hexano, na proporção de 50 g do material vegetal (folhas e cascas do caule, em frascos separados) para 500 mL do solvente durante dois dias, obtendo-se uma solução heterogênea. Em seguida a solução foi filtrada. O filtrado, agrupado e evaporado, resultou nos extratos de *M. urundeuva* hexânico das folhas (MUHF) e cascas do caule (MUHC). O resíduo vegetal foi então extraído com metanol usando a mesma proporção acima, fornecendo os extratos de *M. urundeuva* metanólico das folhas (MUMF) e das cascas do caule (MUMC). O rendimento dos extratos foi calculado pela expressão:  $\text{Rendimento (\%)} = (\text{massa do extrato}/\text{massa do material vegetal}) \times 100$ .

### **Determinação de Fenóis Totais**

O teor de fenóis totais dos extratos de *M. urundeuva* Fr. All. foi analisado utilizando ácido gálico como padrão pelo método de *Folin-Ciocalteu*, com algumas modificações. O método de *Folin-Ciocalteu* baseia-se na transferência de um elétron, medindo assim a capacidade redutora do antioxidante em estudo. As vantagens desse método são a disponibilidade comercial dos reagentes, a absorção do grupo cromóforo em 730 nm, o que reduz a interferência de substâncias coradas presentes na amostra, o grande número de dados disponíveis na literatura e a praticidade de implantação, uma vez que se trata de um ensaio simples, rápido, barato e robusto (Prior et al., 1998).

Soluções metanólicas e hexânicas de extratos das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* (2,5 mg mL<sup>-1</sup>) foram preparadas. A cada tubo, misturou-se 250 µL de reagente de *Folin-Ciocalteu* (diluído em água 1:1), 500 µL de solução saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> saturado, e 4 mL de água destilada. As soluções foram incubadas no escuro à temperatura ambiente durante 25 min. A absorbância da amostra foi lida frente ao branco a 725 nm usando um espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-220). O teor de fenóis totais (FT) dos extratos foi determinado por comparação com uma curva de calibração de ácido gálico, como um padrão cuja concentração de Abs = 0,0628 x (Conc Ácido Gálico, µg mL<sup>-1</sup>) – 0,0521, r<sup>2</sup> = 0,9973 e representadas como equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG). As análises foram realizadas em triplicata.

#### **Determinação da Atividade Antioxidante – Método do radical DPPH**

A atividade antioxidante foi medida segundo o método descrito por Franco et al. (2007) usando o radical livre estável DPPH, com algumas modificações, monitorando-se o consumo do radical livre DPPH pelas amostras, através da medida do decréscimo da absorbância de soluções de diferentes concentrações. Resumidamente, vários volumes de solução de extratos de folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* (1,0 mg mL<sup>-1</sup>) foram adicionados a 2,0 mL de solução metanólica de DPPH (0,1191 mmol L<sup>-1</sup>) e mantidos no escuro durante 30 min à temperatura ambiente. Em seguida, a absorbância foi medida a 517 nm. O metanol foi utilizado como controle negativo e o BHT (butil-hidróxi-tolueno) foi usado como um padrão positivo. Os resultados foram expressos pelo valor CE<sub>50</sub> (Concentração Efetiva 50%), que determina a concentração de extrato (µg mL<sup>-1</sup>), que proporciona uma inibição de 50%; quanto mais baixo o seu valor, maior é a eficiência do antioxidante. A capacidade de eliminação do radical DPPH foi calculada através da equação abaixo (percentagem de inibição do radical DPPH).

$$\% \text{ de inibição do DPPH}^{\bullet} = \frac{(Abs_{DPPH^{\bullet}} - Abs_{amostra})}{Abs_{DPPH^{\bullet}}} \times 100$$

Todas as medidas foram realizadas em três experimentos independentes, cada um em triplicata, e os resultados foram expressos em µg mL<sup>-1</sup> com média e desvio padrão.



### **Procedimento para Ensaio de Inibição da Tirosinase**

A tirosinase de cogumelo e a L-tirosina foram adquiridos da Sigma Chemical Co e Vetec, respectivamente. A atividade da tirosinase foi determinada por espectrofotometria, realizada conforme descrito por Khatib (2005), com adaptações em nosso laboratório. De forma geral, foram preparadas três soluções: solução A: contendo 500  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato (pH 7,0), 2 mL da tirosinase de cogumelo ( $200 \text{ U mL}^{-1}$ ) e 50  $\mu\text{L}$  da amostra da solução com extrato etanólico da planta ( $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ ); solução B: (controle negativo) 500  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato (pH 7,0), 2,0 mL da tirosinase de cogumelo ( $200 \text{ U mL}^{-1}$ ) e 50  $\mu\text{L}$  de etanol; solução C: (controle positivo) 500  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato (pH 7,0), 2,0 mL da tirosinase de cogumelo ( $200 \text{ U mL}^{-1}$ ) e 50  $\mu\text{L}$  de ácido Kójico ( $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Após 5 minutos, 2,0 mL de solução de 2 mM de L-tirosina foi adicionado a cada solução teste. A absorção a 475 nm foi monitorada em função do tempo, realizando-se a leitura após 60 minutos. A variação da densidade ótica foi comparada na presença e ausência dos extratos para verificar a inibição da tirosinase.

### **Análise Estatística**

Os resultados foram apresentados como médias e desvios padrão de três ensaios independentes ( $n=3$ ). O programa estatístico utilizado foi o Assistat 7.6 Beta. Dados com  $p<0,01$  serão considerados significativos.

## **RESULTADO E DISCUSSÃO**

O método de *Folin-Ciocalteu* permitiu quantificar compostos fenólicos presentes nas amostras. A Tabela 1 demonstra a quantidade total de fenóis dos extratos provenientes de cada fração das folhas e cascas do caule obtidas por extração hexânica e metanólica. A extração metanólica das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* apresentou os maiores conteúdos de fenóis totais, com teores de 194 e 193 mg EAG  $\text{g}^{-1}$ , respectivamente. Já a extração hexânica das folhas e cascas caule apresentou menores concentrações de fenóis, 77 e 45 mg EAG  $\text{g}^{-1}$ .

**TABELA 1.** Teor de Fenóis Totais (FT) expressos com equivalentes de ácido gálico (EAG).

Amostra	FT (mg EAG g <sup>-1</sup> ms ± DP)	
	Extração	
	Hexânica	Metanólica
<b>Folhas</b>	77 ± 11 a	194 ± 15 b
<b>Cascas do caule</b>	45 ± 20 a	193 ± 33 b

EAG = equivalente de ácido gálico; ms = massa seca; DP = desvio-padrão da média; Ambos significativos ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Procurou-se, também, avaliar a atividade antioxidante dos extratos *M. urundeuva*, pois os resultados antioxidantes positivos podem indicar a existência de outros tipos de atividades, como por exemplo, a bactericida e a antiinflamatória (Paula Junior et al., 2006).

A capacidade de seqüestrar radicais livres em relação ao radical estável 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH<sup>·</sup>) foi inicialmente escolhida por se tratar de uma metodologia simples, rápida e sensível, muito conveniente para realização de “screening” de um grande número de amostras com diferentes polaridades (Koleva et al., 2002).

O potencial dos diferentes extratos metanólicos de *M. urundeuva* em seqüestrar radicais livres foi expresso como concentração final do extrato necessária para inibir a oxidação do radical DPPH em 50%, e os resultados são descritos na Tabela 2.

**TABELA 2.** Quantidade de extrato necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).

	Extração Metanólica
<b>Folhas</b>	12,9 ± 0,2 a
<b>Cascas do caule</b>	10,9 ± 0,5 b
<b>BHT</b>	220 ± 7,0 c

O valor  $CE_{50}$  foi obtido por meio de três replicadas. Ambos significativos ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

As substâncias antioxidantes presentes nos extratos reagem com o DPPH que é um radical estável, e converte-o em 2,2-difenil-1-picril hidrazina. O grau de descoloração indica o potencial antioxidante do extrato. Um extrato que exibe alto potencial em seqüestrar radicais livres possui valor de  $CE_{50}$  baixo. Desta forma, uma pequena quantidade de extrato é capaz de decrescer a concentração inicial do radical DPPH em 50%, ou seja, inibir a oxidação do radical em 50%.

Os menores valores de  $CE_{50}$  foram obtidos pelo extrato metanólico das cascas do caule ( $10,9 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), extrato metanólico das folhas ( $12,9 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e BHT ( $220 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), respectivamente. Conforme relatado na determinação de compostos fenólicos, os extratos metanólicos das folhas e cascas do caule apresentaram alto conteúdo de fenóis e conseqüentemente bons potenciais para seqüestrar radicais livres, justificando o fato de a atividade antioxidante ter sido realizada somente com extratos polares.

A relação entre concentração de fenóis totais e a capacidade de seqüestrar radicais livres dos extratos parece ser bastante significativa, visto que extratos com maior conteúdo de fenóis totais são justamente os extratos com maior atividade antioxidante. Os extratos hexânicos de *M. urundeuva* mostraram ter, no melhor dos casos, baixo conteúdo de fenóis totais, quando comparados com os extratos metanólicos, relacionando então com a possibilidade de não apresentarem capacidade de capturar radicais livres nas condições empregadas, sugerindo então que os compostos secundários com atividade antioxidante concentram-se preferencialmente nos extratos polares das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva*.

Alguns autores mostram que compostos fenólicos produzidos por plantas podem interagir com a tirosinase inibindo-a ou ativando-a (Okombi et al, 2006). Existem relatos de que compostos fenólicos podem ser usados como agentes despigmentantes, pelo fato de possuírem em sua estrutura química, compostos semelhantes ao da tirosina, o substrato da tirosinase (Boissy & Manga, 2004). Portanto, a ação das substâncias utilizadas como agentes despigmentantes da pele, deve-se em parte, à ação de componentes fenólicos (Rao, 2003).

A porcentagem de inibição sobre a enzima foi calculado comparando-se a absorbância das amostras (ensaio contendo extrato + enzima + substrato) com a do controle da enzima (ensaio contendo tampão + enzima + substrato). Os valores correspondentes à absorbância do controle da enzima forneceram o referencial da atividade máxima da enzima utilizada para a realização dos experimentos, ou seja, refere-se à capacidade da enzima para a formação dos produtos a partir dos seus substratos, considerando a atividade máxima da enzima igual a 100%. Sendo assim, as porcentagens de inibição das amostras foram calculadas de acordo com a seguinte equação:  $\% \text{ inibição} = [(C-A) \times 100] / C$ , onde C representa a absorbância do controle da enzima, subtraída do branco do substrato e A representa a absorbância da amostra subtraída do branco do extrato (extrato vegetal + substrato + tampão).

A Tabela 3 mostra a porcentagem de ativação/inibição da tirosinase, onde a enzima pura obteve 100% de ativação após uma hora. O controle positivo usado foi o inibidor comercial da tirosinase, ácido kójico.

**TABELA 3.** Atividade de ativação/inibição dos extratos vegetais sobre tirosinase.

<b>Amostra</b>	<b>% inibição/ativação (60')</b>
<b>Enzima pura</b>	100 a
<b>Enzima + MUFM</b>	66 ± 2 c
<b>Enzima + MUCM</b>	42 ± 8 c
<b>Enzima + MUFH</b>	330 ± 11 b
<b>Enzima + MUCH</b>	109 ± 18 a
<b>Enzima + ácido kójico</b>	-2 ± 1 d

Ambos significativos ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Os resultados demonstraram que ambos os extratos foram capazes de influenciar na atividade enzimática da tirosinase. Os extratos metanólicos das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* foram significativos, apresentando percentuais de inibição da tirosinase de 66% para o extrato metanólico das folhas e 42% para o extrato metanólico das cascas do caule, respectivamente, observando que o extrato metanólico das cascas do caule foi mais eficaz na inibição da tirosinase. Essa espécie pode representar um potencial recurso de novos compostos inibidores da tirosinase.

Os extratos hexânicos não apresentaram inibição, mas aumentaram a ação da tirosinase, com valores de 330 e 109%, possivelmente devido ao fato de fornecerem substâncias fenólicas capazes de atuarem como substrato para a enzima tirosinase. O ácido kójico inibiu completamente a enzima, conforme esperado, pois constitui um inibidor comercial da tirosinase.

Atualmente, diversos estudos epidemiológicos mostram que os compostos fenólicos constituem uma das classes mais abundantes do reino vegetal, e possuem múltiplos efeitos biológicos (Rao, 2003). Mostrando assim que a inibição ocorre possivelmente devido ao extrato metanólico apresentar quantidades significativas de compostos fenólicos, que por possuírem uma estrutura semelhante a da tirosina, que é um substrato da enzima, se apresenta

como substrato alternativo a enzima, entretanto, não sendo oxidados e competindo, desta forma, com a tirosina.

Nesse sentido a identificação de espécies do bioma Cerrado com atividade inibitória da enzima tirosinase, poderá contribuir para o desenvolvimento de novos medicamentos que possam substituir efetivamente os compostos sintéticos encontrados no mercado, melhorando a qualidade de vida de pessoas com hiperpigmentação da pele.

Por se tratar de extratos brutos, existem inúmeras substâncias que podem ser responsáveis por tal capacidade, por isso, os resultados descritos neste trabalho estimulam a continuidade dos estudos dos compostos presentes nas amostras obtidas, com a intenção de isolar e identificar as substâncias responsáveis pela ação antioxidantes e inibidoras da enzima tirosinase.

## **AGRADECIMENTO**

Os autores agradecem ao suporte financeiro do CNPq e ao IF Goiano câmpus Rio Verde, pelo apoio institucional.

## **REFERÊNCIA**

ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. 188p.

ANDRADE, M.W. et al. Micropropagação da Aroeira-Preta (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, p. 174-180, 2000.

ANDO, H. et al. Approaches to identify inhibitors of melanin biosynthesis via the quality control of tyrosinase. **Journal of Investigative Dermatology**, v.127, p. 751-761, 2007.

BOISSY, R.E. & MANGA, P. On the etiology of contact/occupational vitiligo. **Pigment Cell Research**. v. 17, p. 208–214, 2004.

BORLAUG, N.E. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. 2002. In: R. Bailey (ed.). **Global warming and other eco-myths**. EUA: Competitive Enterprise Institute, Roseville, EUA, p. 29-60.

CARVALHO, P.E. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa, 2003. 1039p.

CHANG, TE-SHENG. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. **International Journal of Molecular Sciences**, v.10, p.2440-2475, 2009.

CROZIER, A.; JAGANNATH, I. B.; CLIFFORDC, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, v. 26, p. 1001-1043, 2009.

KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

FRANCO, S.L. et al. *Br PI 0501875-7*, 2007.

KHATIB, S. et al. Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the importance of a 2, 4-substituted resorcinol moiety. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 13, p. 433–441, 2005.

KOLEVA, I.I. et al. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemistry Analysis**, v. 13, p. 8-17, 2002.

LACHMAN, J. et al. Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. **Food Science and Technology**, v.43, p. 52–58, 2010.

LARRAURI J.A. et al. Measurement of health promoting properties in fruit dietary fibres: Antioxidant capacity, fermentability and glucose retardation index. **Journal Science Food Agriculture**, v. 71, p. 515-519, 1996.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. São Paulo: Plantarum, 1992. 352 p.

MATOS, J.F.A. **Fármacias vivas**: sistemas de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 4ª ed. Fortaleza: UFC, 2002.

MYERS, N. et al. Antioxidant capacity as influenced by total phenolics and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 46, n. 7, p. 2686-2693, 1998.

OKOMBI S. et al. Analogues of N-hydroxycinnamoylphenalkylamides as inhibitors of human melanocyte-tyrosinase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.16, n. 8, p. 2252-2255, 2006.

OKUDA, T. & ITO, H. Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plants: Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins. **Molecules**, n.3, p. 2191-2217, 2011.

PASSERON, T. et al. Genetic disorders of pigmentation. **Clinical Dermatology**, v. 23, p. 56-57, 2005.

PAULA-JUNIOR, W. et al. Leishmanicidal, antibacterial and antioxidant activities of *Caryocar brasiliense* Cambess leaves hydroethanolic extract. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.16, p.625-30, 2006.



PRIOR, R. L. et al. Antioxidant capacity as influenced by total phenolics and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.46, n. 7, p. 2686-2693, 1998.

QUEIROZ, C.R.A.A. et al. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

RAO, B. Bioactive phytochemicals in Indian foods and their potential in health promotion and disease prevention. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.12, p. 9–22, 2003.

SÁNCHEZ-FERRER, A. et al. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, v. 1247, p. 1-11, 1994.

SOUSA, F.C.F. et al. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p. 642-654, 2008.

WANG, S. Y.; LIN, H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal Agricultural Food Chemistry.*, v. 48, n. 2, p. 140-146, 2000.

## CONCLUSÃO GERAL

Conforme os resultados obtidos para alelopátia, pode-se concluir que o extrato metanólico das folhas apresentou inibição no IVG das sementes de alface, na concentração de  $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Extratos metanólicos das folhas e cascas do caule de *M. urundeuva* Fr. All. reduziram o comprimento radicular das plântulas de alface.

Com a adição dos extratos brutos metanólicos, observou-se interferência no desenvolvimento de plântulas de repolho, evidenciando o potencial alelopático de *M. urundeuva* no crescimento de radícula e hipocótilo dessa espécie. Houve diferenças significativas no IVG de sementes de tomate, na presença do extrato hexânico das folhas. Observa-se então que os extratos mais polares de *M. urundeuva* Fr. All. apresentam potencial alelopático, por causar efeitos inibitórios, confirmados pela redução ou inibição da germinação e, também pelo atraso da germinação significativo nas sementes de alface, tomate e repolho.

Os resultados obtidos para os fenóis totais e atividade antioxidante indicam que os compostos secundários concentram-se preferencialmente nos extratos mais polares (metanólicos) das folhas e cascas do caule de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All, apresentando valores da  $CE_{50}$  de  $10,9 \mu\text{g mL}^{-1}$  para o extrato metanólico das cascas do caule e  $12,9 \mu\text{g mL}^{-1}$  para o extrato metanólico das folhas, possivelmente apresentando como constituintes polifenóis.

A espécie *M. urundeuva* Fr. All. pode ser considerada como promissora fonte de compostos bioativos por apresentar potenciais efeitos sobre a atividade da enzima tirosinase. Os extratos metanólicos demonstraram uma significativa inibição,

principalmente o extrato metanólico das cascas do caule, que apresentou inibição de 42%, o qual apresentou o percentual de inibição mais próximo do padrão testado (ácido kójico).