

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE MUNDO NOVO
CURSO DE TECNOLOGIA EM GESTÃO AMBIENTAL

JÉSSICA CECÍLIA DE OLIVEIRA CERQUEIRA

**TRIAGEM FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS DE *Cinnamomum zeylanicum*
(LAURACEAE)**

Mundo Novo - MS
Outubro/2016

JÉSSICA CECÍLIA DE OLIVEIRA CERQUEIRA

**TRIAGEM FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS DE *Cinnamomum zeylanicum*
(LAURACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Tecnologia em Gestão Ambiental da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Licenciado em Tecnologia em Gestão Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Francisca Gomes da Silva

Mundo Novo - MS
Outubro/2016

Tenho este trabalho como um ponta pé inicial na minha carreira profissional, que me ajudou a expandir meus conhecimentos através deste curso, abrindo os horizontes para novas oportunidades de crescimento individual e profissional, o qual me proporcionou o suporte necessário nos momentos de dificuldade pelo qual tive que ultrapassar até este momento em que concluo este trabalho científico. Principalmente na minha força de vontade superando meus próprios limites acreditando indubitavelmente na minha força e capacidade.

AGRADECIMENTOS

Em especial a Deus por ter me dado oportunidade de fortalecer os meus conhecimentos através deste curso me proporcionando saúde e força para vencer todos os desafios desta jornada.

A minha mãe e Edinez Felix de Oliveira, e minha irmã, Vitória Roberta, minhas heroínas, meu alicerce minha fonte de inspiração pelo incentivo e carinho nos momentos difíceis que enfrentei.

Meu esposo querido que amo tanto, Thiago Antônio Moreira de Melo Castro e sua família, por ter me incentivado todos esses anos, me proporcionando todo o suporte necessário, tanto mental, e sentimental, me auxiliando nos momentos difíceis de tomadas de decisão, onde influenciou nos caminhos a ser traçado na minha vida.

A Profa. Dra. Ana Francisca Gomes da Silva, pela orientação, apoio e confiança, mais expressivamente no desenvolvimento deste trabalho.

A todo corpo docente, direção e administração da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul - Unidade de Mundo Novo, pelo empenho e excelente trabalho realizado ao longo da minha formação. E a todos os outros que participaram direta ou indiretamente da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O presente projeto teve como objetivo realizar triagem fitoquímica e avaliação da atividade antioxidante das folhas de um espécime de *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) coletada em Mundo Novo/MS utilizada como alimento e no tratamento de doenças. O extrato etanólico bruto obtidos das folhas foi particionado com solventes de polaridade crescente (hexano, clorofórmio e acetato de etila) e as frações oriundas das partições, juntamente com o extrato etanólico bruto foram submetidos a testes analíticos qualitativos, com a finalidade de identificar as principais classes de metabólitos secundários, e avaliados quanto ao potencial antioxidante com β -caroteno e 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH). Com base nos resultados obtidos constatou-se a presença dos grupos alcaloides, triterpenos e/ou esteroides, taninos e ácidos orgânicos no extrato etanólico bruto das folhas e em todas as frações particionadas. O grupo das sesquiterpenlactonas e outras lactonas foi detectado apenas na fração acetato de etila. Nos testes de atividade antioxidante com β -caroteno e DPPH foi possível observar potencial antioxidante para o extrato etanólico bruto das folhas e para todas as frações particionadas. Estes resultados demonstram a riqueza de grupos orgânicos bioativos presentes nas folhas de *C. zeylanicum* e sugerem a realização de estudos posteriores, a fim de isolar e identificar as substâncias presentes na planta.

Palavras-chave: Fitoquímica, atividade biológica, Antioxidante.

SUMÁRIO

1. Introdução	7
1.1 Gênero <i>Cinnamomum</i> (Lauraceae)	8
1.2 <i>Cinnamomun zeylanicum</i>	9
1.3 Ensaio de atividade antioxidante	10
2. Objetivos	11
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos	12
3. Metodologia	12
3.1 Coleta e identificação do material vegetal	12
3.2 Obtenção do extrato etanólico bruto das folhas de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	12
3.3 Testes analíticos qualitativos - Triagem fitoquímica	13
3.4 Testes de atividade antioxidante utilizando β -caroteno	14
3.5 Ensaio de atividade antioxidante utilizando 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH)	14
4. Resultados e Discussão	15
4.1 Testes analíticos qualitativos - Triagem fitoquímica	14
4.2 Ensaio de atividade antioxidante utilizando β -caroteno e DPPH	20
5. Conclusão	21
6. Referências	22

1. INTRODUÇÃO

A utilização de produtos naturais, particularmente da flora, com fins medicinais, nasceu com a humanidade. Índícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas civilizações mais antigas, sendo considerada uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE et al. 2007).

Nas últimas décadas, assistiu-se a um crescente interesse pelo uso de plantas medicinais e dos respectivos extratos na terapêutica, constituindo, em certas circunstâncias, uma ajuda nos cuidados primários de saúde e um complemento terapêutico, compatível com a medicina convencional (ARAÚJO et al. 2007). No entanto, muitas dessas plantas são utilizadas com base no conhecimento popular, observando-se a carência de estudos fitoquímicos para verificar a presença de grupos orgânicos bioativos responsáveis por seu uso terapêutico. Este trabalho avaliou a atividade antioxidante de *cinnamomum zeylanicum*; uma espécie de canela do cerrado.

A identificação de grupos orgânicos e o isolamento de constituintes químicos, geralmente metabólitos secundários com atividade biológica pode ser realizada a partir da produção de extratos vegetais (CECHINEL FILHO, 1998) e dentre os diversos usos, os extratos vegetais vêm sendo aplicados como uma forma de controle de doenças e no controle biológico (AMARAL e BARA, 2005; BONALDO et al., 2004).

Dentro deste contexto, pesquisas são desenvolvidas em laboratórios de química das Universidades, UEMS, UFGD, UFMS e UEM, incluindo-se a que consiste em estudar plantas com potencialidades farmacológicas e terapêuticas. Os extratos brutos e/ou substâncias isoladas são submetidos à bioensaios simples e de baixo custo, tais como testes de atividade antioxidante com β -caroteno e 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH). Estes estudos são realizados com espécies pertencentes a família selecionada, particularmente, Lauraceae, devido ao fato de que muitas das plantas dessa família são ricas em metabólitos secundários bioativos (SILVA, 2010).

Assim o presente trabalho contribuiu para o conhecimento das espécies da família Lauraceae, realizando a análise fitoquímica preliminar e avaliação da atividade antioxidante de *Cinnamomum zeylanicum*, árvore de médio porte, conhecida como canela, utilizada como alimento e no tratamento de doenças.

1.1. Gênero *Cinnamomum* (Lauraceae)

A família Lauraceae compreende 54 gêneros e cerca de 2500 espécies, as quais são predominantemente arbóreas, ocorrendo principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, estendendo-se a regiões de clima temperado. No Brasil, ocorrem 22 gêneros e cerca de 400 espécies que habitam, em sua maior parte, as Florestas Pluviais e também as Restingas e os Cerrados. Dos gêneros existentes os principais são: *Ocotea*, *Cinnamomum*, *Nectandra* e *Persea* (SOUZA; LORENZI, 2008).

Inserido na família Lauraceae o gênero *Cinnamomum* compreende mais de 250 espécies e está amplamente distribuído por toda a Ásia tropical e subtropical, Austrália, região do Pacífico e América do Sul (DIGHE et al., 2009). Folhas e cascas são normalmente utilizadas como especiarias e na produção de óleos essenciais com diferentes características aromáticas e composições para a indústria (JAYAPRAKASHA et al., 2007).

Quimicamente, flavonoides, antraquinonas, saponinas, glicosídeos, terpenoides e cumarinas são grupos de metabólitos secundários descritos para espécies de *Cinnamomum* (RAMSHINI et al., 2015; AHMAD et al., 2013; BANDAR, 2012; NGOC et al., 2012; MARIDASS e GHANTHIKUMAR, 2008). Compostos como aldeído cinâmico, cinamaldeído, monoterpenos, sesquiterpenos e óxido de cariofileno são alguns dos constituintes comuns em seus óleos essenciais (ANDRADE et al., 2012; LIMA et al., 2005).

Ampla atividade biológica é descrita para extratos, frações e metabólitos secundários obtidos de *Cinnamomum*. O extrato metanólico dos galhos de *Cinnamomum cassia*, por exemplo, revelou diferentes derivados do cinamaldeído os quais desempenham papel importante na inibição da xantina oxidase (NGOC et al., 2012). Outros extratos dessa espécie sugerem propriedade antidiabética, atividades antiinflamatória e antiviral (HAN et al. 2013; YEH et al., 2013). Também suprime reações alérgicas, apresentando um potencial para a mitigação da dermatite atópica (SONG et al., 2012).

Efeitos antiinflamatórios observados em ratos albinos foram atribuídas as classes antraquinona, flavonoides, saponinas, glicosídeos cardíacos e cianogénicos encontradas no extrato etanólico das cascas de *Cinnamomum keralaense* (MARIDASS e GHANTHIKUMAR, 2008). Extratos e subfrações das folhas de *Cinnamomum iners* apresentaram propriedades antidiabéticas e efeitos hipolipemiantes *in vivo* atribuídas principalmente ao aldeído cinâmico (MUSTAFFA et al., 2014). Para *Cinnamomum*

triplinerve, alcaloides e triterpenos ocorrem nos seus extratos, e atividade antioxidante foi verificada para essa espécie coletada na Colômbia (SUAREZ et al., 2012; ARGOTI et al., 2010).

Inibição do crescimento de bactérias foi observada para o extrato das folhas de *Cinnamomum tamala* (DANDAPAT et al., 2013) e atividades antiinflamatória, analgésica, antioxidante e citotóxicas também foram relatadas para extratos das folhas de *C. Tamala* (AKTER et al., 2015; THAMIZHSELVAM et al., 2012).

O extrato clorofórmico de *Cinnamomum cambodianum* demonstrou potencial no tratamento da alergia (CHAE et al., 2012) e para o extrato aquoso de *Cinnamomum porrectum* foram relatadas atividades antibacteriana e antiviral (FARAH et al., 2013). Já para o extrato aquoso das cascas de *Cinnamomum bejolghota* foi descrita atividade antihelmíntica (GOGOI et al., 2014).

Estudos com *Cinnamomum verum* apresenta atividade antioxidante (MATHEW e ABRAHAM, 2006) e sugerem que o extrato inibe diretamente a formação de fibrilas amilóides *in vitro* (RAMSHINI et al., 2015). Extratos de *Cinnamomum camphora* mostraram significativa atividade inibidora contra fungos, constatando que esse extrato poderia ser utilizado como um potente fungicida fitoquímico.

1.2. *Cinnamomun zeylanicum*

Cinnamomu zeylanicum Blume (Figura 1) é uma planta aromática e medicinal originária de algumas regiões da Índia e do Ceilão. É encontrada e conhecida no Brasil como canela-da-índia e canela-do-ceilão. O Brasil importa regularmente de diferentes países quantidades significativas tanto de cascas quanto do óleo essencial, dada a ausência de cultivo comercial dessa especiaria no País. É uma das mais antigas especiarias conhecidas. Seu uso é relatado desde os tempos bíblicos e o controle de seu comércio foi um dos motivos das grandes explorações marítimas (KOKETSU et al., 1997, LIMA et al., 2005).

E uma árvore perene, alcançando alturas de 8-17m, suas folhas são perfumadas de cor verde-escuro, sendo a parte inferior mais clara. As flores são amarelas e pequenas, transformando-se posteriormente em bagas de cor púrpura-escuras. O clima e as condições do solo afetam a planta profundamente, de modo que uma mesma espécie ou variedade, cultivada em outro país, pode produzir uma casca de qualidade muito diferente daquela obtida nas regiões da Índia (KOKETSU et al., 1997).

Estudos relatam que a espécie possui propriedades antimicrobiana, antiparasitária, anti-inflamatória e antioxidante. Ainda são sugeridos benefícios cardiovasculares através da redução dos níveis sanguíneos de glicose, do colesterol sérico e da pressão sanguínea (RANASINGHE et al., 2012). Para o extrato das folhas são descritas atividades antioxidante, antibiótica e antifúngica (WANG et al., 2008; DIAS, 2009; RANASINGHE et al., 2013).

O óleo essencial da canela tanto das folhas como das cascas é usado por seus efeitos antiespasmódicos, anti-inflamatório, antipirético, carminativo, antibacteriano, antisséptico, larvicida, miorelaxante, sedante, anti-hipertensivo e inseticida (GROSSMAN, 2005). Ao analisarem o óleo das folhas da canela, encontraram fenol e cariofileno, óxido cariofileno e eugenol como compostos majoritários (KIRAN et al., 2016; CASTRO e LIMA et al., 2013). Aldeído cinâmico e eugenol no óleo das cascas (KOKETSU et al. 1997; ANDRADE, 2012).

Em relação aos extratos das folhas, existem apenas alguns relatos sobre a composição química e a avaliação biológica *C. zeylanicum*, como por exemplo, a análise preliminar do extrato etanólico bruto que revelou a presença de heterosídeos fenólicos simples, flavonoides e saponinas (MORO et al. 2014).



Figura 1-*Cinnamomum zeylanicum* Blume.

1.3. Ensaio de atividade antioxidante

A relação observada entre a etiologia de diversas doenças e a ação de espécies reativas de oxigênio em excesso no organismo têm despertado o interesse na descoberta de novos antioxidantes de origem natural. A detecção de atividade antioxidante em extratos brutos de plantas pode fornecer um grande número de metabólitos capazes de captar os radicais livres (EVANS, 1996).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, dentre essas destaca-se o sistema que consiste em avaliar a facilidade com que o radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) recebe um átomo de hidrogênio de uma amostra potencialmente antioxidante (Figura 2). Em solução o radical DPPH apresenta uma cor violeta muito intensa que é consequência do elétron desemparelhado. O radical DPPH absorve em 517 nm e um decréscimo neste comprimento de onda ocorre pela estabilização do radical através do recebimento de um hidrogênio radicalar da amostra antioxidante, que é indicada pela mudança da cor da solução (HOSTETTMANN, 2013).

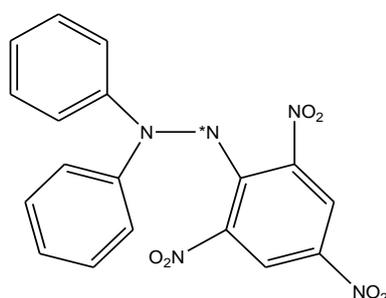


Figura 2- Estrutura do DPPH

Outra técnica frequentemente empregada é a análise por cromatografia em camada delgada utilizando β -caroteno como revelador, o qual consiste numa abordagem preliminar (PRATT e MILLER, 1984) amplamente empregada na detecção de produtos naturais com propriedade antioxidante. Esta técnica apresenta muitas vantagens como fácil execução e compreensão, simplicidade, versatilidade e baixo custo. O β -caroteno é um pigmento natural encontrado em várias frutas e vegetal da classe dos carotenóides (Figura 3), que atua como antioxidante devido às suas ligações duplas conjugadas, que são suscetíveis à oxidação sob ação de luz ou oxigênio (ZERAIK e YARIWAKE, 2008).

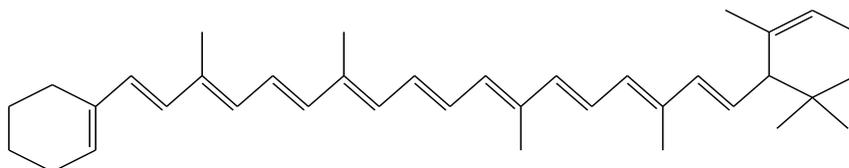


Figura 3- Estrutura do β -caroteno

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo geral realizar triagem fitoquímica e avaliação da atividade antioxidante das folhas de *C. zeylanicum* que ocorre na região sul de Mato Grosso do Sul.

2.2. Objetivos específicos

- Obter e particionar o extrato etanólico bruto das folhas;
- Realizar testes analíticos qualitativos para identificar os principais grupos orgânicos presentes nas frações obtidas das partições;
- Submeter as frações obtidas ao teste de atividade antioxidante por meio do ensaio com β - caroteno e DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila).

3. METODOLOGIA

3.1. Coleta e identificação do material vegetal

O material vegetal (Figura 3) foi coletado em abril de 2015 na região de Mundo Novo/MS. A identificação em nível de espécie foi realizada pelo Dr. Marcelo Leandro Bueno (Departamento de Botânica/UFMG).



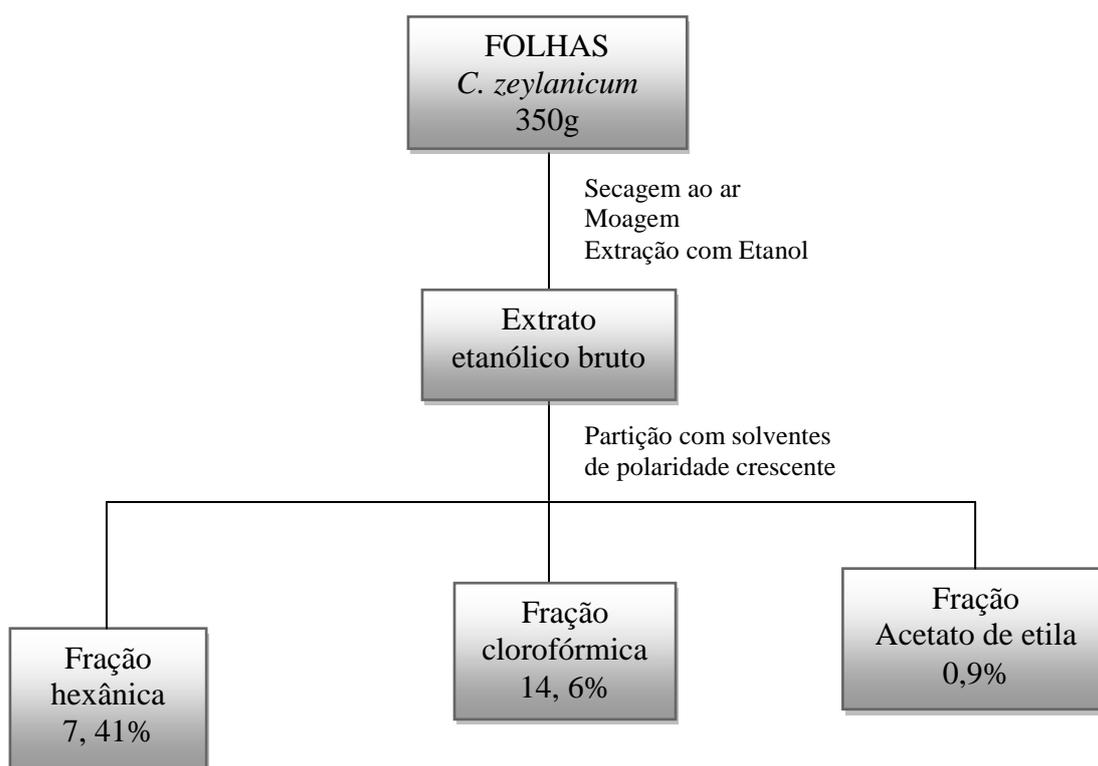
Figura 3-*Cinnamomum zeylanicum* Blume

3.2. Obtenção e partição do extrato etanólico bruto das folhas de *C. zeylanicum*

As folhas foram submetidas à secagem ao ar, moídas e pesadas, resultando em aproximadamente 350 g de folhas. Posteriormente foram extraídas exaustivamente com etanol, a frio. O extrato resultante foi filtrado, concentrado até consistência xaroposa e submetido à partição com solventes de grau PA de polaridade crescente (hexano, clorofórmio, acetato de etila). O rendimento obtido em relação à massa do extrato etanólico bruto das folhas para a fração hexânica foi de 7,41% fração clorofórmica de

14,6% e fração acetato de etila de 0,9% (Esquema 1). O extrato etanólico bruto das folhas, juntamente com as frações resultantes das partições foram então submetidos a triagem fitoquímica (testes analíticos qualitativos) e aos testes de atividade antioxidante com β -caroteno e com DPPH (Esquema 1).

Esquema 1- Obtenção e partição do extrato etanólico bruto das folhas de *C. zeylanicum*.



3.3. Triagem fitoquímica - Testes analíticos qualitativos

O extrato etanólico bruto e frações particionadas das folhas de *C. zeylanicum* foram submetidos a triagem fitoquímica preliminar para detecção das principais classes de metabólitos secundários, através de reações químicas que resultam no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado, característico para cada classe de substâncias (SIMÕES et al., 2007).

Realizaram-se testes para alcaloides com os reativos de Bouchardat, Dragendorff, Wagner e Mayer, triterpenos e/ou esteroides através da reação de Lieberman-Burchard, taninos usando cloreto férrico, ácidos orgânicos com reativo de Páscová, sesquiterpenlactonas e outras lactonas utilizando os reagentes cloridrato de

hidroxilamina e cloreto férrico. Flavonoides por meio da reação Shinoda, catequinas com vanilina, purinas usando peróxido de hidrogênio, açúcares redutores com reativo de Fehling, polissacarídeos usando o reagente Lugol e teste para saponinas.

3.4. Teste de atividade antioxidante utilizando β -caroteno

A análise por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando β -caroteno como revelador tem sido amplamente empregado na detecção de produtos naturais com propriedade antioxidante (CORSINO et al., 2003). Esta técnica apresenta muitas vantagens como fácil execução e compreensão, simplicidade, versatilidade e baixo custo (ZERAİK e YARIWAKE, 2008).

Em placas de cromatografia em camada delgada foram aplicados 3 μ L do extrato etanólico bruto obtido das folhas de *C. zeylanicum* e das frações particionadas. Após a secagem, as placas foram borrifadas com a solução de β -caroteno na concentração 0,2 g.L⁻¹ em diclorometano preparado previamente conforme técnica descrita na literatura (ZERAİK e YARIWAKE, 2008). As placas foram deixadas à temperatura ambiente até o descoramento total da cor laranja do revelador, e o aparecimento de manchas alaranjadas características de substâncias com atividade antioxidante.

3.5. Ensaio de atividade antioxidante utilizando 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH)

Nesse ensaio para determinar a atividade antioxidante foi utilizado DPPH com resposta qualitativa (HOSTETTMANN et al., 2013). O extrato e frações particionadas, obtidos das folhas de *C. zeylanicum* foram depositados em placas de cromatografia em camada delgada de sílica gel e realizou-se a separação com um sistema de solvente apropriado, tal como no ensaio com β -caroteno. Cada placa foi aspergida com solução metanólica de DPPH na concentração 0,4 mM (SOUSA et al., 2007). O aparecimento de manchas amarelas por contraste com o fundo roxo é característico da presença de substâncias com atividade antioxidante.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Triagem fitoquímica - Testes analíticos qualitativos

O extrato etanólico bruto das folhas de *C. zeylanicum* e frações obtidas da partição desse extrato foram analisados quimicamente para se conhecer o perfil de seus principais grupos de metabólitos secundários; dentre os quais podemos citar: alcaloides, triterpenos, taninos, ácidos orgânicos sesquiterpenos, flavonoides, catequinas, purinas, açúcares redutores, polissacarídeos e saponinas.

Tais metabólitos além de muito diversificados, são comercialmente importantes, especialmente para o setor farmacêutico, o qual visa principalmente o grande número de substâncias farmacologicamente ativas.

De acordo com Simões et al., (2007), a análise fitoquímica preliminar é utilizada para identificar os grupos de compostos secundários, quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, ou pode ser relevante para direcionar a investigação para o isolamento e a elucidação estrutural das substâncias. Neste estudo, as informações preliminares sobre a composição química da espécie é de fundamental importância, pois após pesquisa bibliográfica foram encontrados apenas alguns estudos químicos e biológicos referentes aos extratos das folhas de *C. zeylanicum*.

Assim, o resultado da triagem fitoquímica preliminar do extrato etanólico bruto das folhas de *C. zeylanicum* e das frações obtidas da partição desse extrato possibilitou identificar, principalmente sob observação de coloração e/ou precipitado característico, a presença dos grupos alcaloides, triterpenos e/ou esteroides, taninos e ácidos orgânicos.

No extrato etanólico e nas suas partições, os testes fitoquímicos demonstraram ainda ausência de alguns grupos orgânicos: flavonoides, catequinas, purinas, açúcares redutores, polissacarídeos e saponinas; conforme a (tabela 1).

O grupo das sesquiterpenolactonas e outras lactonas foi detectado apenas na fração acetato de etila.

Tabela 1- Classe dos metabólitos secundários presentes no extrato etanólico bruto das folhas de *C. zeylanicum* e das frações obtidas da partição desse extrato.

Classe de metabólitos secundários	Extrato etanólico bruto	Fração Hexânica	Fração Clorofórmica	Fração Acetato de etila
Alcaloides	+	+	+	+
Triterpenos e/ou esteroides	+	+	+	+
Taninos	+	+	+	+
Ácidos orgânicos	+	+	+	+
Sesquiterpenlactonas e outras lactonas	-	-	-	+
Flavonoides	-	-	-	-
Catequinas	-	-	-	-
Purinas	-	-	-	-
Açúcares redutores	-	-	-	-
Polissacarídeos	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-

O resultado positivo para alcaloides foi constatado por reações específicas: Reativo de Bouchardat, Dragendorff, Mayer e Wagner.

Nos testes fitoquímicos realizados, houve formação de precipitado laranja avermelhado com o reativo de Bouchardat, precipitado laranja com o reativo Dragendorff, precipitado creme com o reativo de Mayer e precipitado marrom para o reativo de Wagner evidenciando, portanto, a presença desse tipo de substância (Figura 4).

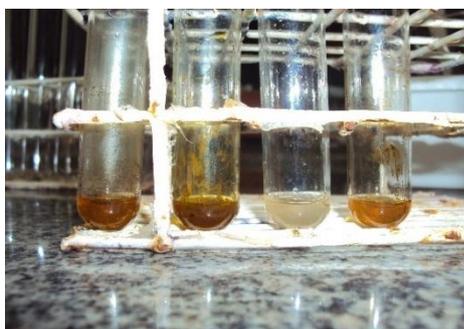


Figura 4- Teste analítico para alcaloides com o extrato etanólico bruto das folhas e frações de *C. zeylanicum*

Metabólitos secundários pertencentes ao grupo dos alcaloides são compostos nitrogenados estruturalmente bastante diversificados (Figura 5) e caracterizam-se por apresentar uma ampla gama de atividades biológicas como anticolinérgica, emética, antimalárica, anti-hipertensiva, hipnoanalgésica, amebicida, estimulante do SNC, antiviral, miorelaxante, anestésica, antitumoral, antitussígeno, colinérgica, dentre outras (GARCEZ et al., 2011; BARBOSA FILHO et al., 2006). No entanto, apesar de todas essas propriedades curativas atribuída a esse grupo de metabólitos secundários, suas concentrações são muito variáveis e por esse motivo as plantas contendo alcaloides devem ser consideradas potencialmente tóxicas (ROBBERS et al., 1997).

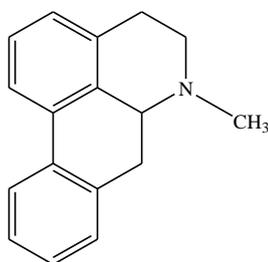


Figura 5- Esqueleto básico de alcaloides do tipo aporfínico

Na análise de triterpenos e/ou esteroides observou-se na reação uma sucessão de cores, do azul evanescente seguido de verde persistente, confirmando a presença desse grupo de compostos (Figura 6).

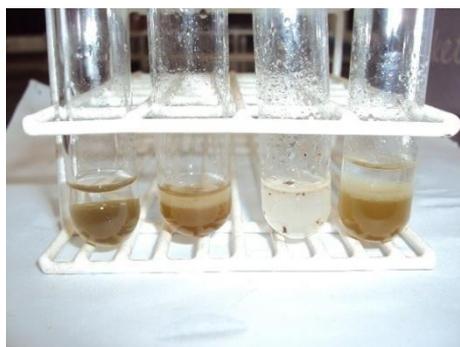


Figura 6- Teste analítico para triterpenos e/ou esteroides com o extrato etanólico bruto das folhas e frações de *C. zeylanicum*

Triterpenos e/ou esteroides pertencem a classe dos terpenos (Figura 7), se destacando por sua vasta aplicação farmacêutica e complexidade estrutural (FIGUEIREDO, 1992). Apresentam atividade antimicrobiana, antileishmanicida, anti-

inflamatória e analgésica (SILVA, 2005). Plantas ricas em esteroides podem também ser empregadas como moléculas de partida para a obtenção de fármacos esteroidais semi-sintéticos, como os anticoncepcionais, anti-inflamatórios esteroidais e anabolizantes (OLIVEIRA, 2007).

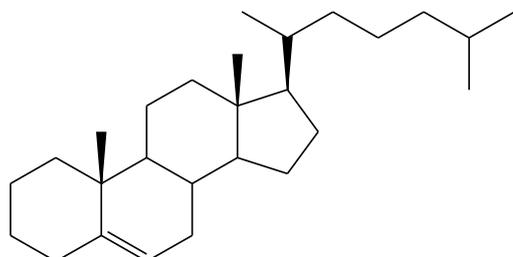


Figura 7- Esqueleto básico de esteroides

Com relação aos compostos fenólicos, os resultados foram negativos para flavonoides, porém positivos para taninos. Para esse grupo, observou-se ao final da reação, utilizando o reagente cloreto férrico, o surgimento da cor verde escuro. Os taninos são compostos fenólicos de estrutura variável (Figura 8). Possuem efeitos como anti-séptico, anti-inflamatório, anti-hemorrágico, entre outros. Não possuem toxicidade em altas doses, porém podem causar danos ao tubo digestivo como epigastralgia e cólicas abdominais (ALVES, et al., 2000).

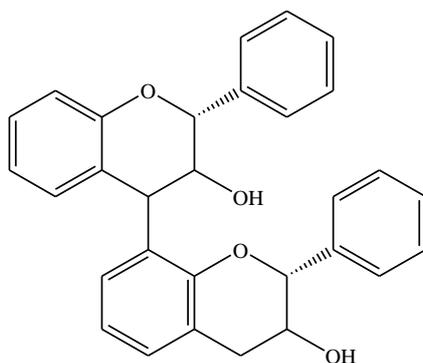


Figura 8- Esqueleto básico de taninos do tipo condensado

Na análise de sesquiterpenlactonas e outras lactonas foi possível observar coloração violeta com adição de cloreto férrico constatando assim, a presença dessa classe de compostos. As sesquiterpenlactonas e outras lactonas pertencem a classe dos sesquiterpenoides com um anel lactônico (Figura 9), constituem um grupo de metabólitos secundários bioativos amplamente distribuídos em plantas de diferentes

famílias (MARTINEZ, 2002). Em quantidades moderadas, a sesquiterpenlactona atua na redução de inflamações, podendo ajudar na prevenção e cura da aterosclerose (NAKAGAWA et al., 2007). Já na análise de ácidos orgânicos houve mudança de cor do reativo de Páscová evidenciando a presença desses tipos de compostos relativamente comuns em plantas.

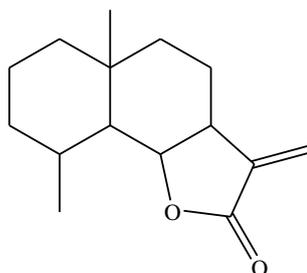


Figura 9- Esqueleto básico de sesquiterpenlactonas.

A constatação dos grupos alcaloides, triterpenos e/ou esteroides e taninos no extrato e frações da espécie em estudo difere de investigações prévias relatadas para essa espécie coletada em outra região, onde a análise preliminar do extrato etanólico bruto das folhas revelaram a presença de heterosídeos fenólicos simples, flavonoides e saponinas (MORO et al. 2014).

No entanto, outras espécies do gênero também foram observados esses tipos de compostos. As cascas e madeira de *C. triplinerve* apresentaram alcaloides, triterpenos e/ou esteroides e as folhas triterpenos e/ou esteroides e lactonas terpênicas (SUAREZ et al., 2012), tal como foi encontrado nas folhas da planta estudada. A presença de terpenoides e taninos foi relatada para extratos etanólicos de outras sete espécies de *Cinnamomum*, mas não foi verificada a presença de alcaloides (MARIDASS e GHANTHIKUMAR, 2008).

Alguns trabalhos relatam ainda essas classes de compostos para demais espécies de Lauraceae pertencentes, principalmente aos gêneros *Ocotea* e *Nectandra*. Representantes do gênero *Ocotea* produzem diversos tipos de alcaloides, os quais comumente apresentam diferentes bioatividades, destacando-se citotoxicidade frente a inúmeras linhagens de células humanas tumorais (GARCEZ et al., 2011). Alcaloides também foi encontrado em extratos e subfrações de *Nectandra megapotamica* (MALLMANN et al., 2012), havendo inclusive na literatura relatos sobre alcaloides

isolados das cascas do caule de *N. megapotamica* coletada na região do Cerrado, em Mato Grosso do Sul (GARCEZ et al., 2009).

4.2. Ensaios de atividade antioxidante utilizando β -caroteno e DPPH

A propriedade antioxidante do extrato etanólico bruto das folhas de *C. zeylanicum* e das frações obtidas da partição do extrato foi avaliada por autografia com β -caroteno e DPPH. As placas de cromatografia em camada delgada de sílica gel com extratos e frações reveladas com β -caroteno apresentaram uma coloração fracamente alaranjada. Porém, quando reveladas com DPPH apresentaram uma coloração amarela típica. Portanto os resultados obtidos pelo método bioautográfico com DPPH revelaram a presença de substâncias com propriedades antioxidantes como os compostos fenólicos taninos e a classe dos ácidos orgânicos identificados nos extratos e frações das folhas de *C. zeylanicum*, tais compostos são incluídos na categoria de bloqueadores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da auto-oxidação (SOUSA et al., 2007; SOARES, 2002).

Atividade antioxidante significativa também foi descrita previamente para outros extratos de *C. zeylanicum*, como por exemplo, extratos dos frutos (JAYAPRAKASHA et al. 2007; DVORACKOVA et al., 2015), o óleo volátil das cascas (RANASINGHE et al. 2012; ANDRADE et al. 2012) e das folhas (LIMA et al., 2005).

Extratos de outras espécies do gênero, tais como os extratos das folhas de *C. tamala* e de *C. triplinerve* (AKTER et al., 2015; THAMIZHSELVAM et al., 2012; ARGOTI et al., 2011) e o extrato dos frutos de *Cinnamomum cassia* revelaram potencial antioxidante (DVORACKOVA et al., 2015). Outro trabalho realizado com o extrato alcoólico de *C. triplinerve*, também apresentou atividade antioxidante (ARGOTI et al., 2011).

Para *C. zeylanicum* outras atividades biológicas são relatadas. Efeito analgésico foi observado para o extrato hidroalcoólico (ARZI et al. 2011). Atividade antifúngica para o extrato metanólico das cascas e potencial antimicrobiano para o extrato aquoso (RIBEIRO et al., 2007). Atividade antibacteriana para o óleo das cascas (ANDRADE et al. 2012) e para o óleo das folhas consirável inibição da atividade das enzimas acetilcolinesterase e butilcolinesterase (KIRAN et al. 2016) e atividade antifúngica do óleo das folhas (CASTRO e LIMA, 2016).

5. CONCLUSÃO

Os testes analíticos preliminares realizados neste trabalho indicaram a presença de alcaloides, triterpenos e/ou esteroides, taninos, ácidos orgânicos e sesquiterpenlactonas e outras lactonas nas folhas de *C. zeylanicum* coletada em Mundo Novo/MS. Nos testes de atividade antioxidante com β -caroteno e DPPH foi possível observar atividade antioxidante para as folhas da espécie e sugerem que esta atividade está relacionada com a presença das classes de metabólitos evidenciadas para todas as amostras testadas.

Os resultados encontrados podem ainda ter relação com o uso medicinal da planta pela população local, uma vez que a maioria dos grupos metabólitos encontrados apresentam atividades farmacológicas já citadas na literatura, porém para compreender melhor seu significado e aplicação, faz-se necessário o isolamento e caracterizar as substâncias presentes nas folhas de *C. zeylanicum* que contribuem principalmente para sua atividade antioxidante.

6. REFERÊNCIAS

- ALVES, T. M. D.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA, A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, 2000, p. 367-373.
- ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. 2007. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacoly**. v. 109, p. 464-471.
- ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. G. C.; BATISTA, L. R.; MALLET, A. C. T.; MACHADO, S. M. F. 2012. Essential oils of *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopo gonnardus* and *Zingiber officinale*, composition, antioxidant and antibacterial activities. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, p. 399-408.
- ARAÚJO, E.C.; GUERRA, R. A.; CORIOLANO, ARAÚJO, A. T.; ARAÚJO, E. C. 2007. Use of medicinal plants by patients with cancer of public hospitals in João Pessoa (PB). **Revista Espaço para a Saúde**, v. 8, p. 44-52.
- ARGOTI, J. C.; SALIDO, S.; LINARES-PALOMINO, P. J.; RAMÍREZ, B.; INSUASTYA, B.; ALTAREJOSC, J. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of a selection of wild-growing Colombian plants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, 2011, p. 2399-2406.
- ARZI A.; SARKAKI, A.; AGHEL, N.; NAZARI, Z.; SAEIDNEJAD, S. Study of analgesic effect of hydroalcoholic extract of *Cinammom*. **Jundishapur Scientific Medical Journal**, 2011, v. 10, p. 272-279.
- AHMAD, M.; LIMA, C. P.; AKOWUAHB, A. G.; ISMAIL, N.; HASHIMA, M. A.; HORA, S. Y.; ANGA. L. F.; YAMA, M. F. Safety assessment of standardized methanol extract of *Cinnamomum burmannii*. **Phytomedicine**, v. 20, 2013, p. 1124-1130.
- AMARAL, M. F. Z. J.; BARA, M. T. F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, 2005, p. 5-8.
- AKTER, S.; ALI, M. A.; BARMAN, R. K.; RAHMAN, B. M.; IMAM, M.; WAHED, I. In vitro antioxidant and cytotoxic activity of ethanolic extract of *Cinnamomum tamala* (Tejpat) leaves. **International Journal of Pharma Sciences and Research**, v. 6, 2015, p. 532-536.
- BANDAR, A. D. Pharmaceutical applications and phytochemical profile of *Cinnamomum burmannii*. **Pharmacognosy Reviews**, v. 6, 2012, p. 125-131.
- BARBOSA FILHO, J. M.; PIUVEZAM, M. R.; MOURA, M. D.; SILVA, M. S.; LIMA, K. V. B.; CUNHA, E. V. L.; FECHINE, I. M.; TAKEMURA, O. S. Antiinflamatory activity of alkaloids: a twenty-century review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, 2006, p. 109-134.
- BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN J. R.; TESSMANN, DAURI J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de

fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia brasileira**, vol.29, 2004, p. 128-134.

CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. Anti-*Candida* activity and chemical composition of *Cinnamomum zeylanicum* blume essential oil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 2013, v. 56, p. 749-755.

CECHINEL FILHO, V. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, 1998, p. 99-105.

CHAE, H. S.; KHIEV, P. HYEONG-KYULEE, H. K.; OH, S. R.; CHIN, Y. W. Anti-allergic effect of a chloroform-soluble extract of *Cinnamomum cambodianum* in bone marrow-derived mast cells. **Immunopharmacol Immunotoxicol**, v. 34, 2012, p. 639-644.

CORSINO, J.; SILVA, D. H. S.; ZANONI, M. V. B.; BOLZANI, V. S.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M.; FURLAN, M. 2003. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 913-916.

DANDAPAT, S.; KUMAR, M.; AMIT KUMAR, A.; SINHA, M. P. 2013. Antipathogenic efficacy of methanolic leaf extract of *Cinnamomum tamala* (buch-ham.) and *Aegle marmelos* with their nutritional potentiality. **The Bioscan**, v. 8, p. 635-638.

DIAS, V. L. N. Fitodisponibilidade de metais, caracterização nutricional, constituição química, avaliação da atividade antioxidante e antibacteriana do óleo essencial extraído das folhas da *Cinnamomum zeylanicum* Breyn. Tese de doutorado. João Pessoa, Universidade Federal da Paraíba, 2009.

DIGHE, V. V.; GURSALE, A. A.; CHAREGAONKAR, G. A. Quantitation of Eugenol, Cinnamaldehyde and Isoeugenol from *Cinnamomum tamala* Nees and Eberm. leaf powder and *Cinnamomum zeylanicum* Breyn stem bark powder by LC. **Chromatographia**, v. 70, 2009, p. 1759-1762.

DVORACKOVA, E.; SNOBLOVA, M.; CHROMCOVA, L.; HRDLICKA, P. Effects of extraction methods on the phenolic compounds contents and antioxidant capacities of cinnamon extracts. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, 2015, p. 1201-1207.

EVANS, C. A. R.; MILLER, N. J.; BOLWELL, P. G.; BRAMLAEY, P. M.; PRIDHAM, J. B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research**, v. 22, 1995, p. 375-383.

FARAH, H. S.; NAZLINA, I.; YAACOB, W. A. Biological activities of aqueous extract from *Cinnamomum porrectum*. **AIP Conference Proceedings**, v. 1571, 2013, p. 250-253.

FIGUEIREDO, A. C. S. *Achillea mille folium*; **Produção de metabólitos secundários in vitro e em vivo**. Tese de doutorado. Lisboa: Universidade de Lisboa, 1992.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; HAMERSKI, L.; MIGUITA, C. H. Fenilpropanóides e outros constituintes bioativos de *Nectandra megapotamica*. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, 2009, p. 407-411.

GARCEZ, F. R.; DA SILVA, A. F. G.; GARCEZ, W. S.; LINCK, G.; MATOS, F. M. C.; SANTOS, E. C.; QUEIROZ, L. M. Cytotoxic aporphine alkaloids from *Ocotea acutifolia*. **Planta Medica**, v. 77, 2011, p. 383-387.

GOGOI, B.; KAKOTI, B. B.; BORA, N. S.; YADAV, P. *In vitro* antihelmintic activity of bark extract of *Cinnamomum bejolghota* (Buch.-Ham.) in Indian adult earthworm (*Pheretima posthuma*). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, 2014, p. 924-927.

GROSSMAN, L. **Óleos essenciais na culinária, cosmética e saúde**. São Paulo: Optonline, 2005. 300 p.

HAN, Y. Y.; JUNG, H. W.; BAE, H. S.; KANG, J.; PARK, Y. Y. The extract of *Cinnamomum cassia* twigs inhibits adipocyte differentiation via activation of the insulin signaling pathway in 3T3-L1 preadipocytes. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, 2013. p. 961-967.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. EDUFSCAR, São Carlos, 2013.

JAYAPRAKASHA, G. K., NEGI, P. S., JENA, B. S., RAO, J. M. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, 2007, p. 330-336.

KIRAN S., KUJUR, A.; PRAKASH, B. Assessment of preservative potential of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil against food borne molds, aflatoxin B1 synthesis, its functional properties and mode of action. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 2016, v. 37, p. 184-191.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L.; GODOY, R.; LOPES, L. O.; DAISE, MORSBACH, N. Óleos essenciais de cascas e folhas de canelade (*Cinnamomum verum* Presl) cultivada no paraná. **Ciências e tecnologia de alimentos**, v. 17, 1997, p. 281-285.

LIMA, M. P.; ZOGHBI, M.G.; ANDRADE, E. H.; SILVA, T. M.; FERNANDES, C. S. Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum blume* (Lauraceae). **Acta amazônica**, v. 35, 2005. p. 363-366.

MARIDASS, M.; GHANTHIKUMAR, S. Antiinflammatory activity of *Cinnamomum keralaense* bark extract. **Pharmacologyonline**, v. 3, 2008, p. 322-326.

MARTINEZ, M. A. 2002. **Sesquiterpenlactonas**. Medellín: Universidad de Antioquia-Facultad de Química Farmacéutica: 1-5p.

MATHEW S, ABRAHAM T. E. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. **Food and Chemical Toxicology**, 2006, v. 44, p. 198-206.

MALLMANN, V. 2012. **Análise fitoquímica das folhas de *Nectandra* sp. (Lauraceae) que ocorre na região sul de Mato Grosso do Sul.** Anais do Encontro de Iniciação Científica - ENIC, n. 4. Dourados/MS.

MUSTAFA, F. ; HASSAN, Z.; YUSOF, N. A.; RAZAK, K. N. A.; ASMAWI, M. Z. 2014. Antidiabetic and antihyperlipidemic potential of standardized extract, fraction and subfraction of *Cinnamomum iners* leaves. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, p. 220-225.

MORO, J.; DEUSCHLE, V. C. K. N.; LUDWIG, R. R.; TOLENTINO, S. S.; SILVA, C. A.; SILVA, E. E B.; DEUSCHLE, R. A. N. Análise fitoquímica preliminar de extratos obtidos das folhas de *Cinnamomum zeylanicum* Blume. XX Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão. UNICRUZ, Rio Grande do Sul, 2014.

NAKAGAWA, M.; OHNO, T.; MARUYAMA, R.; OKUBO, M.; NAGATSU, A.; INOUE, M.; TANABE, H.; TAKEMURA, G.; MINATOGUCHI, S.; FUJIWARA. H. 2007. Sesquiterpene lactone suppresses vascular smooth muscle cell proliferation and migration via inhibition of cell cycle progression. **Biological and Pharmaceutical**, v. 30, p. 1754-1757.

NGOC, T. M.; KHOI, N. M.; HA, D. T.; NHIEM, N. X.; TAI, B. H.; DON, D. V. Xanthine oxidase inhibitory activity of constituents of *Cinnamomum cassia* twigs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, 2012, p. 4625-4628.

OLIVEIRA, B. H. Obtenção de novos fármacos através da biotransformação de produtos naturais. In: YUNES, R. A.; CHECHINEL FILHO, V (Org.). **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia.** 1 Ed. Itajaí: UNIVALI, 2007.

PRATT, D. E.; MILLER, E. E. A flavonoid antioxidant in Spanish peanuts. **Journal of the American Chemical Society**, v. 61, 1984, p. 1064-1068.

RAMSHINI, H.; HABIBI, A.E.; ARYANEJAD, S.; RAD, A. Effect of *Cinnamomum verum* extract on the amyloid formation of hen egg-white lysozyme and study of its possible role in Alzheimer's disease. **Basic and Clinical Neuroscience**, v. 6, 2015, p. 29-37.

RANASINGHE, P.; JAYAWARDANA, R.; GALAPPATHTHY, P.; CONSTANTINE, G. R.; VAS GUNAWARDANA, N.; KATULANDA, P. Efficacy and safety of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) as a pharmaceutical agent in diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Diabetic Medicine**, 2012, v. 29, p. 1480-1492.

RANASINGHE, P.; PIGERA, S. G. A.; PREMAKUMARA, S.; GALAPPATHTHY, P.; CONSTANTINE G. R.; KATULANDA, P. Medicinal properties of 'true' cinnamon

(*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. **BMC complementary and alternative medicine**, 2013, v. 13, p. 275-284.

RIBEIRO, S. S. S.; SANTOS, P. A. D.; SANTOS, G. Q.; MARINHO, R. S.; KORRES, A. M. N. Ação do extrato aquoso de canela-da-índia (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) sobre *Escherichia coli*. **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, Minas Gerais, 2007.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia Farmacobiocologia**. São Paulo, Ed Premier, 1997.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA JUNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, 2007, p.351-355.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado na APG II**. 2 Ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2008.

SILVA, M. M. C. **Transformações químio-enzimáticas em esteroides**. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Faculdade de Farmácia. Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. 6 Ed. UFRGS: Florianópolis, 2007.

SUÁREZ, C. L. E. C.; MEZA, D. L. M.; CABALLERO, J. M. A.; VILLAMIZAR, V. E. M.; BARRERA, C. E. D. C. Actividad acaricida de extractos de lauráceas sobre los ácaros intradomiciliarios *Dermatophagoides farinae* y *Blomia tropicalis*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 17, 2012, p. 308-319.

SONG, J.; PRASAD G. B.; LEE, H.; KIM, H. Anti-allergic effect of *Cinnamomum cassia* extract in mice. **Planta Medica** v. 78, 2012, p. 1231-1231.

SOARES, S. E. 2002. Ácidos fenólicos como antioxidantes Phenolic acids as antioxidants. **Revista de Nutrição**, v. 15, p. 71-81.

THAMIZHSELVAM N.; SOUMYA S.; SANJAYAKUMAR Y. R.; SALINICHANDRAN K.; PALANT, V.; JAYA, N. 2012. Anti-Inflammatory, analgesic and antipyretic activity of methanolic extract of *Cinnamomum tamala* (Nees) in experimental animal models. **International Journal of Bioassays**, v.1, p. 26-29.

YEH, C. F.; CHANG, J. S.; WANG, K. C.; SHIEH, D. E.; CHIANG, L. C. Water extract of *Cinnamomum cassia* Blume inhibited human respiratory syncytial virus by preventing viral attachment, internalization, and syncytium formation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 147, 2013, p. 321-326.

ZERAIK, M. L.; YARIWAKE, J. H. Extração de β -caroteno de cenouras: uma proposta para disciplinas experimentais de Química. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, 2008, p. 1259-1262.

WANG, H-F.; WANG, Y-K. YIH, K-W. DPPH free-radical scavenging ability, total phenolic content, and chemical composition analysis of forty-five. **Journal of Cosmetic Science**, v.59, p. 509-522, 2008.