

MIRTA BICCA CONDESSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
E ALELOPÁTICA DE PLANTAS MEDICINAIS**

BRASÍLIA, 2011

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

MIRTA BICCA CONDESSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
E ALELOPÁTICA DE PLANTAS MEDICINAIS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto Simeoni
Co-orientadora: Profa. Dra. Dâmaris Silveira**

**BRASÍLIA
2011**

MIRTA BICCA CONDESSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
E ALELOPÁTICA DE PLANTAS MEDICINAIS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovada em 22 de março de 2011.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Alberto Simeoni

Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Profa. Dra. Dalva Graciano Ribeiro

Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília

Prof. Dr. Luis Isamu Barros Kanzaki

Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Profa. Dra. Dâmaris Silveira

Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

*Dedico este trabalho ao meu pai (in memoriam),
que permeia tudo que sei e sou.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida.

À minha mãe e meu pai, por sempre acreditarem que sou capaz.

Ao Prof. Dr. Luiz Simeoni e Profa. Dra. Dâmaris Silveira pelo voto de confiança, orientação, paciência, sapiência e, principalmente, pelo humor e inteligência característicos.

À Beatriz, Ísis, Flávia e Paula, por toda a colaboração na parte experimental, análise estatística e coleta de dados dos extratos estudados.

À Profa. Dra. Sueli Maria Gomes pela identificação das espécies e revisão do artigo científico.

À Betânia, por todo o amor e compreensão.

À Priscila, pela amizade eterna e todo o conhecimento e apoio compartilhado.

À Paloma, Juliana e Silas, pelo apoio, incentivo e amizade que permanecerá.

“Todo remédio que me cura tem uma contra-indicação”
(Modinha – Rita Lee)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	vii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	7
2.1 OBJETIVO GERAL	7
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS	8
3.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	10
3.2.1 Avaliação do potencial antioxidante pelo Modelo de Redução do Complexo de Fosfomolibdênio	10
3.2.1.1 Preparo dos Reagentes	10
3.2.1.2 Preparo das Substâncias de Referência (Padrões)	11
3.2.1.3 Obtenção das curvas de calibração	11
3.2.1.4 Análise realizada	11
3.2.1.5 Construção da curva padrão de ácido ascórbico	12
3.2.1.6 Construção da curva padrão de 2,6-di-t-butil-4-metilfenol (BHT)	13

3.2.1.7 Construção da curva padrão de quercetina	15
3.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA	16
3.3.1 Preparação das amostras e das placas	16
3.3.2 Ensaio de Germinação e Crescimento	17
3.3.3 Análise estatística	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 INTRODUÇÃO	20
4.2 <i>MORUS NIGRA</i> L. (MORACEAE): AMORA	21
4.2.1 Atividade antioxidante de <i>Morus nigra</i>	24
4.2.2 Atividade alelopática de <i>Morus nigra</i>	25
4.3 <i>GENIPA AMERICANA</i> L. (RUBIACEAE): JENIPAPO	35
4.3.1 Atividade antioxidante de <i>Genipa americana</i>	37
4.3.2 Atividade alelopática de <i>Genipa americana</i>	38
4.4 <i>POUTERIAS</i> SP.	47
4.4.1 Avaliação da atividade antioxidante das <i>Pouterias</i>	51
4.4.2 Avaliação da atividade alelopática das <i>Pouterias</i>	52
4.5 <i>SAPINDUS SAPONARIA</i> L. (SAPINDACEAE): SABONETEIRA	70
4.5.1 Avaliação da atividade antioxidante de <i>Sapindus saponaria</i>	72
4.5.2 Avaliação da atividade alelopática de <i>Sapindus saponaria</i>	73
4.6 <i>PLECTRANTHUS NEOCHILUS</i> SCHLTR. (LAMIACEAE): BOLDINHO	75
4.6.1 Avaliação da atividade antioxidante de <i>Plecthrantus neochilus</i>	76
4.6.2 Avaliação da atividade alelopática das <i>Plecthrantus neochilus</i>	77

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	87
6 REFERÊNCIAS	90

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Atividade redutora do ácido ascórbico no método de fosfomolibdênio.	12
Figura 2 – Atividade redutora do BHT no método de fosfomolibdênio.	14
Figura 3 – Atividade redutora da quercetina no método de fosfomolibdênio.	15
Figura 4 – <i>Morus nigra</i> . A) Árvore; B) Folha e C) Fruto.	22
Figura 5 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lactuca sativa</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de <i>Morus nigra</i> , em comparação com o controle.	27
Figura 6 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lactuca sativa</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de <i>Morus nigra</i> , em comparação com o controle.	28
Figura 7 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de <i>Morus nigra</i> , em comparação com o controle.	29
Figura 8 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de <i>Morus nigra</i> , em comparação com o controle.	30
Figura 9 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de <i>Morus nigra</i> , em comparação com o controle.	31
Figura 10 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de <i>Morus nigra</i> sobre o crescimento de sementes de <i>Lactuca sativa</i> .	32
Figura 11 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de <i>Morus nigra</i> sobre o crescimento de sementes de <i>Lycopersicum esculentum</i> .	33
Figura 12 – <i>Genipa americana</i> . A) Árvore; B) Folha e C) Fruto e Fruto Verde.	36
Figura 13 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lactuca sativa</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de fruto	40

- verde de *Genipa americana*, em comparação com o controle.
- Figura 14 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de casca do fruto verde de *Genipa americana*, em comparação com o controle. 41
- Figura 15 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de fruto verde de *Genipa americana*, em comparação com o controle. 42
- Figura 16 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Genipa americana*, em comparação com o controle. 43
- Figura 17 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de *Genipa americana*, em comparação com o controle. 44
- Figura 18 – Efeito alelopático dos extratos de *Genipa americana* sobre o crescimento das sementes de *Lactuca sativa*. 45
- Figura 19 – Efeito alelopático dos extratos de *Genipa americana* sobre o crescimento das sementes de *Lycopersicum esculentum*. 46
- Figura 20 – *Pouteria caimito*. A) Árvore; B) Folha e C) Fruto. 47
- Figura 21 – *Pouteria ramiflora*. A) Árvore; B) Folha e C) Fruto. 48
- Figura 22 – *Pouteria torta*. A) Árvore; B) Folha e C) Fruto. 50
- Figura 23 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Pouteria ramiflora*, em comparação com o controle. 55
- Figura 24 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de *Pouteria ramiflora*, em comparação com o controle. 56
- Figura 25 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Pouteria caimito*, em comparação com o controle. 57

Figura 26 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de <i>Pouteria caimito</i> , em comparação com o controle.	58
Figura 27 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de <i>Pouteria caimito</i> , em comparação com o controle.	59
Figura 28 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de <i>Pouteria caimito</i> , em comparação com o controle.	60
Figura 29 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de <i>Pouteria ramiflora</i> , em comparação com o controle.	61
Figura 30 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de <i>Pouteria ramiflora</i> , em comparação com o controle.	62
Figura 31 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de <i>Pouteria ramiflora</i> , em comparação com o controle.	63
Figura 32 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de <i>Pouteria torta</i> , em comparação com o controle.	64
Figura 33 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de <i>Pouteria</i> sobre o crescimento de sementes de <i>Lactuca sativa</i> .	66
Figura 34 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de <i>Pouteria ramiflora</i> sobre o crescimento de sementes de <i>Lycopersicum esculentum</i> .	68
Figura 35 – <i>Sapindus saponaria</i> . A) Árvore; B) Folha e Flores e C) Fruto.	71
Figura 36 – Efeito alelopático do extrato etanólico do fruto de <i>Sapindus saponaria</i> sobre o crescimento de sementes de <i>Lactuca sativa</i> .	73

Figura 37 – Efeito alelopático do extrato etanólico do fruto de <i>Sapindus saponaria</i> sobre o crescimento de sementes de <i>Lycopersicum esculentum</i> .	74
Figura 38 – <i>Plectranthus neochilus</i> . A) Folha e B) Folhas e Flores.	75
Figura 39 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lactuca sativa</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de <i>Plectranthus neochilus</i> , em comparação com o controle.	79
Figura 40 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lactuca sativa</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de <i>Plectranthus neochilus</i> , em comparação com o controle.	80
Figura 41 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lactuca sativa</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de <i>Plectranthus neochilus</i> , em comparação com o controle.	81
Figura 42 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de <i>Plectranthus neochilus</i> , em comparação com o controle.	82
Figura 43 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de <i>Plectranthus neochilus</i> , em comparação com o controle.	83
Figura 44 – Curvas de crescimento não cumulativo de <i>Lycopersicum esculentum</i> sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de <i>Plectranthus neochilus</i> , em comparação com o controle.	84
Figura 45 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de <i>Plectranthus neochilus</i> sobre o crescimento de sementes de <i>Lactuca sativa</i> .	85
Figura 46 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de <i>Plectranthus neochilus</i> sobre o crescimento de sementes de <i>Lycopersicum esculentum</i> .	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atividade biológica de espécies utilizadas na medicina popular brasileira.	6
Tabela 2 – Extratos brutos de espécies vegetais avaliadas quanto à atividade alelopática e antioxidante.	9
Tabela 3 – Absorbâncias obtidas para cada concentração de ácido ascórbico para construção da curva padrão.	13
Tabela 4 – Absorbâncias obtidas para cada concentração de BHT para construção da curva padrão.	14
Tabela 5 – Absorbâncias obtidas para cada concentração de quercetina para construção da curva padrão.	15
Tabela 6 – Atividade antioxidante de <i>Morus nigra</i> .	25
Tabela 7 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes extratos de folhas de <i>Morus nigra</i> .	26
Tabela 8 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de <i>Lycopersicon esculentum</i> submetidas a diferentes concentrações do extrato hexânico de folhas de <i>Morus nigra</i> .	26
Tabela 9 – Atividade antioxidante de <i>Genipa americana</i> .	38
Tabela 10 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes extratos de <i>Genipa americana</i> .	39
Tabela 11 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de <i>Lycopersicon esculentum</i> submetidas a diferentes extratos de <i>Genipa americana</i> .	39
Tabela 12 – Atividade antioxidante do gênero <i>Pouteria</i> .	52
Tabela 13 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes extratos de folhas de espécies de <i>Pouteria</i> .	53
Tabela 14 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da	54

germinabilidade (TIG) de sementes de *Lycopersicon esculentum* submetidas ao extrato etanólico de folhas de *Pouteria caimito* (Sapotaceae).

Tabela 15 – Atividade antioxidante de *Sapindus saponaria*. 72

Tabela 16 – Atividade antioxidante de *Plectranthus neochilus*. 76

Tabela 17 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes extratos de folhas de *Plectranthus neochilus* com resposta dose-dependente. 78

Tabela 18 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *Lycopersicon esculentum* submetidas a diferentes extratos de folhas de *Plectranthus neochilus* com resposta dose-dependente. 78

Tabela 19 – Atividade alelopática de extratos brutos de espécies vegetais utilizadas como medicinais sobre sementes de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. 88

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AA	Ácido ascórbico
Abs	Absorbância
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHT	2,6-di-t-butil-4-metilfenol
CAT	Catalase
CR	Crescimento Radicular
CRC	Comprimento da Radícula do Controle
CRT	Comprimento da Radícula no Tratamento
DPPH	2,2-difenil-1-picrilidrazila
G	Germinabilidade
GC	Germinabilidade do controle
GT	Germinabilidade do tratamento
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IVI	Índice de Valor de Importância
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i> – Lipoproteínas de baixa densidade
NOD	Diabético não obeso
OMS	Organização Mundial da Saúde
PPM	Parte por milhão
R	Coeficiente de correlação

ero	Espécies reativas de oxigênio
TICR	Taxa de Inibição do Crescimento Radicular
TIG	Taxa de Inibição da Germinabilidade
t_m	Tempo médio de germinação
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B

RESUMO

Os aleloquímicos têm importante papel ecológico e sua identificação é uma etapa fundamental na obtenção de novos herbicidas e possível correlação com atividades citotóxicas. Neste sentido, extratos brutos de sete espécies empregadas como medicinais no Brasil – *Morus nigra*, *Plectranthus neochilus*, *Pouteria torta*, *P. ramiflora*, *P. caimito*, *Genipa americana* e *Sapindus saponaria* – foram avaliados por ensaio de germinação e crescimento, para verificar o potencial alelopático sobre sementes de *Lactuca sativa* L. e *Lycopersicon esculentum* Mill., nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg/mL. Além disso, também foi verificada a atividade antioxidante pelo modelo de redução do complexo de fosfomolibdênio. Para a alelopatia foram avaliados os seguintes parâmetros: germinabilidade (G, em %), tempo médio de germinação (t_m) e comprimento da radícula (CR). Foram propostos pela primeira vez os conceitos de taxa de inibição da germinabilidade (TIG) e de taxa de inibição do crescimento radicular (TICR). Destacam-se como bastante promissores pelo potencial antioxidante os extratos etanólico e hexânico de folhas de *Plectranthus neochilus* e *Morus nigra*. Os extratos hexânicos de folhas de *Pouteria ramiflora* e *Pouteria torta* também apresentaram um potencial antioxidante bastante representativo. Avaliando as respostas obtidas para a atividade alelopática, pode ser constatado que os extratos apresentaram atividade alelopática inibitória em, ao menos, um dos parâmetros avaliados e os extratos etanólicos de folhas de *Pouteria caimito* e *Plectranthus neochilus* apresentaram inibição da atividade alelopática em todos os parâmetros testados. Até onde vai nosso conhecimento, os conceitos de TIG e TICR constituem contribuições inéditas do presente trabalho, mostrando-se úteis em estudos sobre alelopatia por possibilitarem uma análise direta do efeito inibitório dos extratos sobre a germinabilidade e crescimento da radícula, respectivamente, comparando os resultados do tratamento e do controle.

Palavras-chave: antioxidante, alelopatia, extrato bruto, conceito de taxa de inibição da germinabilidade, *Lactuca sativa*, *Lycopersicon esculentum*.

ABSTRACT

Allelochemicals play important ecological role and their identification can be considered one of the ways to get new herbicides and possible correlation with cytotoxic activities. In this sense, crude extracts from seven species used in traditional medicine in Brazil – *Morus nigra*, *Plectranthus neochilus*, *Pouteria torta*, *Pouteria ramiflora*, *Pouteria caimito*, *Genipa americana*, *Sapindus saponaria* – were evaluated by germination and growth assays, to determine their allelopathic potential on *Lactuca sativa* L. and *Lycopersicum esculentum* Mill. seeds at the concentrations of 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/mL. Moreover, the antioxidant activity was assessed by the reduction model of phosphomolybdenum complex. For allelopathy, the germinability (G, given in %), germination average time (tm) and radicle length (CR) were evaluated. As far we know, the concepts of germination inhibition rate (GIR) and of root growth inhibition rate (RGIR) were proposed in a first time. The ethanolic and hexane extracts from *Plectranthus neochilus* and *Morus nigra* are stand out as very promising by the antioxidant potential. Hexane extracts of *Pouteria ramiflora* and *Pouteria torta* also revealed a potential antioxidant activity fairly representative. Evaluating the responses obtained for the allelopathic activity, it could be found that the extracts presented inhibitory allelopathic activity in at least one of the parameters and the ethanol extracts of *Pouteria caimito* and *Plecthranthus neochilus* showed inhibitory allelopathic activity on all tested parameters. The GIR and RGIR concepts are novel contributions of this work, being useful in studies of allelopathy, because they allow a direct analysis of the inhibitory effect of extracts on germinability and radicle growth, respectively, and they compare the treatment and the control results.

Keywords: antioxidant, allelopathy, crude extract, concept of germination inhibition rate, *Lactuca sativa*, *Lycopersicum esculentum*.

1 INTRODUÇÃO

Considerada uma das práticas medicinais mais antigas no tratamento de doenças, o uso de plantas medicinais pela população é um costume extremamente difundido em todo o mundo. Apesar disso, até hoje, menos de 10% da biodiversidade mundial foi testada e, até 2050 estima-se que em torno de 25% da flora estará extinta, havendo o risco de nunca se ter conhecimento sobre espécies vegetais que poderiam tornar-se fontes naturais de medicamentos (1).

O Brasil é um dos países com a maior biodiversidade do planeta e em seu extenso território existem, aproximadamente, 20% das 250.000 espécies que compõem a flora mundial (1). Associada à biodiversidade cultural (indígena, africana, europeia), que tradicionalmente utiliza produtos naturais, as características econômicas e sociais presentes em nosso país indicam que o Brasil acompanha a estimativa da OMS na qual 80% da população dependem das plantas medicinais para a atenção primária à saúde (2).

Paralelamente ao uso popular de chás, garrafadas, cataplasmas e outras formas, as plantas medicinais vêm sendo utilizadas também em formas farmacêuticas, elaboradas industrialmente, denominados medicamentos fitoterápicos (3). No Brasil, para que o fitoterápico, obtido exclusivamente de vegetais, vendido em forma de extrato, tintura, cápsula, óleo, etc. – possa ser comercializado, é necessário que se obtenha o registro junto ao órgão competente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), e que os fabricantes comprovem que conseguem manter a qualidade e a concentração do princípio ativo presente na planta (4).

Diante da biodiversidade do Brasil (5) em conjunto com a necessidade da população por medicamentos é evidente que maiores investimentos, tanto em pesquisas, quanto no controle do uso destes medicamentos devem ser realizados, pois menos de 1% de algumas dessas espécies foi pesquisado com profundidade quanto à fitoquímica e atividade biológica (6). Por outro lado, uma análise do número de substâncias antineoplásicas e anti-infecciosas publicadas no período de 1984 a 1995 indicou que mais de 60% dos fármacos aprovados era de origem natural, derivados semi-sintéticos desses ou produtos sintéticos baseados no modelo natural (7). Esse número foi atualizado posteriormente,

mostrando que fármacos de origem natural, ou derivados desses, continuavam sendo a maioria entre aqueles aprovados pelas agências reguladoras (8).

A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células (9). Para o oxigênio consumido pelo organismo, em torno de 95% é reduzido à água pelas mitocôndrias e os 5% restantes podem ser convertidos em substâncias chamadas espécies reativas do oxigênio (ERO), dentre os quais os radicais livres. Estes compostos são produzidos normalmente pelo nosso metabolismo e têm um papel importante na participação da cadeia respiratória e na defesa contra microorganismos, mas quando não controlados podem causar muitos danos, pois podem romper ligações covalentes e atacar biomoléculas como o DNA, causando agressões celulares (9-11). Este *stress* oxidativo tem sido associado ao desenvolvimento de muitas doenças crônicas e degenerativas, incluindo o câncer, doenças cardíacas, doenças degenerativas como Alzheimer, bem como, envolvimento no processo de envelhecimento (9, 11-15).

Os compostos antioxidantes, por sua vez, contribuem para reduzir, significativamente, a incidência de doenças crônicas e degenerativas, o que torna fundamental a pesquisa por fontes com atividade antioxidante. Compostos típicos que possuem atividade antioxidante incluem a classe de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonoides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido fólico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis (9-11, 16).

Estas substâncias antitumorais e com propriedades antioxidantes são facilmente encontradas na alimentação (17) e têm sido largamente estudadas e testadas para a aplicação nas patologias citadas, relacionadas à sua atividade antioxidante e antitumoral. Diversos antioxidantes, naturais e sintéticos, formam complexos com metais de transição, impedindo a formação destes radicais (18). Desta forma, compostos naturais tornam-se alternativas interessantes a serem estudadas para a aplicação nas referidas patologias, uma vez isoladas e testadas suas propriedades, utilizando modelos *in vitro*, *ex vivo* ou *in vivo*, por meio dos quais o potencial antioxidante possa ser avaliado.

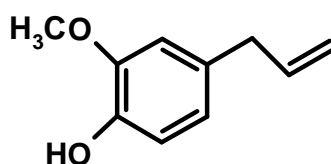
A citotoxicidade de um determinado composto ou substância pode ser avaliada por meio da observação de alterações na divisão celular do organismo teste (19). A alelopatia é definida como a interferência positiva ou negativa de substâncias produzidas por uma planta e pode representar uma alternativa interessante na busca de fitotoxinas naturais com atividade inibitória ou

estimulante sobre outras espécies (20). Portanto, a atividade alelopática representa um modelo interessante para a avaliação da ação de determinado composto sobre a proliferação celular.

A atividade de inibição da proliferação celular pode ser avaliada utilizando como modelo a inibição da germinação de determinadas espécies e pela interferência no desenvolvimento das radículas. Assim, uma substância ou um extrato vegetal que apresente a capacidade de interferir no desenvolvimento da radícula de outra espécie pode ser um candidato interessante para aplicação como antitumoral, herbicida ou agente alelopático (21). A correlação com a atividade citotóxica reside no fato que a inibição no desenvolvimento de radícula ou na germinação pode ser devida à interferência no sistema bioquímico ou outro sistema relacionado ao crescimento (por exemplo, divisão cromossômica) do organismo teste (21).

A avaliação preliminar de citotoxicidade tem sido feita por meio do estudo da influência de extratos sobre a germinação e o crescimento de determinadas espécies-alvo (22) comumente o alface (*Lactuca sativa* L.). Este tipo de abordagem revelou o potencial alelopático de extratos aquosos de folhas frescas e secas de *Persea americana* Mill., o abacateiro (23); do extrato volátil de *Pilocarpus microphyllus* Stapf. ex Wardleworth, o jaborandi (24); e de *Artemisia annua* L., a artemísia (25).

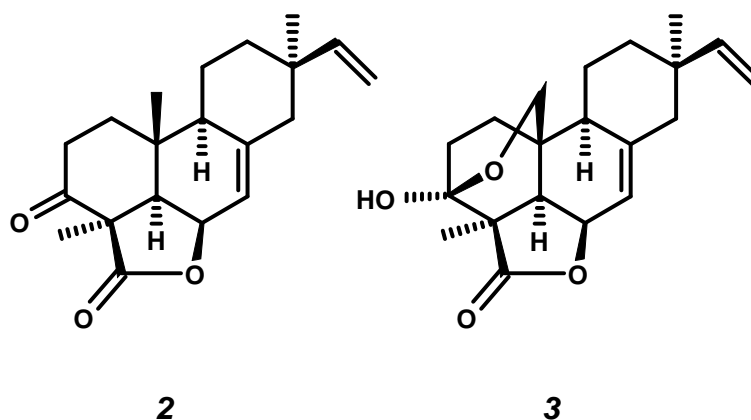
Diversas espécies que interferem no metabolismo de outras são relatadas na literatura. Extratos de *Rhynchosyris pallidifolium* (Mitt.) A. Jaeger mostraram atividade inibitória de crescimento em monocotiledôneas e dicotiledôneas (26). O extrato etanólico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry (cravo-da-índia), bem como eugenol (**1**) puro, diminuíram a germinação e crescimento de diversas sementes (27).



1

O arroz (*Oriza sativum* L.) inibe o crescimento de espécies invasoras e de plantas com as quais é cultivado em consórcio, sendo que os diterpenos

momilactona A (**2**) e momilactona B (**3**), isolados do exsudado de suas raízes, parecem ser os responsáveis por esta atividade (28, 29).



Testes *in vitro* mostraram que estes exsudados inibem o crescimento de raízes e brotos de *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. nas concentrações de 0,8-2,2% e 59-82%, respectivamente (30). Folhas e frutos de *Solanum lycocarpum* St. Hill. apresentaram propriedades alelopáticas (inibitórias e estimulantes), que se manifestam numa ampla faixa de temperatura (31).

As interações químicas que ocorrem no ecossistema têm se apresentado como uma solução alternativa na busca de fontes de herbicidas, disponíveis na própria natureza, mais específicos e menos prejudiciais ao ambiente (32). A ampliação desse conhecimento para a flora brasileira é de grande importância, devido tanto à megadiversidade florística de nosso país (33), como ao potencial de representarem novas informações. Esta diversidade se traduz também do ponto de vista químico, já que diferentes espécies variam em suas respostas aleloquímicas, liberando diversos compostos do metabolismo secundário no ambiente (25, 34).

Tal característica torna-se de extrema importância em biomas que apresentem alto endemismo como o Cerrado, onde há áreas em que as estimativas de espécies endêmicas podem ultrapassar 40% (35). Nesse bioma, poucas espécies ocorrem em mais do que oito localidades e muitas podem ser encontradas em apenas uma área (36). Por outro lado, tal diversidade pode contribuir com a adaptação de espécies não originárias do Cerrado. Estudos florísticos têm mostrado que as florestas Amazônica e Atlântica influenciaram a flora do Cerrado sendo, no entanto, maior a influência desta última (35).

Aleloquímicos liberados por meio da decomposição de resíduos vegetais podem ter papel importante na germinação e estabelecimento de sementes individuais, influenciando no padrão da vegetação na medida em que geram variações químicas no solo (37).

Dessa forma, identificar espécies que apresentem a propriedade de interferir na germinação ou crescimento de outras plantas pode representar uma forma de buscar entender a biodiversidade do Cerrado. Adicionalmente, a utilização de tais espécies pode ser uma estratégia interessante para o manejo natural e redução do uso de herbicidas, inseticidas e outros produtos artificiais na agricultura (38, 39).

Considerando a importância dos aleloquímicos nos ecossistemas, bem como sua possível correlação com atividades citotóxicas, o estudo da atividade alelopática visa contribuir para o conhecimento sobre a atividade biológica dessas espécies. Adicionalmente, aumentar o conhecimento sobre a ação de espécies de nossa flora utilizadas com finalidade terapêutica é de fundamental importância para termos, cada vez mais, medicamentos com eficácia e segurança estabelecidas. Assim, visando contribuir para o conhecimento de espécies popularmente utilizadas como medicinais no Brasil, esse trabalho tem foco em sete espécies: *Morus nigra*, *Plectranthus neochilus*, *Pouteria torta*, *Pouteria ramiflora*, *Pouteria caimito*, *Genipa americana* e *Sapindus saponaria*. Além disso, estas espécies, que têm sido objeto de estudo do grupo de pesquisa “Desenvolvimento e Controle da Qualidade de Fármacos e Medicamentos”, foram escolhidas com o intuito de contribuir na obtenção de dados para tais estudos.

A Tabela 1 mostra algumas das atividades biológicas descritas para essas espécies.

Tabela 1 – Atividade biológica de espécies utilizadas na medicina popular brasileira.

Espécie	Atividade biológica e uso popular
<i>Morus nigra</i> L. (Moraceae)	Antioxidante (16, 40-44); Anti-inflamatória (40, 41); Antinociceptiva (41); Hipoglicemiante (6, 16); Atividade inibitória da tirosinase (45); Atividade frente a receptores nucleares (46-48). <i>Uso popular:</i> Reposição hormonal e alívio de fogachos na menopausa; cefaleia e irritação no período menstrual (49).
<i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae)	<i>Uso popular:</i> Antiulcerogênica, antidiarreica, catártica, tratamento de faringites, antissifilítica, febrífugo, antiasmático, afrodisíaco, antianêmico, tônico, diurético, afecções do baço, fígado e icterícia, feridas externas e faringite (50).
<i>Pouteria caimito</i> (Ruiz & Pav.) Radlk. (Sapotaceae)	Antioxidante, atividade fotoprotetora contra raios UVA e UVB (51). <i>Uso popular:</i> Antimicrobiano, antimalárico (52).
<i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk. (Sapotaceae)	Antinociceptiva, anti-inflamatória (53); Antioxidante, toxicidade a larvas de <i>Artemia salina</i> , atividade fotoprotetora contra raios UVA e UVB, atividade inibitória da α -amilase, inibição da germinação de <i>Lactuca sativa</i> (51); Antimicrobiana (54). <i>Uso popular:</i> Tratamento de verminoses, disenteria, dor e inflamação (53).
<i>Pouteria torta</i> (Mart.) Radlk. (Sapotaceae)	Antimicrobiana (54); Antifúngica e inseticida (55); Toxicidade a larvas de <i>Artemia salina</i> (51, 56); Atividade inibitória da α -amilase, atividade frente a receptores nucleares, atividade fotoprotetora contra raios UVA e UVB (51); Antimicrobiana (51, 54); Inibição da germinação de <i>Lactuca sativa</i> (57) <i>Uso popular:</i> Antidiarreico (51).
<i>Sapindus saponaria</i> L. (Sapindaceae)	Redução de protozoários em ruminantes (58); Redução da liberação de metano por ruminantes (59); Atividade larvicida sobre <i>Boophilus microplus</i> (60); Atividade moluscicida sobre <i>Biomphalaria glabrata</i> (61); Atividade antiulcerativa (3, 62); Atividade antifúngica (63). <i>Uso popular:</i> Lesões da pele e inflamação (3, 62).
<i>Plectranthus neochilus</i> Schltr. (Lamiaceae)	Atividade antifúngica (64). <i>Uso popular:</i> Deficiência hepática e dispepsia (65).

2 OBJETIVOS

Considerando que diversos estudos biomonitorados de espécies vegetais têm levado à obtenção de frações e substâncias com atividades antioxidantes e alelopáticas e, também, levando em conta a necessidade de inserção de protocolos adicionais para a avaliação da atividade biológica desses mesmos extratos, este estudo trata da investigação *in vitro* da atividade antioxidante e alelopática de extratos vegetais, ampliando as opções terapêuticas naturais a serem estudadas, posteriormente *in vivo*, para esta patologia. Além disso, fornecerá componentes para trabalhos futuros de isolamento de substâncias responsáveis pela atividade antioxidante e alelopática e possíveis sínteses de novos produtos com base nas moléculas isoladas.

Desta forma, considerando a importância de todas as espécies vegetais estudadas para as populações do Cerrado e da necessidade de conhecimento de suas atividades biológicas para futuras pesquisas de propriedades etnofarmacológicas, os seguintes objetivos são propostos:

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a atividade alelopática e antioxidante de extratos brutos de sete espécies vegetais empregadas como medicinais no Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Investigar se os extratos brutos testados apresentam atividade antioxidante quando submetidos ao teste de molibdênio.

Investigar se os extratos brutos testados apresentam atividade alelopática frente à germinação de plantas-alvo alface e tomate, com avaliação dos parâmetros germinabilidade e tempo médio de germinação.

Investigar se os extratos brutos testados apresentam atividade alelopática frente ao crescimento de plantas-alvo alface e tomate, com avaliação do parâmetro crescimento radicular.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

Para as espécies avaliadas, uma exsicata testemunha está depositada no Herbário da Universidade de Brasília (Herbário UB), Brasília, DF, sob os números apresentados na Tabela 2.

Todos os extratos usados são oriundos da coleção de extratos do grupo de pesquisa “Desenvolvimento e Controle da Qualidade de Fármacos e Medicamentos”, Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, sob a coordenação da Profa. Dâmaris Silveira.

Para a obtenção do extrato hexânico, o material botânico foi pulverizado e submetido à extração por maceração a frio, por quatro vezes, durante sete dias cada, utilizando primeiramente hexano como solvente. Após decantação, as soluções extrativas foram concentradas à secura, sob vácuo, a uma temperatura de aproximadamente 40°C. Com o material botânico restante, o mesmo processo foi realizado utilizando etanol 95% como solvente.

Na obtenção do extrato aquoso bruto, a técnica de extração utilizada foi a infusão. Resumidamente, ao material botânico pulverizado foi adicionada água destilada submetida previamente à ebulição e posterior arrefecimento até 70°C. A mistura foi mantida em contato até arrefecimento a 50°C e filtrada a quente. A solução extrativa obtida foi mantida a -30°C e posteriormente foi submetida à liofilização.

Tabela 2 – Extratos brutos de espécies vegetais avaliadas quanto à atividade alelopática e antioxidante.

Espécie	Nome popular	Parte usada	Extrato	Exsicata	Local de coleta
<i>Morus nigra</i> L. (Moraceae)	Amora	Folha	AQUOSO HEXÂNICO ETANÓLICO	Franzotti E. 17837	Asa Norte Brasília-DF
<i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae)	Jenipapo	Casca do fruto verde	ETANÓLICO	Sueli Maria Gomes 915	Samambaia-DF
		Fruto verde	ETANÓLICO HEXÂNICO ETANÓLICO		
		Folha			
<i>Pouteria caimito</i> (Ruiz & Pav.) Radlk (Sapotaceae)	Abiu	Folha	HEXÂNICO ETANÓLICO AQUOSO	S. M. Gomes UB 27284	Pocrane-MG
<i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk (Sapotaceae)	Curiola	Folha	HEXÂNICO ETANÓLICO AQUOSO	JElias de Paula 3671	Campus UnB Asa Norte Brasília-DF
<i>Pouteria torta</i> (Mart.) Radlk (Sapotaceae)	Guaiepeva	Folha	HEXÂNICO AQUOSO	JElias de Paula 3674	Campus UnB Asa Norte Brasília-DF
<i>Sapindus saponaria</i> L. (Sapindaceae)	Saboneteira	Fruto	ETANÓLICO	Sueli Maria Gomes 916	Campus UnB Asa Norte Brasília-DF
<i>Plectranthus neochilus</i> Schltr. (Lamiaceae)	Boldinho	Folha	HEXÂNICO AQUOSO ETANÓLICO	Sueli Maria Gomes 913	Campus UnB Asa Norte Brasília-DF

3.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

As análises realizadas foram conduzidas no Laboratório de Farmacologia Molecular (FARMOL) da Universidade de Brasília (UnB).

3.2.1 Avaliação do potencial antioxidante pelo Modelo de Redução do Complexo de Fosfomolibdênio

A metodologia para verificação *in vitro* da atividade antioxidante de extratos vegetais é uma adaptação da metodologia utilizada por Prieto (1999), que consiste em construir uma curva padrão utilizando material antioxidante de referência (66). Este método foi baseado na redução do complexo de fosfomolibdênio em comparação com três compostos de atividade antioxidante reconhecida. Os dados de absorbância foram registrados em um espectrofotômetro Shimadzu (UV-1601).

3.2.1.1 Preparo dos Reagentes

Foram pesados 266mg de fosfato de sódio (Na_3PO_4) e 123mg de molibdato de amônio tetraidratado ($(\text{N}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\text{H}_2\text{O}$) e medidos 810 μL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) para o preparo de soluções aquosas de 25 μL de Na_3PO_4 28mM; $(\text{N}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\text{H}_2\text{O}$ 4mM e H_2SO_4 0,6M, separadamente. As três soluções foram reunidas em um frasco somente no momento de utilizar.

3.2.1.2 Preparo das Substâncias de Referência (Padrões)

As substâncias de referência foram ácido ascórbico (Dinâmica), BHT (2,6-di-t-butil-4-metilfenol) (Synth) e quercetina (amostra gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Lauro Barata do Instituto de Química/Unicamp).

Foram preparadas soluções estoque a 1,0mg/mL de ácido ascórbico, BHT e quercetina, em etanol. A partir das soluções estoque, alíquotas foram adicionadas de etanol e preparadas soluções diluídas a 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; 0,1 e 0,05mg/mL de cada padrão a ser testado.

3.2.1.3 Obtenção das curvas de calibração

Para cada diluição de cada padrão, a análise foi feita em triplicata. Além disso, para verificar a repetibilidade do método, foram realizadas três análises em triplicata para cada padrão em dias diferentes. Foram adicionados, em microtubos de centrífuga, 1mL da solução reagente + 0,1mL da solução padrão preparada em cada concentração. Foi preparado um branco com 1mL da solução reagente + 0,1mL de etanol.

3.2.1.4 Análise realizada

Os tubos foram tampados e mantidos em banho-maria a 95°C por 90min. Após este período, as amostras foram deixadas a arrefecer até temperatura ambiente. As amostras contidas em cada tubo foram transferidas para cubetas de plástico (caminho óptico 1cm) e analisadas sob comprimento de onda de 695nm em espectrofotômetro Shimadzu. O equipamento foi previamente zerado com o branco (1mL da solução reagente + 0,1mL de etanol). As absorbâncias geradas foram utilizadas na construção das curvas de calibração. Os dados

foram analisados utilizando o programa GrafPad Prism 5, por método ANOVA e curvas de calibração foram construídas.

Para as amostras analisadas, todos os testes foram realizados em triplicata, seguindo o mesmo procedimento de preparo das soluções padrão, adicionando em tubos do tipo eppendorf 1mL do reagente preparado + 0,1mL das soluções etanólicas de análise (obtidas a partir dos extratos brutos vegetais preparados a 1,0mg/mL).

3.2.1.5 Construção da curva padrão de ácido ascórbico

A Tabela 3 apresenta as concentrações das soluções de ácido ascórbico utilizadas para a construção da curva padrão (Figura 1).

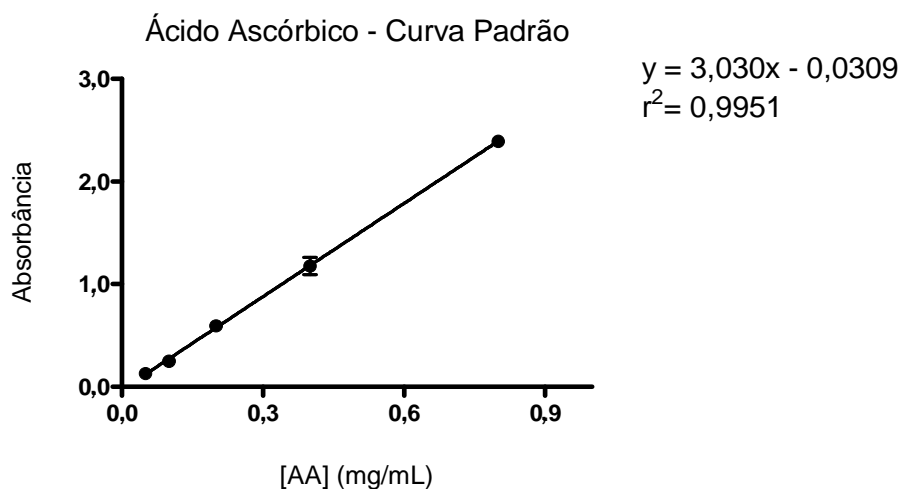


Figura 1 – Atividade redutora do ácido ascórbico no método de fosfomolibdênio. Curva padrão com as absorbâncias obtidas em três experimentos com concentrações crescentes de ácido ascórbico (mg/mL). Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.

Tabela 3 – Absorbâncias obtidas para cada concentração de ácido ascórbico para construção da curva padrão.

Concentrações (mg/mL)	Absorbâncias obtidas do			Média Abs
	complexo de Mo com ácido ascórbico			
	1	2	3	
0,050	0,122	0,123	0,142	0,129
0,100	0,256	0,263	0,229	0,249
0,200	0,567	0,601	0,613	0,594
0,400	1,310	1,020	1,202	1,177
0,800	2,358	2,436	2,382	2,392

3.2.1.6 Construção da curva padrão de 2,6-di-t-butil-4-metilfenol (BHT)

A Tabela 4 apresenta as concentrações das soluções de BHT utilizadas para a construção da curva padrão (Figura 2).

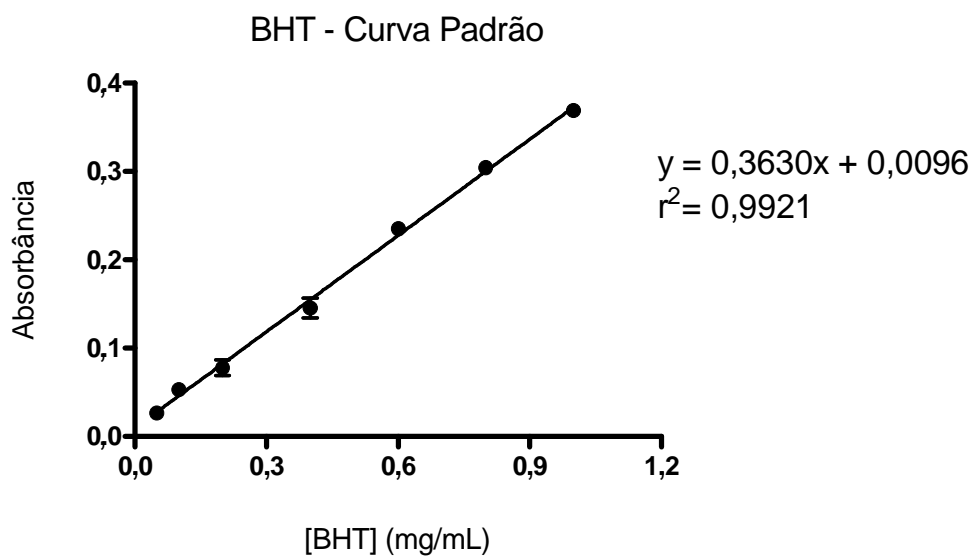


Figura 2 – Atividade redutora do BHT no método de fosfomolibdênio. Curva padrão com as absorbâncias obtidas em três experimentos com concentrações crescentes de BHT (mg/mL). Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.

Tabela 4 – Absorbâncias obtidas para cada concentração de BHT para construção da curva padrão.

Concentrações (mg/mL)	Absorbâncias obtidas do complexo de Mo com BHT			Média Abs
	1	2	3	
0,050	0,020	0,028	0,032	0,026
0,100	0,050	0,056	0,053	0,053
0,200	0,085	0,089	0,060	0,078
0,400	0,158	0,156	0,123	0,146
0,600	0,230	0,240	0,236	0,235
0,800	0,302	0,307	0,304	0,304
1,000	0,366	0,383	0,357	0,369

3.2.1.7 Construção da curva padrão de quercetina

A Tabela 5 apresenta as concentrações das soluções de quercetina utilizadas para a construção da curva padrão (Figura 3).

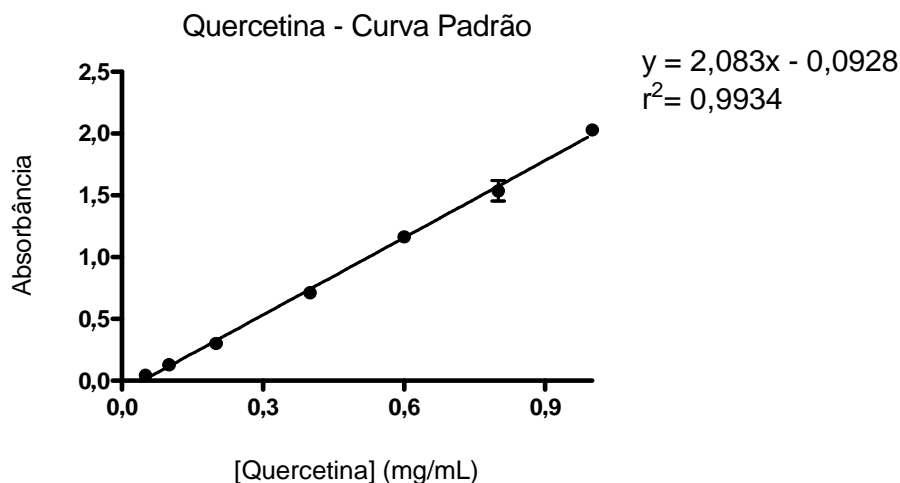


Figura 3 – Atividade redutora da quercetina no método de fosfomolibdênio. Curva padrão com as absorbâncias obtidas em três experimentos com concentrações crescentes de quercetina (mg/mL). Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.

Tabela 5 – Absorbâncias obtidas para cada concentração de quercetina para construção da curva padrão.

Concentrações (mg/mL)	Absorbâncias obtidas do complexo de Mo com quercetina			Média Abs
	1	2	3	
	0,050	0,043	0,049	
0,100	0,122	0,137	0,122	0,127
0,200	0,290	0,311	0,304	0,302
0,400	0,696	0,730	0,709	0,712
0,600	1,140	1,119	1,234	1,164
0,800	1,610	1,628	1,369	1,536
1,000	2,057	2,039	1,995	2,030

Todos os resultados obtidos mostraram que as substâncias antioxidantes escolhidas como padrões resultaram em curvas com boa linearidade e repetibilidade. Para o cálculo da equivalência dos extratos brutos analisados com relação aos padrões testados (ácido ascórbico, BHT e quercetina) foram utilizadas as equações da reta às quais foram aplicadas as absorbâncias lidas a 695nm. Desta forma, foram obtidas as concentrações relativas aos controles.

Considerando que os extratos brutos representam uma mistura complexa de diversas substâncias que devem ser isoladas para caracterização de atividades, para analisar o potencial antioxidante das amostras testadas, foram considerados resultados significativos os valores de equivalência acima de 0,4mg/mL.

3.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA

3.3.1 Preparação das amostras e das placas

Os extratos brutos foram testados em:

- alface (*Lactuca sativa* L., Asteraceae) variedade crespa “grand Rapids TBR”, marca Isla Pak;
- tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill., Solanaceae) variedade super marmande, marca Isla Pak.

A resistência ou tolerância aos metabólitos secundários é uma característica espécie-específica, existindo plantas mais sensíveis, como *Lactuca sativa* L. (alface), *Lycopersicon esculentum* Mil. (tomate) e *Cucumis sativus* L. (pepino), consideradas indicadoras de atividade alelopática (24). Além disso, outros fatores sustentaram a escolha de *L. sativa* como espécie-alvo: curto período necessário para germinação (24 a 48h), não requer foto-período, apresenta tamanho considerado uniforme, germinação potencial sob temperatura ambiente, eixo único da plântula facilita a leitura do crescimento e

seus diásporos são facilmente encontrados (67, 68). Como as espécies nativas, amiúde, possuem algum tipo de dormência, o uso de sementes de espécies cultivadas de boa qualidade é aconselhável e *Lycopersicon esculentum* (tomate) e *Lactuca sativa* (alface) são duas espécies em que as “sementes” (alface é um aquênio) são facilmente encontradas e bastante sensíveis a vários aleloquímicos (20).

As placas de Petri (9,0cm diâmetro) utilizadas nos ensaios foram desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio 0,01%, durante três horas, lavadas com água destilada e revestidas internamente por discos de papel-filtro Whatman número 1. O conjunto foi submetido à esterilização em autoclave.

As plantas-alvos foram testadas com os extratos brutos quanto à sua germinabilidade e tempo médio de germinação (para a atividade alelopática na germinação) e comprimento radicular (para a atividade alelopática no crescimento).

3.3.2 Ensaio de Germinação e Crescimento

Para ambos os ensaios, foi utilizada a metodologia descrita por Ferreira & Borghetti (2004), que preconiza a verificação da ocorrência de efeitos inibitórios ou estimulantes na germinação e no crescimento de *L. sativa*, frente às amostras testadas, em diferentes concentrações. As placas de Petri montadas com discos de papel-filtro foram umedecidas com 10mL de solução do extrato (etanólico, hexânico ou aquoso) nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0mg/mL (20).

Para o ensaio de germinação, após a evaporação do solvente, foram adicionados 10mL de água em cada placa. Em seguida, cada disco de papel recebeu 30 diásporos das espécies-alvos, distribuídos aleatoriamente, com três repetições para cada extrato. Como controle, o mesmo procedimento foi utilizado, entretanto, sem o extrato vegetal. A verificação da ocorrência de germinação foi realizada nos intervalos de 24, 48, 72, 96 e 120h (total de 5 dias), procedendo a retirada das sementes germinadas. O critério de

germinação foi emergência da radícula ($\pm 2\text{mm}$) seguida de curvamento geotrópico da raiz.

Para o ensaio de crescimento, após a evaporação do solvente, foram adicionados 10mL de água. Em seguida, cada disco de papel recebeu 10 diásporos das espécies-alvos, distribuídos aleatoriamente, com três repetições para cada extrato. Como controle, o mesmo procedimento foi utilizado, entretanto, com a ausência do extrato vegetal. Os diásporos estavam em período de crescimento prévio de três dias e foram escolhidos pela semelhança de tamanho de crescimento neste período, evitando diferenças significativas que pudessem influenciar os resultados do teste. As medidas da radícula das 10 plântulas por placa foram feitas após sete dias de crescimento, utilizando paquímetro digital.

3.3.3 Análise estatística

Cálculo da taxa de inibição da germinabilidade (TIG): é proposta aqui a avaliação da taxa de inibição da germinabilidade, baseada na comparação entre controle e demais tratamentos. O resultado é fornecido em porcentagem por meio da fórmula:

$$\text{TIG} = (\text{GC} - \text{GT})/\text{GC}.100\%$$

Onde:

TIG = taxa de inibição da germinabilidade;

GC = germinabilidade do controle;

GT = germinabilidade do tratamento.

Valores positivos de TIG revelam inibição da germinação, enquanto valores negativos indicam estímulo à germinação.

Cálculo da taxa de inibição do crescimento radicular (TICR): é proposta aqui a avaliação da taxa de inibição do crescimento radicular, baseada

na comparação entre o controle e demais tratamentos. O resultado é fornecido em porcentagem por meio da fórmula:

$$\text{TICR} = (\text{CRC} - \text{CRT})/\text{CRC}.100\%$$

Onde:

TICR = taxa de inibição do crescimento radicular;

CRC = comprimento da radícula no controle;

CRT = comprimento da radícula no tratamento.

Valores positivos de TICR revelam inibição do crescimento, enquanto valores negativos indicam estímulo ao crescimento.

Para as variáveis do teste de germinação e crescimento, foram utilizadas análises estatísticas aplicando o pacote SigmaPlot, versão 11.0 e GraphPad Prism 5. Nas análises de germinação, os parâmetros avaliados foram germinabilidade (G) e tempo médio de germinação (t_m) (69, 70).

Nos ensaios de crescimento, o parâmetro avaliado foi o crescimento radicular (CR) após 7 dias em contato com os extratos testados. Os dados de germinabilidade foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) One way, seguida do método Holm-Sidak ($p < 0,05$); para os dados não paramétricos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido de teste Tukey ($p < 0,05$). Os dados de tempo médio de germinação (t_m) foram submetidos à ANOVA Two way ($p < 0,001$). Os dados de crescimento foram submetidos à ANOVA não paramétrica e Dunn *post hoc* ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 INTRODUÇÃO

A capacidade antioxidante pode ser determinada de maneira quantitativa por meio de ensaio espectrofotométrico, baseado na redução de Mo(VI) para Mo(V) pela amostra e subsequente formação de um complexo verde de fosfato/Mo(V) (66). As absorvâncias das amostras de extratos vegetais testados foram determinadas e comparadas com os valores das absorvâncias das substâncias de referência utilizadas, neste caso, ácido ascórbico, BHT e quercetina. Neste trabalho, todas as amostras de extratos vegetais analisadas foram preparadas na concentração de 1mg/mL.

Este método é considerado de fácil execução, reproduzível e amplamente utilizado para verificação de atividade antioxidante, principalmente para compostos fenólicos (71). Fundamenta-se na transferência de elétrons, por meio da verificação da capacidade redutora em presença de reagente específico (71), diferente de outros métodos utilizados, como o do DPPH. Embora o método do DPPH também possua fundamentação na transferência de elétrons, verificou-se que ele possui limitações podendo falsear os resultados com eugenol, não sendo a melhor opção para verificação deste composto e outros fenóis (71) e também de compostos que possuam um espectro que sobreponha o do DPPH a 515nm, como o de carotenoides, que interferem no resultado (72).

Quanto à avaliação da atividade alelopática, o ensaio de germinação é menos sensível aos aleloquímicos do que o crescimento da plântula; porém, a quantificação experimental é muito mais simples, pois, para cada semente, o fenômeno é discreto, germinando ou não (20). Muitas vezes, o efeito alelopático não se dá sobre a germinabilidade (percentual final de germinação), mas sobre a velocidade de germinação ou sobre outro parâmetro do processo, por esta razão, o acompanhamento da germinação deve ser diário ou em períodos mais curtos que 24 horas (20). Neste estudo, foram utilizados valores de TIG que

expressam diretamente o efeito inibitório da germinabilidade das sementes, facilitando a análise dos resultados.

A germinabilidade informa o número de sementes germinadas, entretanto, não reflete quanto tempo foi necessário para que as sementes atingissem tal porcentagem de germinação (20). Desta forma, se dois ou mais lotes de sementes apresentarem germinabilidade semelhante, isso não quer dizer que seu comportamento germinativo seja o mesmo, pois os tempos e a distribuição da germinação das sementes podem ser diferentes. Considerando que a 22°C todo um lote de alface pode germinar em 48 ou, no máximo, 72h e que poderia haver efeito alelopático dos extratos testados na distribuição deste tempo de germinação, o cálculo do tempo médio foi realizado, pois fornece um caráter cinético ao processo e permite a realização de inferências sobre vias metabólicas envolvidas (20).

Os testes de germinação e crescimento são simples, mas exigem uma série de cuidados para que possam ser obtidas respostas reproduzíveis, tais como, devem ser realizados em laboratório a temperatura ambiente (o uso da temperatura entre 22-28°C é o procedimento mais com um); deve-se cuidar para que as placas não sequem (a colocação de papel-filtro no fundo da placa diminui o problema); deve-se evitar o alagamento das placas para impedir que as sementes flutuem; esses cuidados são fundamentais, pois a evaporação dos extratos torna-os mais concentrados, o que pode falsear os resultados (20).

4.2 *MORUS NIGRA* L. (MORACEAE): AMORA

Existem 24 espécies de *Morus*, uma delas a *Morus nigra* L. e uma subespécie com, no mínimo, 100 variedades conhecidas (73). A amoreira é encontrada desde as regiões de temperatura subtropical do hemisfério norte até as regiões tropicais do hemisfério sul e pode crescer em uma ampla faixa de variação de condições de solo, climáticas e topográficas (73).

É uma espécie arbórea que cresce rapidamente quando jovem, mas logo diminui a velocidade de crescimento e raramente excede os 10 – 15m de altura,

as folhas são muito utilizadas na medicina popular (Tabela 1) e os frutos comestíveis são utilizados *in natura* ou no preparo de sucos, doces e sorvetes.

No Brasil, as folhas são utilizadas sob a forma de chá para reposição hormonal e alívio de fogachos na menopausa e para cefaleia e irritação no período pré-menstrual (74, 75).

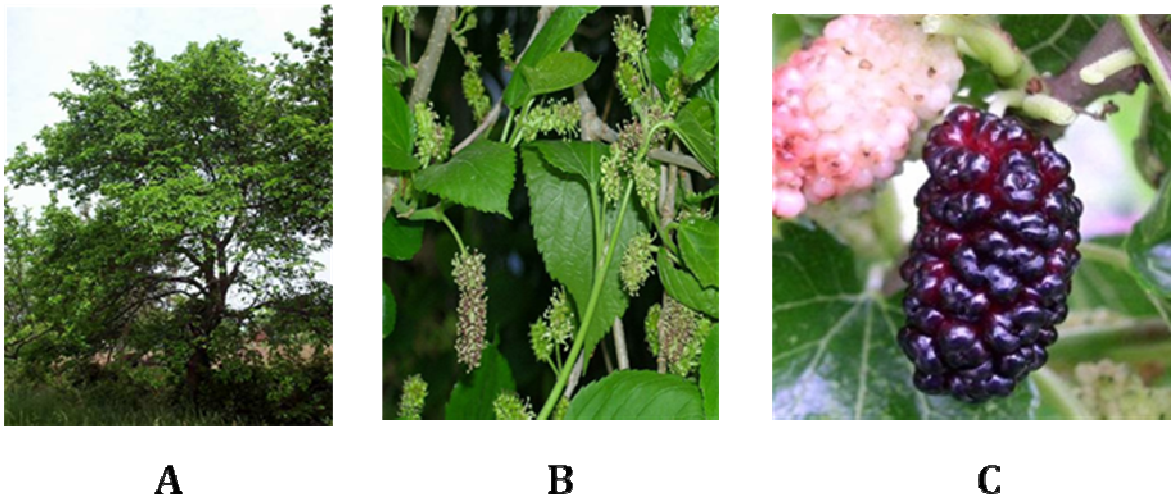


Figura 4 – *Morus nigra*. A) Árvore; B) Folha e C) Fruto¹.

Morus nigra, muito conhecida pelo seu fruto – a amora – desperta muito interesse em estudos para verificação de sua atividade terapêutica pela presença de flavonoides (49). Em estudo para verificação da composição química dos frutos de *Morus alba*, *M. rubra* e *M. nigra* foi verificado que os frutos de *M. nigra* apresentam o maior conteúdo de flavonoides e compostos fenólicos totais (73).

Dentre os flavonoides presentes, os derivados de antocianinas foram os principais componentes encontrados, seguidos por quercetina. Do conteúdo total de antocianinas, 71% e 19%, correspondem a cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo respectivamente (76).

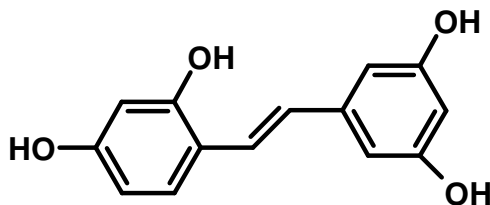
O extrato da raiz de *Morus nigra* contém oxiresveratrol (4) e outros componentes fitoquímicos que contribuem para a forte atividade inibitória da tirosinase deste extrato (45).

¹Fontes:

A) <http://www.apinguela.com/Plantas/M/Morus-nigra/Morus%20nigra.jpg>

B) <http://australian-insects.com/lepidoptera/plants/mora/morus-nigra.jpg>

C) http://www.about-garden.com/images_data/4731-morus-nigra-moruse-cerna.jpg

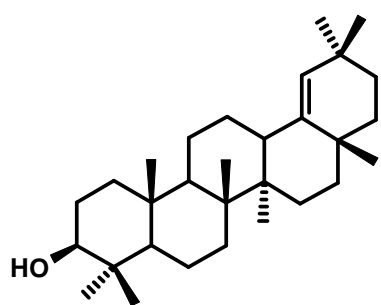


4

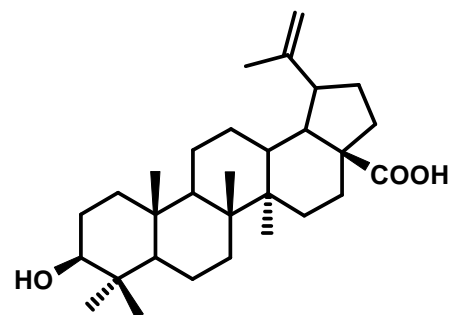
A atividade antioxidante, o conteúdo de antocianinas e fenóis totais de frutos de *Morus nigra* e a determinação de variações sazonais nesta atividade foram avaliados e foi observado que esses compostos apresentam forte potencial antioxidante (16).

Extratos de folhas de *Morus nigra* apresentaram atividade antioxidante, anti-inflamatória e antinociceptiva quando testadas *in vitro* e *in vivo* (41). Extratos de frutos apresentam ação protetora contra os danos da peroxidase em biomembranas e biomoléculas, por inibir a glicosilação da hemoglobina, hemólise eritrocitária, dano na membrana de hepatócitos de ratos e oxidação do LDL *in vitro* (42).

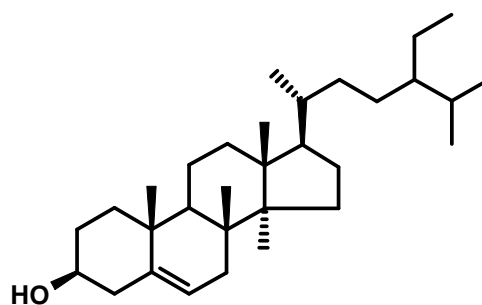
A atividade antiinflamatória das folhas parece estar relacionada à presença de terpenoides e esteroides principalmente germanicol (5), ácido betulínico (6) e β -sitosterol (7) (44).



5



6



7

Folhas de amoreira exibiram bom controle glicêmico, inibição da peroxidação dos lipídeos e atividade da catalase (CAT) (48 e 33%, respectivamente), indicando que estas folhas possuem propriedades anti-hiperglicemiante e antioxidante (16, 77).

4.2.1 Atividade Antioxidante de *Morus nigra*

Quanto à atividade antioxidante, a amora (Tabela 6) mostrou resultados significativos para o extrato hexânico, com potencial antioxidante cerca de três vezes (2,90) maior que o BHT. Também foi obtido um potencial antioxidante equivalente a 1,5 vezes com o extrato etanólico em relação ao BHT.

O extrato hexânico teve um potencial antioxidante equivalente a 0,5 vezes da quercetina.

A amora contém bioflavonoides e esta poderosa classe de antioxidante pode ser o responsável pelas suas propriedades medicinais (42) devido à

capacidade de seqüestrar varias espécies oxidantes, tais como ânion superóxido, radical hidroxila e radical peroxila (78). Além destes componentes, a produção de compostos fenólicos e antocianinas por esta espécie também podem influenciar a sua capacidade antioxidante (16, 43, 78, 79).

Tabela 6 – Atividade antioxidante de *Morus nigra*.

Extrato	Média das Abs	Equivalentes em mg/mL		
		AA	BHT	Quercetina
Aquoso	0,024	0,018	0,039	0,056
Hexânico	1,061	0,360	2,896	0,554
Etanólico	0,484	0,170	1,306	0,277

4.2.2 Atividade Alelopática de *Morus nigra*

Germinabilidade (G) e taxa de inibição da germinabilidade (TIG)

O extrato aquoso de folhas de *Morus nigra* não apresentou diferença estatística na germinabilidade do alface, quando comparado ao controle. O extrato hexânico também não apresentou diferença estatística em relação ao controle, mas houve diferença na atividade alelopática inibitória entre as concentrações de 4mg/mL e 2mg/mL. Ainda, frente à germinabilidade do alface, o extrato etanólico em sua maior concentração testada, foi o que apresentou melhores resultados para esta espécie, com TIG de 46% e a inibição foi proporcional ao aumento da concentração do extrato (Tabela 7).

Tabela 7 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes extratos de folhas de *Morus nigra* com resposta dose-dependente ao final de 5 dias.

Extrato		Concentração do extrato (mg/mL)				
		0	0,5	1	2	4
Hexânico	G(%)	88	86	87	92	74
	TIG(%)	0	2	1	5	16
Etanólico	G(%)	97	88	87	80	52*
	TIG(%)	0	9	10	18	46*

* $P < 0,05$ vs controle (0mg/mL).

Frente à germinabilidade do tomate, apenas o extrato hexânico apresentou resultados significativos, com TIG de 46% em relação ao controle na concentração de 4mg/mL (Tabela 8).

Tabela 8 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *Lycopersicon esculentum* submetidas a diferentes concentrações do extrato hexânico de folhas de *Morus nigra* ao final de 5 dias.

Extrato		Concentração do extrato (mg/mL)				
		0	0,5	1	2	4
Hexânico	G(%)	89	80	66	66	48*
	TIG(%)	0	10	26	26	46*

* $P < 0,05$ vs controle (0mg/mL).

Tempo Médio de Germinação (t_m)

Na concentração de 4mg/mL, o extrato aquoso inibiu a germinação nas 48 horas de análise, deslocando o pico de germinação para 96h (Figura 5).

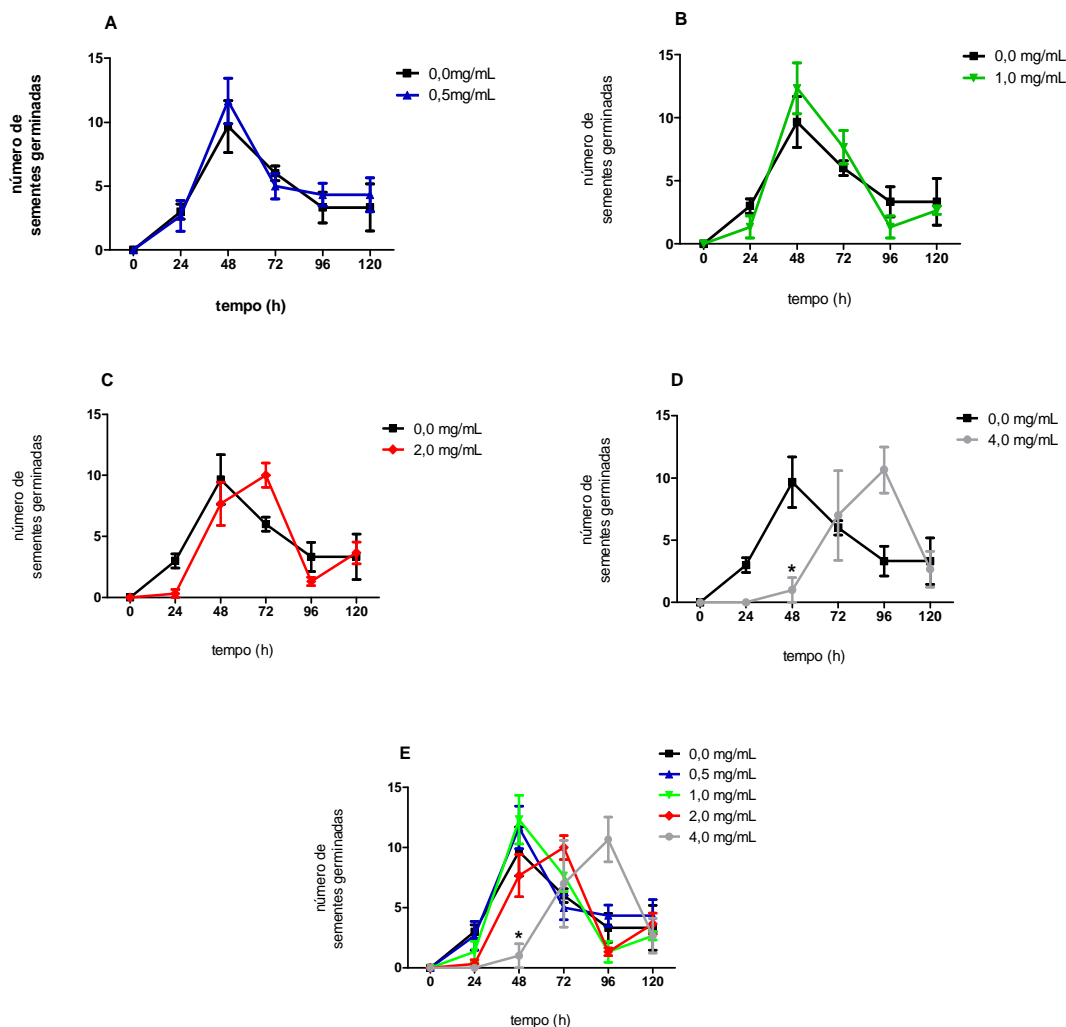


Figura 5 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de *Morus nigra*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), (A) 0,5mg/mL, (B) 1,0mg/mL, (C) 2,0mg/mL, (D) 4,0mg/mL, (E) todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$.

O mesmo comportamento do extrato aquoso frente à germinação não cumulativa do alface foi observado para o extrato etanólico desta espécie no mesmo período germinador, 48h de análise, e concentração de 4mg/mL, deslocando neste tempo o pico de germinação (Figura 6).

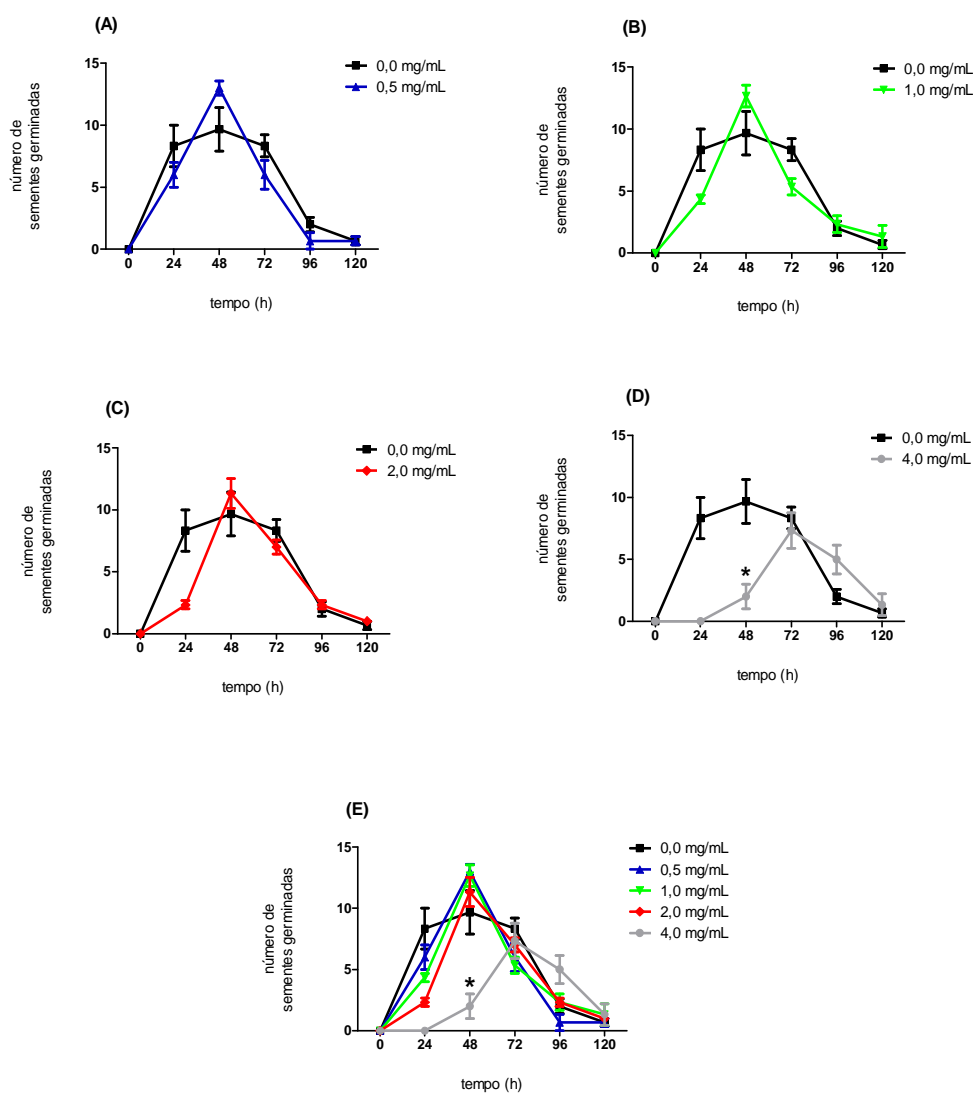


Figura 6 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Morus nigra*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), (A) 0,5mg/mL, (B) 1,0mg/mL, (C) 2,0mg/mL, (D) 4,0mg/mL, (E) todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$.

Para os tratamentos com as sementes de tomate, o extrato aquoso deslocou as curvas de germinação nas 24 e 48h de análise, na maior concentração testada (4mg/mL) (Figura 7).

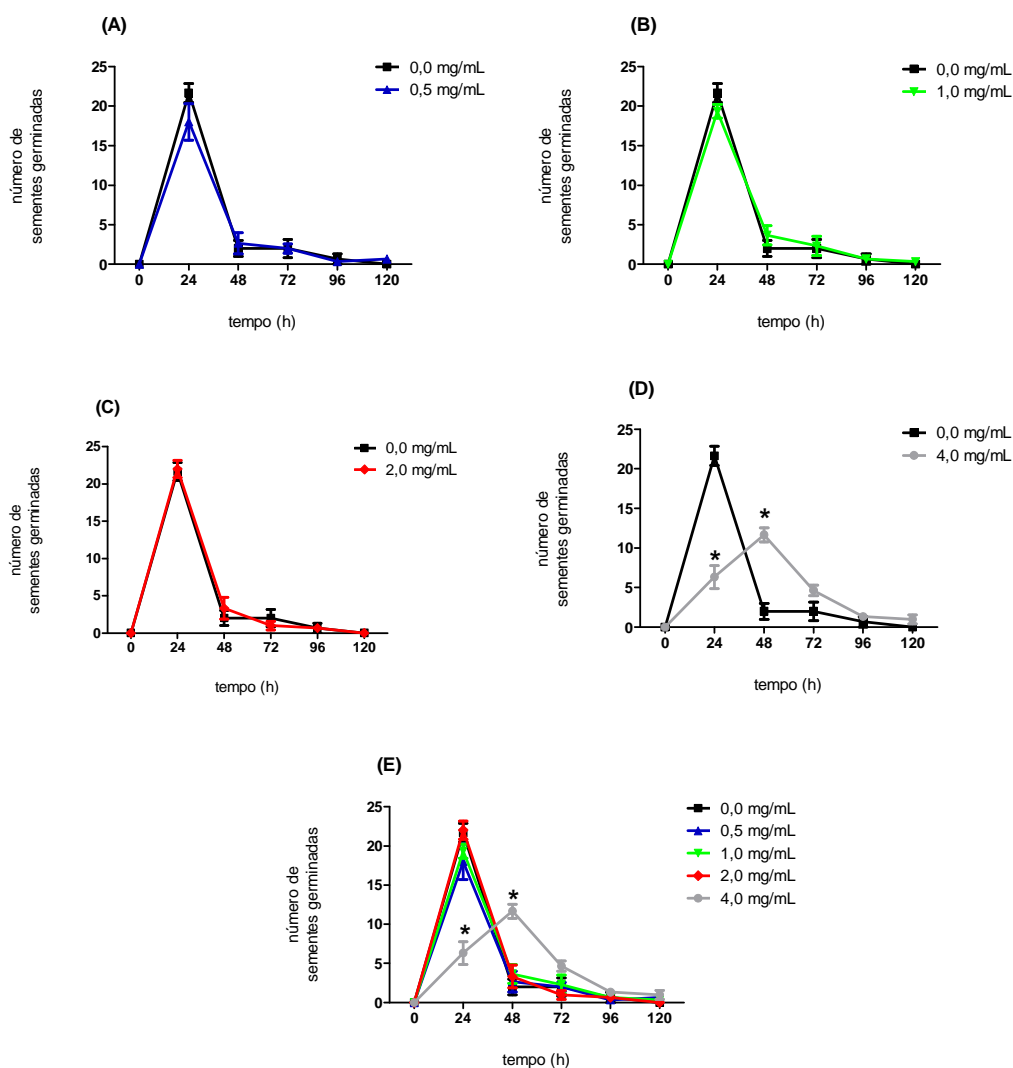


Figura 7 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de *Morus nigra*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$.

Para o extrato etanólico, as inibições na germinação do tomate ocorreram nos seguintes tempos: 48h em 1mg/mL, 48h e 96h a 2 mg/mL e novamente 48h e 96h a 4mg/mL (Figura 8).

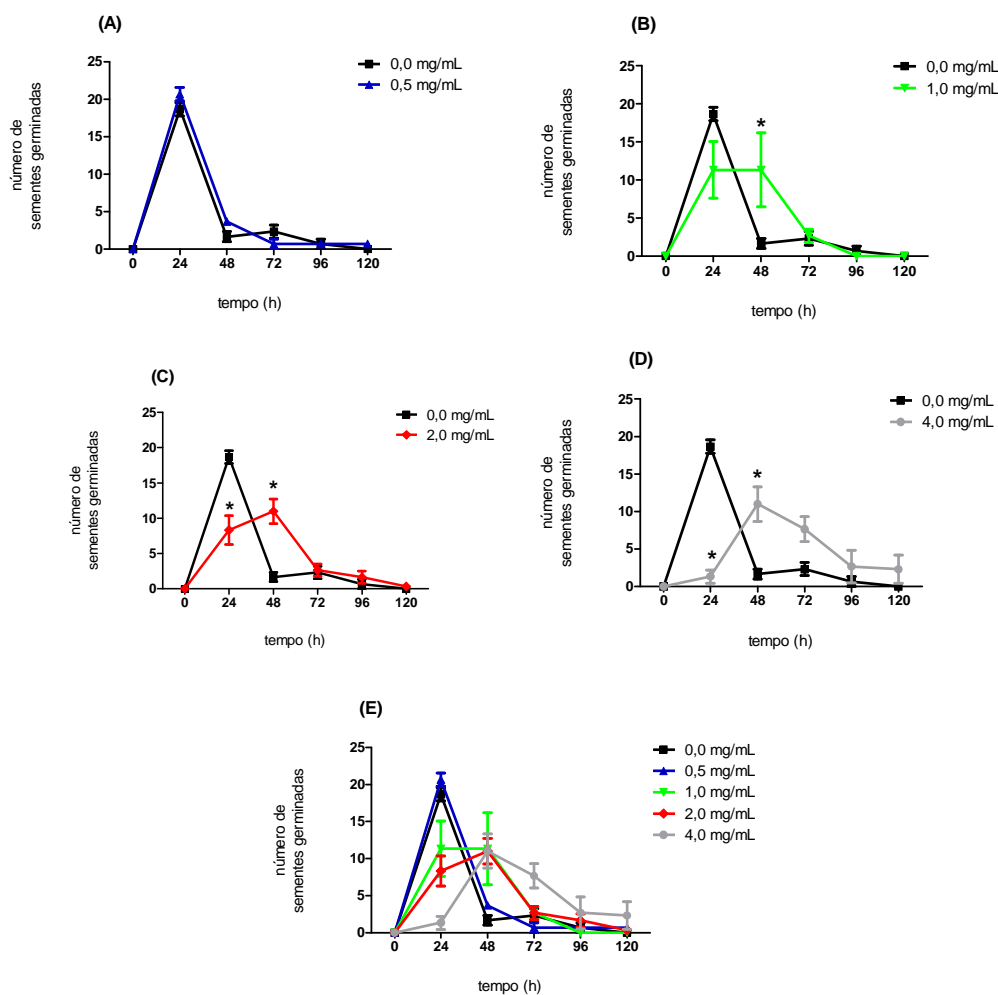


Figura 8 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Morus nigra*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. $*P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

O extrato hexânico apresentou as mesmas inibições da germinação não cumulativa que o etanólico frente ao tomate, conforme segue: 48h em 1mg/mL, 48h e 96h a 2mg/mL e novamente 48h e 96h a 4mg/mL (Figura 9).

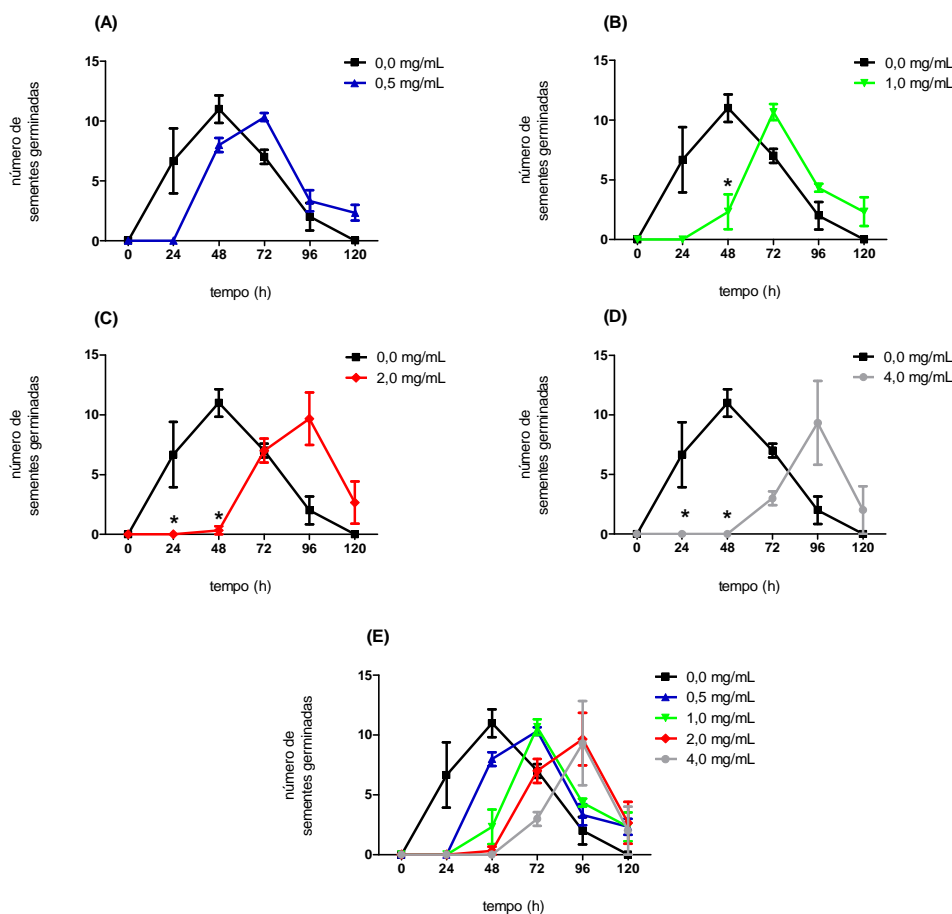


Figura 9 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de *Morus nigra*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

De uma maneira geral, pode ser verificado que mesmo os extratos que não alteram significativamente o número de sementes germinadas ao final da análise (G), influenciam no tempo médio de germinação, atrasando este crescimento não cumulativo no período germinador inicial, até 48 horas de análise.

Comprimento radicular (CR) e taxa de inibição do crescimento radicular (TICR)

O extrato aquoso de folhas de *Morus nigra* apresentou inibição dose-dependente do crescimento radicular do alface nas três maiores concentrações testadas, com as seguintes TICR: 38% (1mg/mL), 50% (2mg/mL), 63% (4mg/mL). O extrato etanólico também apresentou uma inibição dose-dependente, em todas as concentrações testadas em relação ao controle (0,5mg/mL, 63%; 1mg/mL, 75%; 2mg/mL, 76%, 4mg/mL, 79%), atingindo um platô desta ação a partir da concentração de 1mg/mL. Para o extrato hexânico, foi verificado um efeito alelopático estimulante sobre o crescimento radicular do alface (Figura 10).

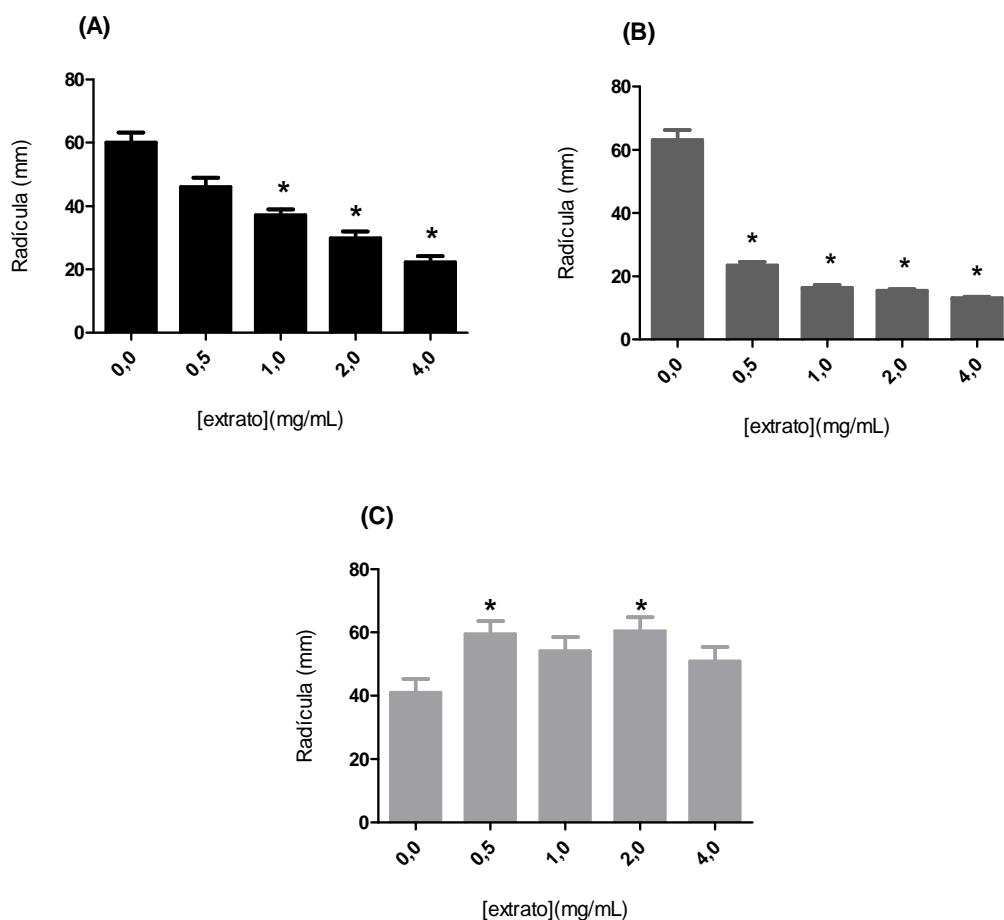


Figura 10 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de *Morus nigra* sobre o crescimento de sementes de *Lactuca sativa*. **(A)** Extrato aquoso; **(B)** Extrato etanólico; **(C)** Extrato hexânico. As barras representam a média \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$ vs controle, $n=9$.

Para o extrato aquoso houve uma inibição do CR do tomate com taxas de TICR de 53% até 73% na maior concentração de extrato testada. Assim como foi verificado com o alface, o extrato etanólico inibiu o crescimento radicular do tomate, entretanto, somente nas suas maiores concentrações, 2mg/mL e 4mg/mL, com TICR de 42% e 57%, respectivamente. Para o extrato hexânico, foi observado um estímulo no CR do tomate como também ocorreu com o alface, embora não significativo, na menor concentração do extrato. Entretanto, este estímulo foi seguido por inibição com taxas de 54% (2mg/mL) e 77% (4mg/mL) (Figura 11).

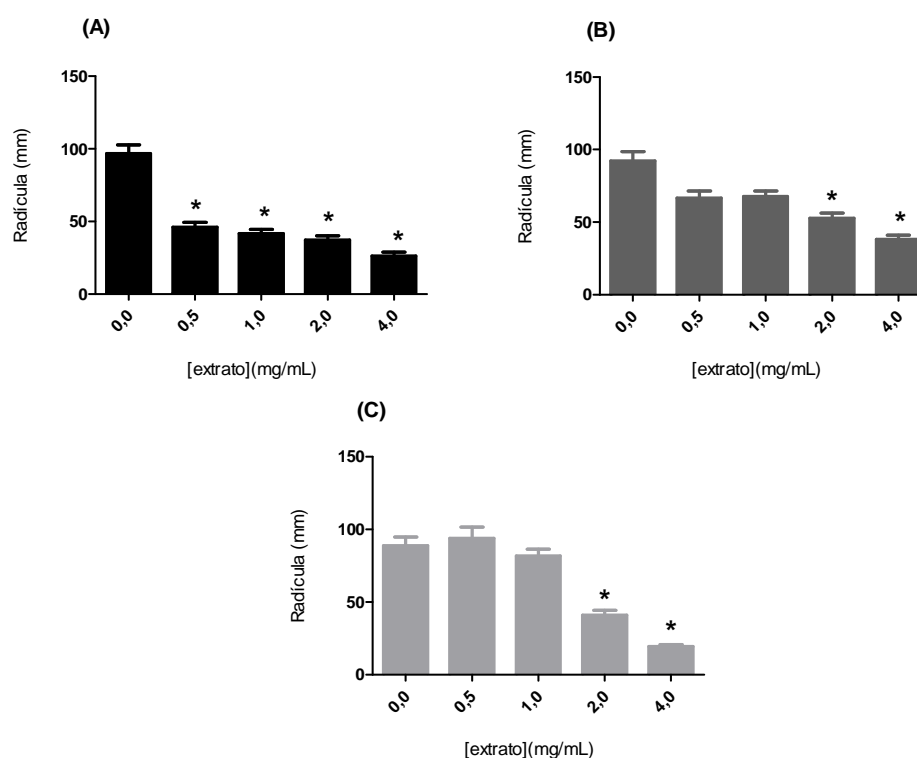
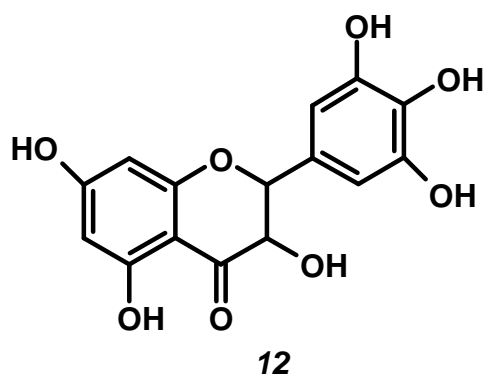
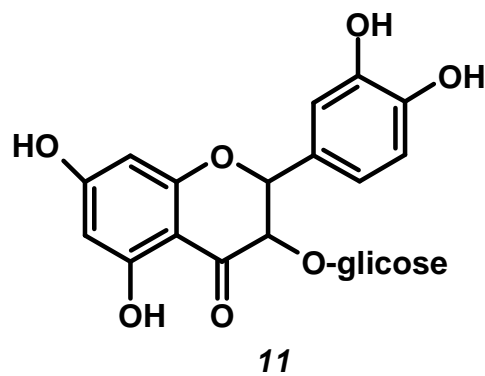
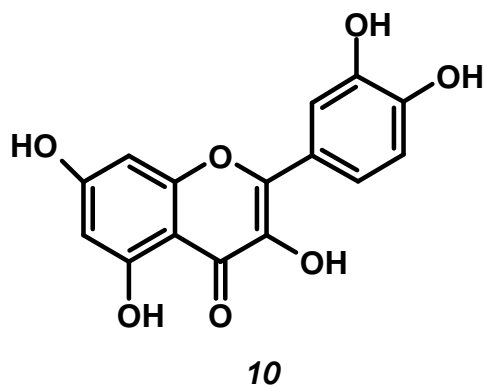
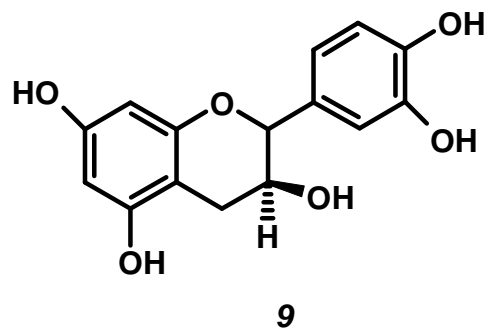
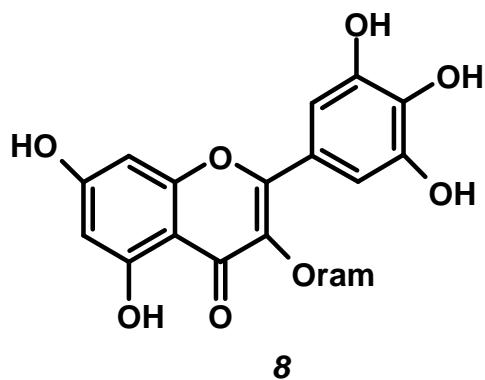


Figura 11 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de *Morus nigra* sobre o crescimento de sementes de *Lycopersicon esculentum*. **(A)** Extrato aquoso; **(B)** Extrato etanólico; **(C)** Extrato hexânico. As barras representam a média \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$ vs controle, $n=9$.

Não há estudos conduzidos sobre a atividade alelopática de amora, mas a presença de flavonoides pode justificar os resultados encontrados (80) por serem estes compostos um dos muitos agentes alelopáticos produzidos pelas plantas para reduzir a competição (81). A atividade alelopática de miricitrina (8), catequina (9), quercetina (10) e isoquercetina (11) foram verificadas com

diversas plantas alvo e todas estas substâncias apresentaram atividade alelopática relativa (81). Flavonoides como miricitrina (**8**), quercetina (**10**) e robinetina (**12**), também inibiram o crescimento do alface (82).



4.3 GENIPA AMERICANA L. (RUBIACEAE): JENIPAPO

O jenipapeiro (*Genipa americana* L.), conhecido popularmente como jenipapo ou jenipá, é pertencente à família Rubiaceae, sendo uma espécie vegetal de ocorrência no Brasil desde o Amapá até os Estados do Sul (83).

Possui folhas simples, opostas, pecioladas, de 20 a 42cm de comprimento por 9 a 16cm de largura, glabras em ambas as faces; frutos do tipo baga sub-globosa, de 8 a 10cm de comprimento e 6 a 7cm de diâmetro, casca mole, parda ou pardacento-amarelada, membranosa, fina e enrugada, podendo chegar a um diâmetro de até 8,5cm; as casca e os frutos verdes contém substância corante violeta ou azul-escuro, denominada genipina, usada pelos índios para se pintarem de negro e, ainda hoje empregada na marcação de peças de roupas, pintura de tecidos de palha e outros utensílios domésticos (84).

O fruto comestível é utilizado na medicina popular brasileira como antiasmático, afrodisíaco, antianêmico, diurético e como remédio nas afecções do baço fígado e na icterícia. Quando maduro é utilizado no tratamento de feridas e na faringite; a polpa do fruto verde como antissifilítico (50).

Para a casca do fruto são relatadas propriedades antiulcerogênica, antidiarreica, catártica e para o tratamento de faringites. O decocto das folhas é utilizado como antidiarreico e antissifilítico; o macerado das folhas é utilizado por tribos indígenas no tratamento de febre (50).

O caule tem efeito purgativo e, em decocto, é indicado para o tratamento de ferida escorbútica, úlcera venérea, faringite granulosa e anemia, além de ser usado em contusões e luxações (85).

O extrato hidroalcoólico de frutos de *G. americana* foi avaliado quanto à atividade antimicrobiana em *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia* spp., *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, e não apresentou atividade (86). Contudo, o óleo essencial apresentou um largo espectro de ação, inclusive sobre amostras resistentes tais como *S. aureus* resistente à meticilina, *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina, *K.*

pneumoniae e *Pseudomonas aeruginosa* (50). Os ácidos genípico e genipínico, isolados de *G. americana* apresentam atividade antibiótica (87).

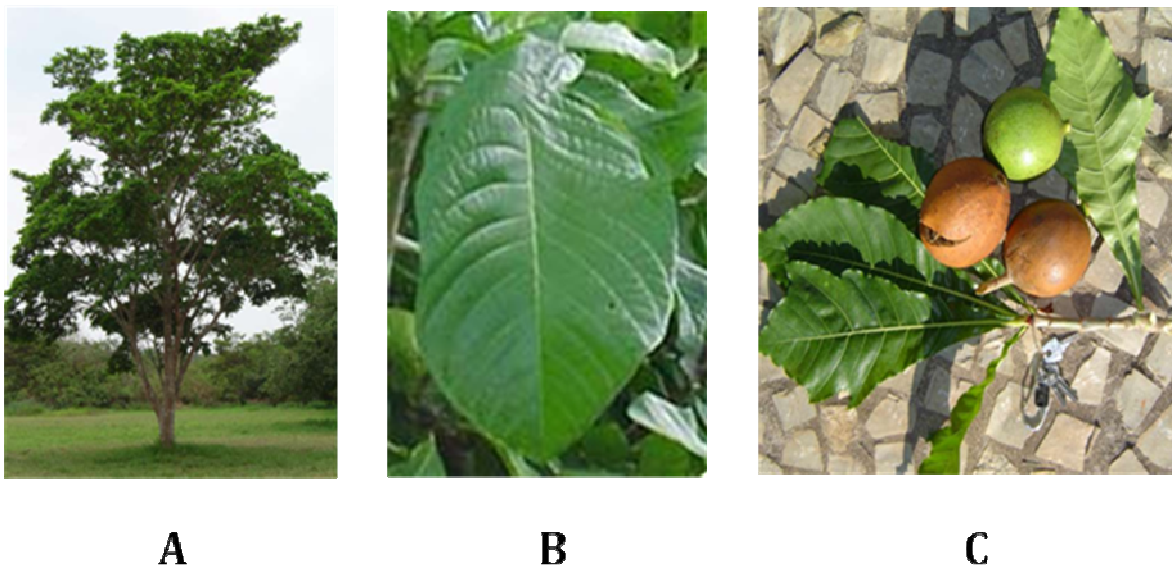
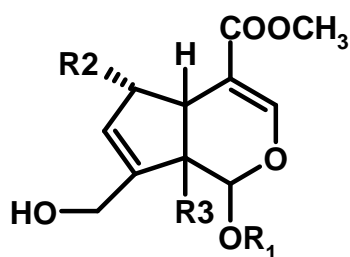


Figura 12 – *Genipa americana* L. A) Árvore; B) Folha e C) Fruto e Fruto verde².

O fruto é rico em iridoides tais como genipina (**13**), ácido geniposídico (**14**), genipacetal (**15**), genipamina (**16**), genipaol (**17**) e geniposídeo (**18**) (88-90). E esses compostos parecem ser os responsáveis pela atividade antitumoral dos frutos.

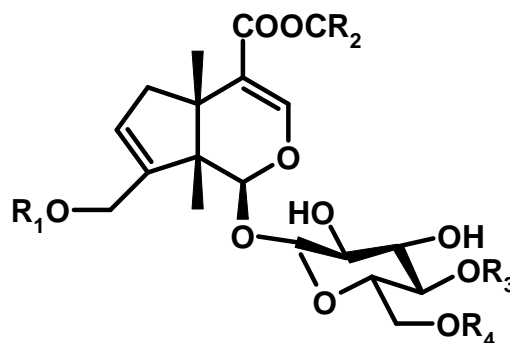
²Fontes:

- A) <http://www.arvores.brasil.nom.br/new/jenipapo/genipa%20americana01.jpg>
- B) http://www.cybertruffle.org.uk/vinales/pics/genipa_americana_leaf_ente.jpg
- C) <http://www.arvores.brasil.nom.br/new/jenipapo/genipa%20americana05.jpg>



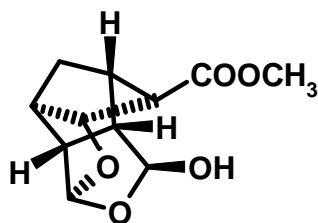
13 R1 = R2 = R3 = H

17 R1 = R2 = H, R3 = OH

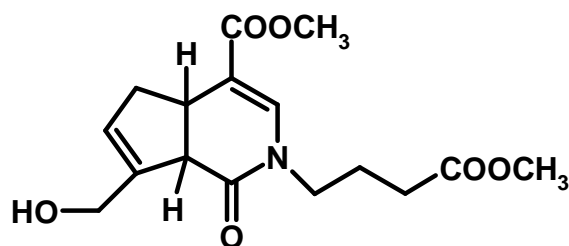


14 R1 = R2 = R3 = R4 = H

18 R1 = R3 = R4 = H, R2 = CH3



15



16

4.3.1 Atividade antioxidante de *Genipa americana*

Os extratos foliares de jenipapo, hexânico e etanólico, apresentaram resultados de atividade antioxidante relativa em relação ao ácido ascórbico. Frente ao BHT, o extrato hexânico da folha apresentou atividade antioxidante igual ao BHT e os extratos etanólico de casca do fruto verde e da folha, apresentaram atividade relativa (Tabela 9).

Estudos anteriores mostraram que pelo método de DPPH, o óleo de *Genipa americana* apresentou atividade antioxidante (50). Os terpenos, um dos constituintes do extrato testado, apresentaram potencial antioxidante quando submetidos também a este método de análise (91). Entretanto, estudos conduzidos para verificação de outras substâncias presentes neste extrato,

como geniposídeo e genipina, não apresentaram atividade antioxidante pelo método do DPPH (92, 93), contrariando os resultados encontrados neste estudo, em que se utilizou o método de redução do complexo de fosfomolibdênio. Deve-se considerar que não existe um método satisfatório que consiga avaliar a atividade antioxidante total de uma amostra, pois vários mecanismos antioxidantes podem ocorrer e estes métodos distintos apresentam complexidades e diferentes princípios de reações; alguns chegam a reproduzir resultados diferentes e até mesmo contraditórios, o que impossibilita comparações quando métodos distintos são utilizados (94).

Tabela 9 – Atividade antioxidante de *Genipa americana*.

Parte da Planta	Extrato	Média das Abs	Equivalentes em mg/mL		
			AA	BHT	Quercetina
Casca do fruto verde	Etanólico	0,334	0,066	0,895	0,205
Fruto verde	Etanólico	0,070	0,082	0,166	0,078
Folha	Hexânico	0,398	0,582	1,069	0,235
Folha	Etanólico	0,204	0,696	0,535	0,142

4.3.2 Atividade alelopática de *Genipa americana*

Germinabilidade (G) e taxa de inibição da germinabilidade (TIG)

O extrato etanólico da casca do fruto verde apresentou uma inibição dose-dependente na germinabilidade da alface com TIG de 34% na maior concentração testada. O extrato etanólico do fruto verde não alterou a germinabilidade da alface, mas para os extratos foliares, o extrato etanólico apresentou uma TIG de 56% e o hexânico não apresentou resposta significativa frente à germinabilidade da alface (Tabela 10).

Tabela 10 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes extratos de *Genipa americana* com resposta ao final de 5 dias.

Parte da planta	Extrato		Concentração do extrato (mg/mL)				
			0	0,5	1	2	4
Casca do fruto verde	Etanólico	G(%)	97	91	84	76	64*
		TIG(%)	0	6	13	22	34*
Folha	Etanólico	G(%)	86	83	86	81	38*
		TIG(%)	0	4	0	6	56*

* $P < 0,05$ vs controle (0mg/mL).

Na verificação da germinabilidade de sementes de tomate submetidas a diferentes extratos de jenipapo, as maiores taxas de inibição foram de 60% e 83%, nas concentrações de 2 e 4mg/mL para o extrato da casca do fruto verde. Também apresentou inibição da germinabilidade, o extrato etanólico da folha, com TIG de 53% na maior concentração testada (4mg/mL) (Tabela 11).

Tabela 11 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *Lycopersicon esculentum* submetidas a diferentes extratos de *Genipa americana* com resposta ao final de 5 dias.

Parte usada	Extrato		Concentração do extrato (mg/mL)				
			0	0,5	1	2	4
Casca do fruto verde	Etanólico	G	84	78	88	34*	14*
		TIG	0	7	-5	60*	83*
Folha	Etanólico	G	86	78	76	58	40*
		TIG	0	9	12	33	53*

* $P < 0,05$ vs controle (0mg/mL).

Tempo Médio de Germinação (t_m)

Para *Genipa americana* houve um deslocamento significativo da curva de crescimento não cumulativo do alface nas primeiras 24 horas de análise, sob a ação do extrato etanólico do fruto verde (Figura 13).

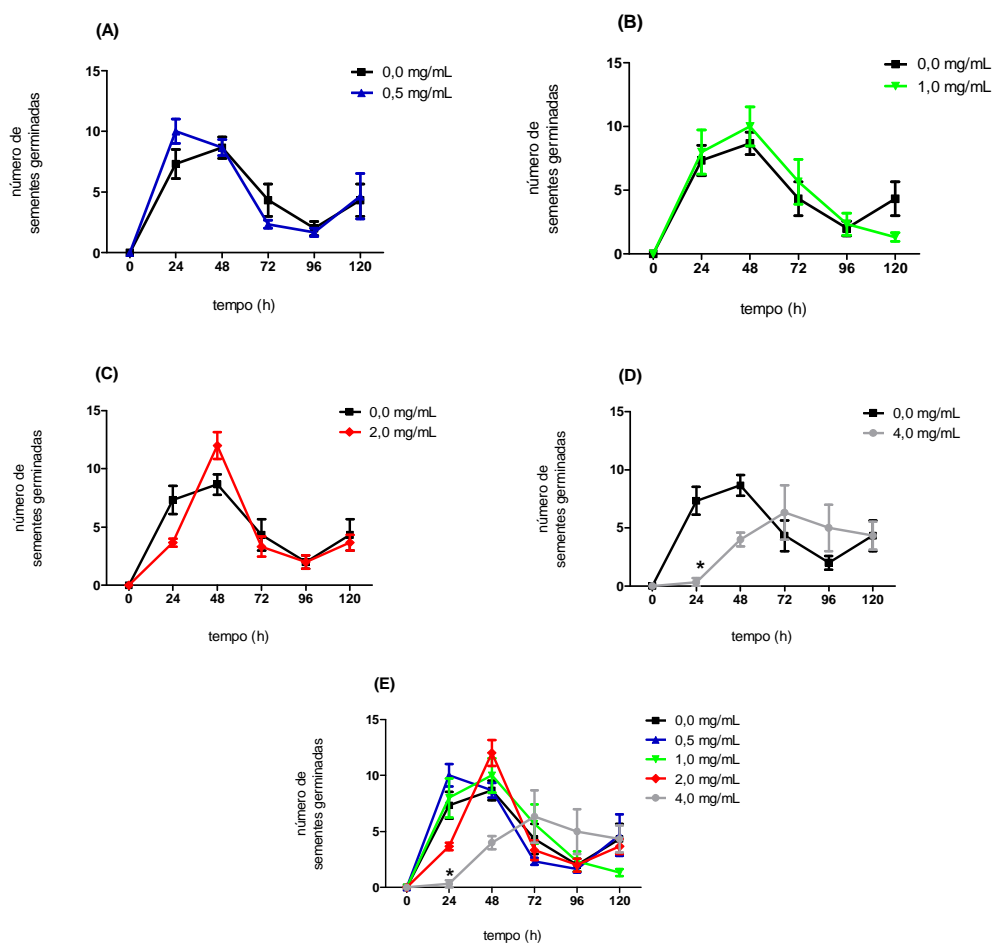


Figura 13 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de fruto verde de *Genipa americana*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$.

Nas análises do efeito sobre as sementes de tomate, o extrato etanólico da casca do fruto verde de jenipapo inibiu a germinação após 24h nas concentrações de 2 e 4mg/mL (Figura 14).

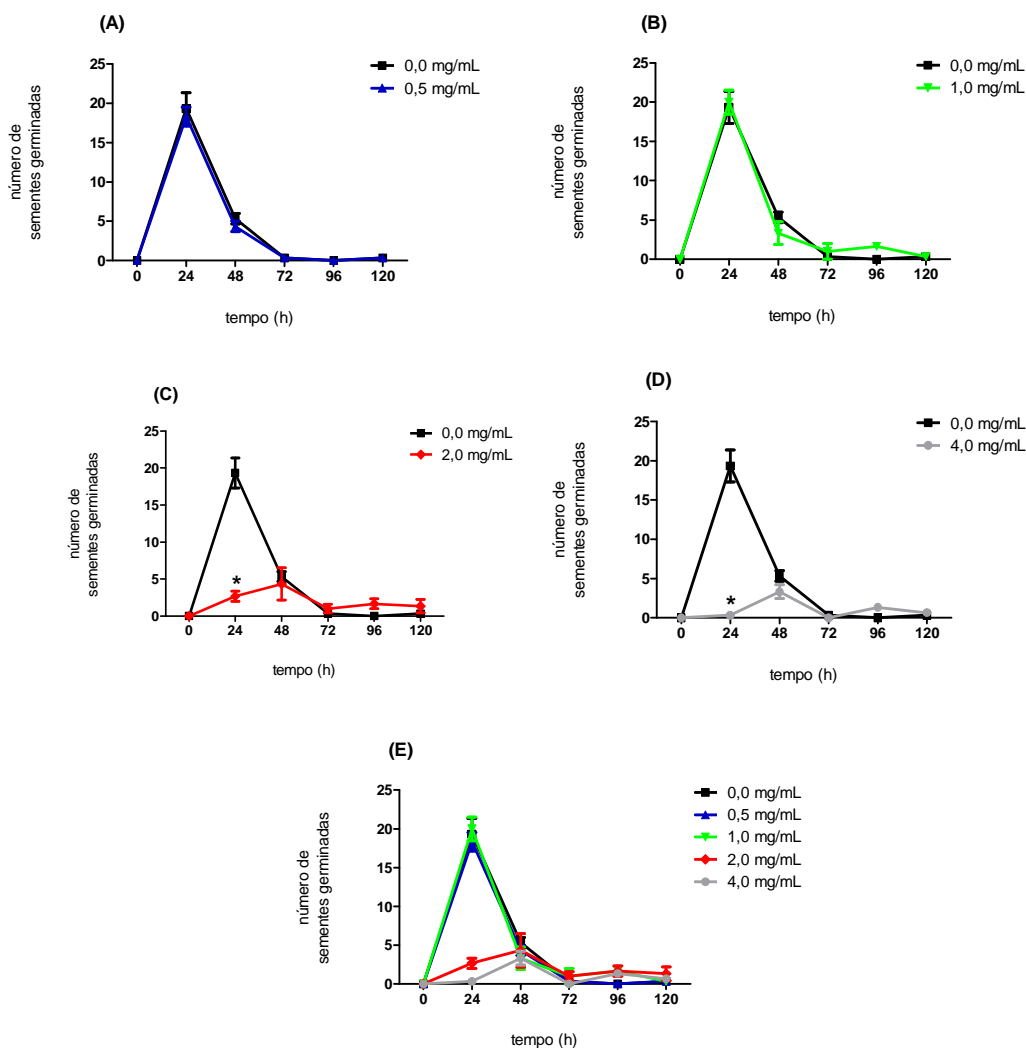


Figura 14 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de casca do fruto verde de *Genipa americana*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

Assim como ocorreu com os testes para as sementes de alface, o extrato etanólico do fruto verde também afetou a curva de germinação ao longo do tempo, para as duas maiores concentrações 2mg/mL (24 e 48h) e 4mg/mL (24h) (Figura 15).

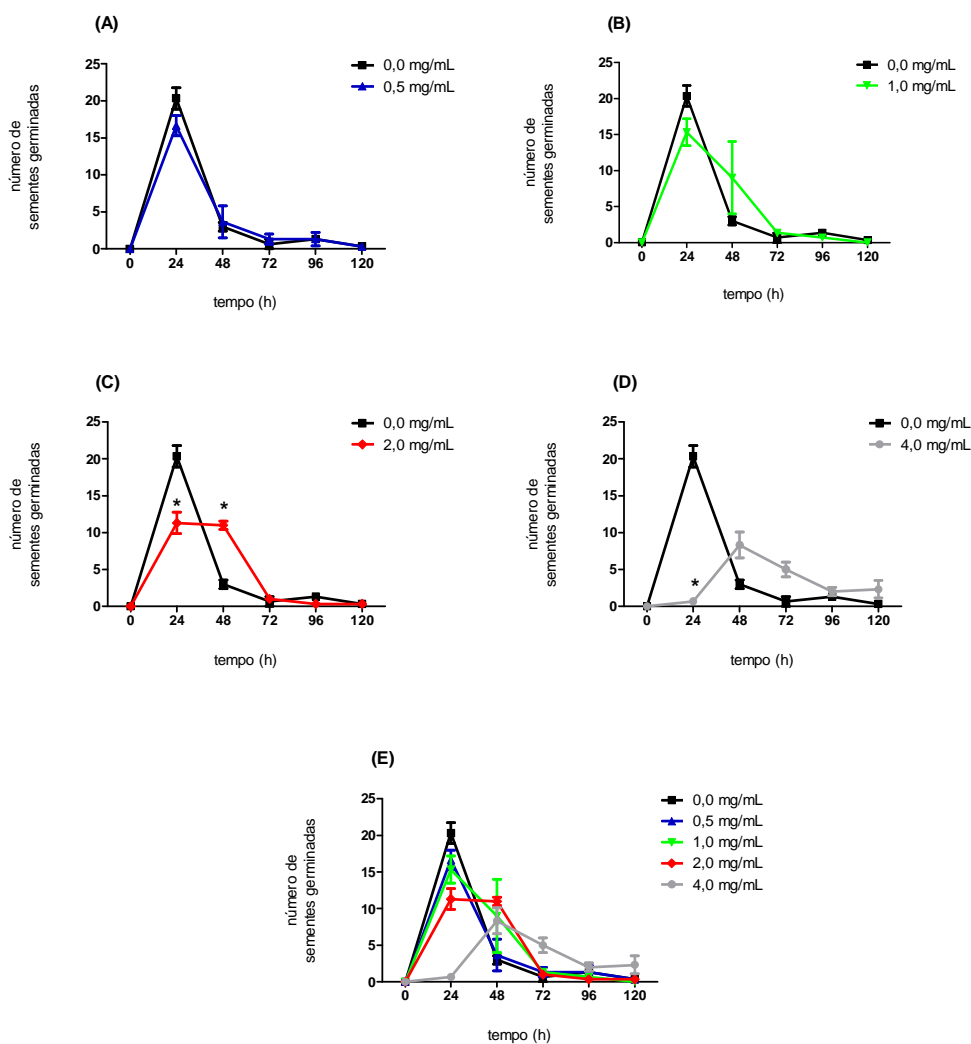


Figura 15 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de fruto verde de *Genipa americana*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

O extrato etanólico de folhas deslocou a curva de crescimento nas 48h e 72h com a menor concentração, 500mg/mL e também com a concentração de 1mg/mL; somente nas 48h com as concentrações de 2 e 4mg/mL (Figura 16).

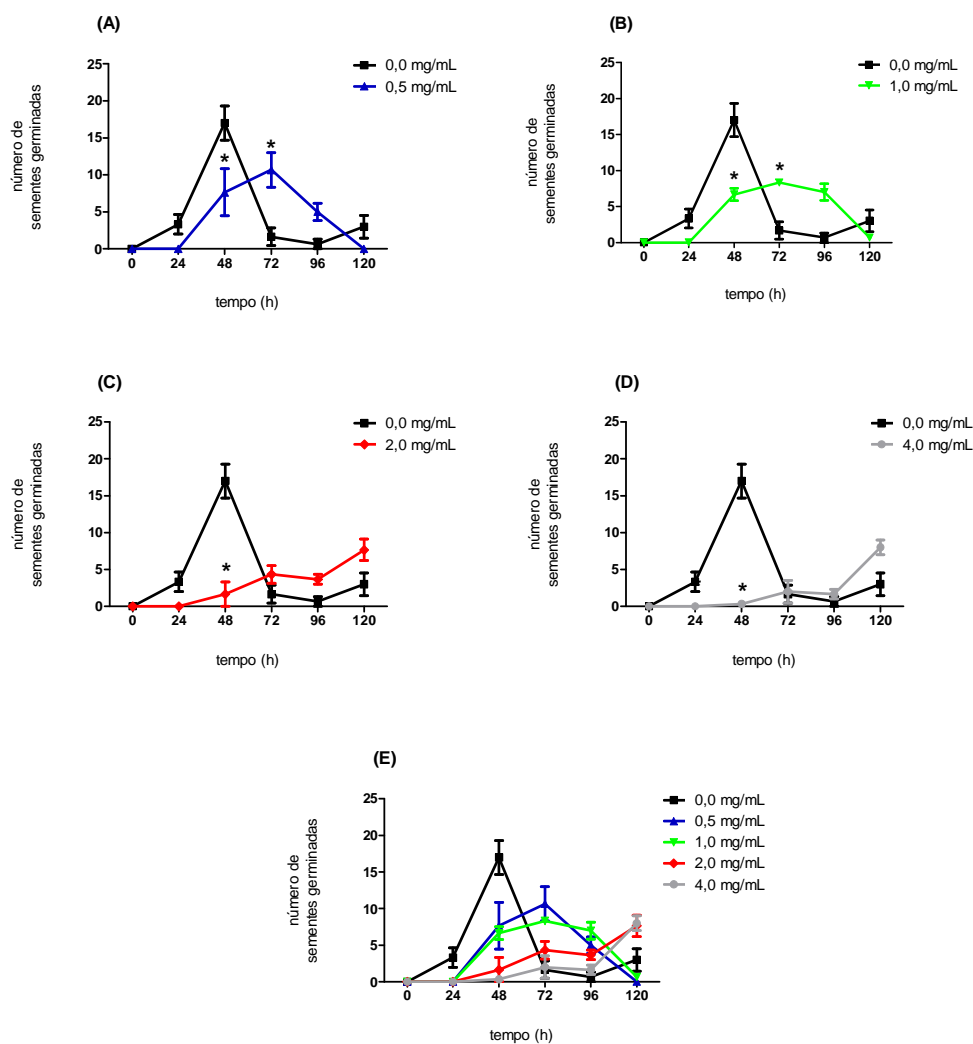


Figura 16 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Genipa americana*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

Ainda para o extrato da folha, o hexânico causou inibição da germinação nas 48h de análise na menor concentração (0,5mg/mL), a 2mg/mL e 4mg/mL; nas 48h e 72h a 1mg/mL (Figura 17).

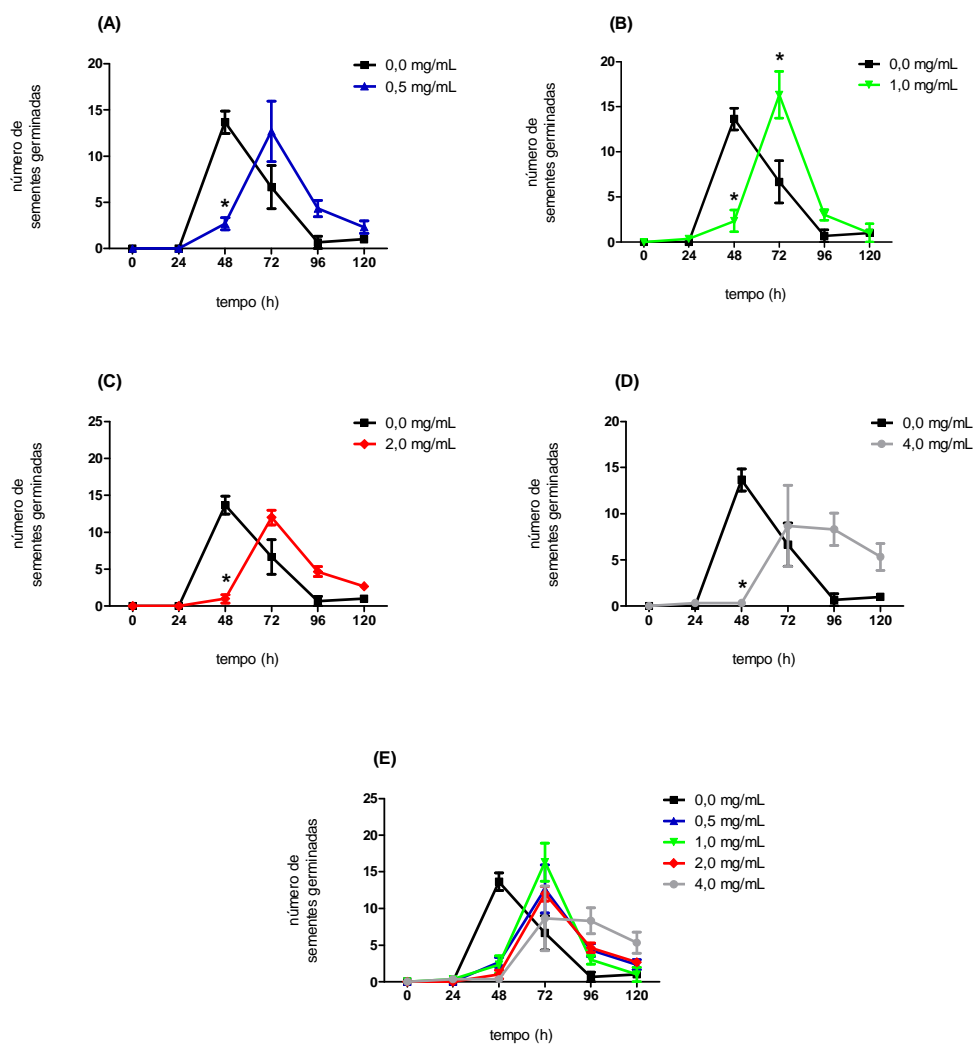


Figura 17 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico da folhas de *Genipa americana*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

Comprimento radicular (CR) e taxa de inibição do crescimento radicular (TICR)

Para o extrato etanólico de casca do fruto verde e para o extrato hexânico de folhas, não há diferença estatisticamente significativa sobre o crescimento radicular da alface.

Para o extrato etanólico de folhas houve inibição dose-dependente do crescimento radicular do alface, com diferenças estatisticamente significativas

nas duas maiores concentrações: 2mg/mL, 37%; 4mg/mL, 66%. O extrato etanólico do fruto verde apresentou estímulo no crescimento radicular da alface nas concentrações de 0,5; 1,0 e 2,0mg/mL, os quais foram 48, 48 e 57%, respectivamente. O tratamento com a concentração de 4,0mg/mL não apresentou efeito algum, embora há uma tendência à inibição (Figura 18).

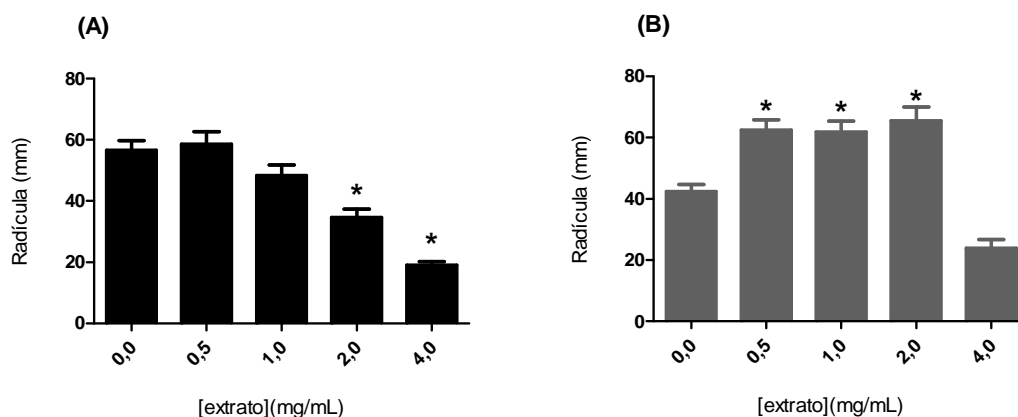


Figura 18 – Efeito alelopático de extratos de *Genipa americana* sobre o crescimento das sementes de *Lactuca sativa*. **(A)** Extrato etanólico de folhas; **(B)** Extrato etanólico de fruto verde. As barras representam a média \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$ vs controle, $n=9$.

Para o efeito dos extratos de *Genipa americana* sobre o crescimento radicular do tomate, foi observado que o extrato etanólico de casca do fruto verde apresentou uma inibição dose-dependente a partir de 1mg/mL, chegando a uma TICR de 79% na maior concentração testada (4mg/mL). O extrato etanólico de fruto verde apresentou inibição significativa somente na concentração de 4mg/mL (54%) (Figura 19).

Para os extratos foliares, a inibição do CR foi significativa somente nas duas maiores concentrações, sendo as taxas de inibição de 35% (2mg/mL) e 52% (4mg/mL) para o extrato etanólico e de 41% (2mg/mL) e 37% (4mg/mL) para o extrato hexânico (Figura 19).

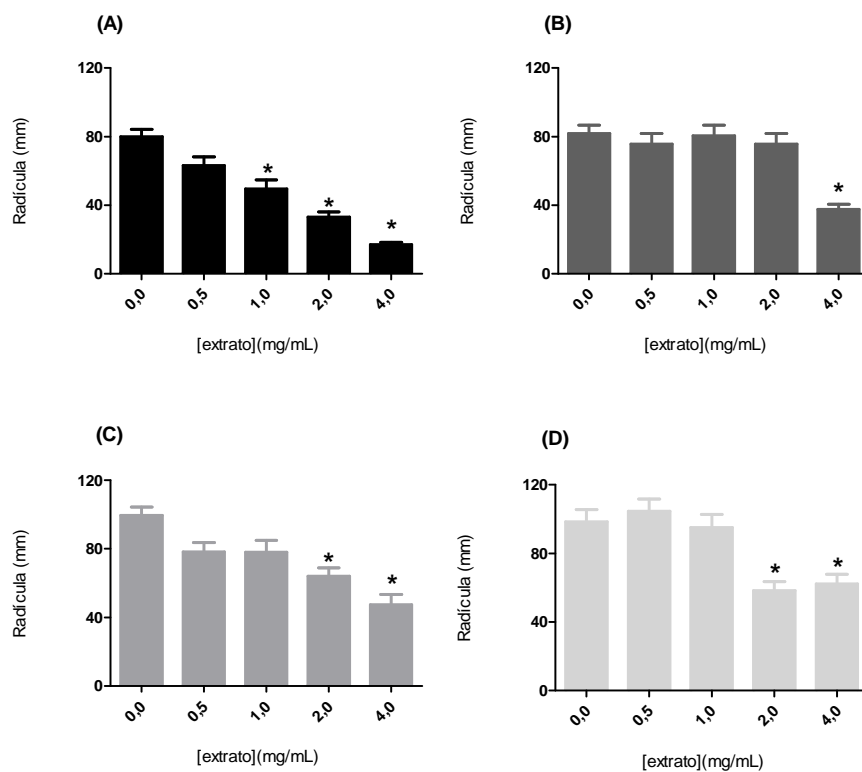


Figura 19 – Efeito alelopático de extratos de *Genipa americana* sobre o crescimento das sementes de *Lycopersicum esculentum*. **(A)** Extrato etanólico de casca do fruto verde; **(B)** Extrato etanólico de fruto verde; **(C)** Extrato etanólico de folhas; **(D)** Extrato hexânico de folhas. As barras representam a média \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$ vs controle, $n=9$.

A presença de terpenos em *Genipa americana* pode justificar a resposta alelopática obtida, considerando que estes componentes, principalmente os do esqueleto lupano, oleano e ursano, são compostos conhecidos como alelopáticos (95).

4.4 *POUTERIA* SP.

Foram avaliados extratos de folhas de três espécies do gênero *Pouteria*, família Sapotaceae, na qual se incluem aproximadamente 70 gêneros e mais de 800 espécies (96).

O abieiro [*Pouteria caimito* (Ruiz & Pav.) Radlk.] é uma árvore monoica, atingindo de 4 a 10m de altura, com aspecto ornamental quando cultivada com folhas pecioladas e glabras, possui inflorescências em fascículos axilares ou caulifloros, com flores amarelo-esverdeadas, pequenas, unissexuais e hermafroditas; seu fruto é uma baga ovoide ou esférica com 4 a 10cm de comprimento, solitária, com exocarpo amarelo ou amarelo-esverdeado quando maduro, exudando látex, que coagula em contato com o ar e sua polpa comestível é de consistência gelatinosa, branca ou amarelada, doce, com 1 a 5 sementes, lisas, brilhantes, pretas e de tamanho variável (97).



A



B



C

Figura 20 – *Pouteria caimito*. A) Árvore; B) Folha e C) Fruto³.

Do extrato hexânico de folhas de *Pouteria caimito* foi extraído o espinasterol (**19**) (51); do extrato benzênico do fruto foram isolados α -amirina

³Fontes:

- A) http://www.oramsnurseries.com.au/pouteria_caimito_abiu.jpg
- B) http://wikis.wheatonma.edu/rainforest/images/thumb/9/9d/Pouteria_caimito_AGuilar_1.jpg/300px-Pouteria_caimito_AGuilar_1.jpg
- C) http://1.bp.blogspot.com/_hcR8_dpO5yg/SIE05NglBgl/AAAAAADWI/Qsyz2Yzl__U/s320/387137.jpg

(20), lupeol (21), eritrodiol (22) e damarendiol II (23) e das cascas, taraxerol (24), acetato de taraxerol (25), taraxerona (26) e β -sistosterol (7) (98).

Os triterpenos são uma classe de substâncias muito comuns na família Sapotaceae e estas substâncias estão relacionadas a diversas atividades biológicas, como antiinflamatória, anti-helmíntica, antitumoral, estrogênica e de inibição enzimática (α -glicosidase, transcriptase reversa do HIV) (99).

O extrato bruto etanólico de folhas apresentou atividades antioxidante e fotoprotetora contra raios UVA e UVB (51).

Pouteria ramiflora (Mart.) Radlk, conhecida comumente como guapeva curriola ou curiola é uma árvore perene muito difundida no Cerrado (100). Possui grande quantidade de látex em suas folhas, é uma espécie predominantemente arbórea decídua, com folhas bastante flexíveis e púberes na superfície (101).

A população do Cerrado come os frutos amarelos e usam as raízes para tratar verminoses, disenteria, dor e inflamação (53).



A



B

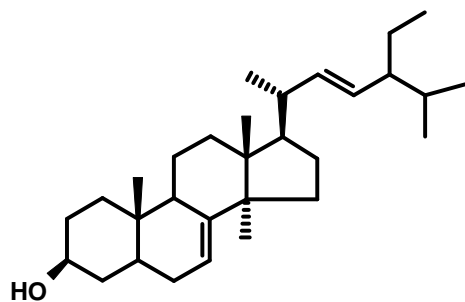


C

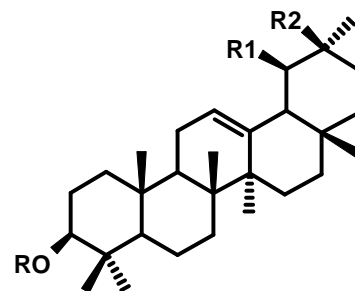
Figura 21 – *Pouteria ramiflora*. A) Árvore; B) Folha e C) Fruto⁴.

⁴Fontes:

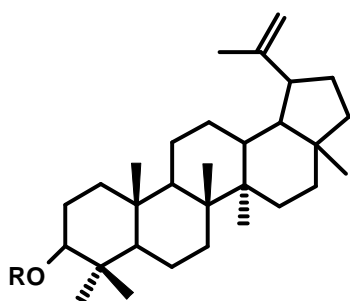
- A) <http://1.bp.blogspot.com/npznDSDap4U/SW-RtieNYQI/AAAAAAAAACE/TdyneIV1fBE/s320/DSC03292.jpg>
- B) http://farm3.static.flickr.com/2679/4229600256_93d6ae000c_m.jpg
- C) <http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/curiola/imagens/curiola-3.jpg>



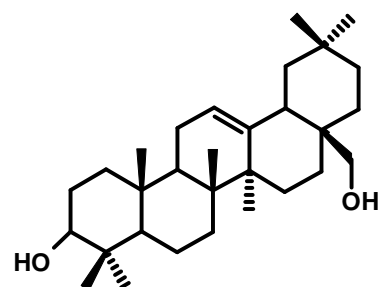
19



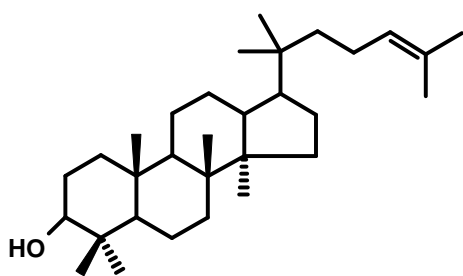
20 R = R₂ = H, R₁ = Me
 27 R = Ac, R₁ = Me, R₂ = H
 32 R = R₁ = H, R₂ = Me
 33 R = Ac, R₁ = H, R₂ = Me



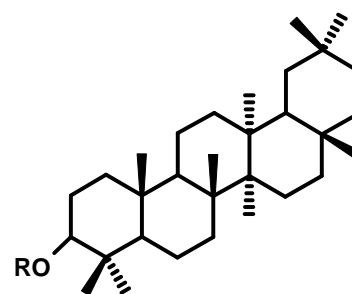
21 R = H
 29 R = Ac



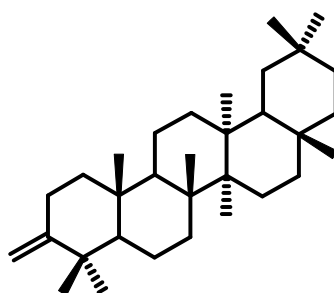
22



23



24 R = H
 25 R = Ac



26

O extrato etanólico de raízes de *Pouteria ramiflora* possui propriedades antinociceptiva e antiinflamatória *in vivo* (53, 100) e os extratos aquoso e etanólico de folhas, apresentaram atividade fotoprotetora contra os raios UVA e UVB (51).

A planta também apresentou atividade inibitória da α -amilase em saliva humana (51) e atividade antimicrobiana (54).

Pouteria torta (Mart.) Radlk é apreciada pela população local por seus frutos comestíveis e pelo uso das cascas do tronco como antidiarreico (49) e é encontrada no Cerrado e na região amazônica.



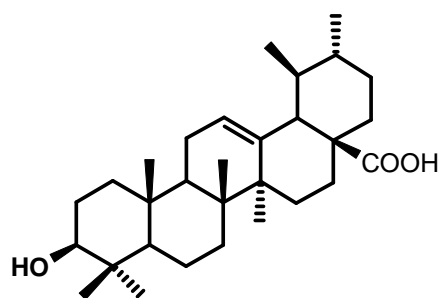
Figura 22 – *Pouteria torta*. A) Árvore e B) Folhas e Fruto⁵.

Dos extratos hexânico e diclorometanólico das flores e frutos foram obtidas misturas de ácidos graxos, compostos poliisoprenoides, mistura de hidrocarbonetos e triterpenos (102). Do extrato metanólico de ramas, foram obtidos triterpenos como acetato de α -amirina (**32**), acetato de β -amirina (**27**), ácido betulínico (**6**) e ácido ursólico (**28**) (103); do extrato hexânico de folhas, hidrocarbonetos, acetato de lupeíla (**29**) e álcoois de cadeia longa; obtidas também misturas de triterpenos de α e β -friedelinol (**30, 31**), α e β -amirina (**32, 33**) e ácido 12,13-di-hidropomólico (**34**) da fração acetonitrila:clorofórmio e da fração aquosa do extrato etanólico o flavonoide miricitrina (**8**) (99).

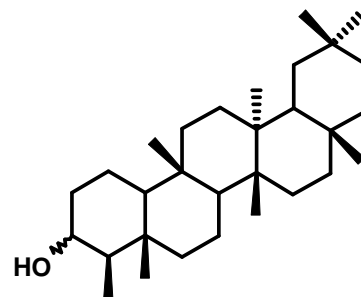
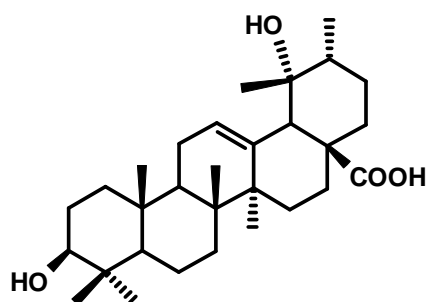
⁵Fontes:

A) http://eupreservo.org/i/arvore_abiu.jpg

B) http://lh4.ggpht.com/_JNM3pjWlzM/Robwvlg94KI/AAAAAAAAAByg/XmIMlygxuug/DSCN0642.JPG



28

30 3 α -OH
31 3 β -OH

34

O extrato metanólico de folhas apresentou atividade antimicrobiana (54) e proteínas isoladas das sementes apresentaram atividade antifúngica e inseticida (55). O extrato aquoso de folhas, submetidos ao modelo de citotoxicidade de *Artemia salina*, apresentou dose letal média (DL₅₀) de 0,28 mg/mL (56).

Assim como *P. ramiflora*, a planta também apresentou atividade inibitória da α -amilase em saliva humana (51), atividade antimicrobiana (51, 54) e atividade fotoprotetora contra os raios UVA e UVB (51). Os extratos hexânico e etanólico de folhas foram testados quanto a sua atividade frente a receptores nucleares e o hexânico inibiu a ação do estrogênio em seus receptores (49).

4.4.1 Avaliação da atividade antioxidante das *Pouterias*

Para a atividade antioxidante dos extratos de folhas de espécies de *Pouteria* frente ao ácido ascórbico, o extrato hexânico de *P. caimito* apresentou relativa atividade antioxidante (Tabela 12).

Em relação ao padrão BHT, novamente o extrato hexânico de *P. caimito* apresentou relativa atividade antioxidante, assim como o extrato aquoso de *P. torta*. Os extratos etanólico de *P. caimito* e hexânico de *P. ramiflora* mostraram resultados de igual atividade antioxidante com o BHT. O extrato etanólico de *P. ramiflora* apresentou ainda atividade antioxidante 1,5 vezes maior que o BHT e o extrato hexânico de *P. torta*, aproximadamente 2 vezes maior (Tabela 12).

O potencial antioxidante de extratos dessas espécies de *Pouteria* já foi relatado (51) utilizando o método de inibição do radical livre estável, o DPPH, o que corrobora os resultados aqui encontrados para *P. ramiflora* e *P. torta*, divergindo somente que pelo método de análise utilizado neste trabalho, *P. caimito* também apresentou relativo potencial antioxidante.

Tabela 12 – Atividade antioxidante do gênero *Pouteria*.

Espécie	Extrato	Média das Abs	Equivalentes em mg/mL		
			AA	BHT	Quercetina
<i>P. caimito</i>	Hexânico	0,228	0,732	0,602	0,154
	Etanólico	0,439	0,155	1,184	0,255
	Aquoso	0,030	0,020	0,057	0,059
<i>P. ramiflora</i>	Hexânico	0,482	0,071	1,301	0,276
	Etanólico	0,615	0,112	1,668	0,340
	Aquoso	0,027	0,178	0,047	0,057
<i>P. torta</i>	Hexânico	0,675	0,374	1,832	0,368
	Aquoso	0,253	0,094	0,670	0,166

4.4.2 Avaliação da atividade alelopática das *Pouterias*

Germinabilidade (G) e taxa de inibição da germinabilidade (TIG)

Na Tabela 13, são apresentadas a germinabilidade (G) e a taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *L. sativa* submetidas a

extratos de folhas de espécies do gênero *Pouteria*, onde alguns resultados foram dose-dependentes.

As maiores taxas de inibição em relação ao controle foram observadas para os extratos etanólicos de *P. caimito* (4mg/mL, 76%) e *P. ramiflora* (4mg/mL, 46%), que apresentaram resposta dose-dependente. Para o extrato hexânico de *P. ramiflora* houve inibição na concentração de 2mg/mL no valor de 21% e para o extrato aquoso desta mesma espécie não houve diferença estatística em relação ao controle.

Tabela 13 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes extratos de folhas de espécies de *Pouteria* (Sapotaceae) com resposta dose-dependente ao final de 5 dias.

Espécie	Extrato		Concentração do extrato (mg/mL)				
			0	0,5	1	2	4
<i>Pouteria caimito</i>	Etanólico	G(%)	90	87	80	64*	22*
		TIG(%)	0	3	11	29*	76*
<i>Pouteria ramiflora</i>	Etanólico	G(%)	97	88	87	80	52*
		TIG(%)	0	9	10	18	46*
<i>Pouteria ramiflora</i>	Hexânico	G(%)	94	93	88	74*	86
		TIG(%)	0	1	6	21*	9
<i>Pouteria ramiflora</i>	Aquoso	G(%)	91	97	86	91	82
		TIG(%)	0	-7	5	0	10

* $P < 0,05$ vs controle (0mg/mL).

Para os extratos testados utilizando *Lycopersicum esculentum* como planta-alvo, somente o extrato etanólico de *Pouteria caimito*, embora apresentando sutil estímulo da germinabilidade nas concentrações mais baixas (0,5 e 1mg/mL), apresentou TIGs de 32% e 94% nas concentrações de 2mg/mL e 4mg/mL, respectivamente (Tabela 14).

Tabela 14 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *Lycopersicon esculentum* submetidas ao extrato etanólico de folhas de *Pouteria caimito* (Sapotaceae) ao final de 5 dias.

Espécie	Extrato		Concentração do extrato (mg/mL)				
			0	5	1	2	4
<i>Pouteria caimito</i>	etanólico	G(%)	72	89	83	49*	4*
		TIG(%)	0	-24	-15	32*	94*

* $P < 0,05$ vs controle (0mg/mL).

Tempo Médio de Germinação (t_m)

O extrato etanólico de *P. ramiflora* inibiu significativamente o tempo de germinação do alface nas 24h (2mg/mL e 4mg/mL) e 48h (4mg/mL) de análise, alterando a curva de germinação não cumulativa no tempo inicial, assim como o extrato aquoso da mesma espécie em sua maior concentração nas 48h de análise. Por outro lado, o extrato etanólico de *P. caimito* atrasou o tempo médio de germinação nos tempos finais de análise e alterou a curva de crescimento em 96h nas três maiores concentrações (Figuras 23, 24 e 25).

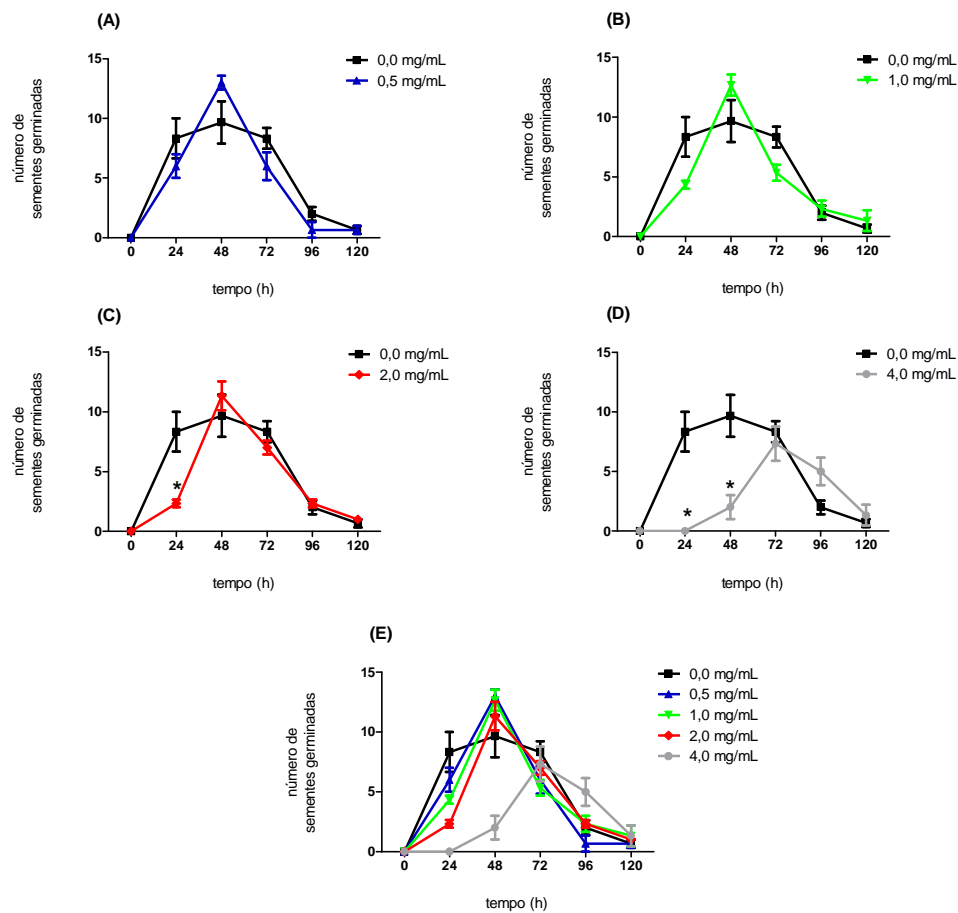


Figura 23 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Pouteria ramiflora*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), (A) 0,5mg/mL, (B) 1,0mg/mL, (C) 2,0mg/mL, (D) 4,0mg/mL, (E) todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. $*P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico (E).

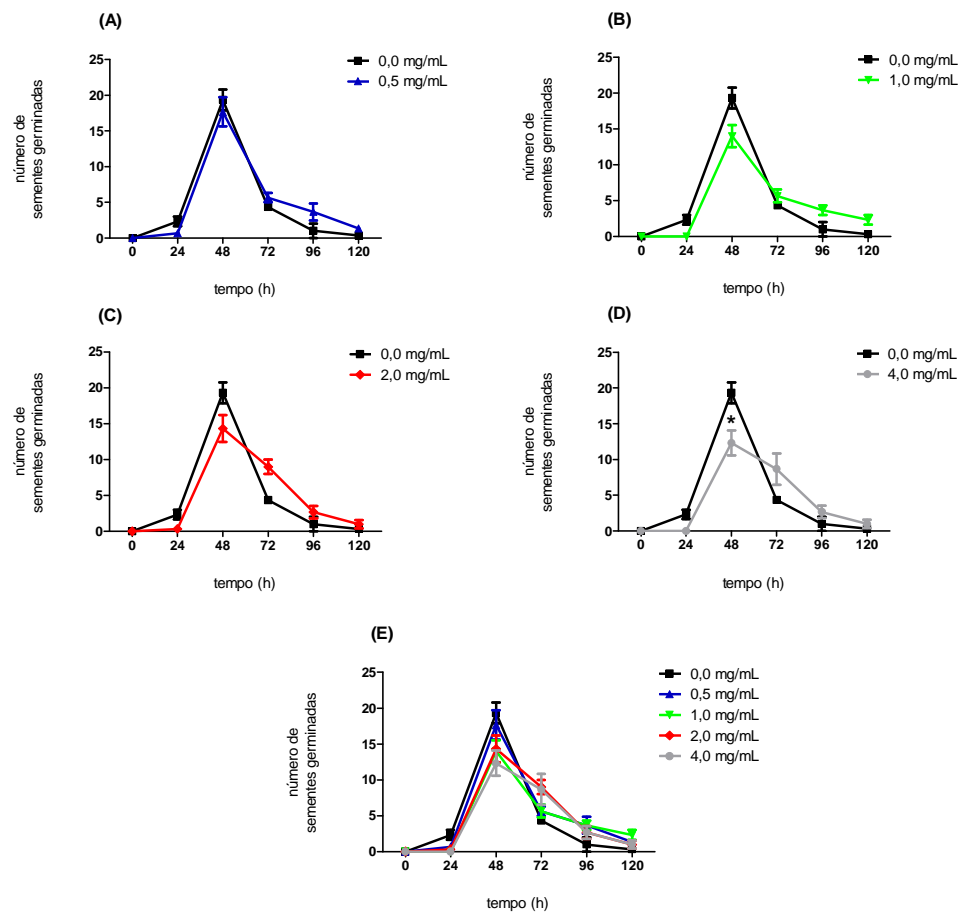


Figura 24 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de *Pouteria ramiflora*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

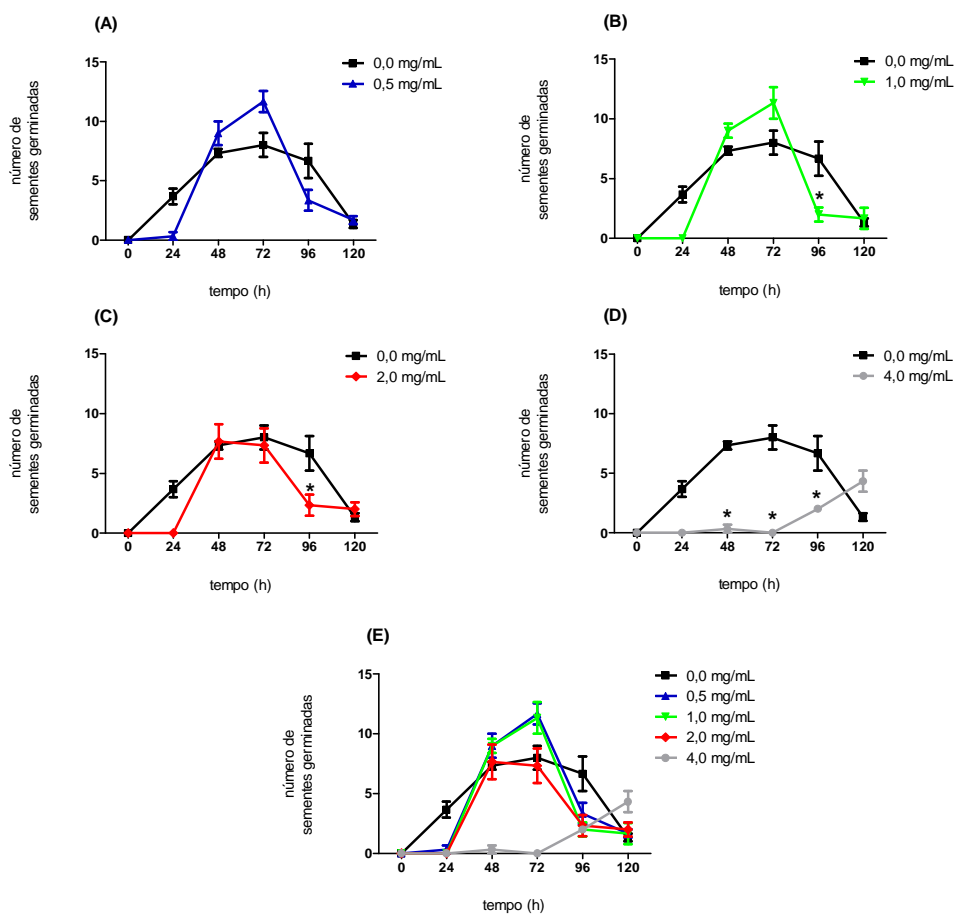


Figura 25 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Pouteria caimito*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

Para os tratamentos com as sementes de *Lycopersicon esculentum* os extratos de folhas de *P. caimito* apresentaram o seguinte comportamento: o extrato hexânico deslocou a curva de germinação nas 72h de análise a 1mg/mL, 2mg/mL; nas 48h e 72h a 4mg/mL (Figura 26).

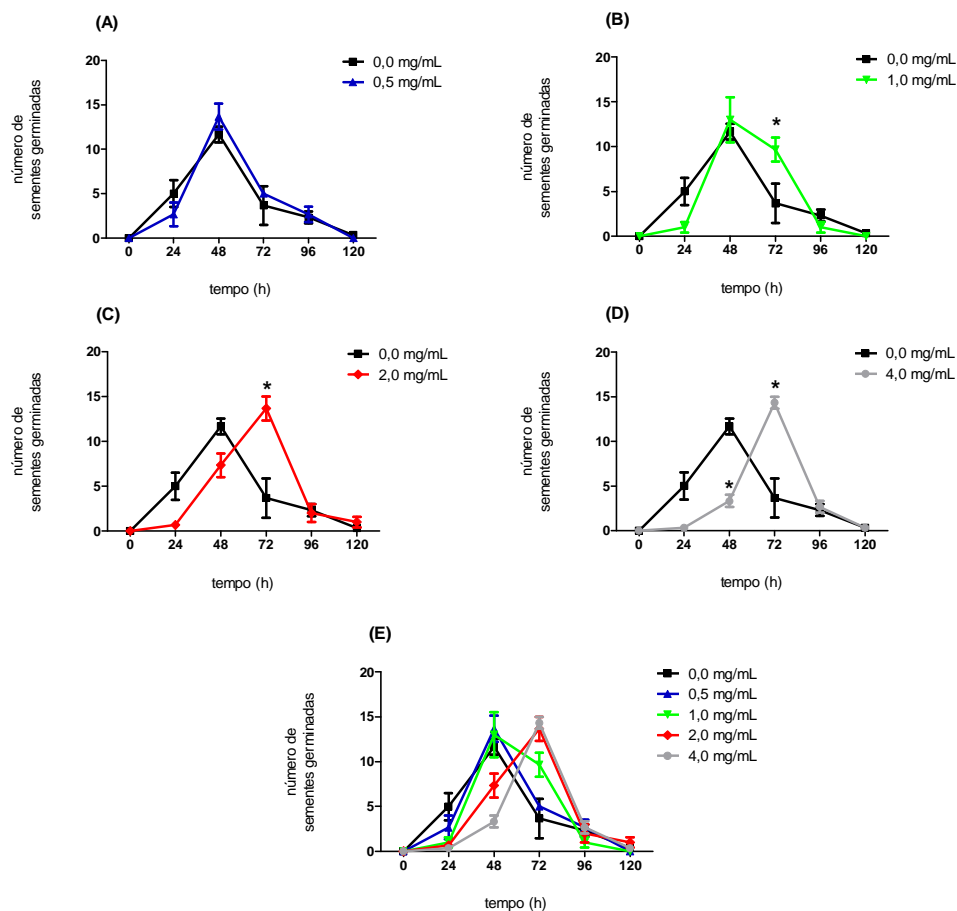


Figura 26 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de *Pouteria caimito*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. $*P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

O extrato etanólico de *P. caimito* apresentou as seguintes alterações na germinação do tomate ao longo do tempo: 48h a 0,5mg/mL; 24h e 48h a 2mg/mL e 4mg/mL (Figura 27).

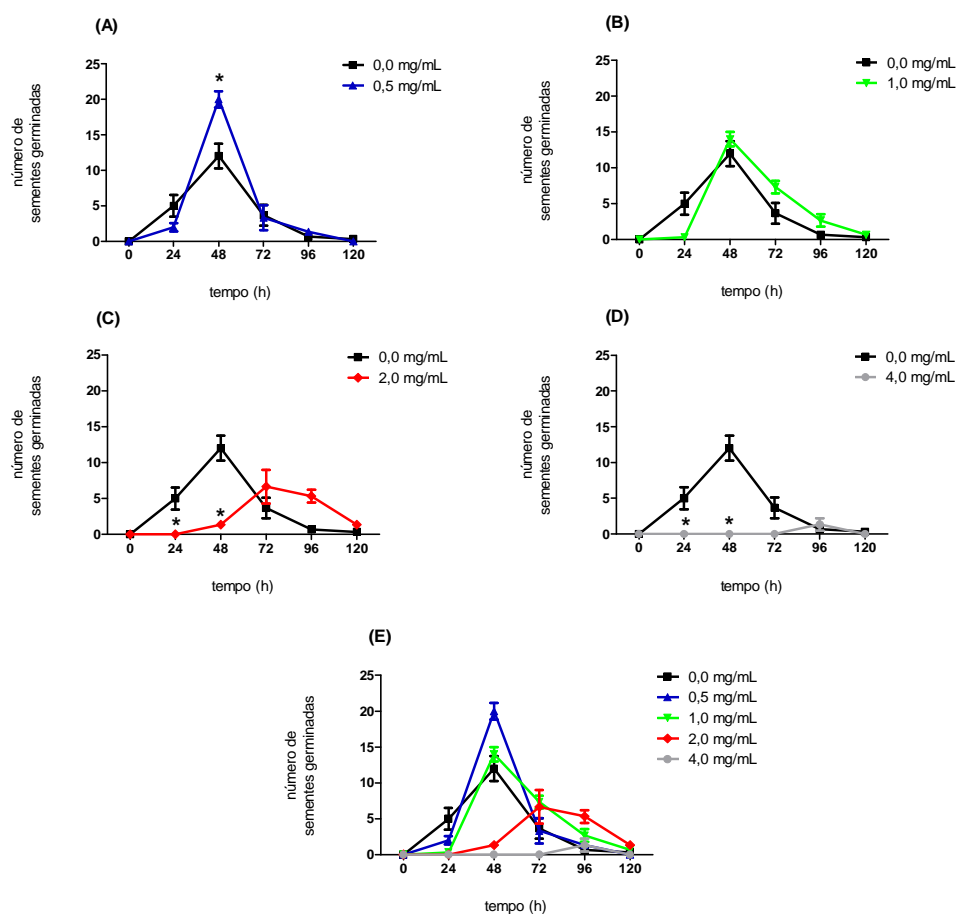


Figura 27 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Pouteria caimito*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

Para o extrato aquoso de folhas de *P. caimito*, as inibições no tempo médio de germinação nas primeiras 24h foram significativas em todas as concentrações testadas (Figura 28).

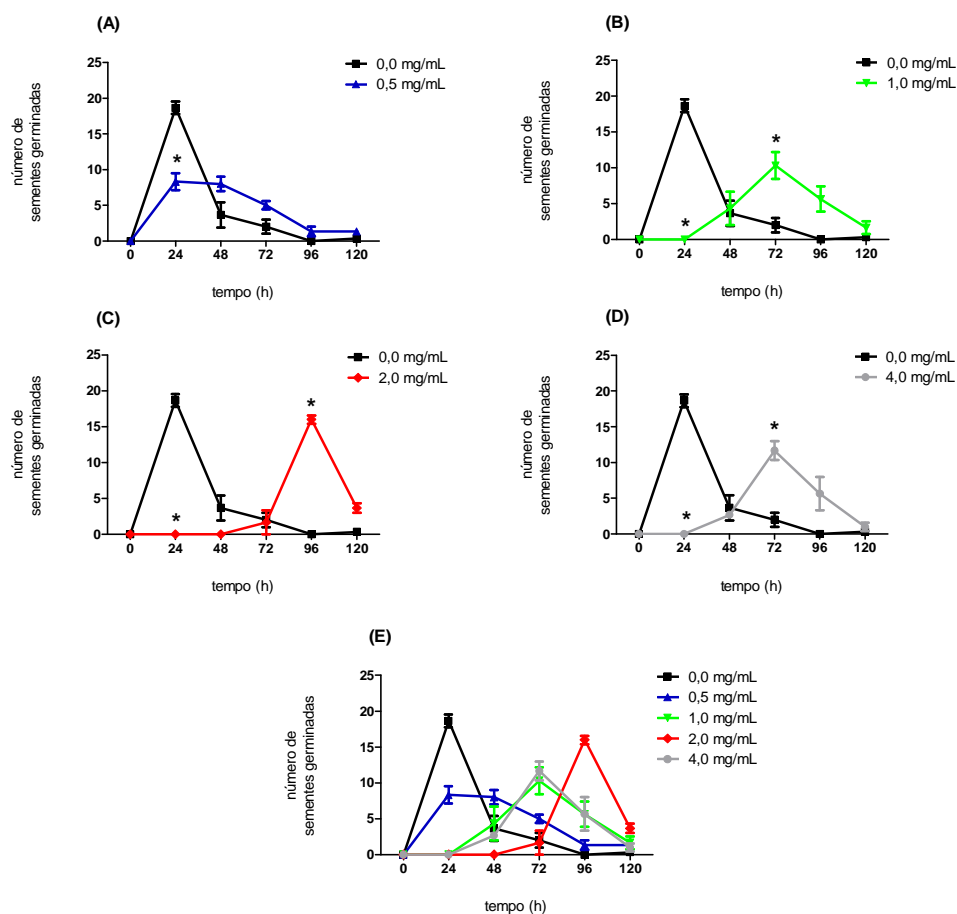


Figura 28 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de *Pouteria caimito*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), (A) 0,5mg/mL, (B) 1,0mg/mL, (C) 2,0mg/mL, (D) 4,0mg/mL, (E) todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. $*P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico (E).

Para os extratos de *P. ramiflora* testados com as sementes de tomate, o extrato aquoso inibiu a germinação nas 48h de análise na concentração de 4mg/mL (Figura 29).

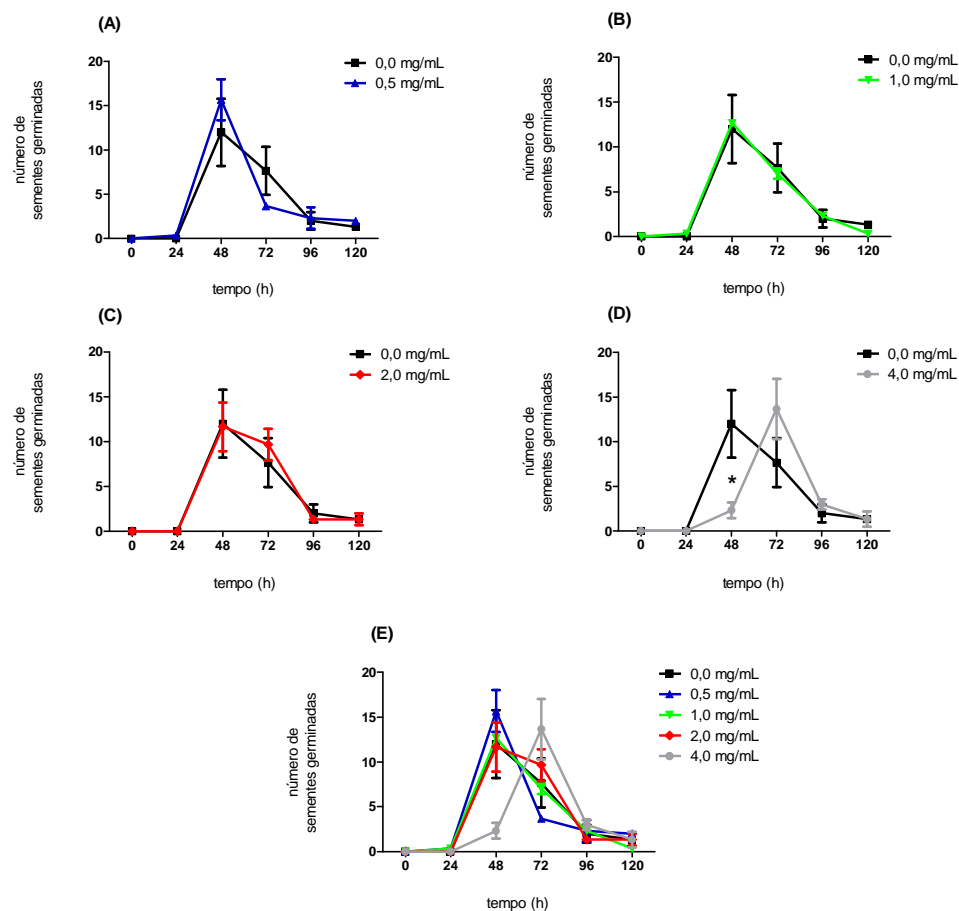


Figura 29 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de *Pouteria ramiflora*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

O extrato hexânico de folhas de *P. ramiflora* deslocou a curva de germinação nas 24h e 72h a 1mg/mL; nas 24h, 48h e 72h nas duas maiores concentrações (2mg/mL e 4mg/mL) (Figura 30).

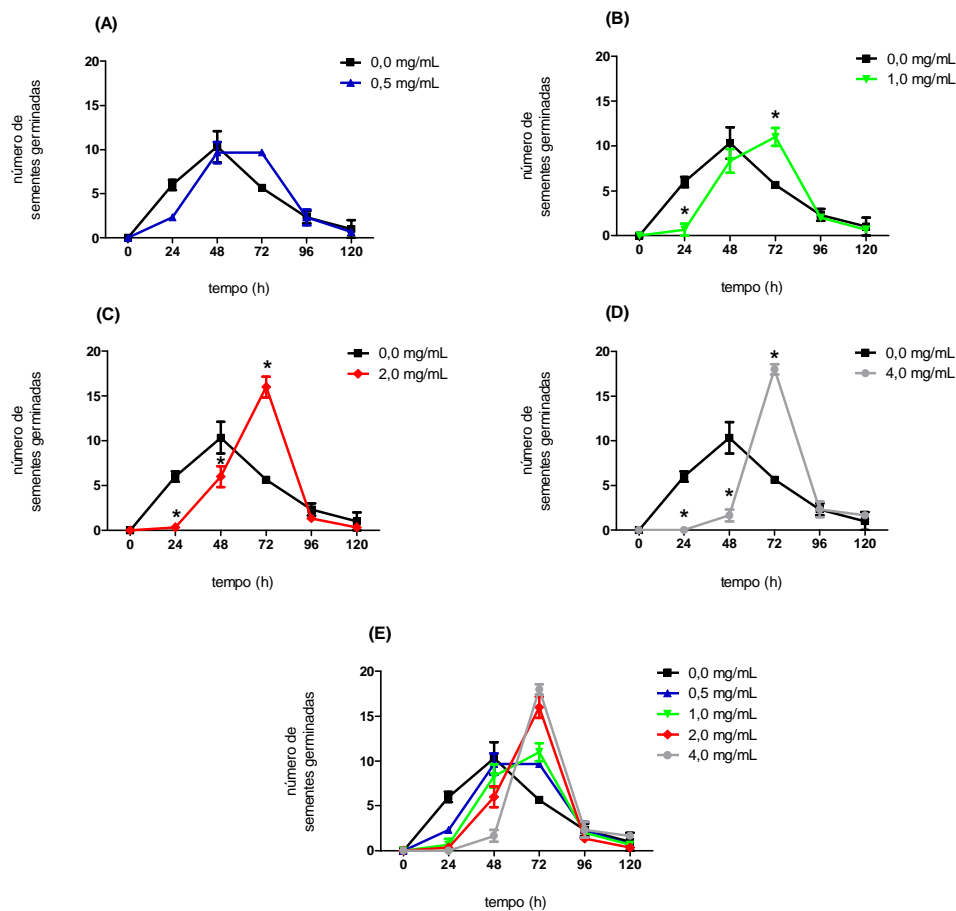


Figura 30 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de *Pouteria ramiflora*, em comparação com o controle (0,0mg/mL); **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

O extrato etanólico de *P. ramiflora* deslocou a curva de germinação em 48h de análise na concentração de 4mg/mL, mesmo comportamento observado pelo extrato aquoso desta mesma planta (Figura 31).

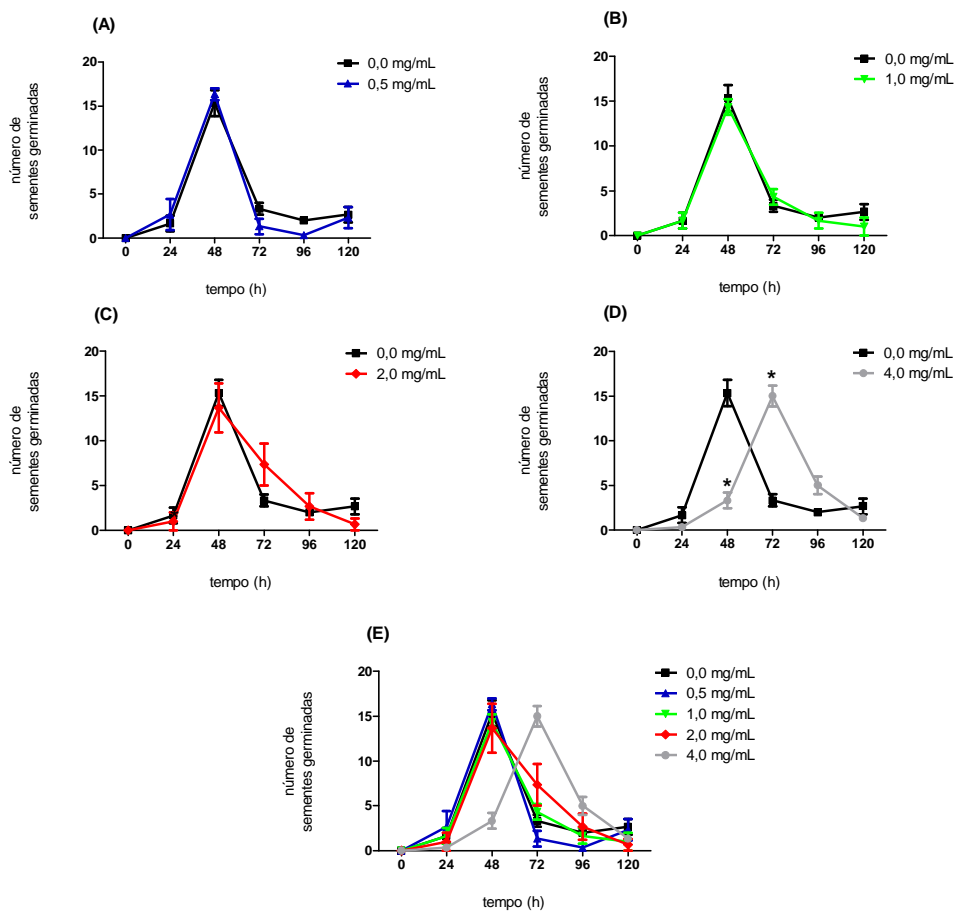


Figura 31 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Pouteria ramiflora*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), (A) 0,5mg/mL, (B) 1,0mg/mL, (C) 2,0mg/mL, (D) 4,0mg/mL, (E) todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. $*P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico (E).

As sementes de tomate frente aos extratos foliares de *P. torta* também tiveram seu crescimento não cumulativo afetado. Para o extrato hexânico, a curva foi deslocada nas 48h e 72h a 0,5mg/mL, 1mg/mL e 2mg/mL; nas 48h de análise a 4mg/mL. Para o extrato aquoso da mesma planta, não houve alteração da curva de crescimento não cumulativa (Figura 32).

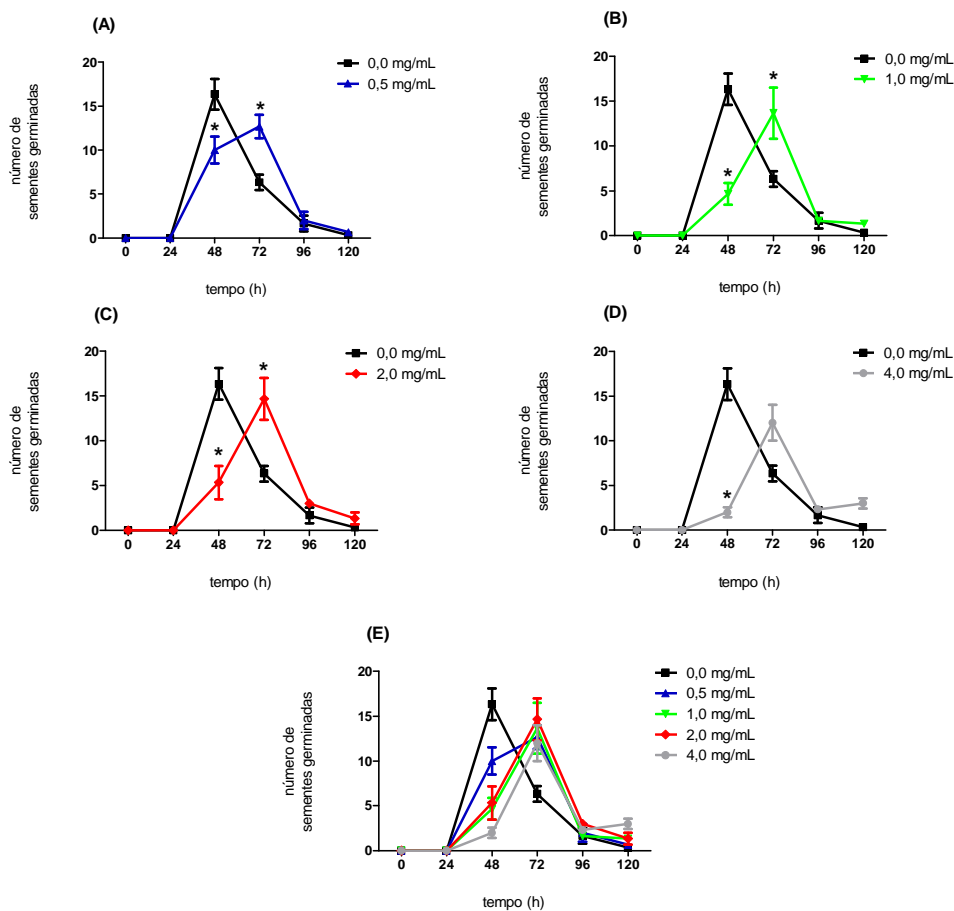


Figura 32 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de *Pouteria torta*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), (A) 0,5mg/mL, (B) 1,0mg/mL, (C) 2,0mg/mL, (D) 4,0mg/mL, (E) todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico (E).

Comprimento radicular (CR) e taxa de inibição do crescimento radicular (TICR)

Algumas reduções no comprimento radicular (CR) de *L. sativa* também foram dose-dependentes. O extrato hexânico de *P. ramiflora* apresentou atividade inibitória em todas as concentrações testadas (0,5mg/mL, 27%; 1,0mg/mL, 31%; 2,0mg/mL, 58% e 4,0mg/mL, 67%). Os dados de CR com o extrato etanólico de *P. ramiflora* mostram a inibição nas seguintes concentrações: 2,0mg/mL, 61% e 4,0mg/mL, 75%.

O extrato aquoso apresentou inibição somente na maior concentração (4,0mg/mL, 38%). O extrato aquoso de *P. torta* apresentou inibição nas concentrações de 2 e 4mg/mL (45 e 53%, respectivamente) e o extrato hexânico apresentou ação inibitória nas seguintes concentrações: 1mg/mL, 19%; 2mg/mL, 23% e 4mg/mL, 35%. O extrato etanólico das folhas de *P. caimito* teve ação inibitória no crescimento da radícula em todas as concentrações testadas (0,5mg/mL, 62%; 1,0mg/mL, 62%; 2,0mg/mL, 59%; 4,0mg/mL, 61%), o extrato aquoso apresentou efeito inibitório nas concentrações de 2,0 e 4,0mg/mL, 33 e 49%, respectivamente. Os resultados de CR estão mostrados na Figura 33.

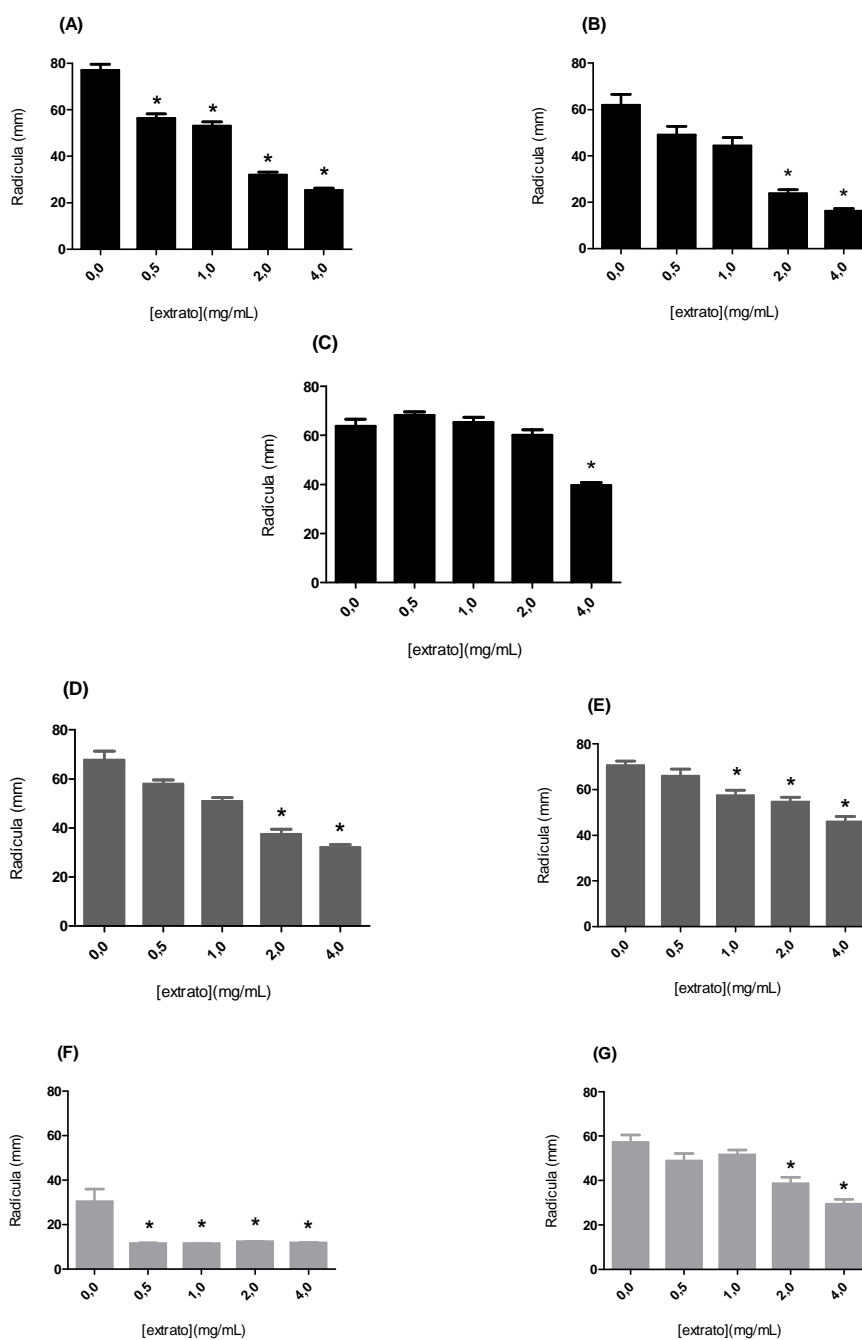


Figura 33 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de espécies do gênero *Pouteria* sobre o crescimento de sementes de *Lactuca sativa*. **(A)** Extrato hexânico de *P. ramiflora*; **(B)** Extrato etanólico de *P. ramiflora*; **(C)** Extrato aquoso de *P. ramiflora*; **(D)** Extrato aquoso de *P. torta*; **(E)** Extrato hexânico de *P. torta*; **(F)** Extrato etanólico de *P. caimito*; **(G)** Extrato aquoso de *P. caimito*. As barras representam a média \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$ vs controle, $n=9$.

Na verificação dos efeitos alelopáticos dos extratos no CR do tomate, o extrato hexânico de *P. ramiflora* apresentou efeitos inibitórios nas 3 maiores concentrações em relação ao controle (1mg/mL, 36%; 2mg/mL, 21%; 4mg/mL,

46%), com discreto estímulo na concentração de 2mg/mL em relação as outras duas. Os dados de CR para o extrato etanólico de *P. ramiflora* mostram inibição da planta-alvo em todas as concentrações testadas (0,5mg/mL, 47%; 1mg/mL, 49%; 2mg/mL, 56% e 4mg/mL, 75%). O extrato aquoso de *P. ramiflora* apresentou inibições somente nas duas maiores concentrações com TICR de 64% (2mg/mL) e 78% (4mg/mL) (Figura 34).

Assim como foi observado com o alface, o extrato aquoso de folhas de *P. torta* apresentou inibição nas concentrações de 2 e 4mg/mL (50 e 74%, respectivamente), enquanto o extrato hexânico apresentou comportamento distinto, sem efeitos alelopáticos sobre o tomate (Figura 34).

Algumas reduções no comprimento radicular (CR) de *L. esculentum* também foram dose-dependentes. O extrato aquoso das folhas de *P. caimito* inibiu o CR do tomate em todas as concentrações testadas (0,5mg/mL, 22%; 1mg/mL, 29%; 2mg/mL, 35%; 4mg/mL, 51%) e o extrato etanólico teve esta ação inibitória nas três maiores concentrações testadas (1mg/mL, 45%; 2mg/mL, 64%; 4mg/mL, 74%). Assim como nos testes realizados com o alface, o extrato hexânico não apresentou efeito alelopático sobre o CR do tomate (Figura 34).

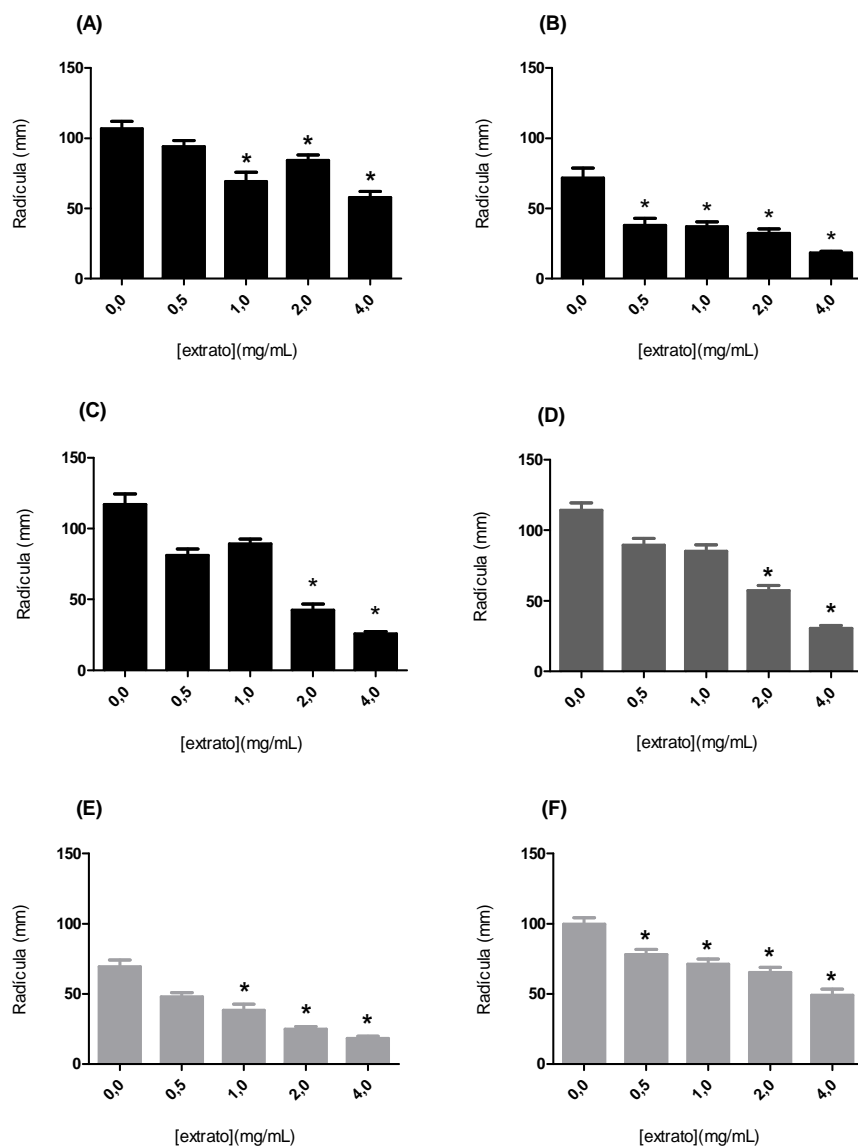


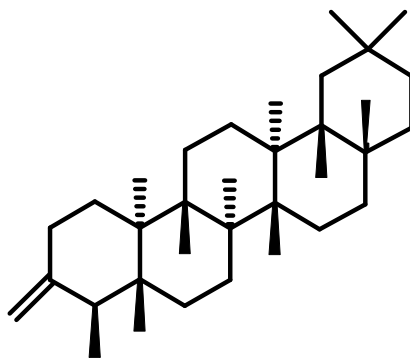
Figura 34 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de espécies do gênero *Pouteria* sobre o crescimento de sementes de *Lycopersicum esculentum*. **(A)** Extrato hexânico de *P. ramiflora*; **(B)** Extrato etanólico de *P. ramiflora*; **(C)** Extrato aquoso de *P. ramiflora*; **(D)** Extrato aquoso de *P. torta*; **(E)** Extrato etanólico de *P. caimito*; **(F)** Extrato aquoso de *P. caimito*. As barras representam a média \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$ vs controle, $n=9$.

Um estudo conduzido por Nascimento e colaboradores já havia mostrado a ação de extratos de folhas de *Pouteria torta*, sobre a germinação de *L. sativa* (57). Naquele estudo foi verificado também se alterações de pH, efeito osmótico e iônico estariam influenciando tal inibição, que foi melhor observada nas maiores concentrações do extrato. Os autores concluíram que não havia interferência destes fatores e que esta inibição estaria associada a compostos

presentes nas folhas de *P. torta* (57). Ao contrário dos resultados publicados por Nascimento e colaboradores, nas condições do nosso experimento, observamos que os extratos etanólico e hexânico das folhas de *P. torta* não inibiram a germinação, mas influenciaram no crescimento radicular de maneira dose-dependente.

Em outro estudo conduzido com frações do extrato de folhas de *P. ramiflora* utilizando substrato solo, foi verificada atividade inibitória na germinação de *L. sativa* (37); contudo nos ensaios *in vitro* tal resultado não foi observado, ou seja, *P. ramiflora* não apresentou atividade inibitória significativa na germinação da planta-alvo. Naquele trabalho, os autores postularam que, na natureza, essa espécie só influencia no desenvolvimento de outras se a quantidade de folhas em degradação produzir altos teores dos compostos ativos (37).

No presente estudo, contudo, o extrato hexânico de folhas de *P. ramiflora* foi capaz de inibir tanto a germinação quanto o crescimento radicular, enquanto o extrato aquoso inibiu somente a germinação. Contudo, não foi identificado o(s) composto(s) responsável(is) pela ação alelopática do gênero *Pouteria*, visto que o extrato utilizado não foi fracionado. A presença de determinados compostos nesses extratos pode justificar, ao menos em parte, a atividade observada na espécie-alvo. Miricitrina (**8**) tem atividade inibitória sobre a germinação de *L. esculentum* (104); α -sitosterol (**7**) inibe a germinação de *L. sativa* de modo dose-dependente (105); (106). A atividade alelopática foi observada em triterpenos presentes em espécies de *Pouteria* tais como lupeol (**21**), ácido ursólico (**28**) e α -friedelinol (**30**) (atividade inibitória) e friedelina (**35**) e acetato de α -amirina (**32**) (atividade estimulante) (107). Assim, tais compostos podem justificar, ao menos em parte, a atividade observada nas amostras avaliadas.



35

4.5 *SAPINDUS SAPONARIA* L. (SAPINDACEAE): SABONETEIRA

Sapindus saponaria L., pertencente à família Sapindaceae, é de ocorrência desde a Região Amazônica até Goiás e Mato Grosso, nas florestas pluvial e semidecídua (108).

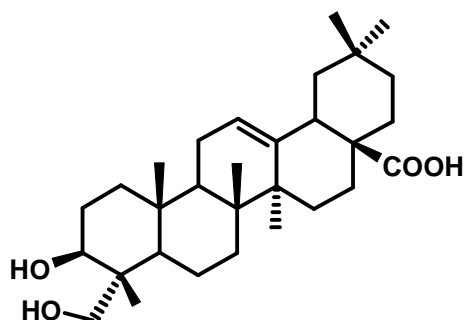
Conhecida vulgarmente por saboneteira é uma árvore nativa, perenifólia ou semidecídua, heliófita, de pequeno porte (até 8m), utilizada em paisagismo e em modelos de recuperação de áreas degradadas com copa densa e perfeitamente globosa; as folhas são compostas imparipenadas com sete folíolos glabros de 10-16cm de comprimento por 3-4cm de largura ; suas flores são brancas, dispostas em panículas; os frutos contêm saponina, sendo utilizados na lavagem de tecidos e as sementes esféricas e duras, conhecidas como “salta-martim”, são utilizadas em artesanato, como “bolas-de-gude” e para tinguizar peixes (108).

Os frutos são utilizados como remédio contra úlcera, lesões da pele e em inflamação (62).

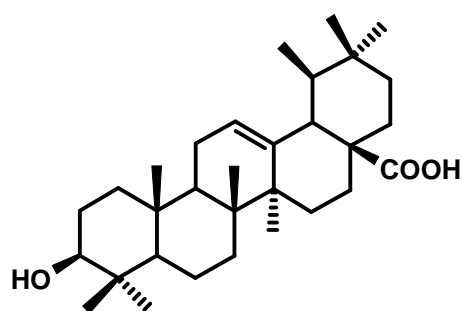


Figura 35 – *Sapindus saponaria*. A) Árvore; B) Folha e Flores e C) Fruto⁶.

Os frutos de *S. saponaria* produzem uma grande quantidade e variedade de glicosídeos naturalmente acetilados, sendo saponinas, os principais, derivados dos triterpenos hederagenina (**36**) e ácido oleanólico (**37**), e oligoglicosídeos de sesquiterpenos acíclicos (109).



36



37

A inclusão de sementes do pericarpo de *S. saponaria* na dieta de ruminantes, além de fornecer nutrientes ao animal, reduziu, significativamente, a população de protozoários existente (58). Outro estudo conduzido neste sentido confirmou o efeito antiprotozoário dos frutos desta espécie, incluída da

⁶Fontes:

- A) http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e4/Starr_050407-6253_Sapindus_saponaria.jpg/220px-Starr_050407-6253_Sapindus_saponaria.jpg
- B) <http://www.fireflyforest.com/flowers/2308/sapindus-saponaria-wingleaf-soapberry/>
- C) http://svr1.ceuc.ufms.br/dam/imagens_labbot/Sapindus_saponaria.jpg

dieta de ruminantes, e também a redução da liberação de metano na fermentação de ruminantes, independente da atividade antiprotozoária (59).

Na avaliação do potencial larvicida sobre *Boophilus microplus* (carrapato bovino), com a utilização do extrato bruto etanólico da casca do caule, foi observada mortalidade após 48 horas, apresentando efeito promissor no controle deste parasita (60).

Compostos isolados desta espécie apresentaram atividade moluscicida *Biomphalaria glabrata*, hospedeiro intermediário de esquistossomose (61).

Espécies de *Sapindus* têm sido pesquisadas como fonte de saponinas para uso cosmético, por suas propriedades tensoativas como também para uso farmacológico, pois esses compostos classificados como triterpenoides, apresentam atividade antiulcerativa e antineoplásica (62). A administração oral do extrato dos frutos em ratos sugere uma atividade antiúlcera gástrica potencial (62).

Extratos do pericarpo seco dos frutos foram investigados quanto à atividade antifúngica contra isolados clínicos de levedura de *Candida albicans* e *C. non-albicans* da secreção vaginal de mulheres com candidíase vulvovaginal e as saponinas isoladas mostraram forte atividade contra *C. parapsilosis* (63).

4.5.1 Avaliação da atividade antioxidante de *Sapindus saponaria*

O extrato etanólico de frutos de *S. saponaria* apresentou atividade antioxidante relativa frente ao ácido ascórbico, que pode ser atribuída à presença de saponinas em sua composição (110) (Tabela 15).

Tabela 15 – Atividade antioxidante de *Sapindus saponaria*.

Extrato	Média das Abs	Equivalentes em mg/mL		
		AA	BHT	Quercetina
Etanólico	0,127	0,692	0,324	0,106

4.5.2 Avaliação da atividade alelopática de *Sapindus saponaria*

Germinabilidade (G) e taxa de inibição da germinabilidade (TIG)

Frente a germinabilidade do alface e do tomate, o extrato não apresentou diferença estatisticamente significativa.

Tempo Médio de Germinação (t_m)

Não apresentou diferenças estatisticamente significativas no tempo médio de germinação da alface e do tomate.

Comprimento radicular (CR) e taxa de inibição do crescimento radicular (TICR)

O extrato apresentou inibição do crescimento radicular em todas as concentrações testadas em relação ao controle com TICR de 55% (0,5mg/mL), 53% (1mg/mL), 61% (2mg/mL) e 63% (4mg/mL), para o alface (Figura 36).

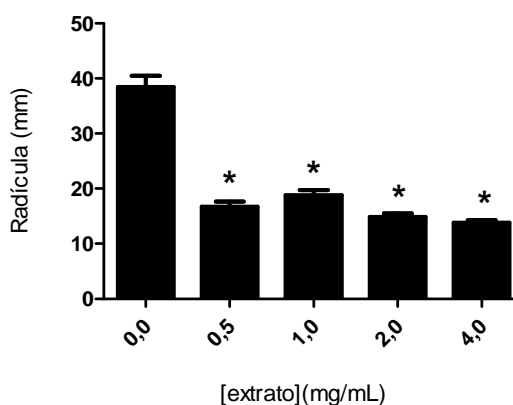


Figura 36 – Efeito alelopático do extrato etanólico do fruto de *Sapindus saponaria* sobre o crescimento de sementes de *Lactuca sativa*. As barras representam a média \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$ vs controle, $n=9$.

Assim como foi observado com o alface, para o CR do tomate, este extrato também inibiu o crescimento em todas as concentrações testadas com

TICR de 48% (0,5mg/mL), 50% (1mg/mL), 50% (2mg/mL) e 58% (4mg/mL) (Figura 37).

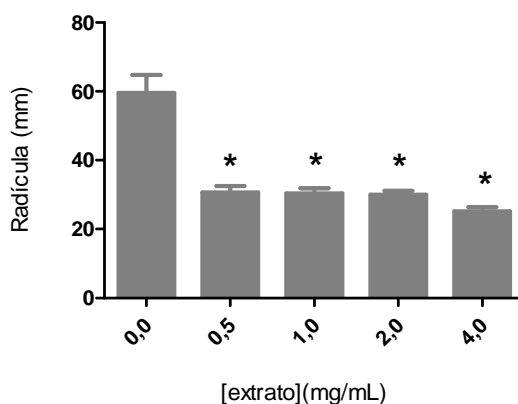


Figura 37 – Efeito alelopático do extrato etanólico do fruto de *Sapindus saponaria* sobre o crescimento de sementes de *Lycopersicon esculentum*. As barras representam a média \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$ vs controle, $n=9$.

Em estudo conduzido com diversas partes da planta de *Sapindus saponaria*, foi evidenciada potencialidade alelopática que variou de acordo com a espécie receptora, apresentando efeito inibitório sobre o processo de germinação dos diásporos e morfologia de plântulas do alface, entre outras. Os extratos das folhas jovens e do fruto causaram elevado índice de anormalidade e maior inibição do crescimento da parte aérea e da raiz das plântulas de alface, sendo que a raiz foi o órgão mais sensível aos agentes alelopáticos com a necrose como sintoma mais comum. Quanto a germinação, o extrato aquoso das folhas jovens e raízes foram os que provocaram maior inibição da germinação do alface. Neste estudo conduzido também foi avaliada a atividade de frações e concluiu-se que na sub-fração de acetato de etila, que apresentou maior atividade alelopática sobre os coleótipos de trigo, podem ser encontrados os compostos orgânicos responsáveis por estas atividades inibitórias (111).

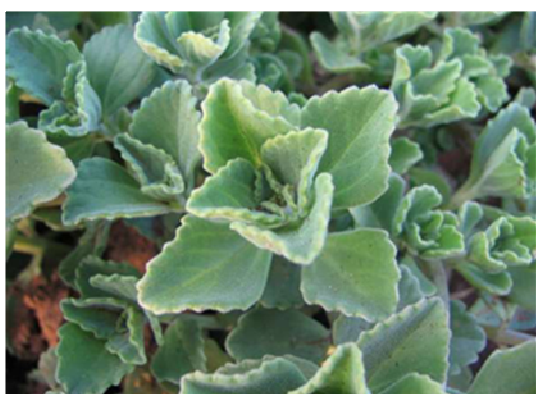
4.6 *PLECTRANTHUS NEOCHILUS* SCHLTR. (LAMIACEAE): BOLDINHO

Plectranthus neochilus Schltr., família Lamiaceae, é uma erva aromática empregada na medicina popular, sob a forma de infuso ou macerado, para o tratamento de eficiência hepática, dispepsia, dor de garganta, dor de estômago e é comumente chama de “boldo” ou “boldo gambá” no Brasil (65, 112).

As plantas do gênero *Plectranthus* L'Her, contém óleos essenciais ricos em mono e sesquiterpenos e a maioria deles possui importantes propriedades medicinais, nutritivas, aromatizantes, antisépticas e repelentes (113). A demanda por plantas deste gênero tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, causando uma grande redução na população nativa pela exploração predatória, em especial para *P. neochilus* (114).

O óleo essencial de folhas frescas apresenta como os constituintes mais abundantes *E*-cariofileno e óxido de cariofileno (112), que apresentam atividade antiinflamatória e gastroprotetora (115, 116).

O extrato metanólico de folhas de *P. neochilus* apresentou atividade fungicida contra *Candida krusei* (64).



A



B

Figura 38 – *Plectranthus neochilus*. A) Folhas e B) Folhas e Flores⁷.

⁷Fontes:

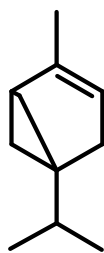
- A) http://www.herbgarden.co.za/mountainherb/webherbfotos/big_PlectranthusNeochiles.JPG
6253_Sapindus_saponaria.jpg
- B) <http://fotos.sapo.pt/ug9jAeoiNLzQAfGf9yrm/340x255>

4.6.1 Avaliação da atividade antioxidante de *Plecthrantus neochilus*

Alguns compostos de *P. neochilus* foram identificados no óleo essencial das folhas e flores, como α -tujeno (**38**), α -pineno (**39**), β -cariofileno (**40**) e acetato de α -terpenila (**41**). A atividade antioxidante foi verificada pelos métodos de TBARS e DPPH e todos os óleos essenciais ensaiados apresentaram baixa atividade antioxidante (117). Por outro lado, na avaliação da atividade antioxidante pelo método do fosfomolibdênio, o extrato hexânico apresentou relativa atividade antioxidante em relação ao ácido ascórbico e a quercetina (**10**) e 3 vezes maior que o BHT. O extrato etanólico apresentou relativa atividade em relação ao ácido ascórbico, igual atividade da quercetina e 6 vezes superior ao BHT, sendo o melhor resultado encontrado dentre todos os extratos testados (Tabela 16).

Tabela 16 – Atividade antioxidante de *Plectranthus neochilus*.

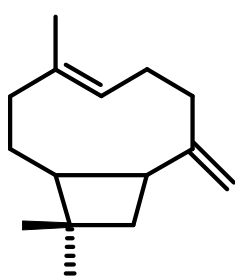
Extrato	Média das Abs	Equivalentes em mg/mL		
		AA	BHT	Quercetina
Aquoso	0,078	0,034	0,188	0,082
Etanólico	2,248	0,752	6,167	1,123
Hexânico	1,191	0,403	3,255	0,616



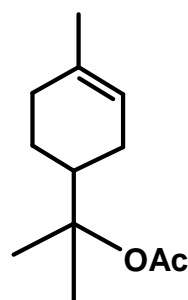
38



39



40



41

4.6.2 Avaliação da atividade alelopática de *Plectranthus neochilus*

Germinabilidade (G) e taxa de inibição da germinabilidade (TIG)

O extrato etanólico de folhas de *Plectranthus neochilus* apresentou uma TIG de 30% na concentração de 4mg/mL em relação ao controle e a germinabilidade da alface foi inibida de maneira dose-dependente. Os extratos aquoso e hexânico, por sua vez, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas na germinabilidade do alface (Tabela 17).

Tabela 17 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes extratos de folhas de *Plectranthus neochilus* com resposta dose-dependente ao final de 5 dias.

Extrato		Concentração do extrato (mg/mL)				
		0	0,5	1	2	4
Etanólico	G(%)	89	86	76	69	62*
	TIG(%)	0	3	15	23	30*

* $P < 0,05$ vs controle (0mg/mL).

Semelhante ao que ocorreu na germinabilidade do alface, para o tomate, o extrato aquoso não apresentou efeito neste parâmetro. Contudo, os extratos etanólico e hexânico, apresentaram inibições dose-dependentes com TIG de 52% (2mg/mL) e 96% (4mg/mL), para o extrato etanólico e 53% (1mg/mL), 90% (2mg/mL) e 95% (4mg/mL), para o extrato hexânico (Tabela 18).

Tabela 18 – Germinabilidade (G) e respectiva taxa de inibição da germinabilidade (TIG) de sementes de *Lycopersicon esculentum* submetidas a diferentes extratos de folhas de *Plectranthus neochilus* com resposta dose-dependente ao final de 5 dias.

Extrato		Concentração do extrato (mg/mL)				
		0	0,5	1	2	4
Etanólico	G(%)	92	83	73	44*	4*
	TIG(%)	0	10	21	52*	96*
Hexânico	G(%)	86	77	40*	9*	4*
	TIG(%)	0	10	53*	90*	95*

* $P < 0,05$ vs controle (0mg/mL).

Tempo Médio de Germinação (t_m)

Para o extrato etanólico de folhas de *Plectranthus neochilus*, as três maiores concentrações testadas (1mg/mL, 2mg/mL e 4mg/mL) provocaram deslocamento da curva de germinação ao longo do tempo nas primeiras horas de análise, até o período germinador de 24 horas (Figura 39).

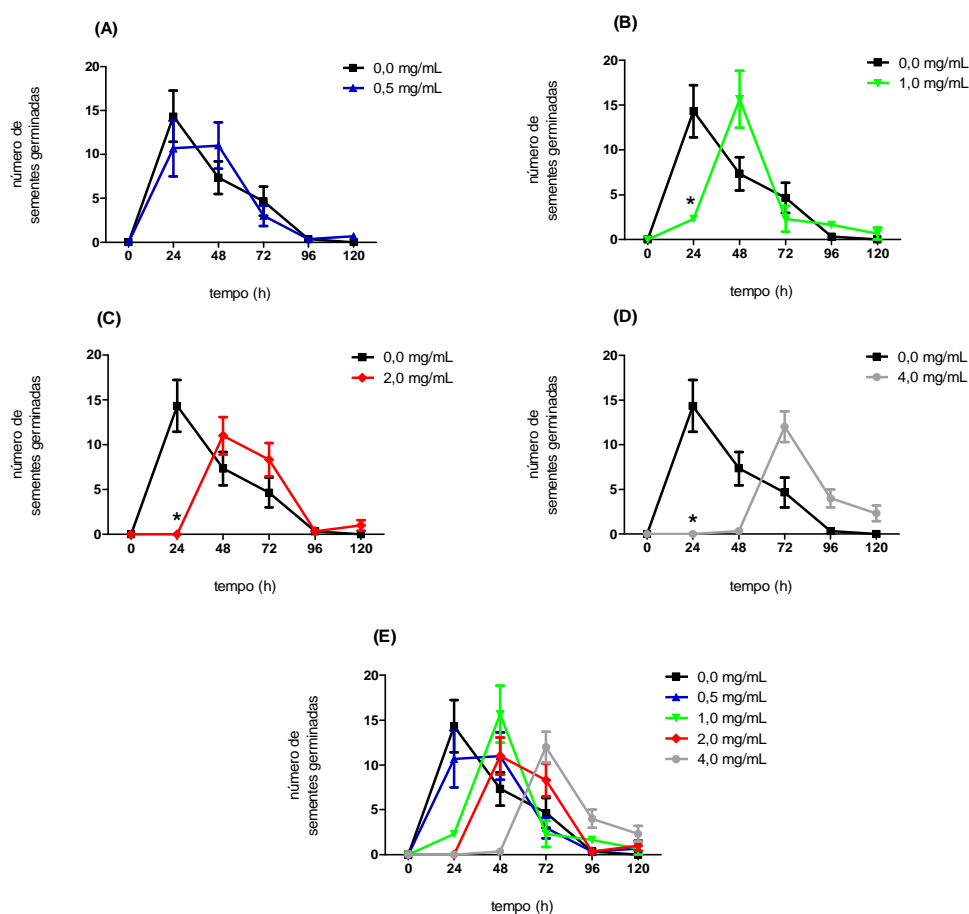


Figura 39 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Plectranthus neochilus*, em comparação com o controle (0,0 mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. $*P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

Mesmo comportamento observado com o extrato etanólico, no extrato hexânico de folhas de *Plectranthus neochilus*, as três maiores concentrações testadas (1mg/mL, 2mg/mL e 4mg/mL) provocaram deslocamento da curva de germinação ao longo do tempo até o período germinador de 24 horas de análise (Figura 40).

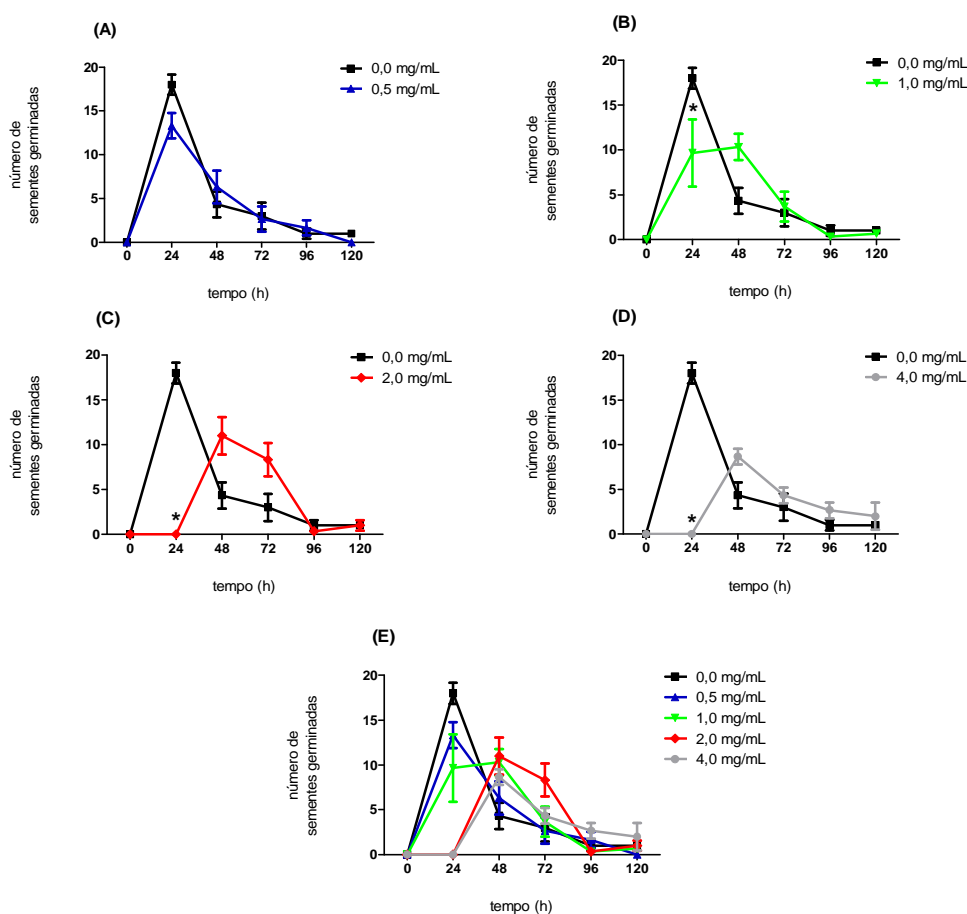


Figura 40 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de *Plectranthus neochilus*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. $*P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

Para o extrato aquoso de folhas de *Plectranthus neochilus*, as três maiores concentrações testadas (1mg/mL, 2mg/mL e 4mg/mL) provocaram deslocamento da curva de germinação ao longo do tempo até o período germinador de 48 horas de análise (Figura 41).

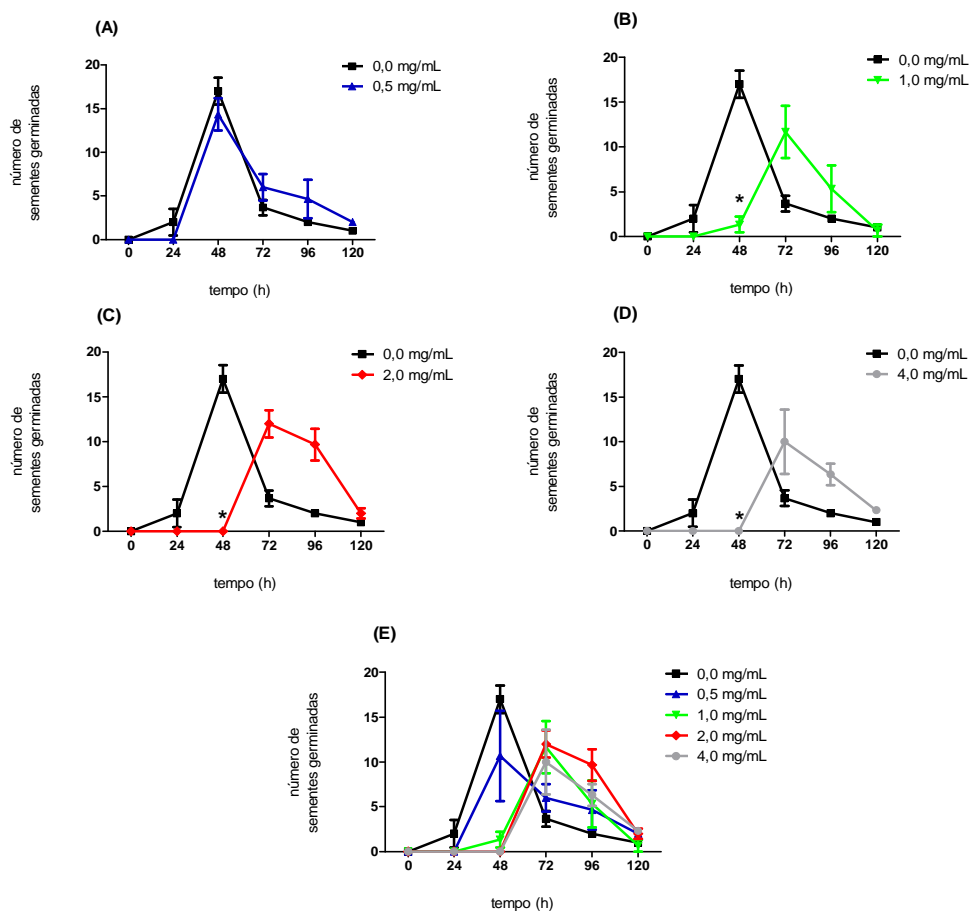


Figura 41 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lactuca sativa* sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de *Plectranthus neochilus*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. $*P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

Para as sementes de *L. esculentum* testadas, o extrato etanólico apresentou os seguintes deslocamentos da curva de germinação não cumulativa: 24h e 72h a 0,5mg/mL; 24h, 48h e 72h a 1mg/mL; 24h e 48h a 2mg/mL e 4mg/mL (Figura 42).

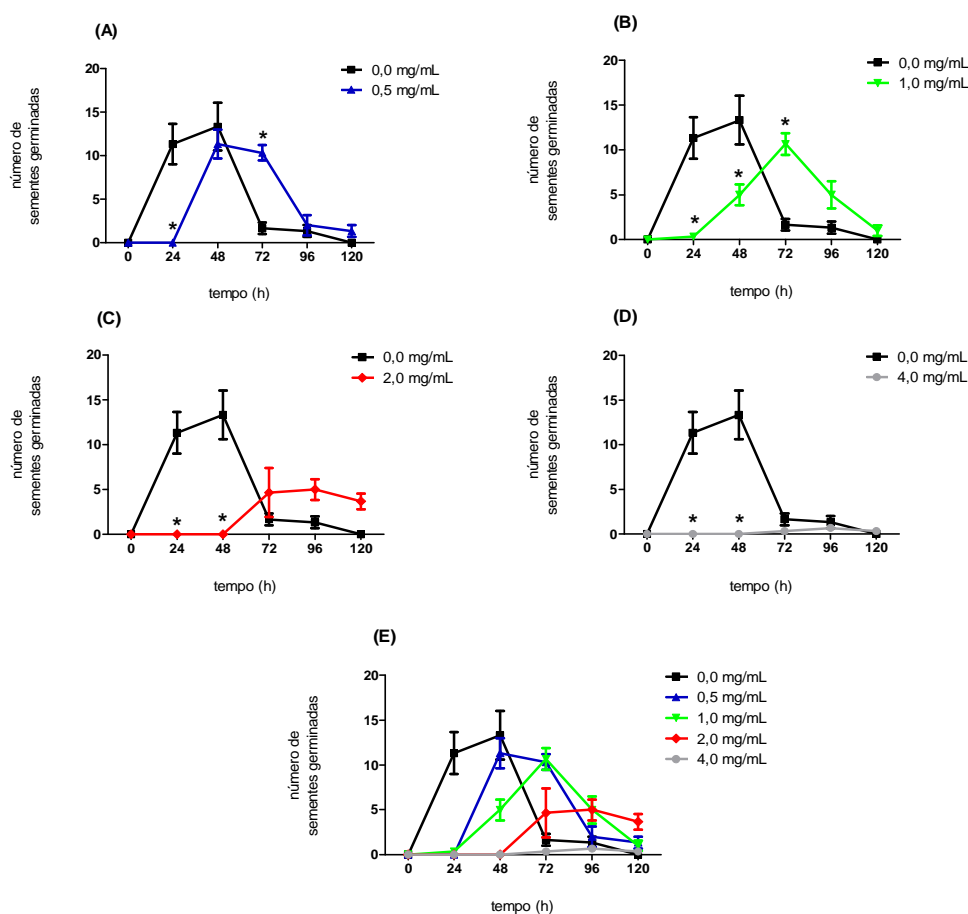


Figura 42 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato etanólico de folhas de *Plectranthus neochilus*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. $*P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

O extrato hexânico apresentou os seguintes deslocamentos da curva de germinação não cumulativa: 48h e 72h a 0,5mg/mL; 24h, 48h a 1mg/mL, 2mg/mL e 4mg/mL (Figura 43).

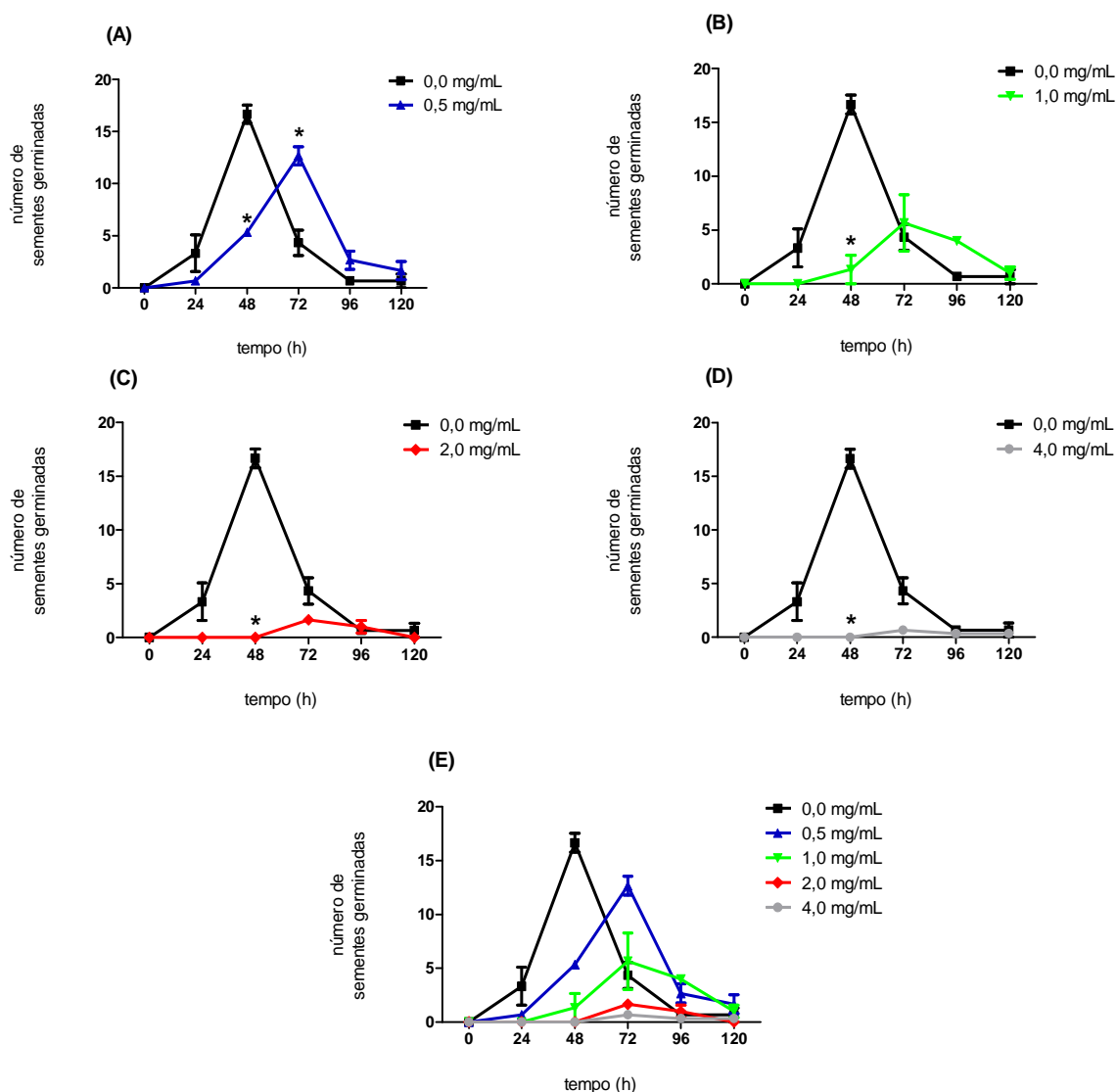


Figura 43 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato hexânico de folhas de *Plectranthus neochilus*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

O extrato aquoso apresentou os seguintes deslocamentos da curva de germinação não cumulativa: 24h a 1mg/mL; 24h e 96h a 2mg/mL; 24h, 72h e 96h a 4mg/mL (Figura 44).

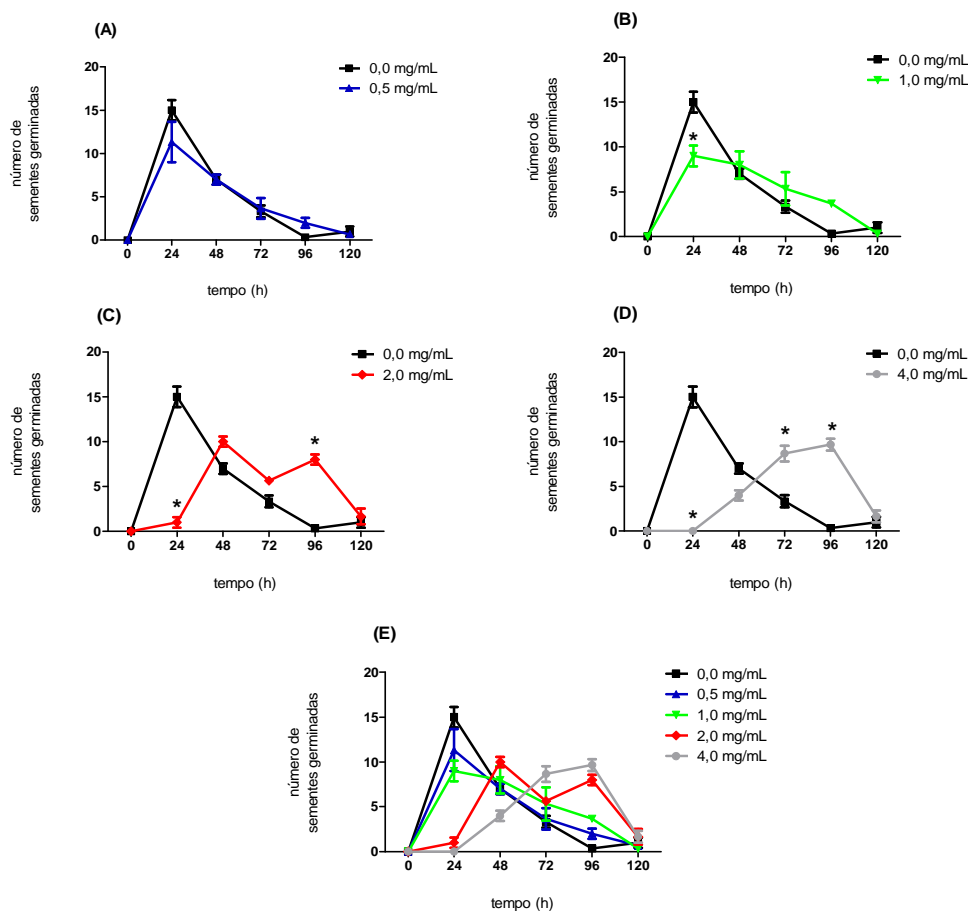


Figura 44 – Curvas de crescimento não cumulativo de *Lycopersicum esculentum* sob tratamento com várias concentrações do extrato aquoso de folhas de *Plectranthus neochilus*, em comparação com o controle (0,0mg/mL), **(A)** 0,5mg/mL, **(B)** 1,0mg/mL, **(C)** 2,0mg/mL, **(D)** 4,0mg/mL, **(E)** todas as concentrações. Os pontos representam a média \pm erro padrão. * $P < 0,001$ vs controle, $n=9$. Para uma melhor visualização, os asteriscos referentes às diferenças estatísticas não estão colocados no gráfico **(E)**.

Comprimento radicular (CR) e taxa de inibição do crescimento radicular (TICR)

O extrato aquoso apresentou efeito alelopático estimulante do crescimento radicular do alface na menor concentração (0,5mg/mL) e efeito inibitório na maior concentração (4mg/mL, 38%) em relação ao controle.

Para o extrato etanólico houve efeito alelopático inibitório, dose-dependente, significativo nas três maiores concentrações testadas em relação ao controle (1mg/mL, 46%; 2mg/mL, 70%; 4mg/mL, 77%).

O extrato hexânico, por sua vez, apresentou efeito alelopático inibitório, dose-dependente até a concentração de 2mg/mL (0,5mg/mL, 29%; 1mg/mL, 39%; 2mg/mL, 47%) podendo-se inferir que a partir desta concentração o efeito do extrato sobre a planta-alvo atinge um platô (Figura 45).

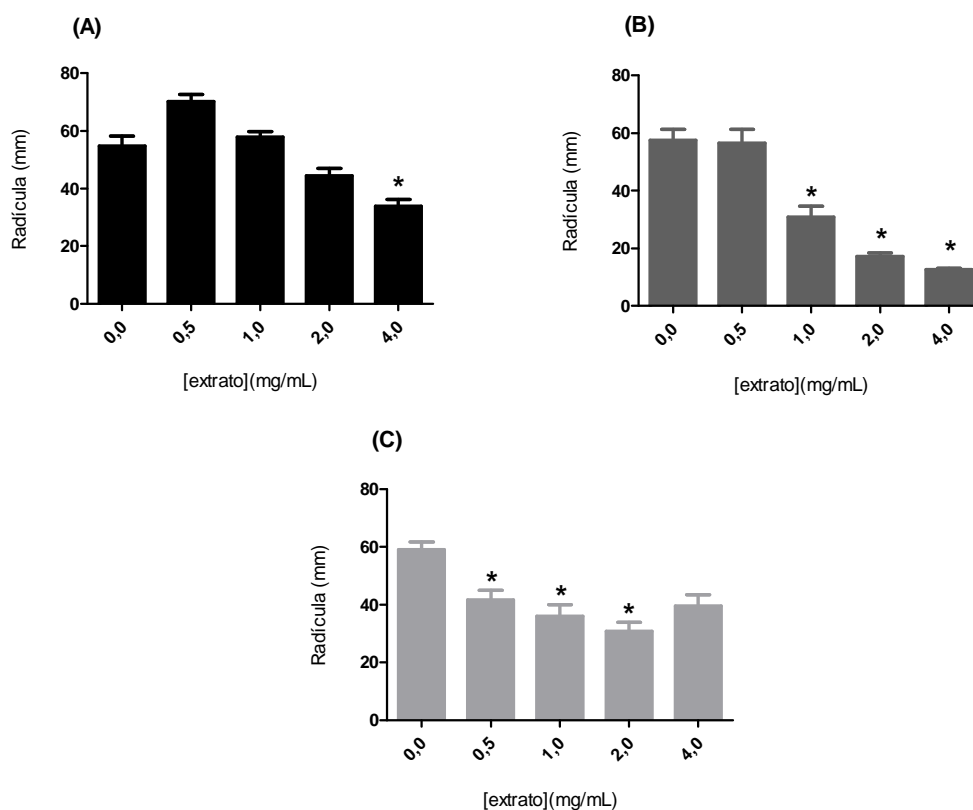


Figura 45 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de *Plectranthus neochilus* sobre o crescimento de sementes de *Lactuca sativa*. **(A)** Extrato aquoso; **(B)** Extrato etanólico; **(C)** Extrato hexânico. As barras representam a média \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$ vs controle, $n = 9$.

Para os testes com *Lycopersicum esculentum* como planta-alvo, todos os extratos inibiram o CR nas duas maiores concentrações testadas, 2mg/mL e 4mg/mL, com as seguintes taxas de inibição: 29% e 46% para o extrato aquoso; 51% e 81% para o extrato etanólico; 53% e 70% para o extrato hexânico (Figura 46).

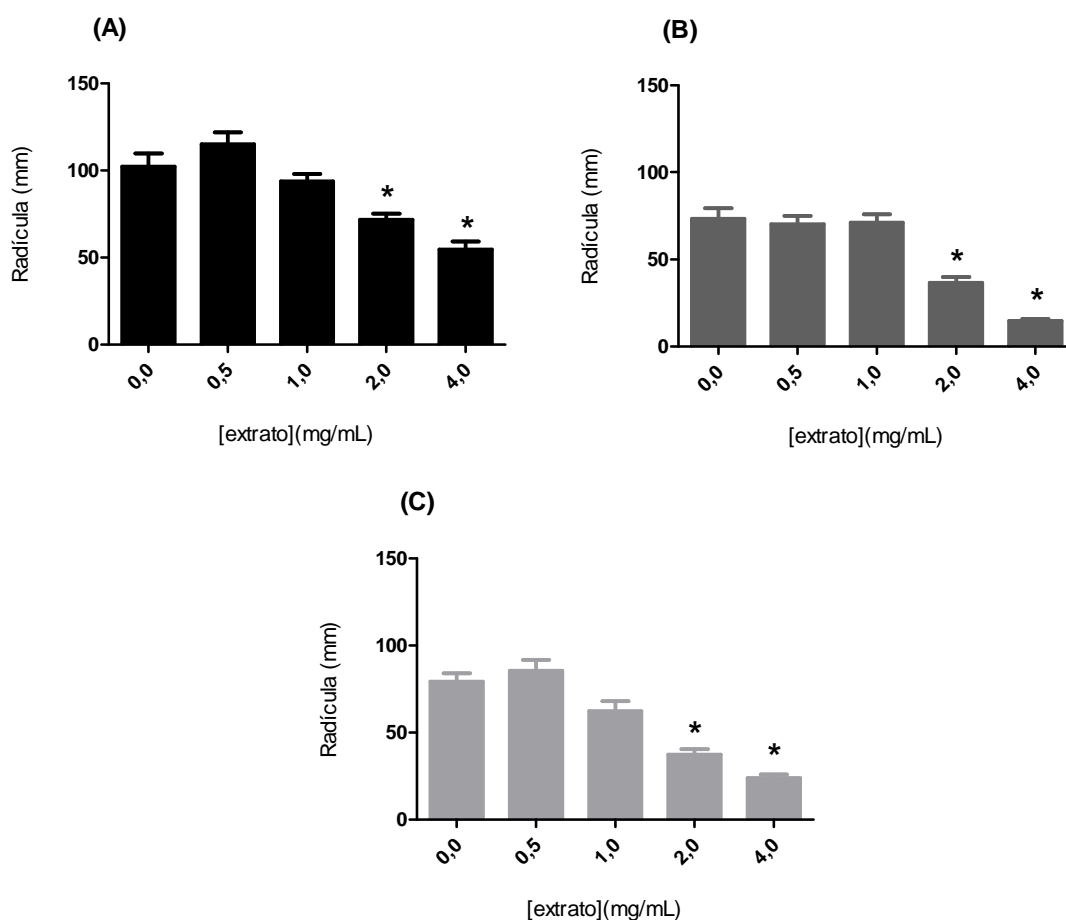


Figura 46 – Efeito alelopático dos extratos de folhas de *Plectranthus neochilus* sobre o crescimento de sementes de *Lycopersicum esculentum*. **(A)** Extrato aquoso; **(B)** Extrato etanólico; **(C)** Extrato hexânico. As barras representam a média \pm o desvio padrão. * $P < 0,05$ vs controle, $n=9$.

Não há estudos para verificação da atividade alelopática de *Plectranthus neochilus*, mas o boldo miúdo (*Plectranthus amboinicus* Lour Spr) foi testado quanto a sua capacidade alelopática na germinação de plântulas de picão-preto e afetou tanto a germinação, como o comprimento da parte aérea e da raiz desta espécie-alvo (118).

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Por meio dos resultados encontrados, foi possível concluir que a maioria dos extratos que apresentam atividade antioxidante exibiram maior potencial em relação ao BHT e que todos os extratos testados, apresentaram alguma atividade na verificação da equivalência com os três padrões utilizados, com exceção dos extratos aquosos de folhas de *Morus nigra*, *Pouteria caimito* e *Pouteria ramiflora* e o extrato etanólico de fruto verde de *Genipa americana*. Esta atividade antioxidante encontrada é devida à composição química de cada uma dessas plantas, sendo flavonoides, terpenos e saponinas as principais substâncias responsáveis por esta atividade.

A maior atividade antioxidante foi observada com o extrato etanólico de folhas de *Plectranthus neochilus*, seguido por seu extrato hexânico e o extrato hexânico de folhas de *Morus nigra*, seguida pelo extrato etanólico. Os extratos hexânicos de folhas de *P. ramiflora* e *P. torta* também apresentaram um potencial antioxidante bastante representativo. Estudos adicionais serão necessários para as etapas de isolamento, caracterização dos compostos fenólicos responsáveis pela atividade antioxidante e, finalmente, para elucidação do mecanismo de ação desses compostos e possível sinergismo entre os compostos encontrados.

Avaliando as respostas obtidas para a atividade alelopática, pode ser constatado que os extratos apresentaram atividade alelopática inibitória em, ao menos, um dos parâmetros avaliados e os extratos etanólicos de folhas de *Pouteria caimito* e *Plecthranthus neochilus* apresentaram inibição da atividade alelopática em todos os parâmetros testados (Tabela 19).

Tabela 19 – Atividade alelopática de extratos brutos de espécies vegetais utilizadas como medicinais sobre sementes de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*.

ATIVIDADE ALELOPÁTICA								
ESPÉCIE-ALVO								
Espécie	parte planta	Extrato	ALFACE			TOMATE		
			G	t _m	CR	G	t _m	CR
<i>Morus nigra</i>	folha	aquoso	NS	I	I	NS	I	I
		hexânico	I	NS	E	I	I	E / I
		etanólico	I	I	I	NS	I	I
<i>Genipa americana</i>	casca do fruto verde	etanólico	I	NS	NS	I	I	I
	fruto verde	etanólico	NS	I	E/I	NS	I	I
	folha	hexânico	NS	NS	NS	NS	I	I
etanólico		I	NS	I	I	I	I	
<i>Pouteria caimito</i>	folha	etanólico	I	I	I	I	I	I
		hexânico	NS	NS	NS	NS	I	NS
		aquoso	NS	NS	I	NS	I	I
<i>Pouteria ramiflora</i>	folha	etanólico	I	I	I	NS	I	I
		hexânico	I	NS	I	NS	I	I
		aquoso	NS	I	I	NS	I	I
<i>Pouteria torta</i>	folha	hexânico	NS	NS	I	NS	I	NS
		aquoso	NS	NS	I	NS	NS	I
<i>Sapindus saponaria</i>	fruto	etanólico	NS	NS	I	NS	NS	I
<i>Plectranthus neochilus</i>	folha	etanólico	I	I	I	I	I	I
		aquoso	NS	I	E/I	NS	I	I
		hexânico	NS	I	I	I	I	I

I: inibição; E: estímulo; NS: Não significativo.

Existe uma grande expectativa de que abordagens genômicas modernas irão identificar novos alvos e modos de ação de metabólitos de plantas. Algumas moléculas, especialmente triterpenoides, que promovem apoptose ou autofagia em células tumorais, são de particular interesse nestes estudos. Embora seja aceito que estes metabólitos secundários e produtos naturais de plantas estejam envolvidos em diversas atividades, a função de fenóis, quinonas, terpenos, flavonoides e outros metabólitos de baixo peso molecular permanece desconhecida (119). Desta forma, existe a necessidade de conhecimento das espécies vegetais brasileiras, que são utilizadas pela população como medicinais, sem comprovação de sua atividade farmacológica.

A triagem de extratos brutos possibilita a constatação de atividade alelopática para posterior fracionamento e isolamento na determinação de substâncias específicas responsáveis por esta atividade, a exemplo do que foi feito por alguns autores (120, 121), bem como sua correlação com atividade antioxidante (122). Os resultados desse ensaio preliminar também podem servir de referência para que os extratos selecionados sejam testados como modelo de citotoxicidade, por meio de sua resposta alelopática.

Estudos sobre efeitos alelopáticos de extratos de plantas comumente analisam os parâmetros de germinabilidade, tempo médio de germinação e crescimento inicial, este último avaliado por meio do comprimento da radícula e/ou hipocótilo (24, 33, 54). Alguns trabalhos avaliam o crescimento inicial também por meio do comprimento da parte aérea da plântula (24). A análise da entropia informacional da germinação foi proposta por Labouriau (20, 70) sendo utilizada por alguns autores (33).

No presente trabalho foi analisada a maioria destes parâmetros e até onde vai nosso conhecimento, são apresentados pela primeira vez os conceitos de TIG e TICR, que constituem contribuições inéditas para os estudos sobre alelopatia. São conceitos claros e que possibilitam uma interpretação direta dos resultados, pois quanto maiores forem estes valores, maior será o efeito inibitório. Além disto, os valores de TIG e TICR relativizam o efeito inibitório dos extratos sobre a germinabilidade e crescimento da radícula, respectivamente, em relação aos valores obtidos no controle. A vantagem disto é a minimização do efeito de variações nos lotes de sementes nas comparações entre os tratamentos.

6 REFERÊNCIAS

1. Oliveira CC, Cabrini DA, Santos EP, Marques MCA, Buchi DF. Canova medication and medicinal plants in south of Brazil. In: Pretorius R, editor. Trends and Developments in Ethnopharmacology. Kerala: Research Signpost; 2008. p. 111-29.
2. OMS. Tradicional medicine. Genevre: Organização Mundial da Saúde; 2003 [access in 02 set. 2003]; Available from: <<http://www.who.int/en/>>.
3. Albiero ALM, Bacchi EM, Mourão KSM. Caracterização anatômica das folhas, frutos e sementes de *Sapindus saponaria* L.(Sapindaceae). *Acta Scientiarum Biological Sciences*. 2001; 23(2):549-60.
4. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos, (2010).
5. Salati E, Santos AA, Klabin I. Temas ambientais relevantes. *Estudos Avançados*. 2006; 20(56):107-27.
6. Petlevski R, Hadzija M, Slijepcevic M, Juretic D. Effect of 'antidiabetis' herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2001; 75(2-3):181-4.
7. Cragg GM, Newman DJ, Snader KM. Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products*. 1997; 60(1):52-60.
8. Newman DJ, Cragg GM, Snader KM. Natural products as sources of new drugs over the period 1981- 2002. *J Nat Prod*. 2003; 66(7):1022-37.
9. Roesler R, Malta LG, Carrasco LC, Holanda RB, Sousa CAS, Pastore GM. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2007; 27(1):53-60.
10. Duarte-Almeida JM, Santos RJ, Genovese MI, Lajolo FM. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2006; 26(2):446-52.
11. Yang WJ, Li DP, Li JK, Li MH, Chen YL, Zhang PZ. Synergistic antioxidant activities of eight traditional Chinese herb pairs. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 2009; 32(6):1021-6.

12. Gus PI, Bello-Klein A, Llesuy S, Quinto GG, Matos GH, Bechara SJ. Tear antioxidant potential in young adults. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 2006; 69(4):565-70.
13. Mahakunakorn P, Tohda M, Murakami Y, Matsumoto K, Watanabe H. Antioxidant and free radical-scavenging activity of Choto-san and its related constituents. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 2004; 27(1):38-46.
14. Govindarajan R, Rastogi S, Vijayakumar M, Shirwaikar A, Rawat AK, Mehrotra S, et al. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gangeticum*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 2003; 26(10):1424-7.
15. Ichikawa H, Konishi T. In vitro antioxidant potentials of traditional Chinese medicine, Shengmai San and their relation to in vivo protective effect on cerebral oxidative damage in rats. *Biol Pharm Bull*. 2002; 25(7):898-903.
16. Sývacý A, Sökmen M. Seasonal changes in antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin constituent of the stems of two *Morus* species (*Morus alba* L. and *Morus nigra* L.). *Plant Growth Regulation*. 2004; 44(3):251-6.
17. Beliveau R, Gingras D. Role of nutrition in preventing cancer. *Canadian Family Physician*. 2007; 53(11):1905-11.
18. Fiorucci S, Distrutti E, Mencarelli A, Morelli A, Lafor SA, Cirino G, et al. Evidence that 5-lipoxygenase and acetylated cyclooxygenase 2-derived eicosanoids regulate leukocyte-endothelial adherence in response to aspirin. *British Journal of Pharmacology*. 2003; 139(7):1351-9.
19. Souza SAM, Stein VC, Cattelan LV, Bobrowski VL, Rocha BHG. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*. 2005; 5(1):3-9.
20. Ferreira AG, Borghetti F. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed; 2004.
21. Ayinde BA, Agbakwuru U. Cytotoxic and growth inhibitory effects of the methanol extract *Struchium sparganophora* Ktze (Asteraceae) leaves. *Pharmacognosy Magazine*. 2010; 6(24):293-7.
22. Anderson JE, Goetz CM, McLaughlin JL, Suffness M. A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumour cell cytotoxicities as antitumor prescreens. *Phytochemical Analysis*. 1991; 2(3):107-11.

23. Borella J, Wandscheer ACD, Bonatti LC, Pastorini LH. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. sobre *Lactuca sativa* L. *Revista Brasileira de Biociências*. 2009; 7(3).
24. Alves MCS, Medeiros Filho S, Innecco R, Torres SB. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2004; 39(11):1083-6.
25. Magiero EC, Assmann JM, Marchese JA, Capelin D, Paladini MV, Trezzi MM. Allelopathic effect of *Artemisia annua* L. on the germination and initial development of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and wild poinsettia (*Euphorbia heterophylla* L.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 2009; 11:317-24.
26. Kato-Noguchi H, Seki T, Shigemori H. Allelopathy and allelopathic substance in the moss *Rhynchostegium pallidifolium*. *Journal of plant physiology*. 2010; 167(6):468-71.
27. Mazzafera P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Revista Brasileira de Botânica*. 2003; 26(2):231-8.
28. Kato-Noguchi H, Ino T, Sata N, Yamamura S. Isolation and identification of a potent allelopathic substance in rice root exudates. *Physiol Plant*. 2002; 115(3):401-5.
29. Duke S, Baerson S, Rimando A, Pan Z, Dayan F, Belz R. Biocontrol of weeds with allelopathy: conventional and transgenic approaches. In: Vurro M, Gressel J, editors. *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*: Springer Netherlands; 2007. p. 75-85.
30. Kato-Noguchi H, Hasegawa M, Ino T, Ota K, Kujime H. Contribution of momilactone A and B to rice allelopathy. *Journal of Plant Physiology*. 2010; 167(10):787-91.
31. Aires SS, Ferreira AG, Borghetti F. Efeito alelopático de folhas e frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.(Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamun indicum* L.(Pedaliaceae) em solo sob três temperaturas. *Acta Botanica Brasilica*. 2005; 19(2):339-44.
32. Peres MTLP, Silva LB, Faccenda O, Hess SC. Potencial alelopático de espécies de Pteridaceae (Pteridophyta). *Acta Botanica Brasilica*. 2004; 18(4):723-30.

33. Maraschin-Silva F, Áquila MEA. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L.(Asteraceae). *Acta Botanica Brasilica*. 2006; 20(1):61-9.
34. Ding J, Sun Y, Xiao CL, Shi K, Zhou YH, Yu JQ. Physiological basis of different allelopathic reactions of cucumber and figleaf gourd plants to cinnamic acid. *Journal of Experimental Botany*. 2007; 58(13):3765-73.
35. Méio BB, Freitas CV, Jatobá L, Silva MEF, Ribeiro JF, Henriques RPB. Influência da flora das florestas Amazônica e Atlântica na vegetação do cerrado sensu stricto. *Revista Brasileira de Botânica*. 2003; 26(4):437-44.
36. Klink CA, Machado RB. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade*. 2005; 1(1):147-55.
37. Silva GB, Martim L, Silva CL, Young MCM, Ladeira AM. Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. *Hoehnea*. 2006; 33(3):331-8.
38. Anaya AL. Allelopathic organisms and molecules: promising bioregulators for the control of plant diseases, weeds, and other pests. In: Inderjit, Mukerji KG, editors. *Allelochemicals: biological control of plant pathogens and diseases*. Dordrecht: Springer Netherlands; 2006. p. 31-78.
39. McLaughlin JL, Rogers LL, Anderson JE. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information Journal*. 1998; 32(2):513-24.
40. Hassimotto NM, Genovese MI, Lajolo FM. Absorption and metabolism of cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside extracted from wild mulberry (*Morus nigra* L.) in rats. *Nutrition Research*. 2008; 28(3):198-207.
41. Mesquita Padilha M, Vilela FC, Silva MJ, Santos MH, Alves-da-Silva G, Giusti-Paiva A. Antinociceptive effect of the extract of *Morus nigra* leaves in mice. *Journal of Medicinal Food*. 2009; 12(6):1381-5.
42. Naderi GA, Asgary S, Sarraf-Zadegan N, Oroojy H, Afshin-Nia F. Antioxidant activity of three extracts of *Morus nigra*. *Phytotherapy Research*. 2004; 18(5):365-9.
43. Özgen M, Serçe S, Kaya C. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Scientia Horticulturae*. 2009; 119(3):275-9.

44. Padilha MM, Vilela FC, Rocha CQ, Dias MJ, Soncini R, Santos MH, et al. Antiinflammatory properties of *Morus nigra* leaves. *Phytotherapy Research*. 2010; 24(10):1496-500.
45. Zheng ZP, Cheng KW, Zhu Q, Wang XC, Lin ZX, Wang M. Tyrosinase inhibitory constituents from the roots of *Morus nigra*: a structure-activity relationship study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010; 58(9):5368-73.
46. Rouge P, Peumans WJ, Barre A, Van Damme EJ. A structural basis for the difference in specificity between the two jacalin-related lectins from mulberry (*Morus nigra*) bark. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 304(1):91-7.
47. Singh T, Wu JH, Peumans WJ, Rouge P, Van Damme EJ, Wu AM. Recognition profile of *Morus nigra* agglutinin (Morniga G) expressed by monomeric ligands, simple clusters and mammalian polyvalent glycotopes. *Molecular Immunology* 2007; 44(4):451-62.
48. Wu AM, Wu JH, Singh T, Chu KC, Peumans WJ, Rouge P, et al. A novel lectin (Morniga M) from mulberry (*Morus nigra*) bark recognizes oligomannosyl residues in N-glycans. *Journal of Biomedical Science*. 2004; 11(6):874-85.
49. Franzotti EM. Identificação de agonistas e antagonistas de receptores nucleares em extratos de plantas medicinais: *Morus nigra* L., *Plectranthus ornatus* Codd., *Ipomoea cairica* (L) Sweet e *Pouteria torta* (Mart.) Radlk [Tese de Doutorado]. Brasília: Universidade de Brasília; 2006.
50. Almeida Barbosa D. Avaliação fitoquímica e farmacológica de *Genipa americana* L.(Rubiaceae) [Dissertation]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2008.
51. Silva CAM, Simeoni LA, Silveira D. Genus *Pouteria*: chemistry and biological activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009; 19:501-9.
52. Pérez D. Etnobotánica medicinal y biocidas para malaria en la región Ucayali. *Folia Amazónica*. 2002; 13(1):2.
53. Fontes Júnior EA, Souza PJC, Nascimento JLM, Santos SN, Espindola LS, Ferreira VMM. Antinociceptive and Antiinflammatory Properties of the Ethanolic Extract of *Pouteria ramiflora* Roots. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2009; 28(6):812-8.

54. Alves TM, Silva AF, Brandao M, Grandi TS, Smania E, Smania Junior A, et al. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2000; 95(3):367-73.
55. Boleti AP, Freire MG, Coelho MB, Silva W, Baldasso PA, Gomes VM, et al. Insecticidal and antifungal activity of a protein from *Pouteria torta* seeds with lectin-like properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007; 55(7):2653-8.
56. Perfeito JP, Santos ML, López KSE, Paula JE, Silveira D. Characterization and biological properties of *Pouteria torta* extracts: a preliminary study. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2005; 15:183-6.
57. Nascimento MC, Alcantara SF, Haddad CRB, Martins FR. Allelopathic potential of *Pouteria torta* (Mart.) Radlk., a species of the Brazilian cerrado. *Allelopathy Journal*. 2007; 20(2):279-86.
58. Díaz A, Avendaño M, Escobar A. Evaluation of *Sapindus saponaria* as a defaunating agent and its effects on different ruminal digestion parameters. *Livestock Research for Rural Development*. 1993; 5(2):1-6.
59. Hess HD, Kreuzer M, Díaz TE, Lascano CE, Carulla JE, Soliva CR, et al. Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Animal Feed Science and Technology*. 2003; 109(1-4):79-94.
60. Fernandes FF, Freitas EPS, Costa AC, Silva IG. Larvicidal potential of *Sapindus saponaria* to control the cattle tick *Boophilus microplus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2005; 40:1243-5.
61. Ribeiro A, Zani CL, de Almeida Alves TM, Mendes NM, Hamburger M, Hostettmann K. Molluscicidal saponins from the pericarp of *Sapindus saponaria*. *Pharmaceutical Biology*. 1995; 33(3):177-80.
62. Albiero ALM, Aboin Sertie JA, Bacchi EM. Antiulcer activity of *Sapindus saponaria* L. in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002; 82(1):41-4.
63. Tsuzuki JK, Svidzinski TI, Shinobu CS, Silva LF, Rodrigues-Filho E, Cortez DA, et al. Antifungal activity of the extracts and saponins from *Sapindus saponaria* L. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2007; 79(4):577-83.
64. Tempone AG, Sartorelli P, Teixeira D, Prado FO, Calixto I, Lorenzi H, et al. Brazilian flora extracts as source of novel antileishmanial and antifungal compounds. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2008; 103:443-9.

65. Duarte MR, Lopes JF. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2007; 17:549-56.
66. Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*. 1999; 269(2):337-41.
67. Carballeira A, Reigosa MJ. Effects of natural leachates of *Acacia dealbata* Link in Galicia (NW Spain). *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. 1999; 40(1):87-92.
68. Ferreira AG, Aquila MEA. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 2000; 12(Especial).
69. Araújo FPB, Silva ICR, Gonçalves MGA, Oliveira LO, Segovia JFO, Silveira D, et al. Growth inhibition of *Lactuca sativa* by crude extracts of amazonian plants *Stryphnodendron adstringens* Carapa guianensis and *Ouratea hexasperma*. *Modern directions of theoretical and applied researches*. 2010; 29:18-29.
70. Labouriau LG. A germinação das sementes. Washington: O E A. 1983.
71. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53(6):1841-56.
72. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53(10):4290-302.
73. Ercisli S, Orhan E. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chemistry*. 2007; 103(4):1380-4.
74. Gagno CC, Corrêa ICL, Bento AV, Garcia Jr RP, Silva AG. Efeitos de uma preparação fitoterápica da Pastoral da Saúde de Vila Velha, ES, na colpocitologia de ratas ooforectomizadas. *Natureza on line*. 2008; 6(2):73-8.
75. Miranda MA, Vieira GDV, Alves MS, Yamamoto CH, Pinho JJRG. Uso etnomedicinal do chá de *Morus nigra* L. no tratamento dos sintomas do climatério de mulheres de Muriaé, Minas Gerais, Brasil. *HU Revista*. 2010; 36(1):61-8.

76. Hassimotto NMA, Genovese MI, Lajolo FM. Identification and Characterisation of Anthocyanins from Wild Mulberry (*Morus Nigra* L.) Growing in Brazil. *Food science and technology international*. 2007; 13(1):17.
77. Nickavar B, Mosazadeh G. Influence of Three *Morus* Species Extracts on -Amylase Activity. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2009; 8(2):115.
78. Hassimotto NMA. Atividade antioxidante de alimentos vegetais, estrutura e estudo de biodisponibilidade de antocianinas de amora silvestre (*Morus* sp.) [Tese de doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.
79. Imran M, Khan H, Shah M, Khan R, Khan F. Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2010; 11(12):973-80.
80. Buer CS, Imin N, Djordjevic MA. Flavonoids: new roles for old molecules. *J Integr Plant Biol*. 2010; 52(1):98-111.
81. Kalinova J, Vrchatova N. Level of catechin, myricetin, quercetin and isoquercitrin in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench), changes of their levels during vegetation and their effect on the growth of selected weeds. *J Agric Food Chem*. 2009; 57(7):2719-25.
82. Nasir H, Iqbal Z, Hiradate S, Fujii Y. Allelopathic potential of *Robinia pseudo-acacia* L. *J Chem Ecol*. 2005; 31(9):2179-92.
83. Andrade A. Germinação de sementes de jenipapo: temperatura, substrato e morfologia do desenvolvimento pós-seminal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2000; 35(3):609-15.
84. Silva AP, Lima CLC, Vieites RL. Caracterização química e física do jenipapo (*Genipa americana* L.) armazenado. *Scientia Agricola*. 1998; 55:29-34.
85. Erbano M, Duarte MR. Morfoanatomia de folha e caule de *Genipa americana* L., Rubiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2010; 20(6):825-32.
86. Gonçalves AL, Alves Filho A, Menezes H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. *Arquivos do Instituto Biológico*. 2005; 72(3):353-8.
87. Tallent WH. Two new antibiotic cyclopentanoid monoterpenes of plant origin. *Tetrahedron*. 1964; 20(7):1781-7.

88. Ono M, Ueno M, Masuoka C, Ikeda T, Nohara T. Iridoid glucosides from the fruit of *Genipa americana*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2005; 53(10):1342-4.
89. Ueda S, Iwahashi Y, Tokuda H. Production of anti-tumor-promoting iridoid glucosides in *Genipa americana* and its cell cultures. *Journal of Natural Products*. 1991; 54(6):1677-80.
90. Ono M, Ishimatsu N, Masuoka C, Yoshimitsu H, Tsuchihashi R, Okawa M, et al. Three new monoterpenoids from the fruit of *Genipa americana*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2007; 55(4):632-4.
91. Junior MRM, Pastore GM, Zanin GM, Macedo GA, Couri S, Hyslop S, et al. Biotransformação de terpenos para a produção de compostos de aroma e funcionais [Tese de doutorado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2006.
92. Chen Y, Zhang H, Li YX, Cai L, Huang J, Zhao C, et al. Crocin and geniposide profiles and radical scavenging activity of gardenia fruits (*Gardenia jasminoides* Ellis) from different cultivars and at the various stages of maturation. *Fitoterapia*. 2010; 81(4):269-73.
93. Koo HJ, Song YS, Kim HJ, Lee YH, Hong SM, Kim SJ, et al. Antiinflammatory effects of genipin, an active principle of gardenia. *Eur J Pharmacol*. 2004; 495(2-3):201-8.
94. Longhi JG. Atividade biológica da semente de *Mucuna pruriens* [Dissertação de Mestrado]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2007.
95. Barros IMC. Contribuição ao estudo químico e biológico de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae). Dissertação de Mestrado. Brasília: Universidade de Brasília 2008.
96. Nascimento VE, Martins ABG, Hojo RH. Caracterização física e química de frutos de mamey. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2008; 30(4).
97. Falcao MA, Clement CR. Fenologia e produtividade do Abiu (*Pouteria caimito*) na Amazonia Central. *Acta Amazonica*. 1999; 29(1):3-11.
98. Pellicciari R, Ardon A, Bellavita V. Triterpenes from *Pouteria caimito*. *Planta Medica*. 1972; 22(2):196-200.
99. Silva CAM. Contribuição ao estudo químico e biológico de *Pouteria gardnerii* (Mart. & Miq.) Baehni (Sapotaceae) [Dissertação de Mestrado]. Brasília: Universidade de Brasília; 2007.

100. Júnior EAF, Souza PJC, Do Nascimento JLM, Santos SN, EspíNdola LS, Ferreira VMM. Antinociceptive and Antiinflammatory Properties of the Ethanolic Extract of *Pouteria ramiflora* Roots. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2009; 28(6):812-8.
101. Diniz IR, Morais HC, Botelho AMF, Venturoli F, Cabral BC. Lepidopteran caterpillar fauna on lactiferous host plants in the central Brazilian cerrado. *Revista Brasileira de Biologia*. 1999; 59:627-35.
102. David V. Aplicação de técnicas cromatográficas na separação e determinação de triterpenos e hidrocarbonetos presentes nas flores, frutos e xilópódio de *Pouteria torta*. São Carlos, Universidade Federal de São Carlos. 1993.
103. Che CT, Koike K, Cordell GA, Fong HHS, Dobberstein RH. Triterpenes of *Pouteria torta* (Sapotaceae). *Journal of Natural Products*. 1980; 43(3):420-1.
104. Nicollier G, Thompson AC. Flavonoids of *Desmanthus illinoensis*. *Journal of Natural Products*. 1983; 46(1):112-7.
105. Macias FA, Simonet AM, Galindo JCG. Bioactive steroids and triterpenes from *Melilotus messanensis* and their allelopathic potential. *Journal of Chemical Ecology*. 1997; 23(7):1781-803.
106. Choi ST. Allelopathic substances from *Allium fistulosum* inhibit the growth of *Compositae* crops. *Journal of Korean Society of Horticultural Science* 1998; 39:333-7
107. Chou SC, Krishna V, Chou CH. Hydrophobic metabolites from *Rhododendron formosanum* and their allelopathic activities. *Natural product communications*. 2009; 4(9):1189.
108. Paoli AAS, Santos MRO. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Sapindus saponaria* L.(Sapindaceae). *Revista Brasileira de Sementes*. 1998; 20(2):147-53.
109. Murgu M, Rodrigues-Filho E. Dereplication of glycosides from *Sapindus saponaria* using liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2006; 17:1281-90.
110. Sparg SG, Light ME, van Staden J. Biological activities and distribution of plant saponins. *J Ethnopharmacol*. 2004; 94(2-3):219-43.
111. Grisi PU. Potencial alelopático de *Sapindus saponaria* L.(SAPINDACEAE). Sao Carlos: Universidade Federal de Sao Carlos; 2010.

112. Bocardi JMB. Etnofarmacologia das plantas medicinais de Céu Azul e composição química do óleo essencial de *Plectranthus neochilus* Schltr [Dissertation]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2008.
113. Mota MS, Bandeira JM, Braga EJB, Bianchi VJ, Peters JA. In vitro shoot regeneration of boldo from leaf explants. *Ciência Rural*. 2010; 40(10):2210-3.
114. Bandeira JM, Bianchi VJ, Rubin S, Antonio J. Genetic similarities among four species of the *Plectranthus* (L'Hér.) genus. *Acta Scientiarum*. 2010; 32(1):43-8.
115. Tambe Y, Tsujiuchi H, Honda G, Ikeshiro Y, Tanaka S. Gastric Cytoprotection of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Sesquiterpene, - Caryophyllene. *Planta Medica*. 1996; 62(5):469-70.
116. Fernandes ES, Passos GF, Medeiros R, da Cunha FM, Ferreira J, Campos MM, et al. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *European journal of pharmacology*. 2007; 569(3):228-36.
117. Mota L, Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Miguel MGF, L., Ascensão L, editors. Glandular trichomes morphology, essential oil composition and its biological activity in *Plectranthus neochilus* (Lamiaceae). 36th International Symposium on Essential Oils; 2005; Budapeste.
118. Azambuja N, Hoffmann CEF, Neves L, Salles A, editors. Alelopatia do Boldo-miúdo (*Plectranthus amboinicus* Lour Spr – Lamiaceae) na germinação de sementes e no desenvolvimento de plântulas de picão-preto (*Bidens pilosa* L. – Asteraceae). XVII Congresso de Iniciação Científica X Encontro de Pós-graduação; 2008; Pelotas.
119. Morrissey JP. Biological Activity of Defence-Related Plant Secondary Metabolites. In: Osbourn AE, Lanzotti V, editors. *Plant-derived Natural Products*. New York: Springer New York; 2009. p. 283-99.
120. Kato-Noguchi H. Allelopathic substances in *Pueraria thunbergiana*. *Phytochemistry*. 2003; 63(5):577-80.
121. Kpoviessi DS, Gbaguidi F, Gbenou J, Accrombessi G, Moudachirou M, Rozet E, et al. Validation of a method for the determination of sterols and triterpenes in the aerial part of *Justicia anselliana* (Nees) T. Anders by capillary gas chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008; 48(4):1127-35.

122. Cespedes CL, Hoeneisen M, Bittner M, Becerra J, Silva M. Comparative study of ovatifolin antioxidant and growth inhibition activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001; 49(9):4243-51.