

## Artigo

**Aspectos Químicos e Ecológicos de Espécimes Masculinos e Femininos de *Cecropia* Loefl. (Urticaceae)**

José-Chagas, F. N.; Vianna Filho, M. D. M.; Pessôa, L. M.; Costa, S. S.\*

Rev. Virtual Quim., 2014, 6 (2), 432-452. Data de publicação na Web: 29 de dezembro de 2013

<http://www.uff.br/rvq>**Chemical and Ecological Aspects of Male and Female Specimens of *Cecropia* Loefl. (Urticaceae)**

**Abstract:** *Cecropia* Loefl. (Urticaceae) species are popularly known in Brazil as embaúbas. This genus consists of dioecious, pioneer and medicinal trees. The leaves and inflorescences of *Cecropia* are part of the diet of various animals, mainly frugivorous mammals. Little is known about the chemical profile of the reproductive parts of embaúbas, the benefits of their consumption or even how the sex of the specimen influences this profile. Samples of female inflorescences of *Cecropia glaziovii* Snethl. and *C. pachystachya* Trécul and male inflorescences of *C. glaziovii* and *C. hololeuca* Miq. were collected in Rio de Janeiro city and the phenolic profiles of these samples were investigated by HPLC-DAD. Also their antioxidant potential was evaluated for free radical DPPH scavenging activity by TLC. The chemical profiles of inflorescences showed intersexual differences in terms of phenolic classes. While phenolic acids, like 5-*O*-caffeoylquinic (chlorogenic acid) and protocatechuic acids are present in all specimens, flavonoids, such as isoorientin and isovitexin, were identified only in male inflorescences. The DPPH scavenging activity of *Cecropia* crude extracts is related to the presence of caffeoylquinic acid. The consumption of antioxidants contributes to defense against diseases associated with oxidative stress, thus, the *Cecropia* inflorescences may be beneficial to the animals that consume them.

**Keywords:** *Cecropia* Loefl.; dioecy; HPLC-DAD; flavonoids; phenolic acids; mammals; diet.

**Resumo**

As espécies de *Cecropia* Loefl. (Urticaceae) são popularmente conhecidas no Brasil como embaúbas. Este gênero consiste de árvores dioicas, pioneiras e medicinais. Suas folhas e inflorescências fazem parte da dieta de diferentes animais, principalmente de mamíferos frugívoros. Pouco se sabe sobre o perfil químico das partes reprodutivas de embaúbas e os benefícios de seu consumo, nem como o sexo do espécime influencia este perfil. Amostras de inflorescências femininas de *Cecropia glaziovii* Snethl. e *C. pachystachya* Trécul, e de inflorescências masculinas de *C. glaziovii* e *C. hololeuca* Miq., coletadas na cidade do Rio de Janeiro, tiveram seu perfil fenólico investigado por CLAE-DAD e o potencial antioxidante avaliado quanto à atividade sequestradora do radical livre DPPH por meio de CCD. Os perfis químicos das inflorescências apresentaram diferenças intersexuais quanto às classes de substâncias fenólicas. Enquanto os ácidos fenólicos, como o 5-*O*-cafeoilquinico (ácido clorogênico) e protocatecuico, estão presentes em todos os espécimes, flavonoides, como a isoorientina e a isovitexina, foram identificados apenas nas inflorescências masculinas. A ação sequestrante de radicais DPPH dos extratos de embaúbas está relacionada com a presença do ácido cafeoilquinico. A ingestão de substâncias antioxidantes contribui para a defesa contra doenças associadas ao estresse oxidativo, portanto, o consumo de inflorescências de *Cecropia* pode ser vantajoso para a saúde dos animais.

**Palavras-chave:** *Cecropia* Loefl.; dioicia; CLAE-DAD; flavonoides; ácidos fenólicos; mamíferos; dieta.

\* Universidade Federal do Rio de Janeiro, Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, Bloco H, CCS, Avenida Carlos Chagas Filho, 373, Cidade Universitária, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ [sscbh@terra.com.br](mailto:sscbh@terra.com.br)

DOI: [10.5935/1984-6835.20140030](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20140030)

## Aspectos Químicos e Ecológicos de Espécimes Masculinos e Femininos de *Cecropia* Loefl. (Urticaceae)

Fernanda N. José-Chagas,<sup>a</sup> Marcelo D. M. Vianna Filho,<sup>b</sup> Leila Maria Pessôa,<sup>c</sup> Sônia S. Costa<sup>d,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Bloco A, CT, Avenida Athos da Silveira Ramos, 149, Cidade Universitária, CEP 21941-909, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

<sup>b</sup> Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rua Pacheco Leão, 915, CEP 22460-030, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

<sup>c</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Bloco A, CCS, Avenida Carlos Chagas Filho, 373, Cidade Universitária, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

<sup>d</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, Bloco H, CCS, Avenida Carlos Chagas Filho, 373, Cidade Universitária, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

\* [sscbh@terra.com.br](mailto:sscbh@terra.com.br)

*Recebido em 17 de setembro de 2013. Aceito para publicação em 4 de outubro de 2013*

1. Introdução
2. Procedimentos experimentais
3. Resultados e Discussão
4. Conclusão

### 1. Introdução

No Brasil as árvores pertencentes ao gênero neotropical *Cecropia* Loefling (Urticaceae) são conhecidas popularmente como embaúbas. Esta denominação provém do termo “ambaíba”, que no tupi significa árvore oca, uma referência aos caules ocos destas espécies onde formigas, principalmente as do gênero *Azteca* (subfamília Dolichoderinae), podem se abrigar e proteger a planta contra predadores.<sup>1,2</sup> O gênero *Cecropia* consiste em cerca de 60 espécies distribuídas entre o sul

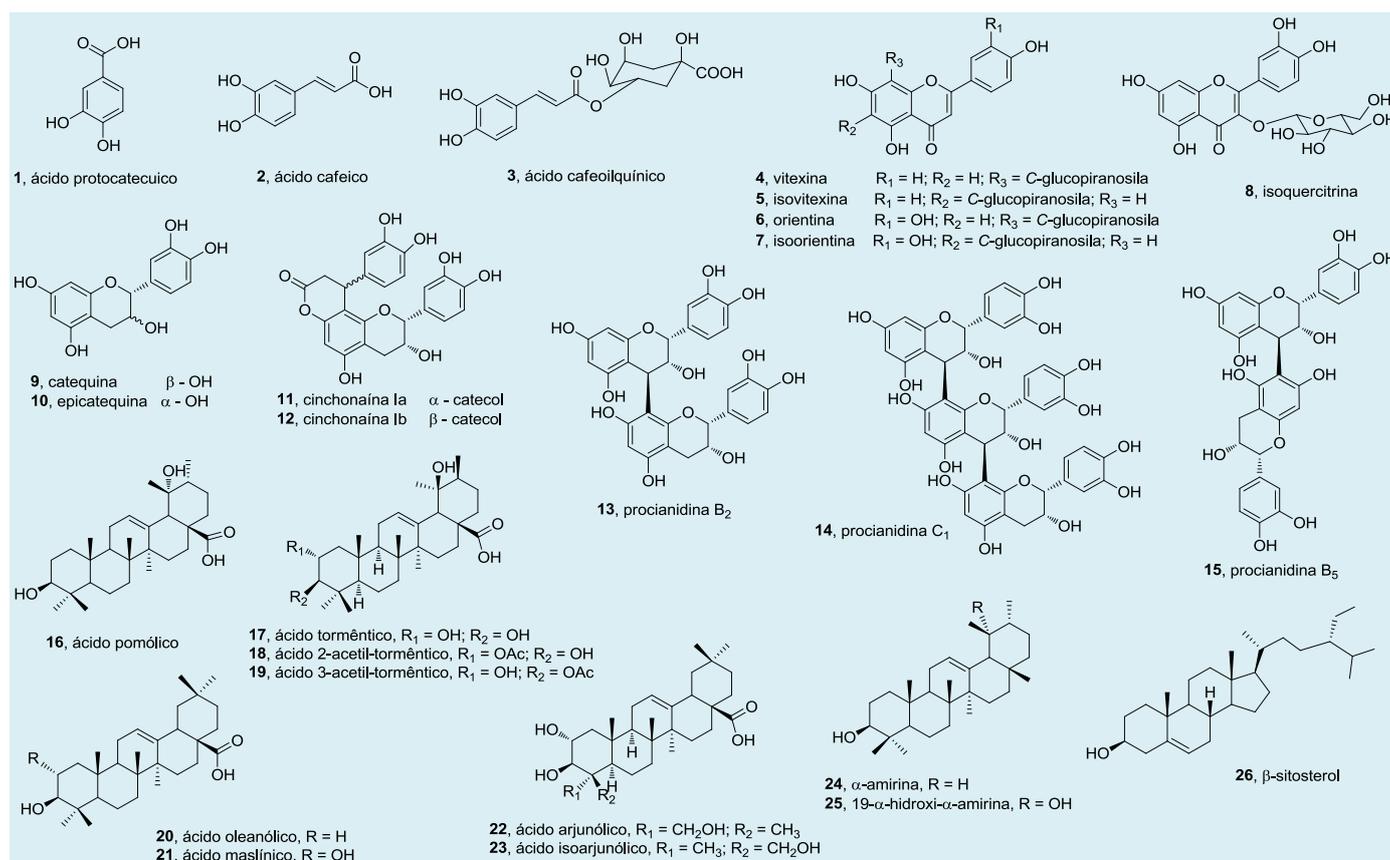
do México e o norte da Argentina. No Brasil, ocorrem 26 espécies de embaúbas, das quais cinco estão presentes no estado do Rio de Janeiro: *C. catarinenses* Cuatrec., *C. glaziovii* Snehth., *C. hololeuca* Miq., *C. lyratiloba* Miq. e *C. pachystachya* Trécul.<sup>2-4</sup> A população costuma utilizar o chá das folhas no tratamento de asma, tosse, problemas cardiovasculares e diabetes.<sup>5-13</sup>

As embaúbas geralmente alcançam de 5 a 15 metros de altura, têm as folhas dispostas em espiral e os galhos arranjados em forma de candelabro.<sup>2,4</sup> Elas apresentam características de plantas pioneiras, dentre estas: abundante produção e larga dispersão

de sementes, dependência da luz solar direta para a germinação, rápido crescimento em altura, ciclo de vida curto (25 a 50 anos) e maturidade precoce. A atuação destas espécies é muito importante no processo de regeneração natural da vegetação em áreas que foram totalmente desmatadas e usadas para agricultura ou pastagem.<sup>14,15</sup>

Os estudos sobre o perfil de metabólitos secundários das espécies de *Cecropia* relatam

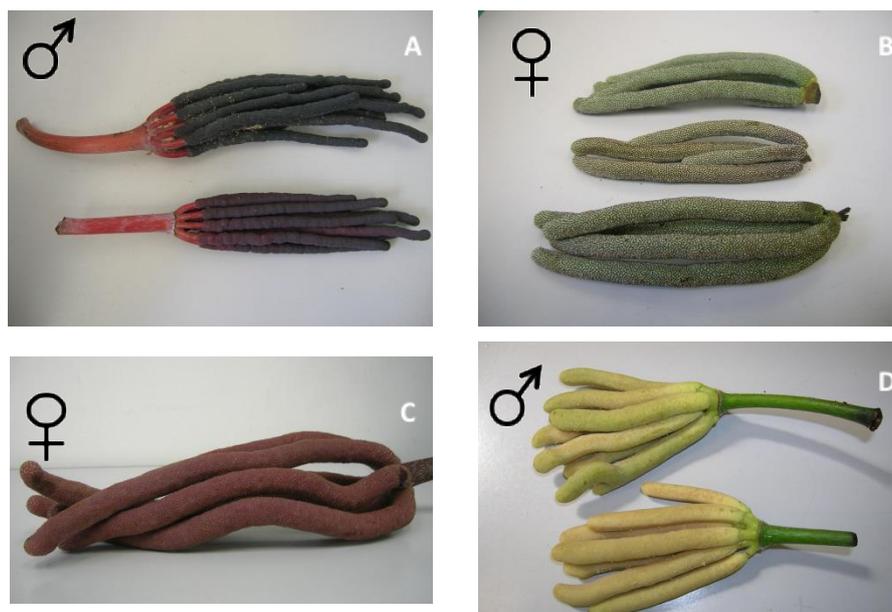
a presença de substâncias fenólicas da classe dos ácidos fenólicos derivados do ácido benzoico (**1**) e do ácido cinâmico (**2** e **3**), flavonoides com esqueleto de flavona (**4-7**), flavonol (**8**) e flavan-3-ol ou catequina (**9** e **10**), flavolignanas (**11** e **12**) e taninos condensados (procianidinas) (**13-15**), e ainda terpenoides com esqueleto de triterpeno (**16-26**).<sup>16-32</sup>



As embaúbas são classificadas como dioicas, ou seja, as flores femininas e masculinas encontram-se separadas em indivíduos distintos. Nestas espécies as flores estão organizadas em inflorescências no formato de amento, uma estrutura longa, estreita e cilíndrica, de cor, tamanho, odor, dentre outros aspectos, que variam de acordo com a espécie e com o sexo (figura 1 A-D). Depois da fecundação, as

inflorescências femininas são denominadas infrutescências.<sup>2,4</sup>

Em espécies dioicas, os espécimes masculinos tendem a investir seus recursos no crescimento vegetativo, enquanto que os espécimes femininos o fazem na reprodução e na defesa química, o que pode provocar diferenças no perfil e na concentração de metabólitos secundários entre os indivíduos de sexos diferentes.<sup>33</sup>

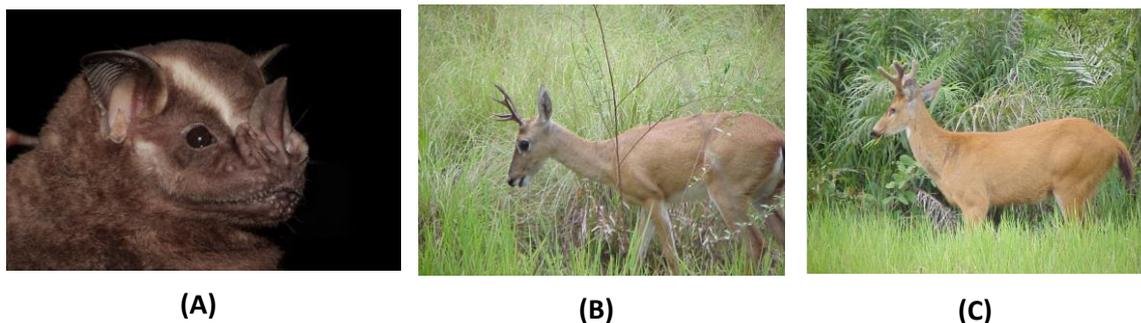


**Figura 1.** Inflorescências de diferentes espécies de embaúbas. **(A)** *C. hololeuca* (masculina); **(B)** *C. pachystachya* (feminina); **(C)** *C. glaziovii* (feminina) e **(D)** *C. lyratiloba* (masculina) (fotos de F. N. José Chagas)

A abundância e a regularidade de oferta de frutos permitem que as embaúbas sejam uma fonte de alimento fundamental para animais frugívoros, além de suas folhas que são aproveitadas por outros animais. Dentre os consumidores de embaúbas encontram-se mamíferos, aves, peixes e insetos, sendo os relatos mais recorrentes para o primeiro grupo.<sup>2,34-39</sup>

No Brasil, os mamíferos frugívoros estão entre os principais consumidores de embaúbas. Entre os primatas, as espécies dos gêneros *Alouatta* (bugio) e *Cebus* (macaco-prego), assim como entre os Chiroptera as espécies do gênero *Artibeus*, possuem o maior número de consumidores.<sup>40-44</sup> Uma dessas espécies, *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) (figura 2-A), apresenta um grande

número de relatos de consumo destas plantas na literatura. Este fato pode ser consequência de sua ampla distribuição e abundância e da já conhecida preferência desta espécie pelas infrutescências de *Cecropia*.<sup>44-46</sup> Já os mamíferos folívoros possuem poucos representantes: a preguiça-de-coleira (*Bradypus torquatus* Illiger, 1811), o cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus* Illiger, 1815) (figura 2-B), o veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus* Linnaeus, 1758) (figura 2-C) e o bugio-ruivo (*Alouatta clamitans* Cabrera, 1940).<sup>47-49</sup> As preguiças são vistas sobre estas árvores com muita frequência, o que rendeu mais um nome popular para este gênero: árvore-da-preguiça.<sup>50</sup>



**Figura 2.** Alguns dos mamíferos brasileiros consumidores de embaúbas. **(A)** o morcego frugívoro *Artibeus lituratus* (foto de M. Nogueira); os folívoros **(B)** *Ozotocerus bezoarticus* (veado-campeiro) e **(C)** *Blastocerus dichotomus* (cervo-do-pantanal) (fotos de L. F. B. de Oliveira)

As folhas das embaúbas são objeto de estudos químicos e farmacológicos devido ao seu uso medicinal, enquanto as partes reprodutivas (inflorescências/infrutescências) não costumam ser estudadas, desconhecendo-se os benefícios de seu consumo pelos animais, em especial os mamíferos. Há apenas um trabalho sobre o perfil químico das infrutescências de *C. lyratiloba*, realizado há pouco tempo no NPPN, UFRJ.<sup>28</sup> Outro aspecto que tem sido negligenciado nos trabalhos com embaúbas é a possível influência que a dioecia acarretaria nos resultados, pois não é citado o sexo do espécime do qual se obteve o material vegetal para a realização de experimentos.

Em vista disto, este trabalho teve por objetivo avaliar o perfil químico, com enfoque nas substâncias fenólicas, por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) e a atividade sequestrante de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) do extrato aquoso de inflorescências de indivíduos femininos e masculinos de embaúbas.

## 2. Procedimentos experimentais

### Análise do perfil químico por CLAE-DAD

Para a realização deste estudo, foram coletadas amostras de quantidades diferentes de inflorescências femininas de *C. glaziovii* e *C. pachystachya*, e inflorescências masculinas de *C. hololeuca* e *C. cf. glaziovii*. As coletas foram realizadas em diferentes locais da cidade do Rio de Janeiro, em novembro de 2010 e fevereiro de 2011. A exsicata de cada exemplar de *Cecropia* foi depositada no herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (tabela 1). Cada material vegetal foi triturado, ainda fresco, em liquidificador caseiro com água destilada na proporção de 20% (p/v). O extrato foi filtrado em algodão e parte deste foi submetida à precipitação em etanol a fim de separar as macromoléculas dos metabólitos secundários.<sup>51</sup> O sobrenadante foi separado do precipitado, teve seu conteúdo etanólico evaporado e o resíduo aquoso liofilizado.

**Tabela 1.** Dados sobre massa, data e local de coleta e registro da exsicata das amostras de embaúbas estudadas

Classificação botânica (sexo)	Data da coleta	Local de coleta	Massa de material vegetal fresco	Código do herbário
<i>C. glaziovii</i> (feminino)	08/11/2010	Cidade universitária da UFRJ, Ilha do Fundão	1100 g	RB 553959
<i>C. pachystachya</i> (feminino)	19/11/2010	Jardim Botânico do Rio de Janeiro	100 g	RB 553960
<i>C. cf. glaziovii</i> (masculino)	19/11/2010	Jardim Botânico do Rio de Janeiro	200 g	RB 553961
<i>C. hololeuca</i> (masculino)	09/02/2011	Parque Nacional da Tijuca	150 g	RB 555135

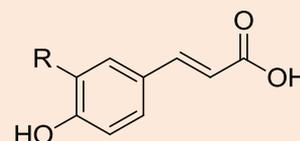
Os experimentos foram realizados em cromatógrafo líquido LC-20AT da Shimadzu® (Kyoto, Japão) equipado com duas bombas, degassificador, injetor automático e forno de coluna. Utilizou-se como fase estacionária uma coluna de sílica C-18 modelo LichroCART®/Lichrospher®100, Merck (250 X 4 mm, 5 µm) aquecida a 30°C. A fase móvel foi composta por água desionizada como o eluente A e acetonitrila (Tedia, grau HPLC/Spectro) como eluente B, ambos acidificados com ácido fórmico 88% (Reagen, grau analítico) a 0,1% (v/v). A fase móvel eluiu com fluxo de 0,8 ml/min em modo gradiente no seguinte método: 12% - 22% B de 0 - 20 min; 22% - 100% B de 20 - 22 min;

100% B de 22 - 25 min. O tempo de cada análise foi de 35 min e a detecção se deu na faixa de 190-800 nm (UV-Visível).

As amostras para análise foram preparadas solubilizando-se 5 mg do sobrenadante liofilizado em 1 ml de água desionizada. Em seguida as mesmas foram centrifugadas. O volume de injeção foi de 20 µl. Foram analisadas também amostras de padrões de ácidos fenólicos e flavonoides: ácidos gálico (**27**), gentísico (**28**), protocatecuico (**1**), vanílico (**29**), ferúlico (**30**), *p*-cumárico (**31**) e 5-*O*-cafeoilquínico (**3**), isovitexina (**5**) (isolado de folhas de *C. hololeuca*), isoorientina (**7**), isoquercitrina (**8**) e catequina (**9**).



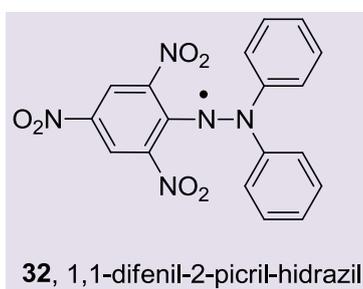
**27**, ácido gálico, R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = OH; R<sub>3</sub> = OH; R<sub>4</sub> = OH  
**28**, ácido gentísico, R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = H; R<sub>3</sub> = H; R<sub>4</sub> = OH  
**29**, ácido vanílico, R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> = OH; R<sub>4</sub> = H



**30**, ácido ferúlico, R = OCH<sub>3</sub>  
**31**, ácido *p*-cumárico, R = H

### Análise qualitativa da atividade sequestrante de radicais DPPH

A substância 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (**32**) caracteriza-se por ser um radical livre estável devido à deslocalização de seu elétron desemparelhado, não havendo dimerização entre suas moléculas. A solução metanólica de DPPH apresenta uma coloração violeta e, quando o radical recebe um hidrogênio adquirindo a forma reduzida, a solução apresenta uma coloração amarelo claro.<sup>52</sup>



A atividade sequestrante de radicais DPPH dos extratos de *Cecropia* foi avaliada pelo método qualitativo por meio de CCD, em que a solução do radical se comporta como um revelador químico. Para isso, aplicaram-se 30  $\mu$ L da solução aquosa dos extratos (5 mg/mL) e 5  $\mu$ L da solução hidroalcoólica de padrões comerciais (1 mg/mL) de ácido clorogênico (Fluka) e isoorientina (Sigma-Aldrich) em

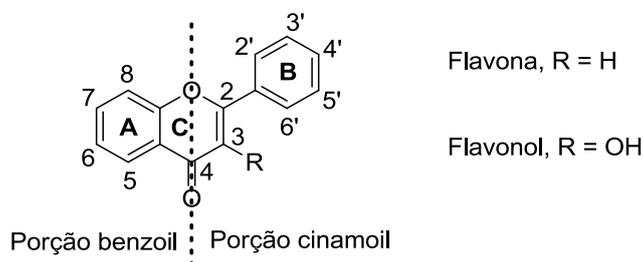
placas de gel de sílica 60 F<sub>254</sub> (Merck) de dimensões 6,5 X 8 cm. O eluente consistiu na mistura de butanol, ácido acético e água na proporção 8:1:1 (BAW 8:1:1). A cromatoplaça foi borrifada com uma solução metanólica de DPPH (Sigma) 2.54 mM. Bandas de substâncias com atividade antirradicalar são observadas na cor amarela em contraste com o fundo lilás.<sup>53</sup> Para evidenciar a presença de substâncias fenólicas nas amostras, outra cromatoplaça foi preparada e borrifada com o revelador químico NP/PEG.<sup>54</sup>

### 3. Resultados e Discussão

#### Perfil químico de *Cecropia* por CLAE-DAD

As diferentes classes e subclasses de fenólicos possuem cromóforos distintos entre si, o que permite identificá-las a partir do espectro de absorção no UV.

Flavonoides com esqueleto de flavona e flavonol produzem dois picos de absorção característica na região de 240-400 nm. Eles são conhecidos como banda I (300-380 nm), que está associada à absorção do sistema cinamoil do anel B, e banda II (240-280 nm), ocasionada pela absorção do sistema benzoil do anel A (figura 3).<sup>55,56</sup>



**Figura 3.** Estrutura básica de flavonas e flavonóis e as suas porções que geram as bandas de absorção características no UV<sup>55,56</sup>

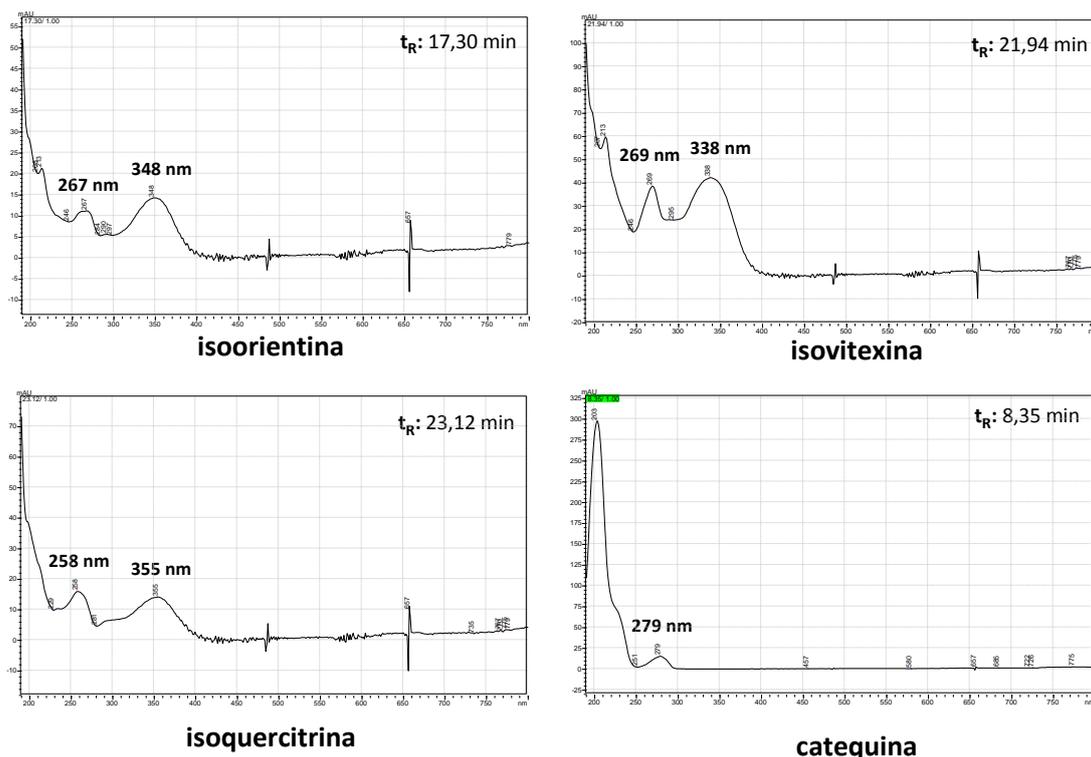
Os espectros de UV dos padrões analisados são exemplos desta teoria. As flavonas 6-C-glicosiladas isovitexina ( $\lambda_{\max}$  269;

338 nm) e isoorientina ( $\lambda_{\max}$  267; 348 nm) se distinguem por uma hidroxila no anel B, por isto apresentam valores de absorção da

banda I distintos. Já o flavonol 3-*O*-glicosilado isoquercitrina ( $\lambda_{\max}$  258; 355 nm) se diferencia destas flavonas principalmente pela absorção da banda II em um comprimento de onda menor.

Os espectros de UV da catequina, epicatequina e de seus oligômeros (prociandinas) se distinguem do espectro das

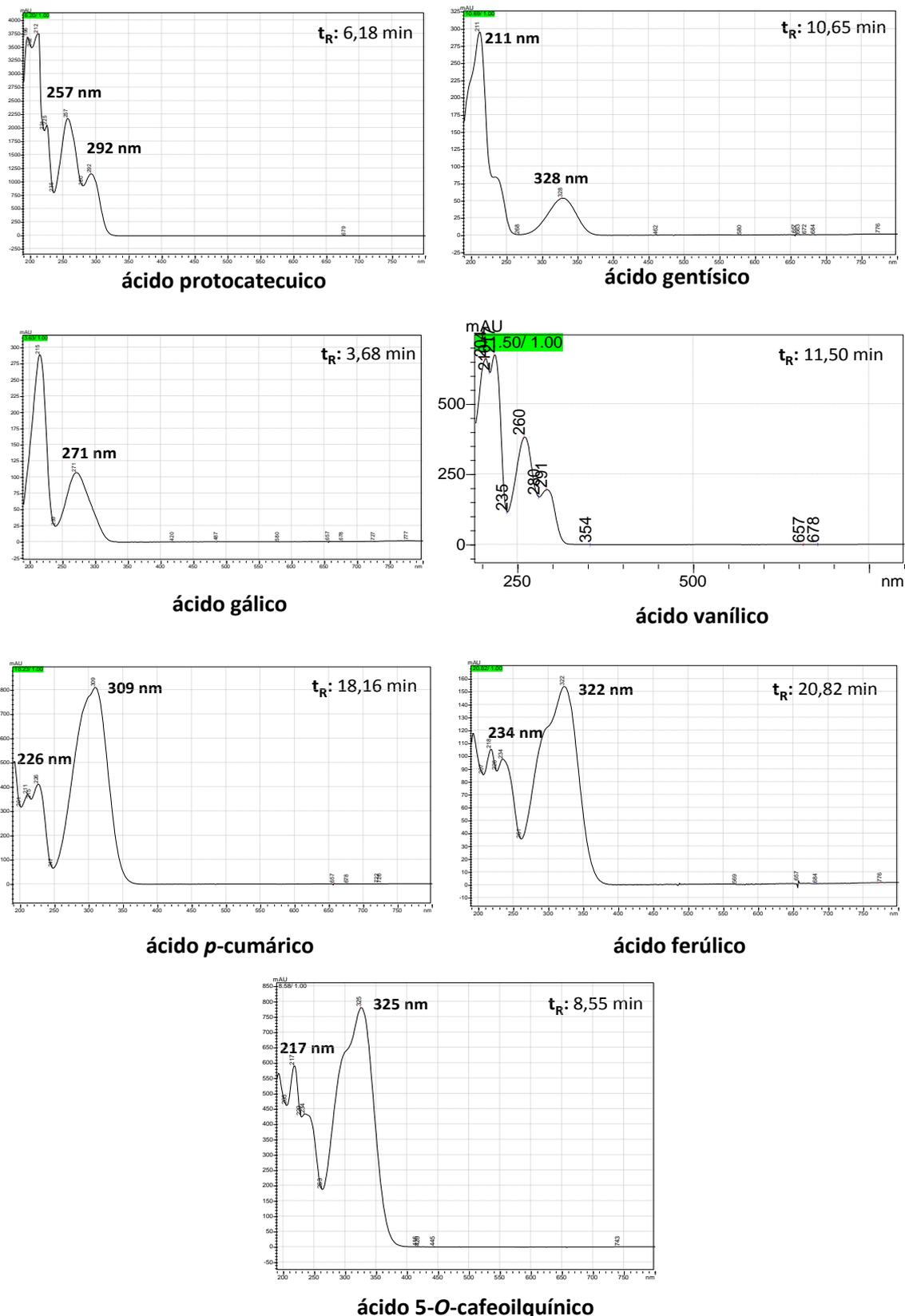
substâncias anteriores por apresentarem a banda II na faixa de 275-285 nm e não possuírem a banda I, pois não há conjugação entre os anéis A e B.<sup>56,57</sup> Já as cinchonainas Ia e Ib, que têm parte de sua estrutura formada pela catequina, geram espectro de UV com  $\lambda_{\max}$  em 226 e 284 nm.<sup>58</sup>



**Figura 4.** Espectro de UV-Vis e tempo de retenção ( $t_R$ ) dos padrões de flavonoides analisados por CLAE-DAD nas mesmas condições cromatográficas das amostras de inflorescências de *Cecropia*: isoorientina e isovitexina (flavonas), isoquercitrina (flavonol) e catequina (flavan-3-ol)

Os ácidos fenólicos derivados do ácido benzoico apresentam o  $\lambda_{\max}$  na faixa de 200 a 290 nm, com exceção do ácido gentísico que tem uma absorbância que se estende até 355 nm. Já os derivados do ácido cinâmico têm

uma banda adicional de absorção entre 270 e 360 nm, devido a maior extensão de conjugação do sistema cinamoil que suas estruturas possuem de maneira semelhante aos flavonoides (figura 5).<sup>59</sup>



**Figura 5.** Espectro de UV e tempo de retenção ( $t_R$ ) dos padrões de ácidos fenólicos analisados por CLAE-DAD nas mesmas condições cromatográficas das amostras de inflorescências de *Cecropia*: ácidos protocatecuico, gálico, gentísico e vanílico (derivados do ácido benzoico); ácidos 5-*O*-cafeoilquínico, ferúlico e *p*-cumárico (derivados do ácido cinâmico)

### Perfil químico de inflorescências femininas

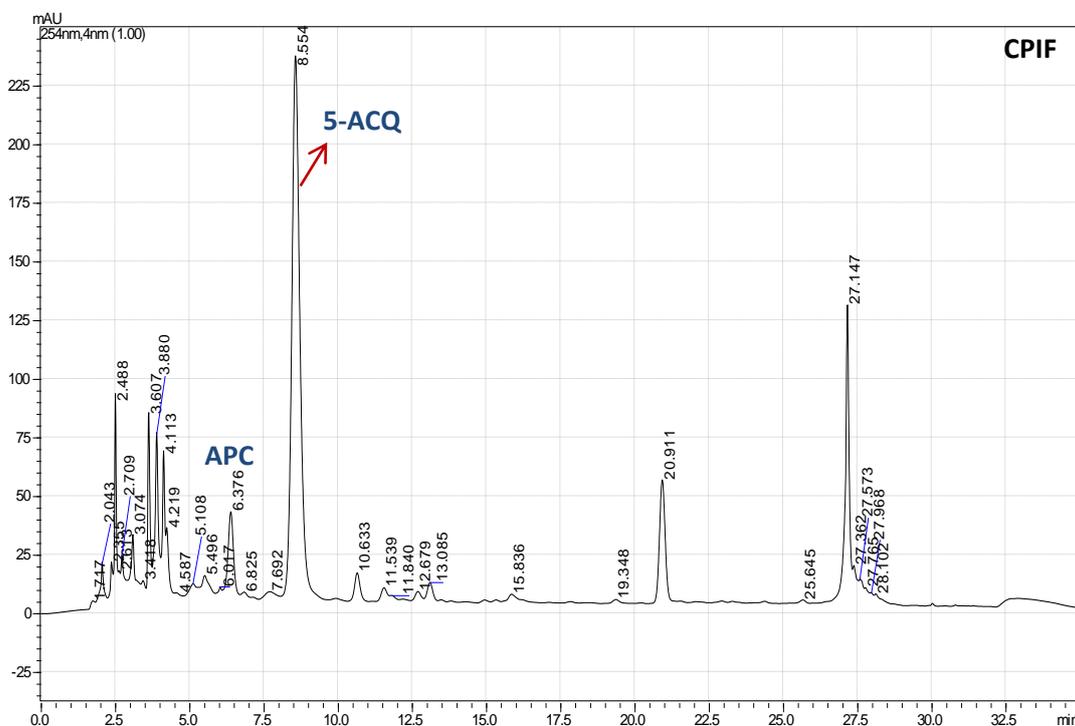
As análises revelaram que as amostras de extratos aquosos de inflorescências femininas de *C. pachystachya* (CPIF) e *C. glaziovii* (CGIF) possuem perfis de substâncias fenólicas semelhantes (figura 6). Com base nas informações obtidas da análise dos padrões e da literatura científica, foi possível identificar alguns picos, a maior parte referente a ácidos fenólicos (tabela 2).

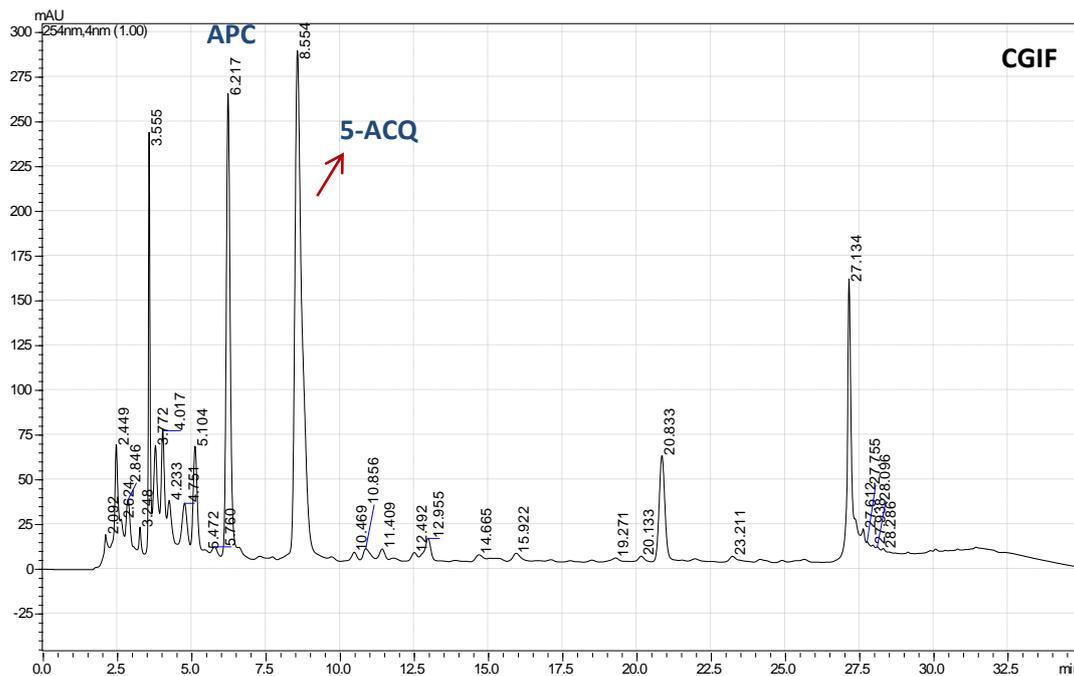
Os extratos de CPIF e CGIF se mostraram mais ricos em fenólicos derivados do ácido cinâmico. A substância fenólica majoritária nas duas amostras ( $t_R$  8,6 min) foi identificada como o ácido 5-*O*-cafeoilquínico (5-ACQ). Considerando a numeração estabelecida pela IUPAC para o ácido quínico, 5-ACQ é o isômero conhecido comumente por “ácido clorogênico”, de maior ocorrência e o único comercializado.<sup>60</sup> O pico de  $t_R$  5,1 min possui o espectro de UV com mesmo

padrão de absorção de 5-ACQ, o que permite sugerir a presença de outro isômero deste ácido. ACQ também está presente nas folhas de *C. glaziovii*, *C. hololeuca*, *C. pachystachya*, *C. obtusifolia* e *C. peltata* e nas infrutescências de *C. lyratiloba*.<sup>17,18,22,25,28</sup>

Apenas um derivado do ácido benzoico, o ácido protocatecuico (APC) ( $t_R$  6,2; 6,4 min), foi identificado em ambas as amostras. Pesquisas mostram que, geralmente, o conteúdo de ácidos fenólicos deste tipo em frutas e hortaliças é baixo, exceto em frutas vermelhas, algumas ervas e temperos, além dos chás preto e verde.<sup>61</sup> APC possui atividade antioxidante, anti-inflamatória, antidiabética e antimicrobiana, dentre outras.<sup>62</sup>

O cromatograma de CGIF também apresenta um pico minoritário de  $t_R$  10,8 min com espectro de UV semelhante ao padrão de catequina ( $t_R$  8,4 min). Esta substância pode ser um flavan-3-ol ou uma procianidina.





**Figura 6.** Cromatogramas de CLAE (254 nm) do extrato aquoso das inflorescências femininas de *C. pachystachya* (CPIF) e *C. glaziovii* (CGIF). APC = ácido protocatecuico; 5-ACQ = ácido 5-*O*-cafeoilquínico

**Tabela 2:** Identificação com base em CLAE-DAD da classe e/ou subclasse de metabólitos secundários e/ou da estrutura química das substâncias presentes nas amostras de inflorescências femininas de *C. pachystachya* (CPIF) e *C. glaziovii* (CGIF)

Tempo de retenção aproximado (min)	Absorção no UV ( $\lambda_{\max}$ )	Classe e/ou subclasse de metabólito secundário (molécula)	Amostra
5,1	217, 234, 324	Derivado do ácido cinâmico	CGIF; CPIF
6,2; 6,4	216, 259, 293	Derivado do ácido benzoico (Ácido protocatecuico)	CGIF; CPIF
8,6	217, 234, 325	Derivado do ácido cinâmico (Ácido 5- <i>O</i> -cafeoilquínico)	CGIF; CPIF
10,8	275	Flavonoide / flavan-3-ol ou Tanino condensado / procianidina	CGIF
12,5; 12,7	214, 299, 322	Derivado do ácido cinâmico	CGIF; CPIF
13,8	197, 311	Derivado do ácido cinâmico	CGIF
15,9	199, 324	Derivado do ácido cinâmico	CGIF; CPIF
19,3	200, 308	Derivado do ácido cinâmico	CGIF

### Perfil químico de inflorescências masculinas

Os cromatogramas das amostras de inflorescências masculinas (figura 7) de *C. glaziovii* (CGIM) e *C. hololeuca* (CHIM) mostram que estes espécimes parecem investir menos na biossíntese de moléculas mais polares (substâncias com  $t_R$  entre 2 e 5 min) que os espécimes femininos. Entretanto, foi possível identificar o ácido gálico em CGIM e CHIM, que elui neste intervalo de tempo ( $t_R$  3,8 min). Esta é a primeira vez que este ácido fenólico é reportado em *Cecropia*. Estas amostras também apresentam em seu perfil 5-ACQ e APC.

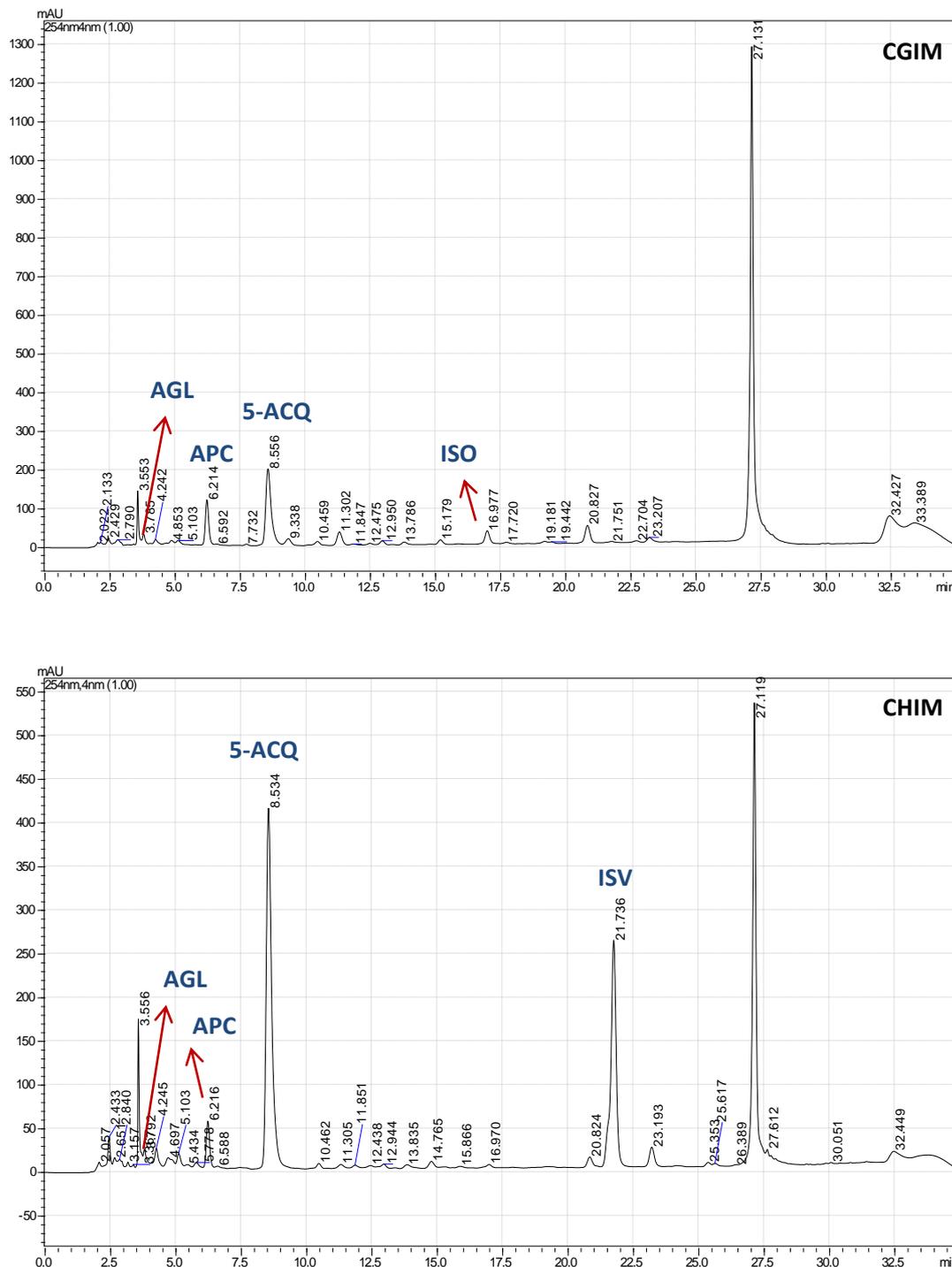
As inflorescências masculinas se revelaram fontes de flavonoides (tabela 3). Isoorientina (ISO) e isovitexina (ISV), muito comuns no gênero *Cecropia*, foram identificadas como os principais flavonoides em CGIM e CHIM, respectivamente. Nas plantas, os flavonoides geralmente ficam armazenados em vacúolos nos tecidos de flores, folhas, caules ou raízes e estão implicados nos processos de proteção contra os raios UV, crescimento e desenvolvimento, defesa contra herbívoros e patógenos, e atração de polinizadores e dispersores de sementes.<sup>63,64</sup> Flavonas, como ISO e ISV, podem funcionar como atratores de polinizadores, pois alguns insetos, principalmente as abelhas, são capazes de discriminar a luz UV na região de absorvância destas substâncias.<sup>65</sup>

Amostras de flavonoides isolados ou em mistura obtidas de folhas de *Cecropia* foram avaliadas em diferentes ensaios farmacológicos. A fração flavonoídica do

extrato aquoso de *C. glaziovii* (rica em ISO e ISV) mostrou atividade contra os vírus herpes humano (HHV) tipos 1 e 2.<sup>66</sup> A partir do extrato etanólico de *C. pachystachya*, obteve-se uma fração flavonoídica que foi capaz de inibir o crescimento de promastigotas de *Leishmania* (L.) *amazonensis* em cultura de células. A flavona orientina (ORI) foi identificada como o flavonoide majoritário da fração.<sup>32</sup> E ainda o extrato metanólico de *C. lyratiloba* e sua fração flavonoídica inibiram as contrações da aorta induzidas por adrenalina de forma dependente da concentração. Mas, isoladamente, ISV, ISO e ORI, não apresentaram o mesmo efeito vasorrelaxante da fração de origem.<sup>67</sup>

Há ainda outras substâncias comuns a todas as amostras (picos de  $t_R$  ~ 3,6; 20,8 e 27,1 min) que não foram identificadas quanto a classe de metabólitos secundários.

Diferenças na produção de metabólitos secundários já foram observadas em espécies dioicas de outros gêneros. O perfil químico de substâncias voláteis de ramos floridos de espécimes masculinos e femininos de *Baccharis trimera* (Asteraceae) foi analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e dentre 37 substâncias identificadas apenas nove ocorriam em ambos os espécimes.<sup>68</sup> Os espécimes de *Piper betle* (Piperaceae) demonstraram variação de acordo com o sexo na concentração do fenólico alilpirocatecol e seus derivados, que foram identificados nas folhas. Estas amostras, coletadas de variedades diferentes, foram avaliadas pela técnica de espectrometria de massas por análise direta em tempo real (DARTMS) e apresentaram diferenças inter e intrasexual no perfil de metabólitos.<sup>69</sup>



**Figura 7.** Cromatogramas de CLAE (254 nm) do extrato aquoso das inflorescências masculinas de *C. glaziovii* (CGIM) e *C. hololeuca* (CHIM). AGL = ácido gálico; APC = ácido protocatecuico; 5-ACQ = ácido 5-*O*-cafeoilquínico; ISO = isoorientina; ISV = isovitexina

**Tabela 3:** Identificação com base em CLAE-DAD da classe e/ou subclasse de metabólitos secundários e/ou da estrutura química das substâncias presentes nas amostras de inflorescências masculinas de *C. glaziovii* (CGIM) e *C. hololeuca* (CHIM)

Tempo de retenção aproximado (min)	Absorção no UV ( $\lambda_{\max}$ )	Classe e/ou subclasse de metabólito secundário (molécula)	Amostra
3,8	203, 270	Derivado do ácido benzoico (Ácido gálico)	CGIM; CHIM
5,1	199, 323	Derivado do ácido cinâmico	CGIM; CHIM
6,2	259, 293	Derivado do ácido benzoico (Ácido protocatecuico)	CGIM; CHIM
8,5	214, 325	Derivado do ácido cinâmico (Ácido 5-O-cafeoilquínico)	CGIM; CHIM
9,4	271, 340	Flavonoide	CGIM
13,8	201, 311	Derivado do ácido cinâmico	CGIM; CHIM
14,8	201; 325	Derivado ácido cinâmico	CHIM
15,2	271, 346	Flavonoide	CGIM
17,0	271, 332	Flavonoide / flavona	CHIM
17,0	270, 348	Flavonoide / flavona (Isoorientina)	CGIM
21,7	269, 337	Flavonoide / flavona (Isovitexina)	CHIM
23,2	~260, 350	Flavonoide / flavona	CHIM
23,2	267, 352	Flavonoide / flavona	CGIM

#### Avaliação da atividade sequestrante de radicais DPPH

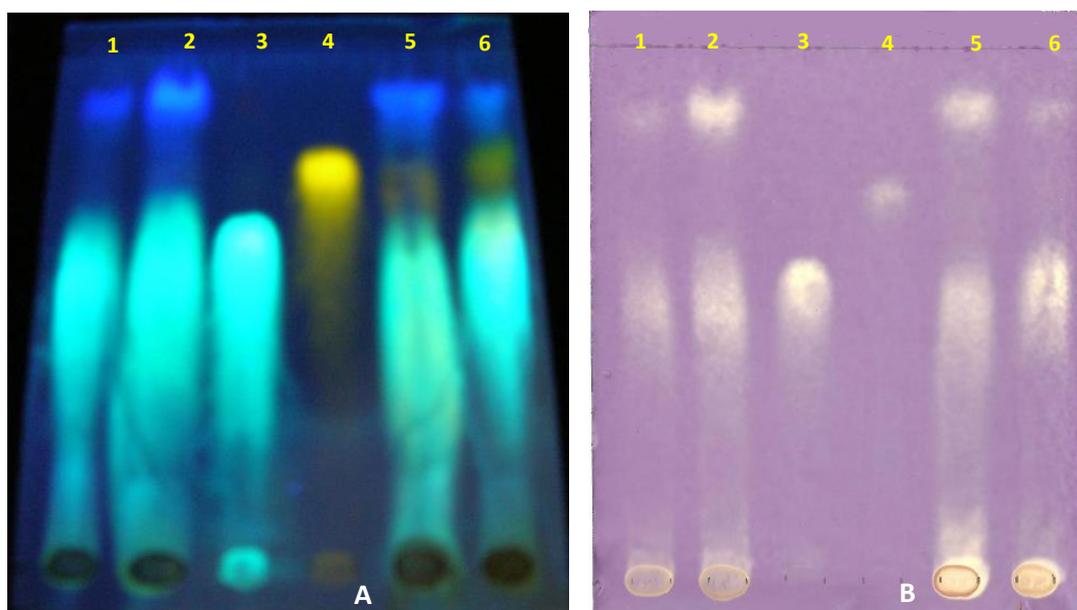
A revelação do cromatograma com NP/PEG e à luz UV ( $\lambda = 365$  nm) (figura 8-A) evidenciou a presença de substâncias fenólicas nas amostras de extratos de inflorescências de espécimes masculinos e femininos, concentradas principalmente em duas manchas. Estas correspondem a 5-ACQ ( $R_f$  0,56), de acordo com o padrão, e a outro fenólico não identificado ( $R_f$  0,86), que gera fluorescência azul no UV.<sup>54</sup> Este revelador detectou manchas características de flavonoides apenas nas amostras dos

espécimes masculinos, corroborando os resultados das análises por CLAE-DAD. Na amostra de CGIM observa-se uma mancha de  $R_f$  (0,7) e cor semelhantes ao padrão de ISO, enquanto que CHIM apresenta uma mancha mais intensa de cor amarela e  $R_f$  0,73, que pode ser atribuída a ISV. Estes dados são compatíveis com a literatura, que relatam para flavonas derivadas de luteolina e apigenina manchas fluorescentes alaranjadas e amarelo-esverdeadas no UV, respectivamente.<sup>54</sup>

Após revelação com solução de DPPH (figura 8-B), 5-ACQ ( $R_f$  0,56) se mostrou responsável pela atividade antirradicalar de

todas as amostras, no método e condições empregados, pois é a substância fenólica em maior concentração nos extratos. Adicionalmente, nas amostras de CGIF e CGIM a substância de  $R_f$  0,86 também foi capaz de decorar a solução lilás, indicando

que houve a redução do radical. Além disso, este ensaio evidenciou a existência de outras substâncias sequestradoras de radicais mais polares nos extratos, que não eluíram ( $R_f \sim 0$ ) na fase móvel utilizada.



**Figura 8.** Cromatogramas em gel de sílica (BAW 8:1:1) de amostras de extratos de inflorescências femininas e masculinas de *Cecropia* após revelação com NP/PEG sob luz UV (365 nm) **(A)** e com solução metanólica de DPPH 2,54 mM **(B)**. Amostras: 1- *C. pachystachya* (feminina); 2- *C. glaziovii* (feminina); 3- ácido 5-*O*-cafeoilquínico; 4- isoorientina; 5- *C. glaziovii* (masculina); 6- *C. hololeuca* (masculina)

Muitos estudos indicam que uma dieta rica em substâncias antioxidantes exerce um efeito protetor contra doenças que estejam associadas ao estresse oxidativo, como por exemplo, inflamação, câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e aterosclerose. O estresse oxidativo ocorre por consequência do desequilíbrio entre antioxidantes e pró-oxidantes em favor destes últimos, que são substâncias endógenas ou exógenas que possuem a capacidade de oxidar moléculas-alvo.<sup>70-73</sup>

As células do organismo, durante seu metabolismo normal, produzem espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN), dentre as quais se incluem radicais livres e não-radicais.<sup>70,73</sup> Por um lado, espécies pró-oxidantes desempenham

funções importantes no organismo, pois participam dos processos de produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias. Por outro lado, ERO e ERN podem também reagir com lipídeos de membranas celulares, proteínas teciduais ou enzimas, carboidratos e DNA, oxidando-os e causando danos à membrana, ao DNA, modificação em proteínas, etc.<sup>72,74,75</sup>

O sistema imunológico possui mecanismos próprios para contrabalançar o excesso de radicais livres. Tais mecanismos são complementares e podem atuar impedindo a formação e a iniciação da cadeia de radicais livres ou sequestrando os radicais e suprimindo a cadeia de propagação. Porém o aporte externo de substâncias

antioxidantes através da dieta se faz necessário, pois este sistema de defesa acaba por se tornar ineficiente frente à exposição adicional dos seres vivos a fontes ambientais desses radicais: radiação ultravioleta, poluentes atmosféricos (ozônio, dióxido de nitrogênio) e a própria alimentação. A função das vitaminas C, E e A, e dos carotenoides no combate aos radicais livres já é bem compreendida, enquanto que o papel das substâncias fenólicas passou ser mais explorado desde a década de 1990.<sup>72-75</sup>

Os flavonoides podem atuar como antioxidantes por diferentes meios. Podem suprimir a formação de ERO/ERN por inibição de enzimas ou quelação de  $Fe^{2+}$  e  $Cu^+$ , principalmente, envolvidos na produção destes radicais; aumentar ou proteger as defesas antioxidantes; e reduzir as espécies reativas por doação de hidrogênio, ou seja, por sequestro de radicais livres.<sup>74</sup> Os ácidos fenólicos também agem como quelantes de metais e sequestradores de radicais livres.<sup>76,77</sup>

Para que o mecanismo de sequestro de radicais livres seja eficaz, o radical formado após a perda de um hidrogênio do polifenol deve ser estável e incapaz de atuar como um propagador da cadeia radicalar. No caso dos flavonoides, a presença de determinados grupos em sua estrutura é essencial para esta estabilidade: o grupo catecol no anel B e a ligação dupla entre C-2 e C-3 conjugada com o grupamento cetona em C-4, por promoverem maior deslocalização eletrônica; e ainda as hidroxilas nas posições 3 e 5, por gerarem estabilidade por interação de hidrogênio com o grupamento cetona em C-4. O flavonol quercetina atende a estes requisitos e apresenta alta atividade antioxidante. Consequentemente a ausência da hidroxila em C-3 diminui a eficácia antioxidante das flavonas.<sup>76,78</sup>

A presença do grupo catecol e um grau alto de hidroxilação aumentam o potencial antioxidante dos ácidos fenólicos.<sup>76,77</sup> O grupo  $CH=CH-COOH$  garante uma maior eficiência dos derivados do ácido cinâmico em relação aos derivados do ácido benzoico.<sup>78</sup>

Apesar de apresentarem bons resultados em vários modelos *in vitro*, muitos estudos mostram que a ação antioxidante *in vivo* das substâncias fenólicas não seria significativa, em grande parte pela baixa concentração plasmática destas substâncias e pela menor atividade dos seus metabólitos. Entretanto, essas substâncias podem exercer efeitos diretos no trato gastrointestinal (TGI) onde estão presentes em maior concentração. O TGI é constantemente exposto a ERO/ERN, muitas oriundas da dieta e outras da ativação de fagócitos no intestino.<sup>79</sup>

Devido às suas características morfológicas, as espécies de embaúbas dependem dos animais frugívoros na dispersão de suas sementes. A passagem destas sementes pelo TGI do animal pode acarretar na eliminação de inibidores de germinação presentes nas mesmas, e as próprias fezes podem servir de fertilizante, aumentando o percentual de germinação.<sup>80</sup> E quando os animais consomem as partes reprodutivas de embaúbas, eles ingerem substâncias sequestradoras de radicais livres que auxiliam o sistema imunológico a contrabalançar o excesso destas espécies nas células evitando que estas sofram estresse oxidativo.

Este reforço na saúde é ainda mais importante para aqueles consumidores de embaúbas que já têm sua vida em risco pela caça ou destruição de seu *habitat* e estão ameaçados de extinção, como as espécies *Leontopithecus chrysomelas* Kuhl, 1820 e *L. rosalia* Linnaeus, 1766 (mico-leão), *Chrysocyon brachyurus* Illiger, 1815 (loboguará) e *Lonchophylla dekeyseri* Taddei, Vizotto e Sazima, 1983 (morcegozinho-do-cerrado).<sup>81</sup>

#### 4. Conclusão

As análises por CLAE-DAD e CCD revelaram que há diferenças entre os perfis fenólicos das inflorescências femininas e masculinas de *C. glaziovii*, *C. hololeuca* e *C.*

*pachystachya* estudadas. Nos indivíduos femininos, foram identificados ácidos fenólicos. Adicionalmente, os indivíduos masculinos apresentaram flavonoides. Em todos os espécimes, o ácido 5-O-cafeoilquínico (ácido clorogênico) é a substância fenólica majoritária de seus extratos aquosos e também um dos principais responsáveis pela atividade sequestrante de radical livre destas amostras. O consumo de inflorescências de embaúbas, principalmente de espécimes masculinos, se mostra benéfico à saúde dos animais, pois são fontes de moléculas antirradicais que podem combater o estresse oxidativo no organismo destes seres vivos, auxiliando no controle de doenças inflamatórias, microbianas, cardiovasculares, dentre outras.

## Agradecimentos

A autora F. N. José-Chagas agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) a bolsa de doutorado. Os autores agradecem às professoras Michelle Muzitano, Ivana Leal e Denise Guimarães (Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Faculdade de Farmácia, UFRJ, Campus Macaé, RJ) a disponibilização do cromatógrafo líquido, e ao Dr. Marcelo Nogueira e ao professor Luiz Flamarion B. de Oliveira (Museu Nacional, UFRJ) as fotos cedidas.

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Pott, A.; Pott, V. *Plantas do Pantanal*, 1ª ed., Embrapa, CPAP: Distrito Federal, 1994.
- <sup>2</sup> Berg, C. C.; Rosselli, P. F. *Flora Neotropica Monograph* **2005**, 94. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/4393938>>
- <sup>3</sup> Carauta, J. P. P.; Romaniuc Neto, S.; Sastre, C. *Albertoa* **1996**, 4, 77.
- <sup>4</sup> Carauta, J. P. P. *Albertoa* **1996**, 4, 145.
- <sup>5</sup> Mors, W. B.; Rizzini, C. T.; Pereira, N. A.; DeFilipps, R. A. (ed.) *Medicinal plants of Brazil*, 1a. ed.; Reference Publications: Algonac, 2000.
- <sup>6</sup> Lorenzi, H.; Matos, F. J. A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*, 2a. ed., Editora Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2002.
- <sup>7</sup> Macedo, M.; Ferreira, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso – Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2004**, 14, 45. [[CrossRef](#)]
- <sup>8</sup> Medeiros, M. F. T.; Senna-Valle, L.; Andreato, R. H. P. Flora Medicinal dos Sitiantes da Reserva Particular do Patrimônio Natural Rio das Pedras, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil: Taxonomia e Aspectos Etnobotânicos. *Publicações Avulsas - Museu Nacional* **2005**, 106, 3. [[Link](#)]
- <sup>9</sup> Agra, M. F.; Barbosa-Filho, J. M.; Freitas, P. F. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2007**, 17, 114. [[CrossRef](#)]
- <sup>10</sup> Boscolo, O. H.; Mendonça-Filho, R. F. W.; Menezes, F. S.; Senna-Valle, L. Potencial antioxidante de algumas plantas de restinga citadas como medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinas* **2007**, 9, 8. [[Link](#)]
- <sup>11</sup> Botsaris, A. S. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* **2007**, 3, 18 [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>12</sup> Rocha, F. F.; Lima-Landman, M. T. R.; Souccar, C.; Tanae, M. M.; De Lima, T. C. M.; Lapa, A. J. Antidepressant-like effect of *Cecropia glazioui* Sneth and its constituents – In vivo and in vitro characterization of the underlying mechanism *Phytomedicine* **2007**, 14, 396. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>13</sup> Souccar, C.; Cysneiros, R. M.; Tanae, M. M.; Torres, L. M. B.; Lima-Landman, M. T. R.; Lapa, A. J. Inhibition of gastric acid secretion by a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth and underlying mechanism. *Phytomedicine* **2008**, 15, 462. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- <sup>14</sup> Brokaw, N. V. L. *Cecropia schreberiana* in the Luquillo Mountains of Puerto Rico. *The Botanical Review* **1998**, *64*, 91. [[CrossRef](#)]
- <sup>15</sup> Falcão, V. Riqueza em perigo. *Revista Pesquisa Fapesp* **2002**, *79*. [[Link](#)]
- <sup>16</sup> Hikawczuk, V. J.; Saad, J. R.; Guardia, T.; Juarez, A. O.; Giordano, O. S. Anti-inflammatory activity of compounds isolated from *Cecropia pachystachya*. *Anales de la Asociación Química Argentina* **1998**, *86*, 167.
- <sup>17</sup> Andrade-Cetto, A.; Wiedenfeld, H. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* **2001**, *78*, 145. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>18</sup> Lacaille-Dubois, M. A.; Franck, U.; Wagner, H. Search for potential Angiotensin Converting Enzyme (ACE)-inhibitors from plants. *Phytomedicine* **2001**, *8*, 47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>19</sup> Oliveira, R. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 2003.
- <sup>20</sup> Oliveira, R. R.; Moraes, M. C. C.; Castilho, R. O.; Valente, A. P.; Carauta, J. P. P.; Lopes, D.; Kaplan, M. A. C. High-speed countercurrent chromatography as a valuable tool to isolate C-glycosylflavones from *Cecropia lyratiloba* Miquel. *Phytochemical Analysis* **2003**, *14*, 96. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>21</sup> Andrade-Cetto, A.; Heinrich, M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, *99*, 325. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>22</sup> Nicasio, P.; Aguilar-Santamaría, L.; Aranda, E.; Ortiz, S.; González, M. Hypoglycemic effect and chlorogenic acid content in two *Cecropia* species. *Phytotherapy Research* **2005**, *19*, 661. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>23</sup> Oliveira, R. R.; Leitão, G. G.; Moraes, M. C. C.; Kaplan, M. A.; Lopes, D.; Carauta, J. P. P. Gradient Elution for Triterpene Separation from *Cecropia lyratiloba* Miquel by HSCCC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **2005**, *28*, 1985. [[CrossRef](#)]
- <sup>24</sup> Rocha, G. G.; Simões, M.; Lúcio, K. A.; Oliveira, R. R.; Kaplan, M. A. C.; Gattass, C. R. Natural triterpenoids from *Cecropia lyratiloba* are cytotoxic to both sensitive and multidrug resistant leukemia cell lines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2007**, *15*, 7355. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>25</sup> Tanae, M. M.; Lima-Landman, M. T. R.; De Lima, T. C. M.; Souccar, C.; Lapa, A. J. Chemical standardization of the aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth endowed with antihypertensive, bronchodilator, antiacid secretion and antidepressant-like activities. *Phytomedicine* **2007**, *14*, 309. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>26</sup> Machado, E. C.; Yunes, R. A.; Malheiros, A.; Gomez, E. C.; Delle Monache, F. Two new 11 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -epoxy-ursan-28,13 $\beta$ -olides and other triterpenes from *Cecropia catharinensis*. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters* **2008**, *22*, 1310. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>27</sup> Schinella, G.; Aquila, S.; Dade, M.; Giner, R.; Recio, M. C.; Spegazzini, E.; Buschiazzi, P.; Tournier, H.; Ríos, J. L. Anti-Inflammatory and Apoptotic Activities of Pomolic Acid Isolated from *Cecropia pachystachya*. *Planta Medica* **2008**, *74*, 215. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>28</sup> José, F. N.; Vianna Filho, M. D. M.; Costa, S. S.; Pessoa, L. M. Em: *Mamíferos das Restingas e Manguezais do Brasil*; Pessoa, L. M.; Tavares, W. C.; Siciliano, S. orgs.; 1a. ed., Sociedade Brasileira de Mastozoologia: Rio de Janeiro, 2010, cap. 7.
- <sup>29</sup> Arend, D. P.; Santos, T. C.; Sonaglio, D.; Santos, A. L. G.; Reginatto, F. H.; Campos, A. M. Experimental design as a tool to evaluate chlorogenic and caffeic acids extracted from *Cecropia glaziovii* Sneth *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2011**, *54*, 58. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>30</sup> Petronilho, F.; Dal-Pizzol, F.; Costa, G. M.; Kappel, V. D.; Oliveira, S. Q.; Fortunato, J.; Cittadini-Zanette, V.; Moreira, J. C. F.; Simões, C. M. O.; Reginatto, F. H. Hepatoprotective effects and HSV-1 activity of the hydroethanolic extract of *Cecropia glaziovii* (embaúba-vermelha) against acyclovir-resistant strain. *Pharmaceutical Biology* **2012**, *50*, 911. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>31</sup> Li, J.; Coleman, C. M.; Wu, H.; Burandt Jr., C. L.; Ferreira, D.; Zjawiony, J. K. Triterpenoids and flavonoids from *Cecropia schreberiana*

- Miq. (Urticaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **2013**, *48*, 96. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>32</sup> Cruz, E. M.; Silva, E. R.; Maquiaveli, C. C.; Alves, E. S. S.; Lucon Jr., J. F.; Reis, M. B. G.; Toledo, C. E. M.; Cruz, F. G.; Vannier-Santos, M. A. Leishmanicidal activity of *Cecropia pachystachya* flavonoids: Arginase inhibition and altered mitochondrial DNA arrangement. *Phytochemistry* **2013**, *89*, 71. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>33</sup> Simpson, B. S. Dioecy in Plants – Is It an Important Factor for Phytochemists to Consider? *Planta Medica* **2013**, *79*, 613. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>34</sup> Claro-Jr, L.; Ferreira, E.; Zuanon, J.; Araujo-Lima, C. O efeito da floresta alagada na alimentação de três espécies de peixes onívoros em lagos de várzea da Amazônia Central, Brasil. *Acta Amazonica* **2004**, *34*, 133. [[CrossRef](#)]
- <sup>35</sup> Galetti, M. Diet of the Scaly-Headed Parrot (*Pionus maximiliani*) in a Semideciduous Forest in Southeastern Brazil. *Biotropica* **1993**, *25*, 419. [[CrossRef](#)]
- <sup>36</sup> Manhães, M. A. Dieta de Traupíneos (Passeriformes, Emberizidae) no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. *Iheringia. Série Zoologia* **2003**, *93*, 59. [[CrossRef](#)]
- <sup>37</sup> Ragusa-Netto, J. Flowers, fruits, and the abundance of the yellow-chevroned parakeet (*Brotogeris chiriri*) at a gallery forest in the South Pantanal (Brazil). *Brazilian Journal of Biology* **2004**, *64*, 867. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>38</sup> Ragusa-Netto, J. Abundance and frugivory of the toco toucan (*Ramphastos toco*) in a gallery forest in Brazil's Southern Pantanal. *Brazilian Journal of Biology* **2006**, *66*, 133. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>39</sup> Ragusa-Netto, J. Feeding ecology of the Green-cheeked parakeet (*Pyrrhura molinae*) in dry forests in western Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **2007**, *67*, 243. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>40</sup> Galetti, M.; Pedroni, F. Seasonal diet of capuchin monkeys (*Cebus apella*) in a semideciduous forest in south-east Brazil. *Journal of Tropical Ecology* **1994**, *10*, 27. [[CrossRef](#)]
- <sup>41</sup> Calouro, A. M. *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2005.
- <sup>42</sup> Andrade, P. S. *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2007.
- <sup>43</sup> Ludwig, G.; Aguiar, L. M.; Svoboda, W. K.; Hilst, C. L. S.; Navarro, I. T.; Vitule, J. R. S.; Passos, F. C. Comparison of the diet of *Alouatta caraya* (Primates: Atelidae) between a riparian island and mainland on the Upper Parana River, southern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* **2008**, *25*, 419. [[CrossRef](#)]
- <sup>44</sup> Fabián, M. E.; Rui, A. M.; Waechter, J. L. Em: *Ecologia de Morcegos*; Reis, N. R.; Peracchi, A. L.; Santos, G. A. S. D. orgs.; 1a. ed., Technical Books Editora: Londrina, 2008, cap. 5.
- <sup>45</sup> Silveira, M.; Trevelin, L.; Port-Carvalho, M.; Godoi, S.; Mandetta, E. N.; Cruz-Neto, A. P. Frugivory by phyllostomid bats (Mammalia: Chiroptera) in a restored area in Southeast Brazil. *Acta Oecologica* **2011**, *37*, 31. [[CrossRef](#)]
- <sup>46</sup> Prone, B.; Zanon, C. M. V.; Benedito, E. Bats (Chiroptera, Phyllostomidae) in the urbanized area in South of Brazil. *Acta Scientiarum, Biological Sciences* **2012**, *34*, 155. [[CrossRef](#)]
- <sup>47</sup> Chiarello, A. G. Diet of the Atlantic forest maned sloth *Bradypus torquatus* (Xenarthra: Bradypodidae). *Journal of Zoology* **1998**, *246*, 11. [[CrossRef](#)]
- <sup>48</sup> Costa, S. S.; Oliveira, D. B.; Manço, A. M.; De Melo, G. O.; Cordeiro, J. L. P.; Zaniolo, S.; Negrelle, R.; Oliveira, L. F. B. Plants Composing the Diet of Marsh and Pampas Deer in the Brazilian Pantanal Wetland and Their Ethnomedicinal Properties. *Journal of Biological Sciences* **2006**, *6*, 840. [[CrossRef](#)]
- <sup>49</sup> Oliveira, A. B. M. *Dissertação de mestrado*, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, 2011.
- <sup>50</sup> Lorenzi, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*, 1a. ed., Editora Instituto Plantarum: Nova Odessa, 1992.
- <sup>51</sup> Schmourlo, G.; Mendonça-Filho, R. R.; Alviano, C. S.; Costa, S. S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food

- plants. *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, *96*, 563. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>52</sup> Molyneux, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *The Songklanakarin Journal of Science and Technology* **2004**, *26*, 211. [[Link](#)]
- <sup>53</sup> Gu, L.; Wu, T.; Wang, Z. TLC bioautography-guided isolation of antioxidants from fruit of *Perilla frutescens* var. *acuta*. *LWT - Food Science and Technology* **2009**, *42*, 131. [[CrossRef](#)]
- <sup>54</sup> Wagner, H.; Bladt, S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*, 2a. ed., Springer-Verlag: Berlin, 1996.
- <sup>55</sup> Mabry T. J.; Markham, K. R.; Thomas, M. B. *The systematic identification of flavonoids*, 1a. ed., Springer-Verlag: Berlin-Heidelberg-New York, 1970.
- <sup>56</sup> Alonso-Salces, R. M.; Ndjoko, K.; Queiroz, E. F.; Ioset, J. R.; Hostettmann, K.; Berrueta, L. A.; Gallo, B.; Vicente, F. On-line characterisation of apple polyphenols by liquid chromatography coupled with mass spectrometry and ultraviolet absorbance detection. *Journal of Chromatography A* **2004**, *1046*, 89. [[CrossRef](#)]
- <sup>57</sup> Carando, S.; Teissedre, P-L.; Pascual-Martinez, L.; Cabanis, J-C. Levels of Flavan-3-ols in French Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1999**, *47*, 4161. [[CrossRef](#)]
- <sup>58</sup> Wan, C.; Yuan, T.; Cirello, A.; Seeram, N. P. Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory phenolics isolated from highbush blueberry flowers. *Food Chemistry* **2012**, *135*, 1929. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>59</sup> Robbins, R. J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, *51*, 2866. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>60</sup> Clifford, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2000**, *80*, 1033. [[CrossRef](#)]
- <sup>61</sup> Tomás-Barberán, F. A.; Clifford, M. N. Dietary hydroxybenzoic acid derivatives – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2000**, *80*, 1024. [[CrossRef](#)]
- <sup>62</sup> Masella, R.; Santangelo, C.; D'Archivio, M.; Li Volti, G.; Giovannini, C.; Galvano, F. Protocatechuic Acid and Human Disease Prevention: Biological Activities and Molecular Mechanisms. *Current Medicinal Chemistry* **2012**, *19*, 2901. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>63</sup> Iwashina, T. The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants. *Journal of Plant Research* **2000**, *113*, 287. [[CrossRef](#)]
- <sup>64</sup> Winkel, B. S. J. Em: *The Science of Flavonoids*; Grotewold, E. ed.; Springer: New York, 2006, cap. 3.
- <sup>65</sup> Iwashina, T. Flavonoid Function and Activity to Plants and Other Organisms. *Biological Sciences in Space* **2003**, *17*, 24. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>66</sup> Silva, I. T.; Costa, G. M.; Stoco, P. H.; Schenckel, E. P.; Reginatto, F. H.; Simões, C. M. O. In vitro antiherpes effects of a C-glycosylflavonoid-enriched fraction of *Cecropia glaziovii* Sneth. *Letters in Applied Microbiology* **2010**, *51*, 143. [[PubMed](#)]
- <sup>67</sup> Almeida, R. R.; Raimundo, J. M.; Oliveira, R. R.; Kaplan, M. A. C.; Gattass, C. R.; Sudo, R. T.; Zapata-Sudo, G. Activity of *Cecropia lyratiloba* Extract on Contractility of Cardiac and Smooth Muscles in Wistar Rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **2006**, *33*, 109. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>68</sup> Lago, J. H. G.; Romoff, P.; Fávero, O. A.; Souza, F. O.; Soares, M. G.; Baraldi, P. T.; Corrêa, A. G. Chemical composition of male and female *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) essential oils. *Biochemical Systematics and Ecology* **2008**, *36*, 737. [[CrossRef](#)]
- <sup>69</sup> Bajpai, V.; Pandey, R.; Negi, M. P. S.; Bindu, K. H.; Kumar, N.; Kumar, B. Characteristic differences in metabolite profile in male and female plants of dioecious *Piper betle* L. *Journal of Biosciences* **2012**, *37*, 1061. [[CrossRef](#)]

- <sup>70</sup> Sies, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* **1997**, *82*, 291. [PubMed]
- <sup>71</sup> Urquiaga, I.; Leighton, F. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biological Research* **2000**, *33*. [CrossRef]
- <sup>72</sup> Young, I. S.; Woodside, J. V. Antioxidants in health and disease *Journal of Clinical Pathology* **2001**, *54*, 176. [CrossRef]
- <sup>73</sup> Cerqueira, F. M.; De Medeiros, M. H. G.; Augusto, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Química Nova* **2007**, *30*, 441. [CrossRef]
- <sup>74</sup> Pietta, P-G. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products* **2000**, *63*, 1035. [CrossRef]
- <sup>75</sup> Barreiros, A. L. B. S.; David, J. M.; David, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* **2006**, *29*, 113. [CrossRef]
- <sup>76</sup> Croft, K. D. The Chemistry and Biological Effects of Flavonoids and Phenolic Acids. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1998**, *854*, 435. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>77</sup> Scherer, R.; Godoy, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* **2009**, *112*, 654. [CrossRef]
- <sup>78</sup> Soobrattee, M. A.; Neergheen, V. S.; Luximon-Ramma, A.; Aruoma, O. I.; Bahorun, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **2005**, *579*, 200. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>79</sup> Halliwell, B.; Rafter, J.; Jenner, A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *The American Journal of Clinical Nutrition* **2005**, *81*, 268. [PubMed]
- <sup>80</sup> Bocchese, R. A.; Oliveira, A. K. M.; Vicente, E. C. Taxa e velocidade de germinação de sementes de *Cecropia pachystachya* Trécul (Cecropiaceae) ingeridas por *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) (Chiroptera: Phyllostomidae). *Acta Scientiarum, Biological Sciences* **2007**, *29*, 395. [CrossRef]
- <sup>81</sup> Machado, A. B. M.; Drummond, G. M.; Paglia, A. P., eds.; 1a. ed., *Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção*, Brasília: MMA; Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2008. [Link]