



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

CARLA CATIUSCIA FERREIRA GOMES

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO DE MANGACV. TOMMY ATKINS
E AVALIAÇÃO DO SEU EFEITO BIOLÓGICO EM MODELO DE LESÃO
GÁSTRICA INDUZIDA POR NAPROXENO**

**FORTALEZA
2016**

CARLA CATIUSCIA FERREIRA GOMES

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO DE MANGA CV. TOMMY ATKINS E
AVALIAÇÃO DO SEU EFEITO BIOLÓGICO EM MODELO DE LESÃO GÁSTRICA
INDUZIDA POR NAPROXENO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo

FORTALEZA
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G613c Gomes, Carla Catiúscia Ferreira.

Caracterização química do extrato de manga cv. Tommy Atkins e avaliação do seu efeito biológico em modelo de lesão gástrica induzida por Naproxeno / Carla Catiúscia Ferreira Gomes. – 2017.

94 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.

1. Mangifera indica L.. 2. Compostos fenólicos. 3. Danos oxidativos. 4. Anti-inflamatórios não-esteróides. 5. Resíduo. I. Título.

CDD 664

CARLA CATIUSCIA FERREIRA GOMES

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO DE MANGA CV. TOMMY ATKINS E
AVALIAÇÃO DO SEU EFEITO BIOLÓGICO EM MODELO DE LESÃO GÁSTRICA
INDUZIDA POR NAPROXENO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de alimentos.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Luciana de Siqueira Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Antoniella Souza Gones Duarte
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Monica Maria de Almeida Lopes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Lívia Xerez Pinho
Embrapa Agroindústria Tropical

AGRADECIMENTO

A Deus, por sua presença em todos os momentos da minha vida, me fortalecendo nas adversidades e me conduzindo com amor e misericórdia.

À Universidade Federal do Ceará.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

À CAPES, pelo financiamento deste projeto.

À EMBRAPA Agroindústria Tropical, pela disponibilidade de infraestrutura.

Ao professor Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo, por sua orientação, por acreditar no projeto, e pela gentileza no reconhecimento de meus esforços.

À professora Dra. Luciana de Siqueira Oliveira, que contribuiu fundamentalmente para a concretização deste trabalho, com valiosas sugestões, acreditando em meu potencial e neste projeto desde o princípio.

Ao Dr. Kirley Canuto, pela dedicação a este projeto e pelo acolhimento em seu laboratório. Ao Dr. Paulo Riceli, por toda a disponibilidade e atenção que me foram dadas no decorrer das análises. E a todos os colaboradores do Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais da Embrapa, os quais, com gentileza, atenção e grande competência, contribuíram brilhantemente para o enriquecimento do trabalho e de meus conhecimentos.

À professora Dra. Antoniella Souza Gomes Duarte, por toda a transmissão de conhecimento, dedicação, disponibilidade e gentileza, por apostar neste projeto e pelo espaço cedido no Núcleo de Estudos em Microscopia e Processamento de Imagem da UFC,

À Dra. Lívia, por toda a motivação e amizade cultivada durante minha passagem no Laboratório de Frutas e Hortaliças da UFC.

Aos participantes da Banca Examinadora, pela enorme contribuição com suas valiosas sugestões no desenvolvimento e escrita deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Paulo Mendes e Seu Luís, por toda a disponibilidade e gentileza.

Aos queridos amigos Antônia Neves, Lianderson Matheus, Ana Sheila Queiroz e Dainesy Martins, os quais foram essenciais no desenvolvimento das análises, alcance dos resultados e consolidação desta pesquisa, e a todos os demais amigos e colegas que direta ou indiretamente contribuíram com este projeto.

Ao meu avô Wilson (em memória), que sempre me amparou e me motivou em todos os projetos de minha vida.

À minha família, por todo o apoio e cuidado que tem por mim, estando ao meu lado em todos os desafios que, com determinação aceito. E especialmente aos meus irmãos, que são minhas alegrias de todos os dias e que estão, absolutamente, sempre ao meu lado.

Ao meu namorado, Júnior, que sempre acreditou em meu potencial, às vezes muito mais do que eu mesma, me incentivando a persistir, e me apoiando em todas as minhas decisões.

“Sei que Deus tem algo para mim,
mas tenho que dar o meu melhor aqui”
Guilherme de Sá

RESUMO

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma fruta tropical originária da Índia, adaptada à região Nordeste do Brasil desde o século XVI. Possui elevado valor nutricional e comercial. É uma rica fonte de compostos bioativos, dentre os quais se destacam os polifenóis, os carotenóides e a vitamina C. Neste estudo, objetivou-se avaliar o efeito anti-inflamatório e o antioxidante dos extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa da manga variedade ‘Tommy Atkins’ contra danos oxidativos no modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno. Foram adquiridas mangas no estágio de maturação maduro, separadas as cascas da polpa e liofilizadas essas partes. Os seguintes procedimentos foram realizados: extração hidroalcoólica de casca e de polpa liofilizadas; quantificação dos compostos bioativos; determinação da propriedade antioxidante dos compostos dos extratos hidroalcoólicos de casca e polpa de manga; avaliação da citotoxicidade dos extratos em análise *in vitro* (teste do MTT); identificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos através de análise por cromatografia líquida de ultra performance (UPLC®-QTOF); e avaliação antioxidante *in vivo* dos extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa de manga através da determinação do grau de peroxidação dos lipídios da membrana, com a quantificação do malondialdeído (MDA), determinação da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) e quantificação dos níveis de glutathione reduzida (GSH). Os extratos obtidos apresentam elevado conteúdo de compostos bioativos, contribuindo para sua atividade antioxidante. O teste de citotoxicidade demonstrou que os extratos não possuem efeito tóxico às células (cultura IEC-6). Foi detectada, através da análise cromatográfica (UPLC®-QTOF), a presença de compostos importantes que propiciam atividade antioxidante, como quercetina e mangiferina e ácido gálico. Esta pode ser comprovada através da análise *in vivo*, no modelo experimental de lesão gástrica induzida por naproxeno, onde os extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa de manga foram capazes de reduzir de forma significativa os níveis de MPO e de MDA, e de preservar os níveis de GSH. Portanto, através da atividade antioxidante apresentada no resultado do pré-tratamento com os extratos hidroalcoólicos de casca e de polpa de manga, conclui-se que ambos protegeram a mucosa gástrica contra injúrias causadas por agentes oxidativos desencadeados pelo uso do naproxeno, reduzindo significativamente as lesões, o que contribui para uma ação anti-inflamatória.

Palavras-chaves: *Mangifera indica* L. Compostos fenólicos. Danos oxidativos. Anti-inflamatórios não-esteróides. Resíduo.

ABSTRACT

Mango (*Mangifera indica* L.) is a tropical fruit from India, adapted to the Northeast region of Brazil since the sixteenth century. It has high nutritional and commercial value. It is a rich source of bioactive compounds, among which stand out the polyphenols, carotenoids and vitamin C. This study aimed to evaluate the anti-inflammatory and antioxidant of hydroalcoholic extracts of peel and pulp variety of mango 'Tommy Atkins' against oxidative damage in the gastric injury model induced by naproxen. Mangoes were acquired in the ripe stage, separate the peel and the pulp, and freeze-dried these parts. The following procedures were performed: hydroalcoholic extract of lyophilized peel and pulp; Quantification of bioactive compounds; the antioxidant property of the compounds of hydroalcoholic extracts of mango peel and pulp; evaluating the cytotoxicity of the extracts in vitro analysis (MTT test); Identification of phenolic compounds present in the extracts by analysis by ultra performance liquid chromatography (UPLC®-QTOF); and antioxidant in vivo evaluation of hydroalcoholic extracts of mango peel and pulp by determining of peroxidation levels of membrane lipids, with the quantification of malondialdehyde (MDA), determination of myeloperoxidase activity (MPO) and quantification of levels reduced glutathione (GSH). The extracts have a high content of bioactive compounds, contributing to its antioxidant activity. The cytotoxicity test showed that the extracts have no toxic effect to cells (IEC-6 culture). It was detected by ultra-performance liquid chromatographic analysis (UPLC®-QTOF), the presence of compounds that provide important antioxidant activity, such as quercetin, mangiferin, and gallic acid. This can be shown by in vivo analysis in an experimental model of a naproxen-induced gastric injury, where the hydroalcoholic extracts of mango peel and pulp were able to significantly reduce the levels of MPO and MDA, and to conserve GSH levels. Therefore, by presented antioxidant activity in the result of pretreatment with hydroalcoholic extracts of mango peel and pulp, it was concluded that both protected the gastric mucosa against injury caused by oxidative agents triggered using naproxen, significantly reducing the lesions, which contributes to an anti-inflammatory action.

Keywords: *Mangifera indica* L. Phenolic compounds. Oxidative damage. Non-steroidal anti-inflammatory. Waste.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|---|----|
| Figura 1 – | Ação neutralizante do antioxidante sobre o radical livre..... | 19 |
| Figura 2 – | Manga (<i>Mangifera indica</i> L.) var. Tommy Atkins..... | 25 |
| Figura 3 – | Estrutura química do naproxeno..... | 33 |
| Figura 4 – | Material fresco e liofilizado..... | 35 |
| Figura 5 – | Animais utilizados no modelo de lesão gástrica..... | 43 |
| Figura 6 – | Perfil cromatográfico obtido a partir do extrato da casca de manga..... | 52 |
| Figura 7 – | Perfil cromatográfico obtido a partir do extrato da polpa de manga..... | 57 |
| Figura 8 – | Avaliação do efeito protetor do extrato de casca de manga (ECM) e do extrato de polpa de manga (EPM) no modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno..... | 62 |
| Figura 9 – | Avaliação macroscópica da parede gástrica de camundongos pré-tratados com extrato de casca de manga (ECM) na lesão induzida por naproxeno | 63 |
| Figura 10 – | Avaliação macroscópica da parede gástrica de camundongos pré-tratados com extrato de polpa de manga (EPM) na lesão induzida por naproxeno | 64 |
| Figura 11 – | Fotomicroscopia do tecido gástrico de camundongos pré-tratados com extrato de casca de manga (ECM) na lesão induzida por naproxeno | 66 |
| Figura 12 – | Fotomicroscopia do tecido gástrico de camundongos pré-tratados com extrato de polpa de manga (EPM) na lesão induzida por naproxeno | 67 |
| Figura 13 – | Determinação da concentração de malondialdeído (MDA) na parede gástrica de camundongos previamente tratados com extrato de casca de manga (ECM) e extrato de polpa de manga (EPM) na gastropatia induzida por naproxeno | 68 |
| Figura 14 – | Determinação dos níveis de glutathiona (GSH) na parede gástrica de camundongos previamente tratados com extrato de casca de manga (ECM) e extrato de polpa de manga (EPM) na gastropatia induzida por naproxeno..... | 69 |
| Figura 15 – | Determinação dos níveis de mieloperoxidase (MPO) na parede gástrica de camundongos previamente tratados com extrato de casca de manga (ECM) e extrato de polpa de manga (EPM) na gastropatia induzida por naproxeno..... | 70 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno..... | 44 |
| Tabela 2 – Compostos bioativos dos extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa da manga (cv. Tommy Atkins), quantificados por espectrofotometria..... | 48 |
| Tabela 3 – Capacidade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa da manga (cv. Tommy Atkins), quantificados por espectrofotometria..... | 50 |
| Tabela 4 – Compostos identificados por UPLC®-ESI-TOFMS/MS (QTOF) em extrato hidroalcoólico de casca da manga (ECM) cv. Tommy Atkins em modo negativo..... | 53 |
| Tabela 5 – Compostos identificados por UPLC®-ESI-TOFMS/MS (QTOF) em extrato hidroalcoólico de polpa da manga (EPM) cv. Tommy Atkins em modo negativo..... | 58 |
| Tabela 6 – Ensaio de viabilidade celular (cultura IEC-6) para extrato da polpa da manga (EPM) expressa em densidade ótica (DO), a partir do ensaio MTT..... | 60 |
| Tabela 7 – Ensaio de viabilidade celular (cultura IEC-6) para extrato da casca da manga (ECM) expressa em densidade ótica (DO), a partir do ensaio MTT..... | 61 |
| Tabela 8 – Avaliação microscópica pelos critérios de Laine <i>et al.</i> (1988) da administração de extrato de casca de manga (ECM) ou extrato de polpa de manga (EPM) na lesão induzida por naproxeno | 65 |

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

| | |
|-----------------------------------|--|
| ¹O₂ | Oxigenio singlete |
| ATT | Atividade antioxidante total |
| CMC | Carboximetilcelulose |
| Cu²⁺ | Cobre |
| ECM | Extrato hidroalcoólico da casca de manga |
| EPM | Extrato hidroalcoólico da polpa de manga |
| ERO | Espécies reativas de oxigênio |
| GSH | Glutathiona |
| H₂O₂ | Peróxido de hidrogenio |
| HOCL | cido hipocloroso |
| MDA | Malondialdeído |
| MPO | Mieloperoxidase |
| MTT | [3-(4,5-dimethylthiazol, 2-yl)- 2,5-diphenyl-212 tetrazolium bromide]. |
| NADPH | Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxigenasse |
| NAP | Naproxeno |
| NO[•] | xido nítrico |
| O₂ | Oxigenio molecular |
| O₂[•] | Superóxido |
| OH[•] | Radical hidroxila |
| ONOO[•] | nion peroxinitrito |
| PET | Polifenóis extraíveis totais |
| RO[•] | Radical alcoxil |
| ROO[•] | Radical peroxil |
| SH | Grupo sulfidril |
| UPLC[®] | Cromatografia Líquida de ultra-alta performance |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 17 |
| 2.1 | Objetivo Geral..... | 17 |
| 2.2 | Objetivos específicos..... | 18 |
| 3 | REVISÃO DE LITERATURA..... | 18 |
| 3.1 | Processo oxidativo e sistema de defesa antioxidante..... | 18 |
| 3.2 | Compostos fenólicos e suas propriedades biológicas..... | 20 |
| 3.3 | Relação entre o estresse oxidativo e o processo inflamatório..... | 21 |
| 3.4 | Compostos bioativos e as frutas tropicais..... | 23 |
| 3.5 | Manga (<i>Mangifera indica</i> L.) | 24 |
| 3.5.1 | Cascas da manga..... | 25 |
| 3.6 | Preservação de compostos bioativos..... | 26 |
| 3.7 | Métodos de extração de compostos bioativos..... | 29 |
| 3.8 | Caracterização química de extratos vegetais..... | 30 |
| 3.9 | Modelo experimental de lesão gástrica por naproxeno..... | 32 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 35 |
| 4.1 | Material..... | 35 |
| 4.2 | Determinação dos compostos antioxidantes na casca e na polpa da manga cv. Tommy Atkins em pó..... | 36 |
| 4.2.1 | Extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa de manga..... | 36 |
| 4.2.2 | Determinação do conteúdo de carotenóides totais da casca e da polpa de manga | 36 |
| 4.2.3 | Determinação do conteúdo de ácido ascórbico da casca e da polpa de manga..... | 37 |
| 4.2.4 | Determinação do conteúdo de polifenóis extraíveis totais da casca e da polpa de manga..... | 38 |
| 4.2.5 | Determinação do conteúdo de antocianinas totais e flavonóides amarelos da casca e da polpa de manga..... | 38 |
| 4.2.6 | Atividade antioxidante total da casca e da polpa de manga..... | 39 |
| 4.3 | Caracterização química dos extratos da casca e da polpa da manga a partir do método de cromatografia líquida de ultra-performance (UPLC®) acoplada a espectrometria de massa (MS) por ionização por electrospray (ESI) de quadropolo-tempo de vóo (QTOF) - UPLC®-ESI-QTOF-MS/MS | 41 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.3.1 | Preparo das amostras..... | 41 |
| 4.3.2 | Análise cromatográfica..... | 41 |
| 4.4 | Análise da viabilidade celular através do ensaio de MTT in vitro..... | 42 |
| 4.4.1 | Ensaio da viabilidade celular e citotoxicidade..... | 42 |
| 4.5 | Atividade anti-inflamatória dos extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa da manga..... | 43 |
| 4.5.1 | Efeito protetor dos extratos de casca e polpa de manga no modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno..... | 43 |
| 4.5.2 | Análise histopatológica da mucosa gástrica no modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno..... | 44 |
| 4.5.3 | Determinação da concentração de mieloperoxidase – MPO..... | 44 |
| 4.5.4 | Determinação da concentração de glutathiona – GSH..... | 45 |
| 4.5.5 | Determinação da concentração de malondialdeído – MDA..... | 45 |
| 4.6 | Delineamento experimental e análise estatística dos dados..... | 46 |
| 4.7 | Apécto ético..... | 46 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 47 |
| 5.1 | Quantificação de compostos bioativos e potencial antioxidante de extratos de casca de manga (ECM) e extratos de polpa de manga (EPM) | 47 |
| 5.2 | Análise LC/MS de polifenóis da casca e da polpa de manga..... | 52 |
| 5.3 | Teste da viabilidade celular..... | 59 |
| 5.4 | Modelo de gastropatia induzida por naproxeno..... | 61 |
| 6 | CONCLUSÕES..... | 72 |
| | REFERÊNCIAS..... | 73 |

1 INTRODUÇÃO

Estudos têm mostrado que o estresse oxidativo contribui significativamente para o desenvolvimento e progressão de inúmeras doenças, como cardiovasculares, diabetes e neurodegenerativas, sendo também considerado importante determinante no desenvolvimento de inflamações crônicas e câncer através da ativação de inúmeros fatores de transcrição (SILVA; JASIULIONIS 2014).

Durante a inflamação, as células inflamatórias produzem espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio, as quais em elevadas concentrações induzem ao estresse oxidativo que acarreta em uma série de danos as biomoléculas (WANG *et al.*, 2014). Assim, a diminuição da produção dessas espécies químicas reativas sobre condições inflamatórias é um importante passo na redução do perigo do estresse oxidativo, bem como dos danos do processo inflamatório.

Os antioxidantes exercem uma função importante na manutenção da produção das EROs sob condições não-estresse, bem como na eliminação dessas espécies químicas protegendo contra danos oxidativo (BARBOSA *et al.*, 2010). Estudos epidemiológicos têm demonstrado positiva correlação entre o consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos e alta atividade antioxidante com a redução de muitas doenças crônicas-degenerativas relacionadas ao estresse oxidativo (BARBOSA e FERNANDES, 2014; BUENO *et al.*, 2012; TANAKA, 2012).

As frutas são importantes componentes de uma dieta saudável, tanto por seu valor nutricional, uma vez que são fontes de vitaminas, minerais, carboidratos e fibras, quanto por suas propriedades funcionais contribuindo para a manutenção da saúde humana e prevenção de doenças, atribuída previamente aos seus compostos antioxidantes, que incluem os compostos fenólicos, especialmente carotenóides e flavonoides, além das vitaminas C e E (SILVA *et al.*, 2010). Atualmente, considerável atenção tem sido direcionada ao estudo dos compostos bioativos de frutas para propostas farmacológicas.

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma das mais importantes frutas tropicais no mundo todo em termos de produção e aceitação pelo consumidor (FAO, 2013). O elevado consumo e popularidade se devem aos seus excelentes atributos sensoriais, especialmente sabor, aroma e cor (AZOUBEL *et al.*, 2010). É uma das principais culturas economicamente importantes para o Brasil, em especial para o Nordeste, visto que é considerado um grande produtor e exportador desta fruta (FURLANETO; SOARES; BERTANI, 2015). A manga é

uma boa fonte de compostos bioativos, como ácido ascórbico, carotenóides e compostos fenólicos, os quais têm demonstrado propriedades benéficas à saúde (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

No mercado nacional e internacional, a manga é consumida *in natura* ou processada como suco, néctar e polpa. Contudo, um dos grandes problemas associado ao processamento da manga consiste na elevada quantidade de resíduos, principalmente, casca e semente que são geradas (MATHARU *et al.*, 2016). Recentemente, pesquisas mostraram que esses subprodutos apresentam boa atividade antioxidante atribuída as suas elevadas concentrações de compostos fenólicos, carotenóides, tocoferóis e esteróis (GÓMEZ-CARAVACA *et al.*, 2016)

No Brasil, diversos vegetais são utilizados na medicina popular (ROMAN *et al.*, 2015; LIMA *et al.*, 2014; BRAZ, OLIVEIRA e VIANA, 2013), no entanto, poucos estudos tem relacionado o uso de compostos antioxidantes de fontes naturais no combate a doenças resultantes de processos oxidativo. Nesse sentido, o presente estudo foi realizado para avaliar os efeitos dos extratos de casca e de polpa da manga sobre danos oxidativos induzidos por naproxeno.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o mecanismo antioxidante dos extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa de manga cv. Tommy Atkins sobre danos oxidativos causados por processo inflamatório no trato gastrointestinal induzido por naproxeno.

2.2. Objetivos Específicos

- Realizar extração em meio hidroalcoólico dos compostos bioativos de casca e de polpa de manga;
- Quantificar os compostos bioativos, além de determinar a atividade antioxidante total do extrato de casca e de polpa de manga;
- Avaliar a viabilidade celular dos extratos de casca e de polpa de manga através de ensaio MTT;
- Identificar os compostos fenólicos presentes nos extratos hidroalcoólicos de casca e de polpa de manga através de análise QTOF;
- Avaliar a ação antiinflamatória in vivo dos extratos hidroalcoólicos de casca e de polpa de manga através da determinação dos níveis do produto final da peroxidação dos lipídeos da membrana, malondialdeído (MDA), da determinação da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) e da quantificação dos níveis de glutatona reduzida (GSH).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Processo oxidativo e sistema de defesa antioxidante

Os organismos vivos geram invariavelmente espécies reativas de oxigênio (ERO), bem como compostos antioxidantes durante os processos fisiológicos, como a respiração. As ERO são produzidas pela cadeia de transporte de elétrons como uma parte normal do metabolismo celular (HAMANAKA; CHANDEL, 2010), e em baixas e moderadas quantidades, têm efeitos benéficos sobre vários processos fisiológicos, incluindo a morte de agentes patogênicos invasores, cicatrização de feridas e processos de reparação de tecidos, além da regulação da sinalização, proliferação e diferenciação celular (BHATTACHARYYA, 2014).

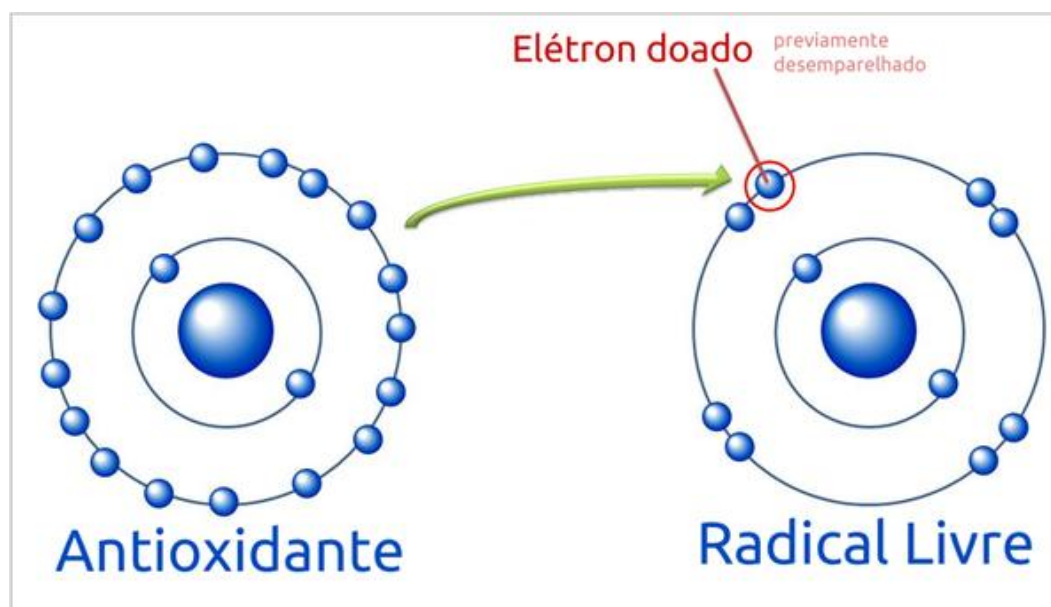
Porém, quando há produção excessiva de ERO, surge a condição de estresse oxidativo, a qual é prejudicial aos componentes celulares e indivíduos como um todo, causando uma gama de lesões aos constituintes celulares como: a peroxidação dos lipídeos de membrana; oxidação de receptores hormonais e enzimas (LEONARDUZZI; SOTTERO; POLI, 2010; CAROCHO; FERREIRA, 2013); e lesões no material genético, como oxidações de bases do DNA que podem culminar em processos mutagênicos e tumorais (SVILAR *et al.*, 2010), além de interferir na sinalização celular e na regulação de importantes condições fisiológicas, causando morte celular e degeneração por regulação positiva de mediadores pró-inflamatórios que levam a inflamação grave ou prolongada, (YANG *et al.*, 2011; SALIM *et al.*, 2012).

As principais ERO distribuem-se em dois grupos, os radicalares: superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH \cdot), radical peroxil ($ROO\cdot$) e radical alcóxil ($RO\cdot$) e os não radicalares: oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e ácido hipocloroso (HOCl). O processo para produção de ERO ocorre durante a fagocitose com a ativação do sistema nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxigenase (NADPH), responsável por reduzir o oxigênio molecular (O_2) ao radical ânion superóxido (O_2^-), que por sua vez é convertido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela superóxido dismutase (SOD), responsável por destruir as bactérias diretamente, ou através de sua conversão em íons hidroxila ou ácido hipocloroso (HOCl) (KLEBANOFF, 2005).

As ERO no organismo são neutralizadas por antioxidantes (figura 1), os quais são definidos por Halliwell & Whiteman (2004) como qualquer substância que, presente em

menores concentrações que as do substrato oxidável, seja capaz de atrasar ou inibir a oxidação deste de maneira eficaz. Tais substâncias podem agir diretamente, neutralizando a ação dos radicais livres e espécies não-radicais com a doação de um elétron, ou indiretamente, participando dos sistemas enzimáticos com tal capacidade, além de determinar o nível de estresse oxidativo celular, o que sugere proteção ao surgimento de doenças neurodegenerativas, processos inflamatórios e até mesmo o câncer (RAJENDRAN *et al.*, 2014; GONG).

Figura 1– Ação neutralizante do antioxidante sobre o radical livre.



Fonte:Radicais livres, 2013.

A célula conta com um arsenal de antioxidantes para a manutenção da homeostasia oxidativa. Eles fazem parte do sistema de defesa e podem ser obtidos pela dieta, como vitaminas, minerais e compostos fenólicos, ou produzidos pela própria célula, como a glutathiona (GSH), além das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx) (MORAES, 2014; DUARTE, 2013; SILVA).

A superóxido dismutase (SOD) é uma das principais enzimas antioxidantes em mamíferos e cataliza a dismutação do radical ânion superóxido (O_2^-) a oxigênio e água. Este e outros peróxidos são convertidos em produtos não tóxicos pela ação da CAT, GPx e GSH (VASCONCELOS *et al.* 2007).

A glutathiona reduzida (GSH) possui papel central na biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo. Muitas das

reações da GSH envolvem o grupo sulfidril (SH), altamente polarizável e com habilidade de doar elétrons a outros compostos, o que faz da glutatona um bom redutor, atuando como uma proteção contra espécies reativas de oxigênio e compostos eletrofílicos gerados por processos oxidativos (HUBER *et al.*, 2008) e, desta forma, a investigação do envolvimento da GSH em processos fisiopatológicos requer sua detecção e quantificação, o que pode ser realizado em diferentes matrizes.

A eficiência do sistema de defesa antioxidante depende do equilíbrio entre a ingestão e a depleção de antioxidantes, pois sem a ação equilibrada de antioxidantes, a peroxidação lipídica mediada pode gerar a perda da integridade das membranas celulares e danos teciduais (GEORGE & OSHARECHIREN, 2009). Dentre os antioxidantes de origem dietética, os compostos fenólicos são os de maior destaque, os quais apresentam ressonância após atuarem no combate aos radicais livres, com uma determinada estabilidade, o que os permite reter o elétron desemparelhado sem causar danos às estruturas celulares (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; SOARES, 2002).

3.2 Compostos fenólicos e suas propriedades biológicas

Os compostos fenólicos são formados no metabolismo secundário dos vegetais, com a funções de defesa contra o ataque de pragas (GIADA; MANCINI-FILHO, 2006). Estudos epidemiológicos e experimentais têm confirmado que o consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos tem correlação positiva com a saúde humana, através de sua capacidade de eliminação de radicais livres, além de potencial anti-inflamatório, antibacteriano e antiviral (SILVA *et al.*, 2014). São definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais, possibilitando eliminar e estabilizar radicais livres, reduzir o oxigênio singlete, atuar nas reações de oxidação lipídica, assim como na quelação de metais (FANG & BHANDARI, 2010).

Os compostos fenólicos podem agir de diferentes formas na ação antioxidante, devido ao potencial de óxido-redução de determinadas moléculas e sua capacidade em competir por sítios ativos e receptores nas diversas estruturas celulares ou, ainda, devido à modulação da expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em mecanismos intracelulares de defesa contra processos oxidativos degenerativos de estruturas celulares (DNA, membranas) (ARAÚJO, 2014). Isto é realizado através das vias de sinalização intracelulares adaptativas contra o estresse oxidativo e à exposição ao ambiente, atuando

como "agentes de estresse de baixa dose" ou pró-oxidantes e preparando as células para resistirem às condições mais severas de estresse; doses baixas ativam vias de sinalização que resultam no aumento da expressão de genes, os quais codificam proteínas visando à proteção celular (OLIVEIRA *et al.*, 2011; OLIVEIRA E BASTOS, 2011).

Os compostos fenólicos compreendem o maior grupo dentre os bioativos nos vegetais, sendo encontrados em hortaliças, frutas, cereais, chás, café, cacau, vinho, suco de frutas e soja, e são classificados de acordo com a estrutura química em quatro famílias: flavonóides, ácidos fenólicos, ligninas e estilbenos (BREWER, 2011). De acordo com Fang & Bhandari (2010), os fenólicos mais frequentemente encontrados nas frutas são os flavonoides, substâncias que eliminam e estabilizam radicais livres, reduzem o oxigênio singlete, atuam nas reações de oxidação lipídica, assim como na quelação de metais, promovendo proteção contra o estresse oxidativo.

Os flavonoides englobam classes de pigmentos naturais encontrados com frequência nos vegetais e possuem ampla gama de ações biológicas e terapêuticas demonstradas tanto em condições experimentais como em seres humanos (CUSHNIE & LAMB, 2011; NIJVELDT *et al.*, 2011; DORNAS *et al.*, 2007; MACHADO *et al.*, 2008). Estes compostos são potenciais agentes antioxidantes capazes de neutralizar e suprimir a produção de radicais livres como o ânion superóxido (O_2^-), proteger os ácidos graxos insaturados presentes em membranas celulares e impedir a oxidação de antioxidantes endógenos (TODOROVA; TRENDALOVA 2014), além de remover íons metálicos pesados, como por exemplo o cobre (Cu^{2+}) os quais têm a função de catalisar a formação de radicais livres (radicais hidroxil, dióxido de nitrogênio e anion superóxido) e a oxidação de biomoléculas (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990).

Outra propriedade biológica já bem caracterizada para os flavonoides é sua ação anti-inflamatória que tem sido observada em diferentes modelos experimentais tanto *in vivo*, como *in vitro* (GARCIA LAFUENTE, 2009; BENAVENTE-GARCIA; CASTILLO, 2008). Estudos vêm demonstrando que os flavonoides possuem importantes atividades anti-inflamatórias devido as suas ações neutralizadoras sobre os radicais livres (LIMA; BEZERRA, 2012). Considerando suas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias, os flavonoides têm sido avaliados contra inúmeras doenças as quais estão diretamente relacionadas aos processos oxidativos e inflamatórios como diabetes, câncer, doenças neurodegenerativas e doenças inflamatórias crônicas, como, as doenças inflamatórias intestinais (BARBOSA *et al.*, 2010).

3.3 Relação entre o estresse oxidativo e o processo inflamatório

A inflamação é um mecanismo de defesa fundamental, desenvolvido pelo organismo para combater infecções (originadas por vírus, bactérias e outros agentes patogênicos) e lesões (hematomas, cortes e queimaduras), e tem como finalidade o reparo tecidual por meio da liberação de mediadores inflamatórios (RODRIGUEZ-VITA; LAWRENCE, 2010; POTHEN, POYTER e BATES, 2014; WRIGHT *et al.*, 2010).

Durante a inflamação, os neutrófilos são os primeiros a chegar ao sítio lesionado, responsáveis por prover sinais para outras células do sistema imune e por atacar patógenos através da fagocitose, liberação de enzimas e formação de espécies reativas de oxigênio, além de serem capazes de formar armadilhas extracelulares compostas de DNA nuclear, proteínas e enzimas que imobilizam o patógeno e facilitam sua fagocitose (MANTOVANI *et al.*, 2011).

Apesar de agirem no sistema de defesa, as ERO podem interagir diretamente com tecidos e membranas celulares, através da tendência para doar oxigênio a outras substâncias, causando danos teciduais que provocam a inflamação, induzindo a liberação de outras espécies oxidativas, levando ao desequilíbrio global do estado redox denominado estresse oxidativo, agravando a inflamação (WANG *et al.*, 2014; LEE & YANG, 2012). Isto ocorre devido ao aumento do consumo de oxigênio molecular (O_2), resultando na formação de radicais superóxido (O_2^-), que apesar de agirem no combate aos patógenos da inflamação, são rapidamente convertidos ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2), espontaneamente ou pela enzima superóxido dismutase (SOD), e este pode reagir com metais de transição formando o radical hidroxilo (HO^\cdot) (BABIOR, 2004). Ainda podem ser formados radicais peroxil (ROO^\cdot), óxido nítrico (NO^\cdot), ânion peroxinitrito ($ONOO^-$) e ácido hipocloroso ($HOCl$) (COSTA *et al.*, 2006).

Em situações em que a produção de espécies reativas do oxigênio supera o sistema de defesa antioxidante, lipídios de membrana podem ser oxidados, proteínas desnaturadas e ácidos nucléicos atacados, e estes danos constituem a base molecular de diversas doenças com envolvimento inflamatório (LOBO *et al.*, 2010).

A peroxidação lipídica provoca mutações do DNA (WELCH *et al.*, 2002) e formação de resíduos químicos como o malondialdeído (MDA), proveniente da degradação dos ácidos graxos (FERREIRA e MATSUBARA, 1997). Portanto, o MDA se torna um indicador de oxidação e um marcador de dano para a peroxidação lipídica induzida por radicais livres (FRANÇA *et al.*, 2013; BARBOSA *et al.*, 2010).

Os biomarcadores são necessários para que se possa quantificar a produção de ERO e o dano oxidativo associado, pois é muito difícil a medida direta das ERO, e consequentemente do dano oxidativo, visto que essas espécies reativas estão em concentrações relativamente baixas e sua velocidade de reação é muito alta (MAYNE, 2003). Entre os métodos mais utilizados para aferição indireta das ERO em tecidos, sangue e outros fluidos e, consequentemente, das lesões oxidativas estão a medição da concentração de tripeptídeos (glutathiona reduzida - GSH) e aldeídos (malondialdeído – MDA) (LUZ *et al.*, 2011).

Dentre os biomarcadores de dano oxidativo, é fundamental destacar a mieloperoxidase (MPO), enzima secretada pelos neutrófilos durante a inflamação, responsável por catalisar a oxidação de cloreto na presença de H₂O₂ para gerar HOCL entre outros produtos altamente reativos que mediam ação microbicida, (Neutrophil Extracellular Traps – NETs) (METZLER *et al.*, 2011), mas também contribuem para o dano tecidual durante a inflamação através da oxidação de lipídios, proteínas e lipoproteínas (REICHLIN *et al.*, 2010, ARNHOLD; FLEMMING, 2010) tornando um indicador de reações inflamatórias relacionadas à espécies oxidantes. Recentemente, foi demonstrado que a MPO também é produzida diretamente nas células endoteliais em resposta ao estresse oxidativo (LA ROCCA *et al.*, 2009).

3.4 Compostos bioativos e as frutas tropicais

As áreas tropicais do mundo inteiro exibem uma grande variedade de espécies de frutas com crescente interesse em seu consumo, tanto no mercado nacional quanto no internacional, e isto se deve aos seus atrativos valores nutricionais e terapêuticos (BICAS *et al.*, 2011; GONZALEZ-AGUILAR *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 2011), atributos estes ressaltados em qualidade e quantidade de compostos bioativos em virtude de sua intensa exposição à radiação solar (HANAMURA; HAGIWARA; KAWAGISHI, 2005).

Os compostos bioativos são metabólitos secundários com benefícios nutricionais, geralmente encontrados em pequenas quantidades em plantas (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002), esponjas (MULLER *et al.*, 2004), bactérias e fungos (DEBBAB *et al.*, 2010) e categorizados em compostos fenólicos, antibióticos, alcalóides, micotoxinas, pigmentos alimentares e fatores de crescimento (MARTINS *et al.*, 2011). As aplicações industriais destes fitoquímicos estão na indústria farmacêutica, indústria de alimentos para a

produção de alimentos funcionais (nutracêuticos) (GIL-CHÁVEZ *et al.*, 2013), em agroquímicos, cosméticos, geo-medicina, nano-biosciência, e em indústrias químicas (GUAADAOU *et al.*, 2014).

Os compostos bioativos mais comumente presentes nas frutas tropicais são as vitaminas C e E, carotenóides e compostos fenólicos, e estes têm sido associados à prevenção e redução de incidência de doenças degenerativas (CALABRISO *et al.*, 2016), doenças cardiovasculares (KRG *et al.*, 2016; OLAS 2016), inflamações (OHISHI *et al.*, 2016; YU *et al.*, 2016;), diabetes (SAVI *et al.*, 2016; EID *et al.*, 2016) e mal de Alzheimer (MENDIOLA-PRECOMA *et al.*, 2016), entre outras doenças. Estes efeitos benéficos têm sido atribuídos principalmente às suas atividades antioxidantes e de eliminação de radicais que podem atrasar ou inibir a oxidação do DNA, proteínas e lipídeos, inibindo a cadeia de iniciação ou interrompendo a cadeia de propagação das reações oxidativas promovidas pelos radicais (NIMSE; PAL, 2015).

3.5 Manga (*Mangifera indica* L.)

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma fruta tropical pertencente à família Anacardiaceae, dispondo demais de 1000 variedades cultivadas em todo o mundo, porém, somente algumas são cultivadas em escala comercial (SOLÍS-FUENTES; DURÁN-DE-BAZÚA, 2011). Atualmente, a mangueira é cultivada em uma área de aproximadamente 3,7 milhões de ha, ocupando a 2ª posição mundial como cultura tropical, atrás apenas de bananas em termos de produção e área cultivada (MUCHIRI; MAHUNGU; GITUANJA, 2012). A produção, comércio e consumo de frutos de manga aumentou significativamente devido ao atraente valor nutricional dos frutos, sendo comercialmente cultivadas em mais de 103 países do mundo, o que tem aumentado a cada ano (JAHURU *et al.*, 2015).

Cultivares como Tommy Atkins (Figura 2), Haden, Kent e Keitt, são as mais produzidas e exportadas em muitos países (SAUCO, 2010). No Brasil, a mangicultura é uma das principais culturas economicamente importantes, em especial para o Nordeste, que é um grande produtor e consumidor desta fruta (IBRAF, 2014; IBGE/PAM, 2012), tendo como variedade mais produzida a Tommy Atkins (*Mangifera indica* L.), a qual ocupa cerca de 80% da área cultivada, e representa 90% das exportações da fruta, com principais destinos a Holanda, Espanha, Portugal e Reino Unido (FURLANETO, SOARES; BERTANI, 2015).

Figura 2 – Manga(Mangifera indica L.) var. Tommy Atkins



Fonte: Elaborada pelo autor.

Originada na Flórida (CAMPBELL, 1973), a manga Tommy Atkins é uma fruta saborosa, atrativa e aromática, apresentando tamanho médio a grande, formato oval e casca espessa com coloração laranja-amarelada, coberta com vermelho púrpura intenso (NETO, SANTOS e COSTA, 2010).

A manga é uma excelente fonte de compostos bioativos, como os carotenóides pró-vitamina A, vitamina C, compostos fenólicos e fibra dietética (AJILA *et al.*, 2010; AZIZ *et al.*, 2012; KIM *et al.*, 2010; SOGI *et al.*, 2013; SOGI *et al.*, 2012), essenciais para a nutrição e saúde humana. Além disso, é conhecida por conter outras vitaminas, carboidratos e minerais, como cálcio, ferro e potássio, e a ser baixa em calorias e gordura. Possui propriedade antioxidante, atribuída aos compostos fenólicos, tais como ácidos e ésteres a exemplo do ácido gálico (BARNES *et al.*, 2015), derivados da benzofenona, como 3-C-b-D-glucosil-maclurina (DORTA *et al.*, 2014), flavonóis, como catequina e quercetina (AJILA; PRASADA-RAO, 2013), antocianinas e flavonóis heterosídeos, a exemplo de 3- O-galactosil-rhamnetina (BERARDINI *et al.* 2005) e heterosídeo xantônico, como a mangiferina (OLIVEIRA *et al.*, 2016), os quais tem sido apontados por reduzirem os riscos de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, degenerativas, inflamatórias e o câncer (ARAÚJO, 2014; HEWAVITHARANA *et al.*, 2013).

3.5.1 Cascas da manga

Como outras frutas tropicais, a manga é sazonal, com vida útil pós-colheita relativamente curta, devido à sua natureza perecível (CHITARRA; CHITARRA, 2005), e a abundância natural destas, leva frequentemente a um excedente, o qual é destinado à industrialização, que além de agregar valor ao fruto, permite que seja utilizado como matéria-prima para a produção de outros produtos, a exemplo da polpa congelada, suco, purê de manga, fatias em compota, néctar, fatias enlatadas e *chutney* (JAHURUL e al., 2015). A polpa de manga é a principal parte de interesse na indústria, resultando subprodutos constituídos pelas sementes e cascas, os quais representam entre 35-60% do peso total do fruto (LARRAURI *et al.*, 1996).

A utilização dos subprodutos tem valioso impacto ambiental e econômico, visto que representam um problema crescente à medida que o material sofre deterioração microbiana, o que pode causar odores e outros problemas ambientais (JOSHI; ATTRI, 2006, LAUFENBERG; KUNZ; NYSTROEM, 2003; VAN DYK *et al.*, 2013), e gera altos gastos para sua eliminação, o que a torna economicamente limitante, a exemplo do gasto anual aproximado de US \$ 10 milhões para a eliminação de bagaço de maçã nos Estados Unidos (SHALINI; GUPTA, 2010).

Pesquisas acerca dos subprodutos têm sido realizadas na última década, revelando que contêm níveis elevados de várias substâncias importantes para a manutenção da saúde, como compostos fenólicos, carotenóides, vitamina C, fibras dietéticas, celulose, hemicelulose, lipídios, proteínas, enzimas, pectina e gordura (AJILA *et al.*, 2007; SOGI *et al.*, 2013; AJILA *et al.*, 2010;; KIM *et al.*, 2010), e estes resultados têm sido promissores para sua utilização como matéria-prima para novos produtos e aplicações, a exemplo da farinha da casca de manga, que tem enriquecido macarrão, pães, bolos, biscoitos e outros produtos de panificação (AZIZ *et al.*, 2012). Como resultado, obtém-se melhoria da qualidade nutricional, sem afetar a textura ou as propriedades sensoriais dos alimentos (AJILA *et al.*, 2010; ASHOUSH e GADALLAH, 2011).

Os compostos bioativos presentes nas cascas de mangas têm sido bem documentados na redução do risco de câncer, doença de Alzheimer, catarata e doença de Parkinson, entre outros (AYALA-ZAVALA *et al.*, 2011). Em recente estudo, Dorta *et al.* (2014) relataram a presença de galatos e galotaninos; flavonóides, principalmente derivados de quercetina; ácido elágico e derivados; xantinas, principalmente mangiferina; benzofenonas e derivados, tais como derivados de maclurina. Kim *et al.* (2010) observaram que há maior

conteúdo de flavonóides e polifenóis na casca do que a polpa, exibindo boa atividade antioxidante, além de potencial para inibir danos no DNA em células de tumorais submetidas a doses de H_2O_2 ; enquanto que Ajila *et al.* (2007) notaram que cascas de frutas maduras continham maiores quantidades de antocianinas e carotenóides em comparação com cascas de frutas verdes, ao passo que as últimas apresentaram maiores conteúdos de polifenóis.

3.6 Preservação de compostos bioativos

Algumas etapas preliminares devem ser realizadas para facilitar o processo de extração e conservar os compostos antioxidantes, que são sensíveis à ação da luz, oxigênio e calor (AZIZAH, RUSLAWATTI e TEE, 1998; VEKIARI *et al.* 1993). Os vegetais normalmente são desidratados ou congelados, e ainda peneirados ou moídos antes do processo de extração, e com isto, os substratos atingem maior superfície de contato com o solvente de extração e as enzimas naturalmente presentes em vegetais, lipoxigenase, responsáveis pela rancidez oxidativa enzimática, tornam-se inativas (JUNTACHOTE e BERGHOFER, 2005; GÁMEZ-MEZA *et al.*, 1999).

O congelamento conserva no alimento grande parte de seus caracteres sensoriais e nutritivos e dificultar ações prejudiciais de microrganismos e enzimas (EVANGELISTA, 2000). A secagem melhorara a estabilidade de alimentos, por meio da redução da atividade de água presente no produto para um nível em que a deterioração microbiana e as reações enzimáticas sejam significativamente reduzidas, preservando e prolongando a vida útil de vários produtos alimentares (DI SCALA; CRAPISTE, 2008).

Dentre as técnicas de secagem mais utilizadas para a preservação de frutos, estão a secagem convectiva e a liofilização (MARQUES, 2008). É muito importante que a técnica de secagem selecionada seja capaz de preservar as características nutricionais, bem como o sabor e cor do alimento.

O processo de secagem convencional baseia-se na aplicação de corrente de ar seco em temperaturas médias a altas (entre 55 °C e 120 °C), propiciando a evaporação gradativa da água, tendo como objetivo principal o aumento da estabilidade e da vida útil do produto, apresentando algumas vantagens como concentração de nutrientes, facilidade no armazenamento, transporte e conservação, bem como desvantagens como a perda de determinadas propriedades, afetando principalmente nutrientes lábeis como as vitaminas e pigmentos que são oxidados, e a geração de derivados químicos com atividade antioxidante alterada (YILMAZ; TOLEDO, 2005).

Já a liofilização é um processo de desidratação sob pressão, onde a água previamente congelada, passa do estado sólido para o estado gasoso por sublimação, podendo ser realizado em na ausência de oxigênio e a baixa temperatura, o que minimiza perdas e preserva as propriedades químicas e sensoriais do alimento (MENEZES *et al.*, 2009). A liofilização tem sido considerada como o melhor método para remoção de umidade, com produtos finais da mais alta qualidade em comparação com a secagem ao ar (TANG *et al.*, 2013), com características favoráveis à extração de compostos bioativos, tais como pequena densidade aparente, alta porosidade, retenção de aromas e excelente capacidade de reidratação (KROKIDA; KARATHANOS; MAROULIS, 1998). A desvantagem está nas mudanças estruturais, principalmente nos açúcares, como o alto grau de amorfismo, tornando o produto altamente higroscópico e sensível às mudanças físico-químicas que podem prejudicar a vida de prateleira e estabilidade do produto (DE OLIVEIRA ALVES *et al.*, 2008).

De um modo comparativo quanto aos efeitos destes processos de secagem, Larrauri, Rupérez, e Saura-Calixto (1997) avaliaram o efeito de processos de secagem por circulação de ar quente (60°C, 100°C e 140°C) e liofilização no conteúdo de polifenóis totais extraíveis, taninos condensados e atividade antioxidante total de cascas de uva vermelha, e verificaram que as amostras secas convencionalmente a 60°C não diferiram significativamente das amostras liofilizadas, porém, a aplicação de temperaturas elevadas de 100°C e 140°C, reduziram significativamente em ambos os casos, os conteúdos de polifenóis totais extraíveis (18,6 e 32,6%), taninos condensados (11,1 e 16,6%), bem como a atividade antioxidante (28 e 50%) das amostras.

Do mesmo modo Katsube *et al.* (2009) verificaram a atividade de eliminação de radicais livres e os níveis de compostos fenólicos em folhas de amoreira, e não encontraram diferença nos processos de secagem por ar quente com emprego de temperaturas de 60°C ou inferiores, quando comparados ao processo por liofilização, mas quando aplicadas temperaturas acima de 70 °C, a capacidade antioxidante diminuiu drasticamente.

Dorta, Lobo e González (2012) estudaram os efeitos de diferentes métodos de secagem sobre os conteúdos de polifenóis e clorofilas, bem como a atividade antioxidante de cascas e sementes de manga, e descobriram que a liofilização permitia que as cascas e sementes de manga fossem estabilizadas, sem diminuir a sua atividade antioxidante, e até pode melhorar a capacidade antioxidante da casca contra o radical ABTS+ e capacidade de eliminação de radicais livres, além de inibirem a peroxidação lipídica na semente de manga, enquanto que a aplicação de temperaturas de secagem acima de 60-70°C, prejudicou a

preservação da capacidade antioxidante de cascas e sementes de manga, nos testes de capacidade de eliminação de radicais livres e inibição da peroxidação lipídica.

De maneira geral, os processos de secagem por circulação de ar quente com temperaturas superiores a 60 °C podem reduzir o conteúdo de compostos bioativos, devido à transformação química destes compostos em compostos similares com atividade antioxidante inferior ou pró-oxidante, e favorecer a oxidação dos compostos em resíduos de frutas e hortaliças, enquanto a liofilização possibilita maior conservação do conteúdo de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas (WOLFE; LIU, 2003).

3.7 Métodos de extração de compostos bioativos

Um estudo prévio de diferentes métodos que contemplem diferentes extratores e condições diferenciadas de extração (pH, temperatura, agitação, pressão, dentre outros) deve ser realizado, afim de ajustá-los às particularidades das matrizes vegetais e dos compostos alvo de extração (BORGES, 2013; DELGADO *et al.*, 2013; SANTANA *et al.*, 2013), e preservar ao máximo a composição e a concentração dos compostos presentes na matriz analisada para que os resultados finais sejam os mais exatos possíveis (AZMIR *et al.*, 2013).

Não existe um método de extração bem estabelecido, com características e rendimento satisfatórios para o isolamento de todos ou de classe específica de antioxidantes naturais, e isto se deve a diversos fatores, porexemplo, a natureza química e a polaridade desses compostos que podem variar dos mais apolares aos altamente polarizados (SHAHIDI, 1997). O tipo de solvente e a polaridade podem afetar a composição do extrato (MOURE *et al.*, 2001) e a transferência de elétrons e de átomos de hidrogênio, que é aspecto-chave na medida da capacidade antioxidante, assim como a presença de compostos não antioxidantes nas soluções testadas (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006). O rendimento da extração depende tanto do solvente utilizado (OU; HAMPSCH-WOODILL; PRIOR, 2001; GRAY *et al.*, 2002; YU *et al.*, 2002; SUN; HO, 2005; YILMAZ; TOLEDO, 2006) como do método aplicado, que pode ser baseado em mecanismos químicos diferentes.

Analisando a capacidade antioxidante de bioprodutos da manga, Dorta *et al.*, (2012A) verificaram que entre os diversos fatores que influenciam na qualidade do extrato obtido, o solvente de extração foi o mais importante, mais até que o aumento de temperatura, apesar que este melhora a capacidade dos extratos obtidos da casca de manga e das sementes para inibir a peroxidação lipídica, mas seu efeito na extração de compostos fitoquímicos ou na capacidade dos extratos para eliminar radicais livres é negligenciável em comparação com o

do solvente. Estes autores determinaram que os solventes que geraram extratos com mais alta capacidade antioxidante foram metanol, metanol: água, etanol: água e acetona: água; no entanto, deve ser priorizada a escolha do etanol (que também tem um conteúdo antioxidante notável), etanol: água ou acetona: água, já que todos eles são solventes que podem ser utilizados de acordo com as boas práticas de fabricação.

Segundo Souza *et al.* (2008), a mistura de etanol e água, quando usada como solvente extrator, facilita a extração de substâncias polares e apolares. Simões *et al.* (2010) explicam que o etanol é miscível com água em todas as proporções, e age na extração de agliconas, ceras, sapogeninas e sesquiterpenos, enquanto a água extrai substâncias hidrofílicas como aminoácidos, açúcares, alcaloides na forma de sal, heterosídeos flavnoídicos e mucilagens.

3.8 Caracterização química de extratos vegetais

As técnicas cromatográficas de análise estão entre as principais técnicas de separação, especialmente na análise de substâncias presentes em matrizes complexas, tais como fluidos biológicos, produtos naturais, sedimentos de rio e outras, e isto se deve, principalmente, à sua capacidade de separação dos componentes presentes nas misturas em função da eficiência e do poder de resolução das colunas modernas (LANÇAS, 2009).

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é uma importante técnica de cromatografia líquida (CL) utilizada para a segregação de diferentes componentes em misturas, bem como para a identificação e quantificação de compostos não voláteis e/ou termicamente instáveis (CHAWLA; RANJAN, 2016). No entanto, com o desenvolvimento da cromatografia líquida de ultra performance (UPLC®), uma versão especial de HPLC que tem a vantagem de avanços tecnológicos feitos em desempenho de química de partículas, otimização de sistema, design de detector, processamento de dados e controle (FALLAS *et al.*, 2010), foi possível um aumento muito significativo na resolução, sensibilidade e eficiência com resultados mais rápidos e menor consumo de solventes, o que reduz o custo e torna a tecnologia favorável ao ambiente também (NGUYEN *et al.*, 2007). Além disso, devido à melhor resolução e picos mais estreitos no UPLC, os analitos eluirão com menos interferências durante a ionização, de modo que os efeitos da matriz podem ser minimizados, ou mesmo eliminados (CHAMBERS *et al.*, 2007, VAN DE STEENE; LAMBERT, 2008)

A cromatografia pode ser combinada a diferentes sistemas de detecção, como espectrometria de massas (mass spectrometry - MS), ionização de chama (flame ionization detector - FID), detector de nitrogênio e fósforo (nitrogen-phosphorous detector - NPD), etc. (MONTESANO *et al.*, 2007; ADACHI *et al.*, 2008), sendo a espectrometria de massas a técnica que melhor fornece as informações estruturais necessárias, e este acoplamento dá origem a uma ferramenta analítica versátil e de grande potencial na análise qualitativa e quantitativa: a LC/MS (Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas) (LANÇAS, 2009), combinando a alta seletividade e eficiência de separação obtida na cromatografia líquida, com obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade da espectrometria de massas (VÉKEY, 2001).

Na espectrometria de massa, estuda-se um estado particular da matéria chamado estado iônico gasoso, transferindo os analitos da fase condensada para a fase gasosa, seguida de sua ionização, tornando-se um dos métodos analíticos mais sensíveis para a caracterização estrutural de moléculas (BANERJEE; MAZUMDAR, 2012). Dentre as fontes de ionização desenvolvidas, a ionização por electrospray (ESI) tem sido bastante explorada por ser capaz de superar a propensão da fragmentação do analito, tornando-se indispensável para medir com precisão a massa molecular das supramoléculas biologicamente importantes como as proteínas (GRAYSON, 2011).

O efluente da coluna cromatográfica, após passar pelo processo de ionização, é direcionado para o analisador de massas, onde os íons são separados de acordo com as suas razões massa/carga (m/z) (CHIARADIA, COLLINS e JARDIM, 2008), o que só é possível controlando a trajetória desses íons através do espectrômetro com o uso de analisadores de massas (na realidade são analisadores de íons, ou m/z), sendo os mais comuns o analisador de massa do tipo quadrupolo (Q - quadrupole), armadilha de íons (IT - Ion Trap), tempo de voo (ToF - Time of flight), setor eletrostático (E), setor magnético (B), ressonância ciclotrônica de íons (ICR – Ion Cyclotron Resonance) e, mais recentemente, os orbitraps (SOUZA, 2008; ANDREY, 2003).

Um importante passo na espectrometria de massas foi o desenvolvimento de analisadores de múltiplos estágios, como os triplo e penta quadrupolos, armadilha de íons (ion traps - IT), e equipamentos híbridos (Q-ToF, Q-trap, IT-ToF), o que permitiu o acesso a técnicas de espectrometria de massas sequencial (MS/MS), uma técnica que utiliza dois estágios de espectrometria de massas (MS_1 e MS_2), um usado para isolar o íon de interesse e o outro para estabelecer uma relação entre este íon de interesse isolado e outros íons que foram

gerados a partir da sua decomposição induzida, aumentando significativamente as potencialidades analíticas da técnica e a detectabilidade e resolução do espectrômetro, bem como a redução da interferência espectral de compostos presentes na matriz (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008).

Portanto, a utilização da técnica combinada UPLC-ESI-QTOF-MS/MS permite uma melhor separação, identificação e caracterização de compostos bioativos em plantas medicinais e misturas complexas devido à combinação de UPLC com MS, e conseqüentemente, proporciona alta precisão de massa e melhor sensibilidade tanto para íons precursores como fragmentos com a alta eficiência da análise de TOF em MS_n (MS / MS) através do analisador de massa Q-TOF-MS (MOTILVA; SERRA; MACIÀ, 2013; TAAMALLI *et al.*, 2014).

3.9 Modelo experimental de lesão gástrica por naproxeno

Os modelos animais desempenham um papel importante na busca de novas drogas com propriedades gastroprotetoras. Através de modelos de lesões gástricas vem sendo possível compreender os mecanismos ulcerogênicos e determinar os mecanismos de ação envolvidos na atividade gastroprotetora (HIRUMA-LIMA *et al.*, 2006). Considerando que a etiologia da úlcera é multifatorial, as lesões na mucosa gástrica podem ser induzidas por diferentes modelos experimentais, utilizando diversos mecanismos (SAMONINA *et al.*, 2004). Por representarem os agentes etiológicos mais comumente envolvidos na patologia das lesões gástricas, os modelos mais comumente utilizados como ferramenta de pesquisa são: a indução de lesão gástricas por etanol, a indução de lesão por estresse, ea indução de lesão gástrica por anti-inflamatórios não-esteróides – AINE (EMIM; OLIVEIRA; LAPA, 1994), sendo este último modelo o escolhido para este estudo.

Os anti-inflamatórios são fármacos que atuam fundamentalmente inibindo a biossíntese de prostanóides e leucotrienos, visando reduzir os sintomas provocados pela inflamação, podendo ser subdivididos em dois grandes grupos, os anti-inflamatórios não esteróides e os anti-inflamatórios esteróides, também denominados de corticosteróides, que possuem caráter hormonal. (ESPLUNGES; MORCILLO; ANDRÉS-TRELLES, 1993).

Os anti-inflamatórios não esteróides (AINE) encontram-se entre os medicamentos mais prescritos em todo o mundo, sendo utilizados principalmente no tratamento da inflamação, dor e edema, como também nas osteoartrites, artrite reumatoide e distúrbios

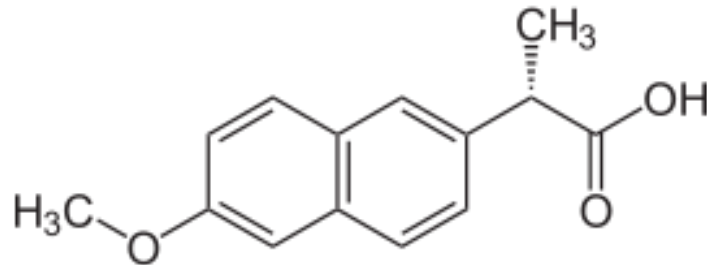
músculo-esqueléticos (BATLOUNI, 2010). Os seus benefícios devem-se aos seus efeitos antiinflamatórios, analgésicos e antipiréticos (SOSTRES *et al.*, 2010).

Os AINE não seletivos, designados tradicionais ou convencionais, agem na inibição da ciclo-oxigenase (COX), enzima responsável pela síntese das prostaglandinas (PGs), agindo tanto sobre a isoforma COX-1 (constitutiva ou fisiológica), quanto a COX-2 (indutiva ou inflamatória) (FITZ ; PATRONO, 2001). Os efeitos colaterais mais importantes ocorrem no aparelho gastrointestinal, os quais vão desde a dispepsia à graves situações com risco de vida, como erosões, hemorragias, perfurações e úlceras gástricas e duodenais (PIO, 2013). Esses efeitos colaterais resultam do bloqueio da COX-1 na mucosa gastrointestinal e na consequente inibição da produção de prostaglandinas no estômago, as quais servem como agentes citoprotetores da mucosa gastrointestinal; inibem a secreção ácida pelo estômago, aumentam o fluxo sanguíneo local e a secreção de muco citoprotetor (LANAS; SCHEIMAN, 2007; OFMAN *et al.*, 2002).

Os AINE inibidores seletivos da ciclo-oxigenase-2 (Coxibes) têm como objetivo a inibição seletiva de uma das isoformas da enzima ciclo-oxigenase, a COX-2, que regula a produção dos principais prostanóides envolvidos no processo inflamatório, na dor e na febre, com a vantagem de demonstrarem uma diminuição significativa dos efeitos adversos gastrointestinais, característicos dessa classe. Em contrapartida, a redução (e não a eliminação) dos efeitos colaterais gastrointestinais culminou com o aparecimento de eventos cardiovasculares (SOUBRIER *et al.*, 2013; GROSSER T, FRIES S, FITZGERALD GA, 2006; PADOL, I. T., HUNT, R. H., 2010).

Segundo Trelle (2011), ambos os tipos de AINE estão associados a um risco aumentado de efeitos adversos cardiovasculares, no entanto, o naproxeno demonstrou uma vantagem em relação à segurança cardiovascular. O naproxeno (Figura 3) é um AINE não seletivo amplamente prescrito para tratamentos crônicos de artrite, que exibe os efeitos colaterais de todo AINE não seletivo, podendo causar dispepsia e sangramentos do estômago e duodeno, ativação de doenças inflamatórias intestinais e dano tecidual (úlceras) no trato gastrointestinal, e portanto, uma das drogas mais prováveis nesta classe para induzir dano gastrointestinal (BRENOL; XAVIER; MARASCA, 2000; BECK *et al.*, 1990).

Figura 3– Estruturaquímica do naproxeno.



Fonte: Wikipedia, 2013.

O desencadeamento das lesões gástricas induzida por AINE envolve aumento do estresse oxidativo, e redução da capacidade do sistema de defesa antioxidante, com participação de ERO produzidas naturalmente durante o processo inflamatório, e de ERO produzidas pela ação pró-oxidante de AINE através da inibição inespecífica da síntese de prostaglandinas mediada por ciclo-oxigenase (COX) na mucosa (WALACE; GRANGER, 1996; McCarthy, 1992). Dessa forma, a ingestão de alimentos ricos em compostos antioxidantes é essencial para promover proteção à mucosa gástrica, pois neutralizam espécies reativas de oxigênio que lesionam o DNA, diminuindo a progressão de lesões gástricas através da inibição da formação de composto oxidantes (ANTUNES; SILVA; CRUZ, 2010).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material

Os frutos da manga (*Mangifera indica* L.) variedade ‘Tommy Atkins’ em estágio maduro foram adquiridos na Central Estadual de Abastecimento (CEASA-CE) localizada na cidade de Fortaleza-CE, sendo selecionados conforme integridade, ausência de danos físicos e doenças, e transportados para o Laboratório de Frutos e Hortaliças da Universidade Federal do Ceará. A higienização dos frutos ocorreu individualmente em água corrente com auxílio de sabão neutro, seguida de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 15 minutos para desinfecção. Em seguida, a polpa foi separada manualmente da casca com auxílio de facas adequadamente higienizadas, e descartada semente.

A fruta foi pesada em balança analítica para determinação da sua massa fresca. Em seguida, casca e a polpa foram cortadas em pedaços pequenos e pesadas novamente em balança analítica. A seguir, foram liofilizadas, utilizando temperatura inicial de -4°C , e temperatura final de -49°C , com tempo de 96h, a pressão de 7 mm/Hg. As cascas e polpas liofilizadas foram trituradas em liquidificador doméstico, para obtenção de um pó de cada material, que foram embalados em sacos plásticos.

Figura 4– Material fresco e liofilizado. Pannel A: Cascas de manga frescas; Pannel B: Pó de cascas liofilizadas; Pannel C: Polpa de manga fresca; Pannel D: Pó de polpa de manga liofilizada.



Material fresco e liofilizado. Pannel A: Cascas de manga frescas; Pannel B: Pó de cascas liofilizadas; Pannel C: Polpa de manga fresca; Pannel D: Pó de polpa de manga liofilizada.

Fonte: Elaborada pelo autor

4.2 Determinação dos compostos antioxidantes na casca e na polpa de mangacv.Tommy Atkins em pó.

Em grande parte de frutas e hortaliças, os pigmentos estão localizados nas células próximas à superfície, permitindo que atuem como filtros à radiação ultravioleta, melhorem e regulem a taxa de fotossíntese (MAZZA e MINIATI, 1993). Estes pigmentos são facilmente extraídos de materiais vegetais por solventes orgânicos, como metanol, etanol, acetona, água, e tradicionalmente estas soluções são acidificadas a 1% de ácido clorídrico (HCl) para facilitar a retirada destes compostos da matriz vegetal, além de outros solventes como acetato de etila, propanol, dimetilformaldeído e suas combinações, cada um selecionado de acordo com a polaridade e solubilidade dos compostos alvo principais de extração (SHAHIDI, 1997; DE SOUZA-SARTORI *et al.*, 2013).

4.2.1 Extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa da manga

Os compostos da casca e polpa de manga foram extraídos com etanol 50%, conforme Dorta *et al.* (2011). As concentrações utilizadas foram delimitadas em ensaios preliminares, definindo o uso de 0,5 g de pó da casca da manga e 1,0 g de pó da polpa da manga para cada 25 ml de etanol 50%. A mistura foi homogeneizada com um agitador magnético (Quimis modelo Q-261) misturador de alta velocidade a 325 x g durante 1 min. As extrações (3 processos independentes) foram realizadas em banho de água a 50°C durante 60 min em tubos hermeticamente fechados para evitar a perda de solvente. Os extratos foram centrifugados a 3000 x g durante 20 min numa centrífuga Jouan em CR-312 (Thermo Electron Corp., Madrid, Espanha), filtrados, evaporados em rotavaporador e liofilizados para as análises de determinação de polifenóis extraíveis totais, antocianinas e flavonoides amarelos, atividade antioxidante, análises QTOF *in vivo*. Carotenóides e ácido ascórbico foram determinados a partir dos pós da casca e da polpa de manga liofilizados, conforme metodologias.

4.2.2 Determinação do conteúdo de carotenóides totais da casca e da polpa da manga

O conteúdo dos carotenóides totais foi determinado por espectrofotometria conforme (NAGATA; YAMASHITA, 1992). Em um tubo de ensaio, foi colocado 1g de polpa liofilizada, junto a 10ml de uma mistura de acetona-hexano (4:6) e agitado por

1 minuto em agitador magnético. O mesmo foi feito com a casca liofilizada. O sobrenadante foi retirado e foi filtrado em papel de filtro qualitativo 80 g/m². As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu modelo UV 1800) nos seguintes comprimentos de onda: 453nm, 505nm, 645nm e 663nm, conforme orientado pelos autores. Para o branco foi utilizado apenas a mistura acetona-hexano.

Os resultados foram multiplicados por 1000 e expressos em µg/100g de licopeno e β-caroteno, através das equações:

✓
$$\text{Licopeno} = -0,0458 \times A_{663} + 0,204 \times A_{645} + 0,372 \times A_{505} - 0,0806 \times A_{453} \text{ e};$$

✓
$$\beta\text{-caroteno} = 0,216 \times A_{663} - 1,22 \times A_{645} - 0,304 \times A_{505} + 0,452 \times A_{453}$$

Onde:

A = Absorbância das leituras;

Os demais números são constantes inerentes a fórmula.

4.2.3 Determinação do conteúdo de ácido ascórbico da casca e da polpa da manga

O conteúdo de ácido ascórbico foi determinado por espectrofotometria, conforme Cox & Pearson (1976) com adaptação. Em béqueres, foram pesados 1 g de casca liofilizada de manga ou 2 g de polpa liofilizada de manga. Em seguida, foram adicionados 40 mL de ácido oxálico 0,4% e agitado por 5 minutos. As soluções foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL, os volumes completados com ácido oxálico, e então filtrados em filtro qualitativo 80 g/m². À parte, foi transferido 1 mL de ácido oxálico 0,4% para tubos de ensaio e adicionados 9 mL da solução corante de DFI para realização da leitura L₁. Em seguida, foram adicionados aos tubos de ensaio alguns cristais de ácido ascórbico, para decorar a solução, e realizada as leituras L_{1A}. Imediatamente, foi transferido 1 mL de cada filtrado para outros tubos de ensaio, e em dois deles foram adicionados 9 mL de água destilada. O espectrofotômetro (Shimadzu modelo UV 1800) foi zerado com esta solução. Nos outros tubos, foram adicionados 9 mL de DFI e realizadas as leituras L₂. A seguir, foram adicionados a estes tubos de ensaio alguns cristais de ácido ascórbico e realizadas as leituras L_{2A}.

O conteúdo de vitamina C foi calculado com base em uma curva padrão, e os resultados foram expressos em n° de mg de ácido ascórbico por cento (p/p ou p/v) através da seguinte fórmula:

$$L = (L_1 - L_{1A}) - (L_2 - L_{2A})$$

4.2.4 Determinação do conteúdo de Polifenóis Extraíveis Totais (PET) da casca e da polpa da manga

O conteúdo de polifenóis extraíveis totais (PET) foi determinado por espectrofotometria pelo método de Folin-Ciocalteu (LARRAURI *et al.*, 1997) com modificações. Em ambiente escuro, foi homogeneizado 1 ml de cada extrato, individualmente, com 1 mL da solução de Folin-Ciocalteu, 2 ml da solução de carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) 20% e 2 mL de água destilada. Após 30 minutos de repouso, foram realizadas as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro (Shimadzu modelo UV 1800) a 700 nm. O conteúdo de PET foi calculado com base em uma curva padrão de doses crescentes de ácido gálico 98% (0 – 50 μg), utilizando como referência, e os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico $\cdot 100\text{g}^{-1}$ dos extratos hidroalcoólicos da casca e polpa de manga (ECM e EPM, respectivamente).

4.2.5 Determinação do conteúdo de antocianinas totais e flavonóides amarelos da casca e da polpa da manga

O conteúdo de antocianinas totais e flavonóides amarelos foi determinado por espectrofotometria conforme descrito por Francis (1982). 1 mL de cada extrato foi adicionado, individualmente, em 30 mL da solução extratora etanol-HCl (85:15), sendo homogeneizados por 2 minutos, utilizando um homogeneizador de tecidos tipo “Turrax” (IKA modelo T-18) e transferidos para balões volumétricos âmbar de 50 mL, aferindo o volume com a solução extratora, e deixado descansar por 12 horas a 4 °C. Em seguida, os materiais foram filtrados utilizando papel de filtro qualitativo 80 g/m^2 e o filtrado teve sua absorvância analisada em espectrofotômetro (Shimadzu modelo UV 1800) a 374 nm e a 532 nm para os flavonóides amarelos e antocianinas totais, respectivamente. O conteúdo de flavonóides amarelos e de antocianinas totais foram calculados utilizando coeficiente de extinção molar 76,6 e 98,2 $\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, respectivamente, e os resultados foram expressos em mg. 100 g^{-1} dos extratos HCM e HPM.

4.2.6 Atividade antioxidante total da casca e da polpa da manga

Experimentos simples podem ser feitos para analisar a atividade antioxidante (AA) *in vitro* e para testar possível efeito pró-oxidante, em diferentes alvos moleculares. Essa análise é preliminar a uma investigação mais complexa *in vivo*: um composto pouco efetivo *in vitro* possivelmente não terá melhor ação *in vivo* (ARUOMA, 1999).

Diferentes metodologias são utilizadas para caracterizar a capacidade antioxidante de alimentos, entretanto, não há qualquer método universal pelo qual a AA possa ser quantificada com precisão (PRIOR; XIANLI; SCHAICH, 2005). Entre tantas, escolhemos o ensaio ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico] (LEONG; SHUI, 2002, MILLER; RICE-EVANS, 1997) e o ensaio FRAP (poder antioxidante reduzido férrico) (BENZIE; STRAIN, 1999, GUO *et al.*, 2003, JIMENEZ-ESCRIG *et al.*, 2001). Estas técnicas têm mostrado resultados diferentes entre espécies de culturas e entre laboratórios.

O ensaio de ABTS mede a capacidade relativa do antioxidante para eliminar a ABTS^{•+} gerada em fase aquosa, em comparação com um padrão de Trolox (análogo de vitamina E solúvel em água). O ABTS^{•+} é gerado fazendo reagir um agente oxidante forte (por exemplo, permanganato de potássio ou persulfato de potássio) com o sal de ABTS. A redução do radical azul-verde ABTS^{•+} pelo antioxidante doador de hidrogênio é medida pela supressão do espectro característico de absorção da onda longa (Miller; Rice-Evans, 1997). O método é geralmente expresso como Trolox equivalente capacidade antioxidante (TEAC). O ensaio ABTS utiliza espécies radiculares estáveis e a detecção do ponto final se realiza geralmente por absorbância, sendo muito empregado na determinação da atividade antioxidante de alimentos, de bebidas e de plasma (LU; FOO, 2000). O método é rápido e pode ser utilizado numa vasta gama de valores de pH (ARNAO; CANO; ACOSTA, 1999; LEMANSKA *et al.*, 2001), tanto em sistemas de solventes aquosos como orgânicos. Ele também tem boa repetibilidade e é simples de executar (AWIKA *et al.*, 2003).

O método de FRAP foi inicialmente desenvolvido para medir poder redutor no plasma, mas o ensaio tem sido adaptado e utilizado para ensaios de antioxidantes em plantas. A reação mede a redução férrica de 2,4,6- tripiridil -s- triazina (TPTZ) para um produto colorido (BENZIE; STRAIN, 1996). A reação detecta compostos com potencial redox < 0,7V (o potencial redox do Fe⁺³ - TPTZ). Baseia-se na capacidade de um antioxidante na redução de Fe (III) em Fe (II) e deve ser usado combinado com outros métodos porque não pode medir todos os antioxidantes de matrizes complexas (NIKI, 2010). O ensaio de FRAP mede somente

os mecanismos de transferência de elétrons que em combinação com outros métodos, pode ser útil na distinção de mecanismos dominantes com diferentes antioxidantes (PRIOR; XIANLI; SCHAICH, 2005). A técnica FRAP mostra alta reprodutibilidade, é simples, de rápida realização e mostra a maior correlação tanto com o ácido ascórbico quanto com fenólicos totais (THAIPONG *et al.*, 2006).

4.2.6.1 Método ABTS

A atividade antioxidante total (AAT) determinada pelo método ABTS foi realizada conforme metodologia adaptada por Rufino *et al.* (2006) com modificações. A técnica envolve a produção direta do radical cromóforo ABTS^{•+} através da reação de oxidação entre a solução ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) 7 mM com a solução de persulfato de potássio 140 mM, mantida no escuro à temperatura ambiente por 16 horas antes de ser utilizada. A solução ABTS^{•+} foi diluída em etanol absoluto para uma absorvância de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm.

A AAT foi avaliada com base em uma curva padrão linear utilizando como antioxidante de referência o composto 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico (Trolox, Sigma®) a 2000 µM, preparado com etanol absoluto, utilizando concentrações entre 100 e 2000 µM. Em ambiente escuro, foi adicionada uma alíquota de 0,03 mL da solução do Trolox a 3 mL da solução ABTS^{•+}. As absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro (Shimadzu modelo UV 1800) a 734 nm, 6 minutos após a adição da solução do radical. A partir dessa curva, foi obtida a equação 1, da qual foi calculada a absorvância referente a 1000 µM de Trolox. Seguindo os mesmos procedimentos utilizados na determinação da curva padrão do Trolox, foi obtida a equação 2, utilizando alíquota de 0,03 mL do extrato hidroalcoólico da casca e polpa de manga liofilizada em três diferentes concentrações. A AAT da amostra foi calculada substituindo na equação 2 a absorvância equivalente a 1000 µM de Trolox. Os resultados foram expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) (µM Trolox. mL⁻¹ dos extratos HCM e HPM).

4.2.6.2 Método FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro)

A atividade antioxidante total (AAT) pelo método FRAP foi determinada baseado na metodologia proposta por Benzie e Strain (1996) com algumas modificações feitas por Rufino *et al.* (2006). Esse método colorimétrico envolve a medida direta dos antioxidantes da

amostra em reduzir o complexo Fe^{3+} /TPTZ (2, 4, 6 - tri (2 - piridil) - 1,3, 5 - triazina) em Fe^{2+} , que apresenta cor azul-escuro. O reagente FRAP foi preparado pela mistura de 25 mL do tampão acetato 0,3 M (pH 3,6), 2,5 mL da solução de TPTZ e 2,5 mL da solução de FeCl_3 (20 mM), que foi utilizado logo após o seu preparo.

Em tubos de ensaio, na ausência de luz, foram adicionados 2,7 mL do reagente FRAP, 90 μL dos extratos e 270 μL de água destilada. Em seguida, essa mistura foi homogeneizada em agitador de tubos (Vortex modelo VX-200) e mantida em banho-maria a 37 °C durante 30 min. Após esse período, a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu modelo UV 1800) a 595 nm. A AAT foi calculada com base em uma curva de calibração construída com soluções aquosas de sulfato ferroso (Fe_2SO_4) utilizando concentrações de 100 a 1500 μM seguindo o mesmo procedimento descrito acima. Os resultados foram expressos como atividade antioxidante equivalente ao sulfato ferroso (μM TE/gde fruta).

4.3 Caracterização química dos extratos da casca e da polpa da manga a partir do método de cromatografia líquida de ultra-performance (UPLC®) acoplada a espectrometria de massa (MS) por ionização por electrospray (ESI) de quadropolo-tempo de voo (QTOF) -UPLC®-ESI-QTOF-MS/MS

4.3.1 Preparo das amostras

Os extratos passaram por um processo de *clean-up* utilizando cartuchos de SPE RP18 (50 mg), previamente ambientados com 5,0 mL de MeOH seguidos de 5 mL de água Mili Q. Em seguida, 2 mL de cada Extrato foi filtrado através dos cartuchos, seguidos da adição de mais 5 mL de água Mili Q, descartando o filtrado e acrescentando mais 5 mL de MeOH para eluir o retido no filtro, e o filtrado foi coletado. A solução obtida foi seca em evaporador rotativo e o sólido resultante redissolvido em Acetonitrila: água Mili Q 1;1, e então filtrado em filtro de PTFE (0,45 μm), armazenado em vial de vidro e analisados por UPLC-QTOF.

4.3.2 Análise cromatográfica

As análises foram realizadas em um sistema Acquity UPLC® (Waters), acoplado a um sistema de Quadropolo / Tempo de Voo (QtoF, Waters) pertencente a Empresa

Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, com objetivo de identificar metabólitos secundários (compostos fenólicos), onde os perfis dos metabólitos nos extratos foram obtidos inicialmente por um gradiente exploratório. As corridas cromatográficas foram realizadas em uma coluna Waters Acquity UPLC® BEH (150 x 2,1 milímetros, 1,7 µm), temperatura fixa de 40 °C, fases móveis metanol (A) e água (B), gradiente variando de 2% a 95% B (15 min), fluxo de 0,4 mL / min e volume de injeção de 5 µl.

As análises de cada extrato foram realizadas em modos de ionização positivo (PI) e negativo (NI). O modo ESI foi adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte fixa a 120 °C, temperatura de dessolvatação 350 °C, fluxo do gás dessolvatação de 500 L / h, cone de extração de 0,5 V, voltagem capilar de 2,6 kV. O modo ESI⁺ foi adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte fixa de 120 °C, temperatura de dessolvatação 350 °C, fluxo do gás dessolvatação de 500 L / h e voltagem do capilar de 3,2 kV. Leucina encefalina foi utilizada como lock mass. O modo de aquisição foi MS^E. O instrumento foi controlado pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation).

4.4. Análise de viabilidade celular através do ensaio de MTT *in vitro*.

4.4.1. Ensaio da viabilidade celular e citotoxicidade

Nesse teste foi avaliada a toxicidade *in vitro* dos extratos frente a células epiteliais intestinais de rato (IEC-6), usando o método MTT (Kit de avaliação da toxicologia *in vitro*, Stock No TOX-1, Sigma, Chem. Co.) (Mosmann, 1983). O ensaio de MTT baseia-se na redução celular de MTT [3-(4,5-dimethylthiazol, 2-yl)- 2,5-diphenyl-212 tetrazolium bromide]. A quantificação da redução de MTT constitui em um método colorimétrico simples para avaliar a viabilidade celular. Após redução, formam-se cristais de formazan, de cor azul, que ao serem dissolvidos absorvem na região do visível, podendo desta forma ser quantificados por espectrofotometria. A redução do MTT é feita através de desidrogenases celulares, portanto, pode-se avaliar a capacidade redutora da célula através deste método (MOSMANN, 1983).

Neste ensaio, os sobrenadantes das culturas celulares (cultura epitelial intestinal IEC-6), contendo ou não os agentes testados, foram removidos e as células foram mantidas numa solução de MTT (5 mg.mL⁻¹) em Meio de Krebs, durante 20 min, a 37°C, no escuro. Após esta incubação, os cristais de formazan, resultantes da redução do MTT, foram

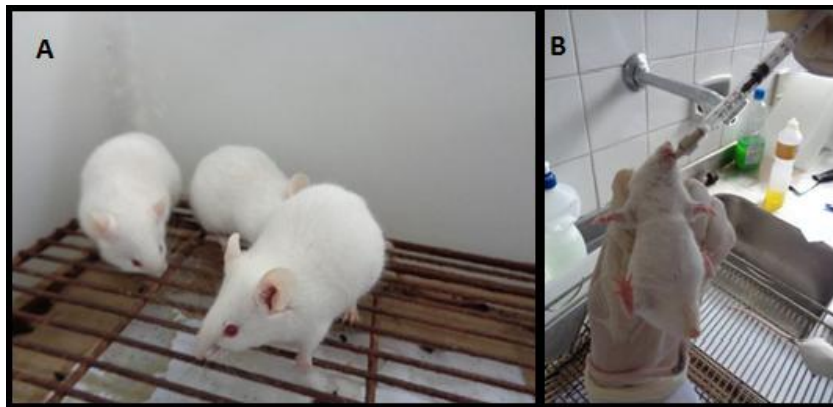
dissolvidos numa solução de dimetilsulfóxido (DMSO) e o valor de absorbância foi medido a um comprimento de onda de 570 nm.

4.5 Atividade anti-inflamatória dos extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa da manga

4.5.1 Efeito protetor dos extratos de casca e polpa de manga no modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno

Foram utilizados camundongos swiss (Figura 5), machos, pesando entre 20 e 30g, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal do Ceará – UFC e pelo Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia – UFC, de ambos os sexos, pesando entre 200 e 250 g. Eles foram colocados em caixas plásticas em ambiente a 22 ± 2 °C com ciclo de 12 h luz/12 h escuro, sendo privados de alimento por 24h antes dos experimentos, tendo acesso livre a água.

Figura 5– Animais utilizados no modelo de lesão gástrica



Painel A: Camundongos Swiss; Painel B: Administração por gavagem.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os camundongos foram pré-tratados com 0,5% de carboximetilcelulose (CMC) (veículo/grupo controle) ou EPM e ECM, e após 30 minutos, o naproxeno (NAP) (300 mg/kg, v.o.) foi administrado, conforme descrito por SILVA e colaboradores (2012) (Figura 5). O grupo controle recebeu apenas veículo ou veículo + naproxeno e os grupos pré-tratamentos receberam EPM ou ECM + naproxeno (Tabela 1). Os camundongos foram eutanasiados 6 horas após a administração.

Tabela 1 – Modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno.

| CONTROLE | | GRUPOS | | | | | | t |
|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------|
| CMC | CMC | PRÉ-TRATAMENTO | | | | | | |
| | | EPM (10mg/k g) | EPM (30mg/k g) | EPM (100mg/ kg) | ECM (10mg/k g) | ECM (30mg/k g) | ECM (100mg/ kg) | 30 min |
| - | NAP (300mg/ kg) | NAP (300mg/ kg) | NAP (300mg/ kg) | NAP (300mg/ kg) | NAP (300mg/ kg) | NAP (300mg/ kg) | NAP (300mg/ kg) | |

CMC – carboximetilcelulose (veículo); NAP: naproxeno; EPM: extrato hidroalcolico de polpa de manga; ECM: extrato hidroalcolico de casca de manga; t: tempo

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a avaliação macroscópica dos danos gastrintestinais, os abdomens foram abertos, e os estômagos rapidamente retirados, abertos ao longo da curvatura maior e lavados com 0,9% de soro fisiológico. O dano gástrico foi medido por planimetria por meio do software Image J. Amostras dos estômagos foram fixadas em formalina a 10% imediatamente após a remoção para avaliação histológica subsequente. Além disso, as amostras foram depois pesadas, congeladas e armazenadas a -70 °C até serem utilizadas para posteriores análises bioquímicas.

4.5.2 Análise histopatológica da mucosa gástrica no modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno

Para a avaliação histopatológica, uma amostra do estômago dos ratos foi fixada em uma solução de formaldeído 10%, onde permaneceu por 24 horas. Em seguida as amostras foram transferidas para uma solução de álcool 70%, onde permaneceu até a realização dos procedimentos histológicos e em seguida examinadas através de um microscópio óptico. As amostras foram avaliadas de acordo com os critérios de Laine & Weinstein (1988). Em síntese, foi avaliado perda de células epiteliais (escores de 0 a 3), edema na superfície da mucosa (escores de 0 a 4), lesão hemorrágica (escores de 0 a 4) e infiltração de células inflamatórias (escores de 0 a 3), sendo 14 o escore máximo.

4.5.3 Determinação da concentração de mieloperoxidase - MPO

O aumento da atividade de mieloperoxidase (MPO) de neutrófilos está presente em vários processos patológicos, sendo associado ao aumento do risco de estresse oxidativo, como no caso de enfermidades infecciosas, enfermidades inflamatórias e na isquemia de

reperfusão e sua inibição é o um indicativo de atividade antiinflamatória (FUJII *et al.*, 2002; BULUT *et al.*, 2011). As amostras do tecido gástrico, coletadas dos ratos pré-tratados com HCM e HPM e submetidos a gastropatia por naproxeno, foram pesadas colocados num tampão de potássio com 0,5% de brometo de hexadecitrimetilamônio (pH 6,0; 50 mg de tecido por ml) e posteriormente homogeneizados num Politron. Logo após, o homogenato foi centrifugado a 14000 rpm por 2 minutos em temperatura de refrigeração, sendo o sobrenadante (extrato enzimático) utilizado para a determinação da atividade enzimática. A atividade da MPO por mg de tecido foi aferida através da técnica descrita por Bradley *et al.* (1982), utilizando peróxido de nitrogênio 0,0005% como substrato para a MPO (UA). A unidade da atividade de MPO foi definida como aquela capaz de converter 1 mmol de peróxido de nitrogênio em água em 1 minuto.

4.5.4 Determinação da concentração de glutathiona - GSH

A dosagem de GSH foi realizada através determinação dos grupos sulfidrílicos não protéicos (glutathiona), de acordo com a metodologia descrita por Sedlak & Lindsay (1968), das amostras de tecidos gástricos de ratos submetidos aos tratamentos anteriores citados. A determinação do GSH baseia-se na reação do DTNB, com o tiol livre originando o ácido 2-nitro-5-tiobenzóico. Inicialmente, 50-100 mg do tecido gástrico foi homogeneizada em EDTA 0,02 M (1 ml/100 g de tecido) gelado. A uma alíquota de 400 µl do homogenato foi adicionado 320 µl de água destilada, e 80 µl de ácido tricloroacético (TCA) a 50%. Em seguida o material foi centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos, seguido de agitação e filtração. Depois de centrifugado, 400 µl do sobrenadante foram misturados a 800 µl de tampão Tris 0,4 M (pH 8.9) e, por fim, foi adicionado 20 µl de DTNB (5,5'-dithio-bis -2-ácido nitrobenzóico) a 0,01M. O material foi então agitado durante 3 minutos e a absorvância foi determina a 412 nm, em espectrofotômetro. A concentração de GSH/g de tecido foi determinada a partir de uma curva padrão de glutathiona reduzida, processada de maneira semelhante. Os resultados foram expressos em µg de GSH/g de tecido.

4.5.5 Determinação da concentração de malondialdeído - MDA

A concentração de MDA foi avaliada por ser um produto final da peroxidação lipídica e refletir um desequilíbrio entre os sistemas oxidativo e antioxidante. O método mais

empregado é baseado na sua reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA). Nesta reação, duas moléculas de TBA reagem estequiometricamente com uma molécula de MDA para formar uma solução de cor rosa, que tem absorvância máxima em pH ácido em 532 a 535 nm. Os níveis de malondialdeído na mucosa gástrica foram determinados pelo método de Uchiyama e Mihara (1978). Fragmentos do tecido gástrico de ratos submetidos aos tratamentos citados anteriormente foram homogeneizados com KCl gelado 1.15% para obtenção de um homogenato à 10%. Meio mililitro (0,5ml) do homogenato foi pipetado dentro de um tubo de centrífuga de 10 ml, contendo 3 ml de H₃PO₄ (1%) e 1 ml de uma solução aquosa de ácido tiobarbitúrico aquoso (0,6%). Posteriormente, os tubos foram aquecidos, por um período de 45 minutos, em um banho de água fervendo e a mistura reacional foi, então, resfriada em um banho de água gelada, seguida da adição de 4 ml de n-butanol. Após a adição de n-butanol, as amostras foram agitadas por 40 segundos em um misturador "vortex", e depois centrifugados a 1200 x g, por um período de 10 minutos. O sobrenadante foi mensurado a uma absorvância de 520 e 535 nm, em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em nmol/g de tecido gástrico.

4.6 Delineamento experimental e análise estatística dos dados

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos (casca e polpa de manga), três repetições por tratamento, e análises em triplicata. O teste de Tukey ($\alpha = 5\%$) foi utilizado para verificar diferenças entre médias de tratamentos e níveis descritivos (p) inferiores a esse valor foram considerados significantes. A Anova e demais testes estatísticos foram realizados utilizando procedimentos do Sisvar (V 7.7). Para a realização da análise estatística dos dados obtidos nas análises *in vivo*, foi utilizado o software GraphPad Prism, versão 6.0, onde foram realizados os testes necessários conforme as características das variáveis. Quando houve diferença significativa entre os grupos, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Bonferroni, com nível de significância adotado de 0,05 ($\alpha = 5\%$) e níveis descritivos (p) inferiores foram considerados significantes.

4.7 Aspectos Ético

Os protocolos desenvolvidos estão de acordo com os padrões de uso de animais experimentais. Este projeto foi submetido à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Quantificação de compostos bioativos e potencial antioxidante de extratos de cascademanga (ECM) e extratos depolpa de manga (EPM)

O conteúdo dos compostos bioativos dos extratos hidroalcoólicos da manga estão apresentados na Tabela 2. Os métodos de extração utilizados foram eficientes para a maioria dos compostos, exceto carotenóides. Segundo Dorta *et al.* (2012), os solventes mais adequados para obter extratos com alta capacidade antioxidante e alto conteúdo de compostos fitoquímicos são etanol e etanol: água (1: 1), e a temperatura de extração entre 50 e 75 ° C favorece a capacidade dos extratos obtidos para inibir a peroxidação lipídica.

Tabela 2 - Compostos bioativos dos extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa da manga (cv. Tommy Atkins), quantificados por espectrofotometria.

| Amostras | PET(mg EAG 100g) | AT (mg/ 100g) | FA (mg/ 100g) | CT (µg/ 100g) | Vit. C (mg/ 100g) |
|----------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| ECM | 5287,7±14,1 ^a | 6,2±0,4 ^a | 85,4±5,9 ^a | 651,3±8,2 ^a | 108,19±7,8 ^a |
| EPM | 69,5±4,8 ^b | 1,1±0,05 ^b | 11,7±0,7 ^b | 665,5±4,6 ^a | 23,8±3,3 ^b |

ECM = Extrato da casca da manga; EPM = Extrato da polpa da manga. PET: polifenóis extraíveis totais; AT: Antocianinas totais; FA: Flavonoides amarelos; CT: carotenoides totais; Vit. C: Vitamina C. Média de três determinações independentes. EAG = equivalente em ácido gálico. Médias seguidas por letras diferentes na horizontal diferem, entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Elaborada pelo autor

Os resultados revelam um elevado conteúdo de polifenóis extraíveis totais (PET) no extrato hidrossolúvel obtido a partir da casca quando comparado ao da polpa (5.287,7 mg EAG/ 100g). Esse fato é relatado por Soong e Barlow (2004), que afirmam que o conteúdo de compostos funcionais varia de acordo com as partes dos frutos. Segundo Gorinstein *et al.*, (2001; 2002), as cascas e sementes das frutas apresentam quantidades realmente superiores de compostos fenólicos quando comparadas as suas partes comestíveis. Castro, Kluge e Peres (2005) e Taiz e Zeiger (2009) justificam que a produção mais abundante de polifenóis nas cascas ocorre com a importante função de defesa contra patógenos e herbivoria.

Comparando com resultados na literatura, percebe-se que além da parte do fruto analisada, a quantificação de polifenóis extraídos influenciada de acordo com a variedade do fruto e a forma de extração. O conteúdo de fenólicos totais em cascas de manga cv. Tommy Atkins obtido por Sogi *et al.* (2013) através de extração a base de ácidos (ácido meta-fosfórico, ácido acético, ácido sulfúrico e água) em temperatura ambiente, variou de 2.032 a 3.185 mg/100g, enquanto Araújo *et al.* (2014) utilizaram uma extração com metanol

80%, também em temperatura ambiente, e determinaram apenas o valor de 184,9 mg/100g com a mesma variedade de manga. Já Dorta *et al.* (2012) encontraram 9.200mg/100g pelo mesmo método de extração utilizado neste trabalho (etanol 50% a 50 °C), quantidade muito superior, com uma única diferença entre os experimentos, a variedade utilizada, a manga Keitt.

Com relação ao conteúdo de carotenóides totais, EPM (665,5µg/100g) não apresentou diferença significativa em relação a ECM (651,3 µg/100g) ($p < 0,05$). Considerando a polpa da manga, Oliveira *et al.* (2011) encontraram 1.557 µg/100g de carotenóides totais na cv. Tommy Atkins *in natura*, extraídos com acetona e éter de petróleo, enquanto Silva *et al* (2014) encontraram 953,6 µg/100g de carotenóides totais em polpa de manga liofilizada (variedade não descrita) extraídos em acetona e hexano, a mesma forma de extração utilizada no presente estudo.

Em relação à casca, o valor foi muito discrepante de outros na literatura. Silva *et al.* (2014), quantificaram apenas 58,26 µg/100g em manga liofilizada (variedade não descrita), extraído pelo mesmo método utilizado no presente estudo (acetona + hexano), enquanto outros autores determinaram valores muito superiores. Melo e Araújo (2011) encontraram 48,06 µg/g em manga Tommy Atkins (casca seca em estufa com circulação forçada (a 40°C), até atingir a umidade inferior a 10%) através de extração sequenciada (acetona 80%) e Ajila *et al.* (2007) 194 e 436 µg/g em mangas das variedades Raspuri e Badami *in natura*, respectivamente, a partir de extratos de acetona 80%. Esse comparativo indica que a metodologia de extração utilizada neste estudo não tenha sido eficiente.

É provável ainda que tenha havido degradação dos carotenóides durante a liofilização e/ou armazenamento. Chichester e Mcfeeters (1971) relataram que, durante o processo de liofilização a ultraestrutura e os complexos podem ser quebrados, expondo os carotenóides a fatores adversos e, conseqüentemente, diminuídos o conteúdo de carotenóides no processo de extração, que emprega a liofilização. Isso justifica o conteúdo de carotenóides estar abaixo dos trabalhos relatados na literatura. Park (1987), num trabalho que comparava conteúdo de carotenóides de cenoura fresca com cenoura desidratada em estufa a vácuo, micro-ondas e liofilizadas, encontrou valores em torno de 50% menores para as amostras liofilizadas e desidratadas em micro-ondas, e concluiu que a desidratação, independentemente do método, reduz significativamente os carotenóides. Marques (2008) e Moreira *et al.* (2013) afirmam que a liofilização, através de sua característica sublimação, torna o alimento poroso, facilitando a degradação dos carotenóides. Sendo altamente insaturados, os

carotenóides são susceptíveis à isomerização e oxidação durante o processamento e armazenamento de alimentos, estimuladas pelo tempo de armazenamento e temperatura, transmissão de luz e permeabilidade ao O₂ da embalagem (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

O conteúdo de antocianinas totais para ECM foi de 6,2 mg/100g, quantidade bastante elevada em relação à EPM (1,1 mg/100g) ($p < 0,05$). A casca apresentou maior quantidade de antocianinas totais também em relação ao encontrado por Dorta, Lobo e Gonzáles (2012) em casca de manga, que foi de apenas 2,6 mg/100g. Já a polpa foi similar ao determinado por Pereira (2009) 1,3 mg/100g. Estes resultados corroboram a narrativa de Gorinstein *et al.*, (2001) que afirmaram que compostos fenólicos, como as antocianinas, são preferencialmente encontrados na casca, e isto se justifica com Mazza e Miniati (1993) que afirmam que na maioria de frutas e hortaliças, os pigmentos estão localizados nas células próximas à superfície, permitindo que atuem como filtros às radiações ultravioleta, melhorem e regulem a taxa de fotossíntese. Na literatura foram encontrados valores bastante variados.

Ajila *et al.* (2007a) relataram conteúdo de antocianinas na casca liofilizada de mangas cv. Raspuri e Badami a partir de extratos à base de acetona 80% variando entre 203 e 565 mg/100g, e leituras realizadas em espectrofotômetro, enquanto Berardini *et al.*, 2005a e Berardini *et al.*, 2005b relataram índices de antocianinas variando apenas entre 0,02 e 0,37 mg/100g paracascas liofilizadas de diferentes cultivares de manga extraídas em acetona 80% com prévia adição de ácido ascórbico, evaporado e, posteriormente dissolvido em metanol acidificado (0,1% ácido clorídrico), em leituras realizadas em HPLC. As diferenças entre os autores estão provavelmente relacionadas às diferenças nos métodos de extração e medição utilizados.

Com relação aos flavonoides amarelos, foram quantificados 11,7 mg/100g em EPM, valor que chega a ser menos de 14% do identificado em ECM, 85,36 mg/100g. Resultados semelhantes foram encontrados por Lopes *et al* (2016), que determinaram entre 10,1 e 17,0 mg/100g de flavonoides amarelos em polpas de manga cv. Tommy Atkins e entre 56,4 e 80,1 mg/100g nas cascas utilizando o mesmo protocolo do presente trabalho. É conhecido que a biossíntese envolvida na produção de flavonóis em tecidos de plantas é influenciada pela luz solar, e que mangas altamente expostas à luz do dia têm um aumento significativo da biossíntese de flavonóis (SPAYD *et al.*, 2002), especialmente nas cascas, partes mais expostas.

A vitamina C determinada para ECM (108,19 mg/100g) teve valor aproximado ao encontrado na literatura, como o descrito por Melo e Araújo (2011), que determinaram 99,94

mg/100g em casca de manga cv. Tommy Atkins *in natura*. EPM já apresentou conteúdos inferiores à literatura (21,59 mg/100g) ($p < 0,05$), como descrito por Yamashita *et al.* (2001), que determinaram 36 mg/100g para a polpa de mangacv. Tommy Atkins *in natura*, o que pode ser explicado pela alta porosidade promovida pelo processo de liofilização, e possivelmente, formação de grandes cristais de gelo durante o congelamento, resultando em grande destruição do tecido celular e exposição do nutriente ao oxigênio. Moreira *et al.* (2013) avaliaram o conteúdo de vitamina C na polpa *in natura* de manga cv. Tommy Atkins e verificaram uma redução de 76,99 % da vitamina C quando processada para obtenção do pó, o que foi atribuído à alta porosidade promovida por esse tipo de secagem, aumentando a superfície de contato do produto com o oxigênio, e, conseqüentemente, resultando em oxidação da vitamina.

E quanto à diferença entre os valores de vitamina C determinados na casca e na polpa, esta pode ser explicada pelo mesmo motivo dos demais compostos serem mais intensamente sintetizados na casca, a forte exposição solar das frutas tropicais. As partes do fruto mais expostas à luz solar apresentam conteúdo mais alto em vitamina C do que as demais (GURGEL *et al.*, 1951).

A atividade antioxidante total dos extratos hidroalcoólicos da manga estão contidos na tabela 3.

Tabela 3– Capacidade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos da casca e da polpa da manga (cv. Tommy Atkins), quantificados por espectrofotometria.

| Amostras | Atividade antioxidante | |
|----------|-------------------------------|-------------------------------|
| | ABTS ($\mu\text{M/g}$) | FRAP ($\mu\text{M/g}$) |
| ECM | 144,4 \pm 1,23 ^a | 20,62 \pm 0,11 ^a |
| EPM | 24,75 \pm 0,17 ^b | 15,03 \pm 0,06 ^a |

ECM = Extrato da casca da manga; EPM = Extrato da polpa da manga. Média de três determinações independentes. Médias seguidas por letras diferentes na horizontal diferem, entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Elaborada pelo autor

A atividade antioxidante em vegetais pode ser avaliada por vários tipos de ensaios, e conseqüentemente os resultados obtidos variam conforme o método selecionado, sendo FRAP, ABTS, DPPH e ORAC os mais utilizados (CONTRERAS-CALDERÓN *et al.*, 2011). Portanto, recomenda-se que esta avaliação seja realizada com base em mais de um modelo de ensaio antioxidante, a fim de fornecer um resultado confiável da capacidade antioxidante total de um alimento (RAJAT; PANCHALI, 2014; PÉREZ-

JIMÉNEZ *et al.*, 2008). A atividade antioxidante foi determinada através dos métodos ABTS e FRAP.

Pelo método ABTS foi determinado o valor de 144,40 $\mu\text{M TE/g}$ para a ECM, valor bastante elevado em relação à EPM, e também ao determinado por Martínez *et al.* (2012) em extrato etanólico (15,3 $\mu\text{M TE/g}$) e em extrato de metanol e acetona (38,0 15,3 $\mu\text{M TE/g}$) ou ao determinado por Deng *et al.* (2004) em extratos de tetra hidro-furano e metanol-acético, obtendo de 93,1 $\mu\text{M TE/g}$. A capacidade antioxidante de amostras de plantas pode ser influenciada por muitos fatores, tais como o solvente de extração e o sistema de teste, pelo que é necessário para executar os métodos de avaliação diferentes para ter em conta os vários mecanismos de ação antioxidante (WONG; LEONG; KOH, 2006).

O conteúdo de fitoquímicos em vegetais varia, entre outros fatores, em função das condições edafoclimáticas do cultivo, variedade e grau de maturação da fruta (SCALZO *et al.*, 2005), podendo conter maior conteúdo de compostos fenólicos nas sementes e cascas do que na polpa, ou ainda, o perfil dos fitoquímicos antioxidantes pode ser diferenciado nestas partes do vegetal (GUO *et al.*, 2003). Como consequência, muitas vezes, a ação antioxidante das sementes e cascas é superior à exibida pela porção comestível da fruta, como evidenciado por Soong e Barlow (2004) ao estudar a ação antioxidante das sementes e porção comestível da manga.

A liofilização estabiliza os compostos fenólicos sem reduzir a sua atividade antioxidante, podendo até mesmo aumentar a capacidade da casca de manga para capturar o radical livre ABTS (quando for extraído com etanol: água), e isto se deve ao fato de que uma grande porcentagem dos compostos fenólicos está ligada a estruturas celulares, e tratamentos de secagem liberam fitoquímicos ligados à matriz para torná-los mais acessíveis na extração (DORTA *et al.*, 2012a).

No método FRAP, foram determinados 20,62 $\mu\text{M/gem ECM}$, valor superior ao determinado por Martínez *et al.* (2012) em extrato etanólico 13,7 $\mu\text{M/ge}$ em extrato de metanol e acetona 19,1 $\mu\text{M/g.ECM}$ não exibiu diferença estatística de EPM ($p < 0,05$). No entanto, valores muito superiores foram encontrados na literatura para casca de manga pelo método FRAP. Sogi *et al.* (2013) determinaram 134 $\mu\text{M/g}$ utilizando ácido metafosfórico como solvente e Deng *et al.* (2012) encontraram 145,43 $\mu\text{M/g}$ utilizando tetra-hidrofurano, e estes valores nos sugere terem sido propiciados pelos solventes utilizado.

A atividade antioxidante é influenciada pelo solvente e a técnica de extração empregados (MADSEN; BERTELSEN, 1995; FRANKEL, 1993). De acordo com Thaiapong

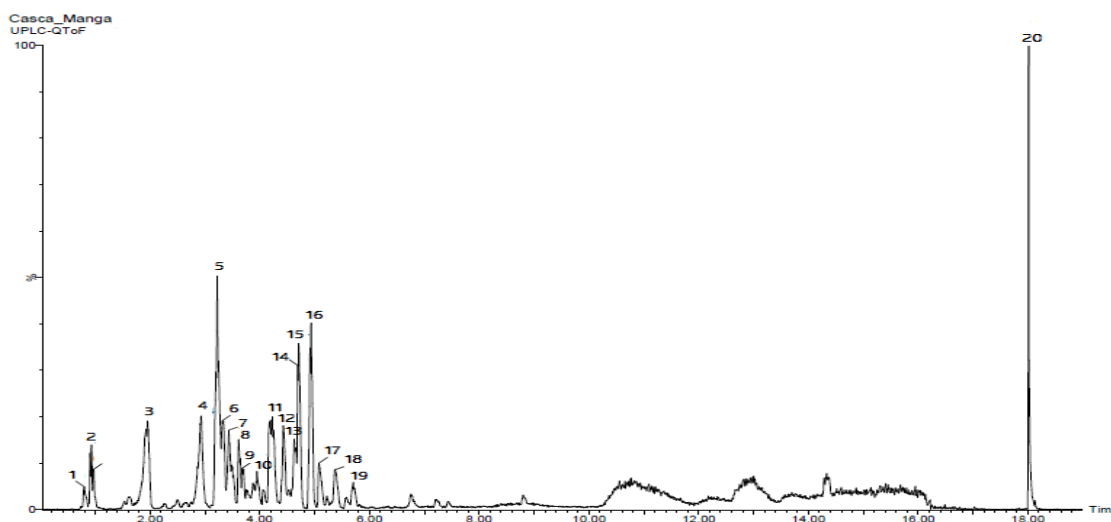
et al. (2006), existe elevada correlação entre os resultados na técnica FRAP com os conteúdos de ácido ascórbico e grupos fenólicos. Mas no presente estudo, o conteúdo de vitamina C foi excelente e a capacidade antioxidante pelo método FRAP não foi eficiente, o que tem pode ser explicado pela possível ação pró-oxidante desta vitamina (ALMEIDA *et al.*, 2011; CONTRERAS-CALDERÓN *et al.*, 2011).

Diferentes técnicas de determinação podem originar resultados diferentes, podendo diferir substancialmente entre um método e outro, e por isso é necessário combinar mais do que um método para caracterizar a capacidade antioxidante de uma amostra. Um exemplo disso são os resultados obtidos por Mazzeo *et al.* (2011), que analisaram espinafre, cenoura e couve-flor congelado, e verificaram a ocorrência de aumentos significativos da capacidade de antioxidante quando determinados pela técnica FRAP, o que não foi possível com o método ABTS.

5.2 Análise LC/MS de polifenóis da casca e da polpa de manga

A partir da análise QTOF, Cromatografia Líquida de Ultra Performance e espectros de massa de EPM, foi possível sugerir a identificação de vários compostos fenólicos em modo de ionização negativo (Figura 6), no qual as moléculas são ionizadas perdendo um próton (íon H^+) e adquirem carga negativa (WILSON; WALKER, 2010).

Figura 6– Perfil cromatográfico obtido a partir do extrato da casca de manga



Cromatograma UPLC-QTOF-MS dos constituintes químicos presentes no extrato hidroalcoólico da casca de manga (*Mangífera indica* L.). Modo ESI⁻ 110-1180 Da. Coluna Waters Acquity UPLC BEH (150 x 2,1 milímetros, 1,7 µm), temperatura fixa de 40 ° C, fases móveis água com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B), gradiente variando de 2% a 95% B (15 min), fluxo de 0,4 mL / min e volume de injeção de 5 µL.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para análise do extrato por cromatografia acoplada à espectrometria de massas, os compostos são separados e então detectados pelo espectrômetro, obtendo-se o espectro de massas, em baixa ou alta resolução e, a partir dos íons gerados, propõem-se as fórmulas moleculares, que são comparadas com bases de dados para a detecção das substâncias. Neste ponto, além da fórmula molecular, outros fatores podem ser considerados, como o tempo de retenção, o espectro no UV, fragmentos, e então a substância proposta é justificada (EL-ELIMAT *et al.*, 2013).

A comparação das massas e dos padrões de fragmentação obtidos com compostos anteriormente identificados na literatura forneceram uma identificação sugestiva. A tabela 4 apresenta os resultados dos espectros de ECM identificados no modo negativo. Nesta análise, foi possível identificar a presença de ácidos fenólicos, flavonóides e xantonas, compostos bioativos com propriedade antioxidante e anti-inflamatória muito bem documentadas (KRENEK; BARNES; TALCOTT, 2014, GÓMEZ-CARAVACA *et al.*, 2016; RAMIREZ *et al.*, 2014; SCHIEBER, BERARDINI, CARLE, 2003).

Tabela 4 - Compostos identificados por UPLC®-ESI-TOFMS/MS (QTOF) em extrato hidroalcoólico de casca da manga (ECM) cv. Tommy Atkins em modo de ionização negativo.

| N | TR | [M-H] ⁻ Experimental | [M-H] ⁻ Calculado | Erro (ppm) | Ms/Ms fragmentos | Fórmula molecular | Nome |
|----|------|------------------------------------|---------------------------------|---------------|---------------------|---|-------------------------------------|
| 1 | 0,8 | - | - | - | - | - | ND |
| 2 | 1,0 | - | - | - | - | - | ND |
| 3 | 1,9 | - | - | - | - | - | ND |
| 4 | 2,75 | 191.0554 | 191.0556 | -1.0 | 173, 127, 85 | C ₇ H ₁₂ O ₆ | Ácido Quínico |
| 4 | 2.93 | 169.0128 | 169.0137 | -5.3 | 125, 79 | C ₇ H ₆ O ₅ | Ácido Gálico |
| 4 | 3.00 | 303.0487 | 303.0505 | -5.9 | - | C ₁₅ H ₁₂ O ₇ | Taxifolina |
| 4 | 3.12 | 449,1270 | 449,1273 | -0,1 | 303 | C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁ | Astilbina |
| 5 | 3,26 | - | - | - | - | - | ND |
| 6 | 3.31 | 421.0764 | 421.0771 | -1.7 | 271,301,331 | C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁ | Mangiferina |
| 7 | 3,40 | - | - | - | - | - | ND |
| 8 | 3.67 | 573.0865 | 573.0880 | -2.6 | 421, 331, 301 | C ₂₆ H ₂₂ O ₁₅ | Mangiferina gallato |
| 9 | 3,70 | 595.1109 | 595.1305 | | 301, 300 | C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆ | Quercetina-3- O- diglicosideo |
| 10 | 3,93 | - | - | - | - | - | ND |
| 11 | 4.23 | 301.0341 | 301.0348 | -2.3 | 300 | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ | Quercetina |
| 11 | 4.23 | 463.0881 | 463.0877 | 0.9 | 301, 151 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ | Isoquercetina |
| 11 | 4.38 | 433.0763 | 433.0771 | -1.8 | 301, 300 | C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁ | quercetina-3- O- α -L- |

Continuação - Tabela 4 - Compostos identificados por UPLC®-ESI-TOFMS/MS (QTOF) em extrato hidroalcoólico de casca da manga (ECM) cv. Tommy Atkins em modo de ionização negativo

| N | TR | [M-H] ⁻ Experimental | [M-H] ⁻ Calculado | Erro (ppm) | Ms/Ms fragmentos | Fórmula molecular | Nome |
|----|------|------------------------------------|---------------------------------|---------------|---------------------|---|------------------------------|
| 12 | 4,50 | - | - | - | - | - | ND |
| 13 | 4,60 | - | - | - | - | - | ND |
| 14 | 4,76 | - | - | - | - | - | ND |
| 15 | 4,76 | - | - | - | - | - | ND |
| 16 | 4,90 | - | - | - | - | - | ND |
| 17 | 5,10 | - | - | - | - | - | ND |
| 18 | 5.37 | 197.0420 | 197.0450 | -1,2 | 169, 124 | C ₉ H ₁₀ O ₅ | Galato de etila |
| 19 | 5.70 | 315.0489 | 315.0505 | -5.5 | 164, 179 | C ₁₆ H ₁₂ O ₇ | Isoramnetina |
| 20 | 18.0 | 477.1018 | 477.1038 | -3.1 | 315, 314, 300 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂ | Isohamnetina 3-glicosideo |

N: número do pico; TR – Tempo de retenção; ND: não determinado. Nomes dos metabólitos sugeridos por comparação de suas massas e fragmentos com os obtidos previamente na literatura.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os ácidos fenólicos apresentam um grupo funcional carboxila e são divididos em duas classes: os ácidos hidroxibenzoicos, que são componentes das complexas estruturas dos taninos hidrolisáveis e são menos abundantes nos vegetais consumidos pelos humanos, eos ácidos hidroxicinâmicos, que estão presentes em vários alimentos e bebidas de origem vegetal, tendo como exemplo o ácido cafeico, *p*-cumárico, ferúlico e sinápico que, na maioria dos alimentos, se encontram esterificados ao ácido quínico, ácido tartárico ou carboidratos e derivados

O pico 4 apresentou 2 ácidos fenólicos. O íon precursor de m/z 191 corresponde a molécula desprotonada do ácido quínico. O espectro MS/MS deste íon levou ao íon produto de m/z de 127, que de acordo com Michelin (2008), se refere à perda de quatro hidroxilas [M-64-H]⁻. O conjunto de dados fornecidos pelo espectro de massas e a presença do íon precursor de m/z 191 são sugestivos da presença da molécula de ácido quínico na composição do extrato. Esta sugestão também corrobora os resultados de Saldanha, Vilegas e Dokkedal (2013). Ácido quínico possui propriedades antiinflamatória (ZENG *et al.*, 2009) e antioxidante (Zhang, L. *et al.*, 2012). Este composto foi identificado em outras espécies de manga (GÓMEZ-CARAVACA *et al.*, 2016). A via de fragmentação observada corresponde ao padrão do ácido gálico, sob forma de molécula desprotonada de m/z 169, conforme literatura (SANTOS *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2013; SALDANHA, VILEGAS e DOKKEDAL,

2013). Ácido gálico possui propriedades antioxidante, anti-inflamatória e antimelanogênica (CHENG *et al.*, 2013; KIM, 2007). O ácido gálico e os galotaninos foram os principais polifenólicos tentativamente identificados na manga (SALEH; EL-ANSARI, 1975; KIM; LOUNDS-SINGLETON; TALCOTT, 2009).

Os flavonóides são compostos fenólicos que constituem uma parte significativa de uma dieta saudável devido às suas altas capacidades antioxidantes e anti-inflamatórias (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002) e também o seu potencial como moléculas de luta contra o câncer (RAMOS, 2007). O exame dos cromatogramas no modo TOF-MS de extratos hidroalcoólicos obtidos a partir de casca de manga identificou o pico 11 como quercetina e derivados de quercetina. Também os picos 19 e 20 foram identificados como rhamnetina e composto derivado de rhamnetina.

O pico 4 ainda exibiu 2 flavonoides no espectro de massas. A astilbina, com espectro de massa MS/MS de m/z 449,115 e fórmula molecular $C_{21}H_{22}O_{11}$ foi identificada através do aparecimento do fragmento de m/z 303.0505, que corresponde à fórmula molecular $C_{15}H_{12}O_7$, referente à taxifolina, conhecido como a aglicona da astilbina (ZHANG *et al.*, 2013a). De acordo com Thapa *et al.* (2012) e Kim, Narayanan e Chang (2010) taxifolina é um dos principais flavonoides que agem nos mecanismos de defesa do corpo humano. Os flavonóides com múltiplas hidroxilas como a taxifolina possuem forte atividade antioxidante quando comparados ao α -tocoferol, ácido ascórbico, β -caroteno, glutatona, ácido úrico e bilirrubina (CAO; SOFIC; PRIOR, 1997; YANG *et al.* 2001).

Cechinel-Filho *et al.* (2000) investigaram as propriedades antinociceptiva e anti-edematogênica da astilbina e alguns derivados obtidos por modificação estrutural, como taxifolina e compostos relacionados, e revelaram quetaxifolina e seus derivados tetrametilados exibiram potente atividade antinociceptiva dose-dependente no teste de contorção abdominais induzidor por ácido acético (i.p.); que ambas substâncias foram potentes em atenuar a segunda fase do teste da formalina, onde é possível verificar a resposta do animal a uma dor contínua e moderada gerada por tecido lesionado; e que também exibiram efeito anti-edematogênico em edema de pata induzido por dextrana, mostrando-se mais potentes do que anti-inflamatórios não-esteroides como o ácido acetilsalicílico e paracetamol.

O espectro de massas da molécula desprotonada de m/z 197 levou à formação do íon produto de m/z 169 e do íon fragmento de m/z 125, padrão de fragmentação confirma que esta substância é o galato de etila, comparados com dados da literatura (SUN *et al.*, 2007). Esses fragmentos também confirmam a presença de ácido gálico (JIANG *et al.*, 2010). Galato

de etila é doador de hidrogénio, quelante de metal e eliminador de radicais livres (KALAIVANI; RAJASEKARAN; MATHEW, 2011), possui propriedade antimicrobiana (OOSHIRO, ATSUSHI *et al* 2009) e anti-inflamatória (KIM *et al.*, 2012; MEHLA *et al.*, 2011). Galato de etila foi encontrado majoritariamente em cascas de três cultivares de mangas (DORTA *et al.*, 2014).

O pico 9 apresentou espectro de massa MS/MS de m/z 595.1305 no modo ESI-MS e o íon m/z 301 no modo MS / MS que é o fragmento predominante causado pela clivagem de glicosídeos de quercetina. De acordo com a molécula desprotonada [M-H]⁻, a fórmula molecular gerada $C_{26}H_{28}O_{16}$ e o padrão de fragmentação, este composto foi tentativamente identificado como quercetina-3-O-diglicosídeo. Este composto foi previamente descrito em cascas de manga (SCHIEBER *et al.*, 2003). O pico 11 apresentou espectro de massa MS/MS de m/z 463,0882 que corresponde à fórmula molecular $C_{21}H_{20}O_{12}$ e também mostrou a típica fragmentação de glicosídeos de quercetina com fragmentos de m/z 301 e m/z 151 (FABRE, RUSTAN; DE HOFFMAN; QUETIN-LECLERQ, 2001) e presença de um pentosídeo de quercetina ($C_{20}H_{18}O_{11}$), de m/z 433,0776. O espectro de massa MS/MS de m/z 433,0776 apresentaram fragmento de m/z 301, correspondente ao ânion radical de aglicona quercetina. Este composto foi experimentalmente caracterizado como quercetina-3-O- α -L-arabinofuranosídeo (BARRETO *et al.*, 2008) e o pico 11 foi identificado como o flavonol Isoquercetina (BARRETO *et al.*, 2008, BERARDINI *et al.*, 2004). Dodda, Chhajed e Mishra (2014) relatam que a quercetina possui atividade anti-diabética, anti-úlceras, anti-hipertensiva, antidepressiva e anti-inflamatórias.

Além dos derivados de quercetina, um derivado de rhamnetina também foi encontrado na casca da manga em estudo. Conforme ilustrado na Tabela 4, o pico 20 apresentou espectro de massa MS/MS de m/z 477.1038, e fragmento de m/z 315, o que indica a presença de uma aglicona de flavonol metoxilada, isto é, a rhamnetina ou isorhamnetina, a qual foi apontada como isorhamnetina-3-glucosídeo, conforme dados de Schieber, Berardini e Carle (2003). Rhamnetina e derivados contém propriedades antioxidante e anti-inflamatória muito bem documentadas (LUTZ *et al.*, 2014; JNAWALI *et al.*, 2014; Kim 2013)

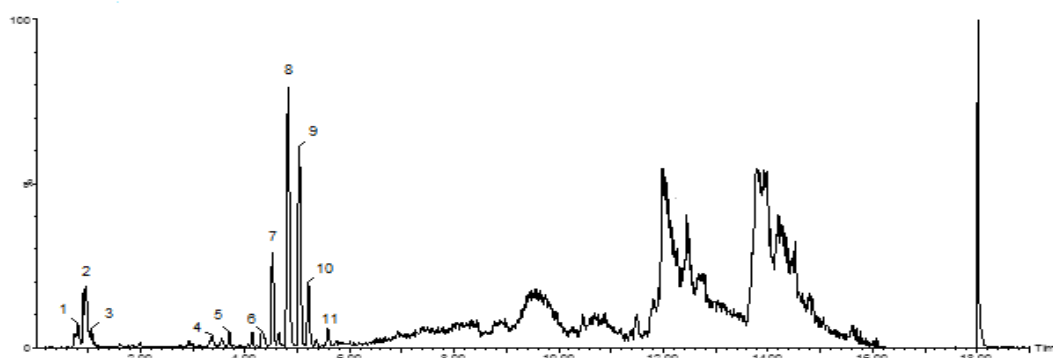
Xantonas, um grupo restrito de polifenóis vegetais estruturalmente semelhantes aos bioflavonóides, presentes na casca, frutos, raízes e folhas de *M. indica* L. e algumas outras plantas medicinais, são os mais poderosos antioxidantes conhecidos, e tem sido considerados mais potentes que a vitamina C e a vitamina E (MASIBO; HE, 2008). Elas têm sido descritas como fortes eliminadoras de radicais livres, com atividade antimicrobiana, anti-

inflamatória, anti-carcinogênica, quimiopreventiva, hepatoprotetora e cardioprotetora (HEIM *et al.*, 2002).

No presente estudo apenas uma xantona foi identificada. O pico, que mostrou um ion [M-H] de m/z 421,0771 com fórmula molecular C₁₉H₁₈O₁₁, foi identificado como mangiferina, uma xantona C-glicosídeo previamente descrita em vários estudos como o principal polifenol em cascas de manga. Além disso, o ion molecular de m/z 421,0771 mostrou no modo MS / MS a fragmentação típica de um C-glicosídeo, com ions de m/z 301 e m/z 331 (BARRETO *et al.*, 2008, SCHIEBER *et al.*, 2003). Mangiferina possui propriedades inflamatória, anti-cancerígena e antioxidante (GOLD-SMITH; FERNANDEZ; BISHOP, 2016; BENARD; CHI, 2015). Um derivado da mangiferina também foi detectado e sugerido de acordo com estudos anteriores. O pico apresentou ion de m/z 573.0880 com fórmula molecular C₂₆H₂₂O₁₅, foi identificado como mangiferina gallato, conforme Barreto *et al.* (2008).

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que o subproduto do processamento de manga é uma fonte rica de polifenóis que pode ser utilizado como ingrediente alimentar funcional, com propriedade antioxidante. De um ponto de vista fitoquímico, a detecção de flavonoides como quercetina, rhamnetina e seus respectivos derivados, além de xantonas como a mangiferina e derivados, podem ser úteis na compreensão da ação anti-inflamatória. A figura 7 exibe o cromatograma obtido dos extratos de polpa de manga (EPM) a partir da análise UPLC-QTOF-MS, onde, foi possível sugerir a identificação de vários compostos fenólicos em modo de ionização negativo.

Figura 7– Perfil cromatográfico obtido a partir do extrato da polpa de manga.



Cromatograma UPLC-QTOF-MS dos constituintes químicos presentes no extrato hidroalcoólico da polpa de manga (*Mangifera indica* L.). Modo ESI 110-1180 Da. Coluna Waters Acquity UPLC BEH (150 x 2,1 milímetros, 1,7 µm), temperatura fixa de 40 ° C, fases móveis água com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B), gradiente variando de 2% a 95% B (15 min), fluxo de 0,4 mL / min e volume de injeção de 5 µl.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A tabela 5 mostra os resultados do espectro de EPM identificados no modo negativo. Nesta análise, foi possível identificar a presença de importantes compostos com propriedades antioxidante e anti-inflamatória previamente documentadas (KRENEK, K. A.; BARNES, R. C; TALCOTT, S. T., 2014, GÓMEZ-CARAVACA *et al.*, 2016; RAMIREZ *et al.*, 2014; SCHIEBER, BERARDINI, CARLE, 2003).

Tabela 5 - Compostos identificados por UPLC®-ESI-TOFMS/MS (QTOF) em extrato hidroalcoólico de polpa da manga (EPM) cv. Tommy Atkins em modo de ionização negativo.

| N | TR | [M-H]- Experimental | [M-H]- Calculado | Erro (ppm) | Ms/Ms fragmentos | Fórmula molecular | Nome |
|----|------|------------------------|---------------------|---------------|---------------------|---|---------------------------|
| 1 | 0.81 | - | - | - | - | - | ND |
| 2 | 0.96 | - | - | - | - | - | ND |
| 3 | 1.08 | 133.0792 | 133.0795 | 0.1 | 115 | C ₄ H ₆ O ₅ | Ácido málico |
| 4 | 3.37 | 421.0782 | 421.0771 | 2.6 | 272, 301,331 | C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁ | Mangiferina |
| 5 | 3.71 | - | - | - | - | - | ND |
| 6 | 4.33 | 463.0892 | 463.0877 | 3.2 | 301, 179, 151 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ | Quercetin- 3-O-glucose |
| 6 | 4.35 | 301.0349 | 301.0348 | -7.0 | 179, 151 | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ | Quercetina |
| 7 | 4.53 | - | - | - | - | - | ND |
| 8 | 4.82 | 331.2594 | 331.2601 | -0.3 | 271, 169 | C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀ | β- Glucogallin |
| 9 | 5.03 | - | - | - | - | - | ND |
| 10 | 5.21 | 169.0137 | 169.0137 | 0.0 | 125 | C ₇ H ₆ O ₅ | Ácido gálico |
| 11 | 5.59 | 483.0792 | 483.0781 | -0.1 | 125, 169 | C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄ | Digaloil Glucose |

N: número do pico; TR – Tempo de retenção; ND: não determinado. Nomes dos metabólitos sugeridos por comparação de suas massas e fragmentos com os obtidos previamente na literatura.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O pico 3 com um ion [M-H] a m/z 133 e um padrão MS/MS de m/z 115 foi sugerido como ácido málico. Conforme Medlicott e Thompson (1985), o ácido málico é um dos maiores ácidos orgânicos encontrados em manga. Está amplamente distribuído na célula da planta, animal e microorganismo, e é um dos produtos intermediários mais importantes do ciclo do ácido tricarbóxico no organismo (PATIL *et al.*, 2012). É utilizado extensivamente na indústria farmacêutica e como aditivo alimentar (CHIBATA; TOSA; TAKATA, 1983; KUNICKA-STYCZYŃSKA; POGORZELSKI, 2009). Ácido málico foi encontrado em manga Tommy Atkins e em outras cultivares de manga como um dos ácidos fenólicos mais abundantes (FENG-XIA *et al.*, 2013; MEDLICOTT; THOMPSON, 1985; MEDLICOTT; THOMPSON, 1986a).

O pico 4 foi identificado como Mangiferina. Apresentou uma fórmula molecular C₁₉H₁₈O₁₁ e fragmentos típicos de m/z 272, 301, e 331, o que corrobora os resultados de Schieber, Ullrich e Carle(2000).

Quercetina e um derivado (Quercetina 3-O-glucose) foram detectados no pico 6. Quercetina foi sugerida a partir do ion de m/z 301 e Quercetina 3-O-glucose por apresentar ion de m/z 463, e por ambos exibirem fragmentos de m/z 179 e 151, padrão de fragmentação de quercetina e derivados, segundo Ramirez *et al.* (2014). Schieber, Ullrich e Carle (2000) também relataram a presença de Quercetina e Quercetina 3-O-glucose (Isoquercetrina) em polpa de manga.

O pico 8 apresentou composto de ion de m/z 331 e um fragmento m/z 271 e um de m/z 169, consistente com padrões de fragmentação da glicose em uma ligação éster através do ácido gálico, conforme Krenek, Barnes e Talcott (2014), sugerindo a presença de β-glucogallin ou mono-galoil-glicose, um precursor da biossíntese de elagitaninos. O pico 10 exibiu características de fragmentação do ácido gálico. O íon de m/z 169 apresentou fragmento 125, o que corrobora os resultados de Gómez-Caravaca *et al.* (2015) e Krenek, Barnes e Talcott (2014). O pico 11 exibiu composto de ion m/z 483 e fragmentos de m/z 125 e 169. Essa fragmentação é característica do composto digaloil glucose, conforme Goméz-Caravaca *et al.* (2015). O metabolito ácido gálico deriva da via do ácido chiquimíco, um intermediário do metabolismo secundário da glicose, e é um componente de taninos hidrolisáveis em plantas (GRUNDHOFER *et al.*, 2001). Kim (2007) mostrou que o ácido gálico é antimelanogênico e antioxidante. Derivados de ácido gálico, inibem a cadeia respiratória do parasita Trypanossoma cruzi (LETELIER *et al* 1990), possuem atividade antimicrobiana contra Escherichia coli (BOYD *et al.*, 1981), propriedades antimutagênicas (APOSTOLIDES *et al.*, 1997) e antioxidantes

Estes compostos já foram identificados na polpa de manga. Schieber *et al.*, 2000 e El Ansari, Reddy, Sastry e Nayudamma (1969) relataram a identificação de mangiferina, ácidos gálicos (ácidos m-diglâmico e m-trigálico), gallotaninos, quercetina, isoquercetina, ácido elágico e β-glucogallina.

5.3 Teste da viabilidade celular

O teste da viabilidade celular consiste em verificar as células vivas após a exposição durante um determinado período de tempo, a um determinado composto, e a verificação da proliferação celular serve para verificar se as células conseguem recuperar após

exposição a um agente citotóxico durante um determinado período de tempo, a um determinado composto (VEGA; PUSGLEY, 2011).

O teste de MTT, frequentemente, é utilizado para investigar o potencial citotóxico de substâncias extraídas de plantas e quimioterápicos (SENFTE *et al.*, 2010). Neste trabalho, investigou-se a capacidade dos extratos hidroalcoólicos de polpa e da casca de manga diminuírem o metabolismo mitocondrial, um efeito citotóxico, através do teste de MTT.

A tabela 6 exhibe os resultados obtidos através do ensaio de viabilidade celular pelo teste MTT com extrato hidroalcoólico da casca de manga cv. Tommy Atkins, expressos em densidade ótica.

Tabela 6– Ensaio de viabilidade celular (cultura IEC-6) para extrato da casca da manga (ECM) expressa em densidade ótica (DO), a partir do ensaio MTT.

| Concentração | DO (570nm/630 nm) |
|--|--------------------------|
| Controle - 100µL de meio de cultura | 0,509±0,022 |
| ECM - 20mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,444±0,025 |
| ECM - 10mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,507±0,095 |
| ECM - 5mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,295±0,007 ^a |
| ECM - 2,5mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,154±0,055 ^a |
| ECM - 1,25mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,302±0,317 ^a |
| ECM - 0,625mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,415±0,444 |

a - $p < 0,05$, quando comparado com o grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A viabilidade celular pode ser observada em todas as concentrações de ECM, mas a proliferação só ocorreu nas concentrações de 20mg/Kg, 10mg/Kg, 0,625 mg/Kg (tabela6). As demais concentrações demonstram que não houve proliferação, mas que não também não ocorreu morte celular, já que houve formação de cor e foram obtidos valores positivos nas leituras.

O MTT, brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio, baseia-se na capacidade que as oxidoredutases celulares dependentes de NAD(P)H, presentes nas mitocôndrias, têm de reduzir este corante de tetrazólio à sua forma insolúvel, o formazan, que tem uma coloração púrpura (MOSMANN *et al.*, 1983). A quantidade de formazan produzido é diretamente proporcional ao número de células vivas; quando as células morrem perdem a habilidade de formar formazan a partir do MTT, portanto a formação de cor trata-se de um marcador útil e conveniente apenas de células viáveis, sendo, por isso, um método colorimétrico sensível, quantitativo e robusto para a medição da viabilidade e/ou proliferação celular (VEGA; PUSGLEY, 2011).

Tabela 7 - Ensaio de viabilidade celular (cultura IEC-6) para extrato da polpa da manga (EPM) expressa em densidade ótica (DO), a partir do ensaio MTT.

| Concentração | DO (570nm/630 nm) |
|--|---------------------------|
| Controle - 100µL de meio de cultura | 0,509±0,022 |
| EPM - 20mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,531± 0,164 |
| EPM - 10mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,848± 0,010 ^a |
| EPM - 5mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 1,112±0,177 ^a |
| EPM - 2,5mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,866±0,412 ^a |
| EPM - 1,25mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,338±0,376 ^a |
| EPM - 0,625mg/Kg em 100µL de meio de cultura | 0,689±0,013 ^a |

a - $p < 0,05$, quando comparado com o grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na tabela 7 é possível observar que EPM promoveu proliferação celular nas concentrações de 20mg/Kg, 10mg/Kg, 5mg/Kg, 2,5mg/Kg e 0,625 mg/Kg, e isso mostra que não há toxicidade no produto testado. O valor menor observado na resposta à concentração de 1,25 mg/Kg demonstra que não ocorreu proliferação celular, mas que também não houve morte das células.

5.4 Modelo de gastropatia induzida por naproxeno

A produção de ácido gástrico e a secreção mucosa são fatores importantes responsáveis pela manutenção da integridade da parede gastrointestinal, mas subjacentes ao equilíbrio homeostático, pois o comprometimento da homeostase gástrica pode levar à erosão da mucosa e ulceração (ROBERT, 1979). Alguns estudos mostram que o desenvolvimento da lesão da parede gástrica induzida por anti-inflamatórios não-esteroidais (AINE) envolve um aumento na secreção de ácido gástrico e inibição da síntese de muco, levando a um declínio nos níveis de PG locais (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

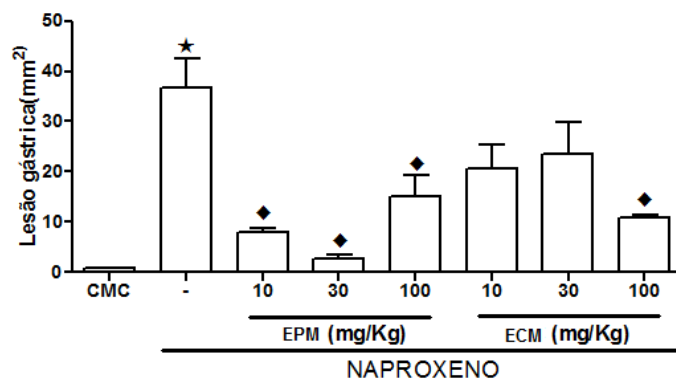
Com a inibição da biossíntese de prostaglandinas no estômago, diminuem seus mecanismos de defesa, tornando este órgão mais vulnerável à lesão (BATLOUNI, 2010). Essa inibição é responsável pelos principais efeitos colaterais dos AINE, como gastrite, disfunção plaquetária, comprometimento renal e broncoespasmos (JÚNIOR, e tal., 2007), pois as PG mantêm a integridade da parede gástrica através da inibição da secreção ácida, estimulação da secreção de muco e bicarbonato, inibição da ativação de mastócitos, diminuição da aderência

leucocitária ao endotélio vascular, inibição da apoptose, e aumento e manutenção do fluxo sanguíneo da mucosa (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

O Naproxeno (NAP) é um AINE comumente prescrito, e está frequentemente associado a lesões gástricas e enteropáticas (AADLAND *et al.*, 1987), uma propriedade atribuída a fatores que incluem ativação de neutrófilos, deficiência de prostaglandinas endógenas (PG) e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (TANAKA *et al.*, 2001). A relação das ERO e as lesões gástricas induzidas por naproxeno foi esclarecida por alguns autores. Segundo Quintero e Miranda (2000) e Dall'Acqua e Viola (2001), o naproxeno está entre os compostos que contêm ácido aril-propiónico em sua estrutura química, o qual se comporta como fotossensibilizador. Com a absorção de fótons do comprimento de onda apropriado, o cromóforo atinge um estado excitado, e esta energia de excitação é então transferida para moléculas de oxigênio, gerando ERO, como superóxido e radicais hidroxila (ONOUE; TSUDA, 2006). As ERO reagem com o DNA nuclear, resultando na quebra da sua cadeia, que segundo Condorelli *et al.* (1995) e Bosca, Marin e Miranda (2001) é facilitada por uma interação não covalente entre o fármaco e o DNA, induzida pela transferência de elétrons e de energia para o DNA.

Na Figura 8, podemos observar que os animais que receberam a administração de NAP (300 mg/kg) apresentaram lesão na mucosa gástrica, enquanto os animais que receberam apenas o veículo CMC (controle) não desenvolveram lesão alguma.

Figura 8– Avaliação do efeito protetor do extrato de casca de manga (ECM) e do extrato de polpa de manga (EPM) nas concentrações de 10, 30 e 100 mg/Kg, no modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno (300mg/kg).



O resultado foi expresso como média \pm S.E.M. para grupo de seis animais por grupo. (*) $p < 0,05$, quando comparado com o grupo CMC (controle); (♦) $p < 0,05$, quando comparado com o grupo NAP. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA, seguido do teste de Bonferroni. A área total das lesões gástricas macroscópicas foi determinada 6 horas após administração do naproxeno.

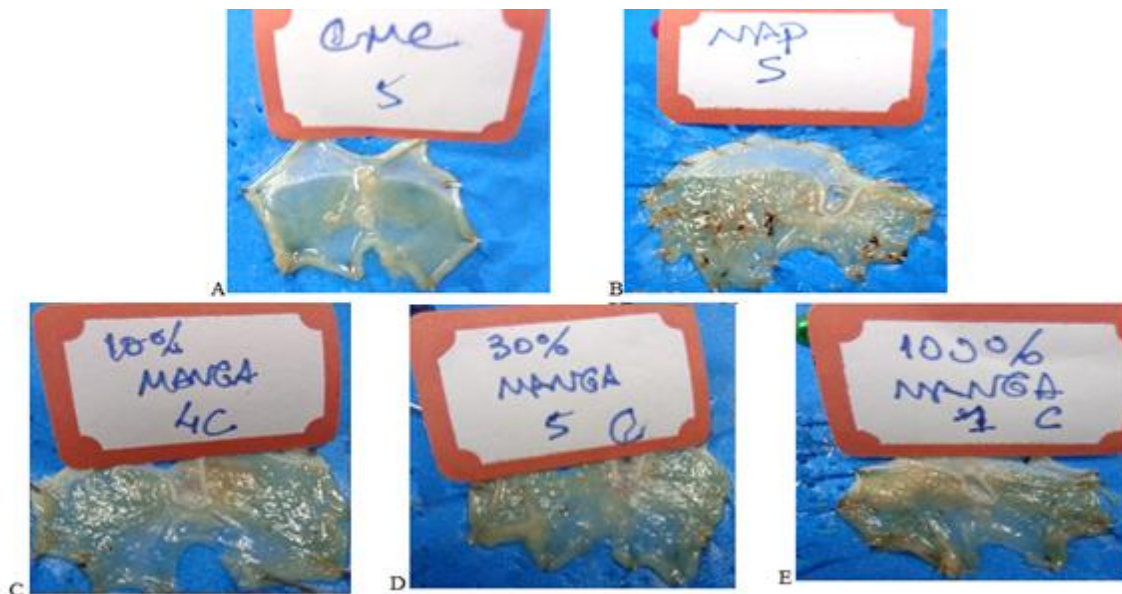
Fonte: Elaborada pelo autor.

Contudo, os pré-tratamentos com o extrato hidroalcoólico de polpa da manga (EPM) se mostraram eficientes na avaliação macroscópica nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg de peso corporal, reduzindo de forma significativa a lesão gástrica provocada pela administração de NAP. Por outro lado, ECM só se mostrou estatisticamente significativa na dose de 100mg/kg ($p < 0,05$)

Como a produção de espécies reativas de oxigênio e a peroxidação lipídica desempenham papéis importantes na ulceração gástrica induzida por Naproxeno, é possível afirmar que a eficácia de ambos os extratos se deu devido às suas ricas composições fenólicas, conferindo-lhes importante atividade antioxidante contra os radicais livres formados pelo uso do Naproxeno.

A Figura 9 exibe os danos causados pela administração de NAP (painel B), em comparação com o controle CMC (painel A), e que ECM preveniu gastropatia induzida por naproxeno (painéis C, D e E).

Figura 9 – Avaliação macroscópica da parede gástrica de camundongos pré-tratados com extrato de casca de manga (ECM) nas concentrações de 10, 30 e 100 mg/kg na lesão induzida por naproxeno (NAP; 300mg/kg).



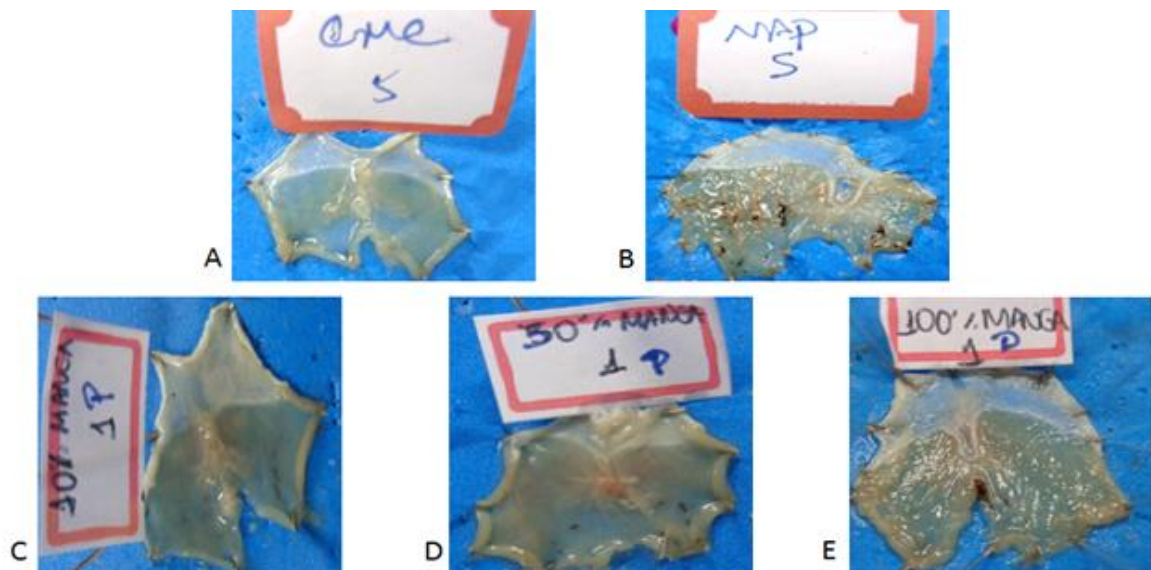
Fotomicrografias da parede gástrica de camundongos pré-tratados com: Painei A: grupo CMC (carboximetilcelulose 0,5 %, via oral); Painei B: grupo CMC (carboximetilcelulose 0,5 %, v. o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v. o.); Painei C: grupo ECM (10 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.); Painei D: grupo ECM (30 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.); Painei E: grupo ECM (100 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.).

Fonte: Elaborada pelo autor

Os pré-tratamentos com ECM nas doses de 10 e 30 mg/kg reduziram a severidade dos danos provocados por NAP, mas não foram estatisticamente significativos. Como o desempenho dos antioxidantes *in vivo* depende dos tipos de radicais livres formados, do local e como são gerados esses radicais, da análise e dos métodos para a identificação dos danos, e das doses ideais para obter proteção, é perfeitamente possível que um antioxidante atue como protetor em determinado sistema, mas que falhe na proteção, ou mesmo que aumente as lesões induzidas em outros sistemas, ou tecidos (HALLIWELL *et al.*, 1995). Em geral, quanto maior a concentração de inibidor, mais a atividade do agonista será reduzida (MOLYNEUX, 2004).

A Figura 10exibe os danos causados pela administração de NAP (painel B), em comparação com o controle CMC (painel A), e como EPM foi capaz de reduzir a intensidade dos danos induzidos por naproxeno (painéis C, D e E).

Figura 10 – Avaliação macroscópica da parede gástrica de camundongos pré-tratados com extrato de polpa de manga (EPM) nas concentrações de 10, 30 e 100 mg/kg na lesão induzida por naproxeno (NAP; 300mg/kg).



Fotomicrografias da parede gástrica de camundongos pré-tratados com: Painel A: grupo CMC (carboximetilcelulose 0,5 %, via oral); Painel B: grupo CMC (carboximetilcelulose 0,5 %, v. o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v. o.); Painel C: grupo EPM (10 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.); Painel D: grupo EPM (30 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.); Painel E: grupo EPM (100 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.).

Fonte: Elaborada pelo autor

Nos painéis C, D e E (EPM nas doses 10, 30 e 100 mg/kg, respectivamente), é possível visualizar a diminuição das úlceras em comparação ao grupo NAP (painel B). A redução da gastropatia foi confirmada por análise histológica (Tabela 8).A histologia é a

ciência que estuda as células no contexto da estrutura tecidual e a inter-relação delas com os constituintes da matriz extracelular.

Tabela 8 – Avaliação microscópica pelos critérios de Laine *et al.* (1988) da administração de extrato de casca de manga (ECM) e de extrato de polpa de manga (EPM) nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg na lesão induzida por naproxeno (300mg/kg).

| Grupo Experimental (N=5) | Lesão hemorrágica (Escore 0-4) | Edema (Escore 0-4) | Perda de arquitetura das células (Escore 0-3) | Infiltrado de células (0-3) | Total (Escore 14) |
|---------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|--|------------------------------------|--------------------------|
| CMC | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| NAP | 1(1-2) ^a | 2,5(1-4) ^a | 3(2-3) ^a | 2(1-3) ^a | 7,5(5-12) ^a |
| 10 ECM | 0(0-0) ^b | 1(1-2) | 0(0-1) ^b | 0(0-2) ^b | 1(1-5) ^b |
| 30 ECM | 0(0-0) ^b | 1(0-3) | 2(0-2) | 1(0-2) | 4(0-7) |
| 100 ECM | 0(0-1) | 1(0-2) ^b | 1(0-2) ^b | 1(1-2) | 3(1-7) |
| 10EPM | 0,5(0-2) | 1(0-2) ^b | 2(0-2) | 1(0-1) | 4,5(0-7) |
| 30 EPM | 1(0-2) | 1(1-2) | 1(0-1) ^b | 0(0-2) ^b | 3(1-7) |
| 100 EPM | 0(0-1) ^b | 0(0-1) ^b | 1(0-2) ^b | 1(0-1) ^b | 2(0-5) ^b |

Valores denotam mediana com mínimo e máximo, respectivamente. Teste de Kruskal- Wallis.

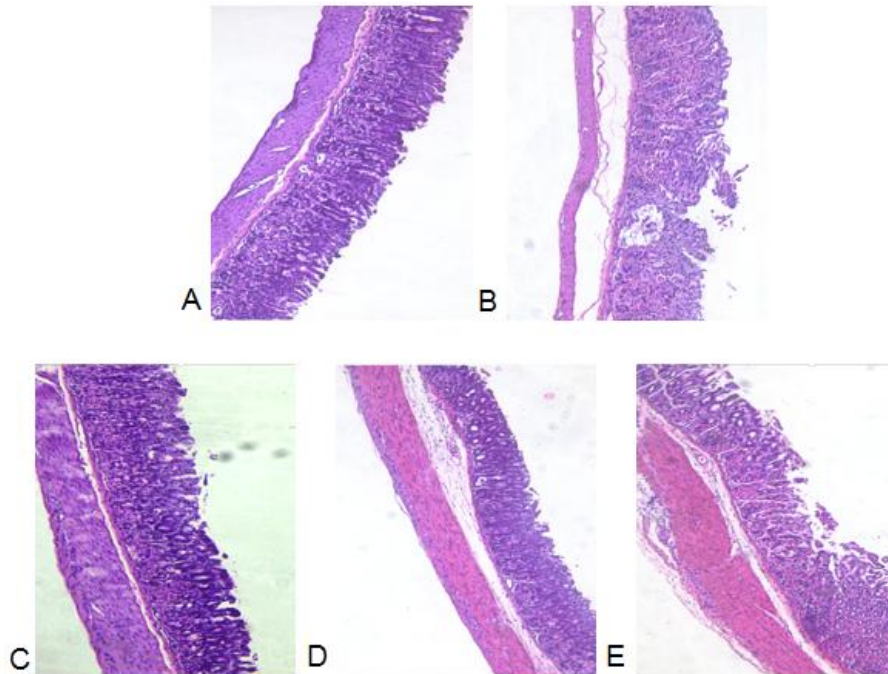
(a) $p < 0,05$, quando comparado com o grupo controle

(b) $p < 0,05$, quando comparado com o grupo NAP

A análise microscópica revelou que a administração de naproxeno causou lesões na parede gástrica caracterizada por desarranjo nas glândulas gástricas com perdas das células epiteliais, edema, hemorragia e intensa infiltração de células inflamatórias, quando comparado com o grupo controle CMC. Este resultado corrobora os de Carvalho *et al.* (2015) que observou que a administração oral de NAP resulta em lesões gástricas macroscópicas e microscópicas, evidenciadas por edema, perda de células epiteliais, infiltração de células inflamatórias e hemorragia.

Por outro lado, os pré-tratamentos com ECM(10 mg/kg) e EPM (100 mg/Kg)diminuíram significativamente a infiltração de células inflamatórias, a formação de edema, a perda de células epiteliais e os danos hemorrágicos induzidos por NAP.É possível visualizar estes resultados através de fotomicroscopias dos tecidos gástricos dos camundongos tratados com ECM (figura 11) e EPM (figura 12).

Figura 11 – Fotomicroscopia do tecido gástrico de camundongos pré-tratados com extrato de casca de manga (ECM; mangifera indica L.), nas concentrações de 10, 30 e 100 mg/Kg no modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno 300 mg/kg.



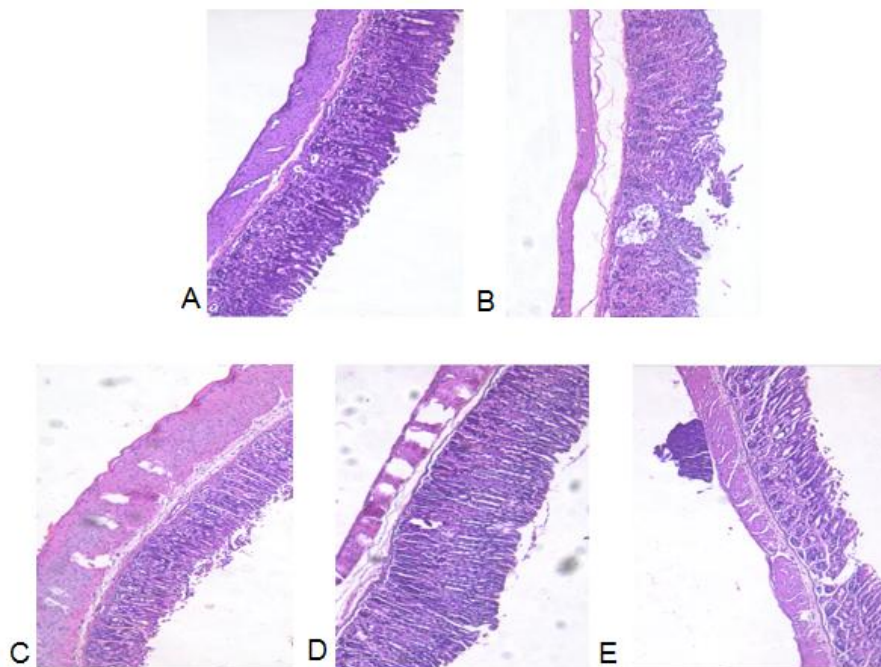
Fotomicroscopia da parede gástrica de camundongos tratados com: Painei A: grupo CMC (carboximetilcelulose 0,5 %, via oral); Painei B: grupo CMC (carboximetilcelulose 0,5 %, v. o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v. o.); Painei C: grupo ECM (10 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.); Painei D: grupo ECM (30 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.); Painei E: grupo ECM (100 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.). Aumento de 100 vezes.

Fonte: Elaborada pelo autor.

No painei C (figura 11), é perceptível uma preservação maior da parede gástrica dos camundongos que receberam o pré-tratamento de ECM na dose de 10 mg/kg, em comparação com as demais doses (30 mg/kg, painei D e 100mg/kg, painei E). É visualizado pouco edema, e não é exibida perda de células epiteliais, infiltração de células inflamatórias nem hemorragia, mostrando ter sido eficiente contra os danos provocados pelo naproxeno (painei B).

No painel E (figura 12), os danos à parede gástrica dos camundongos que receberam o pré-tratamento de EPM na dose de 100 mg/kg se mostraram reduzidos, em comparação aos que receberam a administração de NAP (painel B). É visualizado pouco infiltrado de neutrófilos e pouca perda de arquitetura das células, mas não é exibido edema nem hemorragia. As paredes dos estômagos dos camundongos que receberam as demais doses (10 mg/kg, painel C e 30mg/kg, painel D) sofreram maiores danos, exibindo lesões hemorrágicas edema, perda de células epiteliais e infiltração de células inflamatórias.

Figura 12 – Fotomicroscopia do tecido gástrico de camundongos pré-tratados com extrato de polpa de manga (EPM; *Mangifera indica* L.), nas concentrações de 10, 30 e 100 mg/Kg no modelo de lesão gástrica induzida por naproxeno 300 mg/kg



Fotomicroscopia da parede gástrica de camundongos tratados com: Painel A: grupo CMC (carboximetilcelulose 0,5 %, via oral); Painel B: grupo CMC (carboximetilcelulose 0,5 %, v. o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v. o.); Painel C: grupo EPM (10 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.); Painel D: grupo EPM (30 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.); Painel E: grupo EPM (100 mg/Kg, v.o.) + NAP (naproxeno 300 mg/kg, v.o.). Aumento de 100 vezes.

Fonte: Elaborada pelo autor.

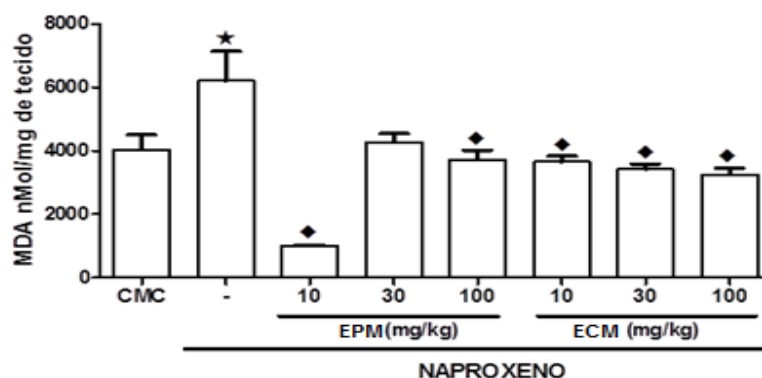
Diante da redução de todos os parâmetros de inflamação medidos, podemos afirmar que ambos extratos possuem propriedade gastroprotetora, o que corrobora estudos anteriores. Podemos ainda sugerir que a propriedade gastroprotetora se dá pela atividade antioxidante dos compostos fenólicos contido nos extratos. Frutas e vegetais contêm constituintes químicos bioativos, incluindo flavonóides, terpenos, xantonas, saponinas, alcalóides e taninos, capazes de oferecer gastroproteção (SANTOS & RAO, 2001; MORIKAWA *et al.*, 2006). Segundo Repetto *et al.* (2002) e Thompson *et al.* (2006),

evidências clínicas e experimentais sugerem que o estresse oxidativo está estreitamente relacionado à etiopatologia da doença ulcerosa péptica, e que substâncias antioxidantes, como a mangiferina, podem desempenhar ação gastroprotetora. Sistemas antioxidantes complexos, como eliminadores de radicais e inibidores da produção de radicais livres, ajudam a prevenir danos oxidativos causados por altas concentrações de radicais livres (MAHMOOD T; GUPTA; KAISER, 2009).

Como as doenças gastrointestinais, incluindo danos induzidos por AINE, envolvem estresse oxidativo produzido pela geração de radicais livres e peroxidação lipídica, se torna necessária a medição de biomarcadores sanguíneos do balanço redox, para estimar os danos causados pelas ERO e a eficiência das defesas antioxidantes do organismo, os quais podem avaliar o dano oxidativo à estruturas lipídicas, através da peroxidação lipídica (LPO) bem como o dano oxidativo à proteínas, através dos compostos carbonílicos e sulfidrílicos (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1999).

Malondialdeído (MDA) é um metabolito do processo de peroxidação lipídica e, portanto, um indicador de oxidação e um marcador de estresse oxidativo, sendo possível mensurar o grau de peroxidação lipídica nos tecidos através da medição dos seus níveis (DEEPA *et al.*, 2012). Na lesão gástrica induzida por naproxeno, observamos um aumento significativo dos níveis de MDA, quando comparado com o grupo controle (Figura 13).

Figura 13 – Determinação da concentração de malondialdeído (MDA) na parede gástrica de camundongos previamente tratados com extrato de casca de manga (ECM) e extrato de polpa de manga (EPM) (*Mangifera indica* L.) na gastropatia induzida por naproxeno (300 mg/kg)



O resultado foi expresso como média \pm S.E.M. para grupo de seis animais por grupo. (*) $p < 0,05$, quando comparado com o grupo CMC (controle); (♦) $p < 0,05$, quando comparado com o grupo NAP. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA, seguido do teste de Bonferronis.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A administração de EPM e ECM foi capaz de reduzir a peroxidação lipídica induzida no modelo de gastropatia por NAP. Porém, somente as doses de 10 e 100mg/Kg de

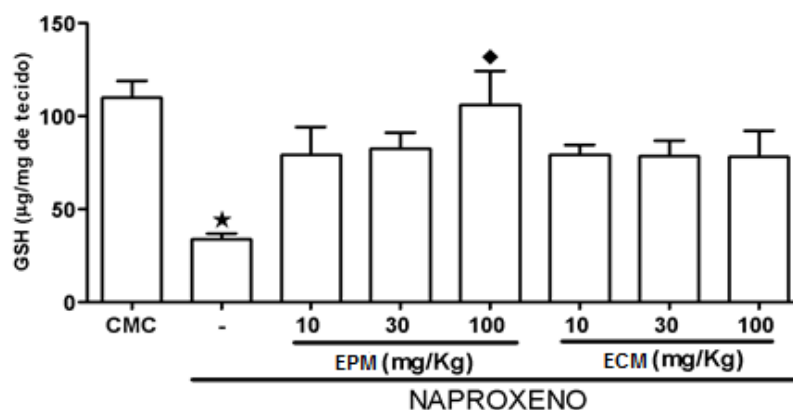
EPM diminuíram de forma significativa, a formação de MDA, quando comparado com o grupo NAP. Essa ausência de significância na resposta à dose de 30mg/kg pode ter sido, provavelmente, devido a erro experimental, pois foi um comportamento isolado. A diminuição do número de animais para experimentação é uma preocupação ética crescente da comunidade científica, e também pode ter contribuído para este erro.

ECM foi capaz de reduzir os níveis de MDA nas três doses testadas (10, 30 e 100 mg/kg). Como os radicais livres, quando aumentam de modo excessivo, provocam demasiada produção de intermediários reativos como o MDA, nesse contexto, podemos sugerir uma atividade antioxidante importante de EPM e ECM, através da capacidade de reduzir os níveis de MDA (Figura 13).

A ação tóxica de ERO também pode ser avaliada pela ação de compostos antioxidantes endógenos como a glutatona (GSH), um marcador da saúde celular com um papel importante na manutenção de proteínas celulares e lipídios no seu estado funcional, além de fornecer uma proteção importante ao participar dos sistemas de defesa celular contra danos oxidativo (MARÍ *et al.*, 2009).

Na figura 14 é possível observar uma redução significativa nos níveis de GSH no modelo de gastropatia induzida pela NAP, quando comparado ao grupo controle.

Figura 14 – Determinação dos níveis de glutatona (GSH) na parede gástrica de camundongos previamente tratados com extrato de casca de manga (ECM) e extrato de polpa de manga (EPM) (*Mangifera indica* L.) na gastropatia induzida por naproxeno (300mg/kg).



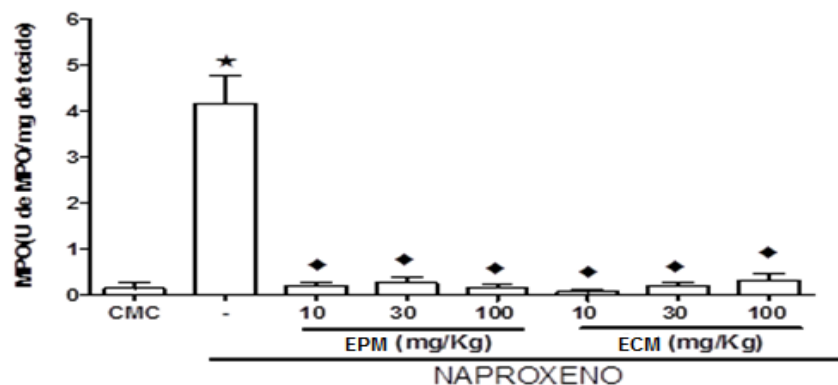
O resultado foi expresso como média \pm S.E.M. para grupo de seis animais por grupo. (*) $p < 0,05$, quando comparado com o grupo CMC (controle); (♦) $p < 0,05$, quando comparado com o grupo NAP. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA, seguido do teste de Bonferroni.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A molécula de GSH é um carreador de radiações livres quando presentes no tecido, afim de neutralizar essas moléculas tóxicas para a células, GSH são oxidadas. Como há a geração de radicais livres durante os mecanismos de ação de NAP, as GSH foram oxidadas. Em contrapartida, todas as doses administradas de ambos extratos (EPM e ECM) foram capazes de preservar os níveis de GSH. No entanto, EPM na dose de 100 mg/kg apresentou uma atividade antioxidante estatisticamente significativa, determinada através da preservação quase integral da concentração de GSH no tecido gástrico, quando comparado com o grupo NAP (Figura 14). Estes resultados corroboram os de Rodeiro *et al.* (2007).

Outro passo crucial na lesão gastrointestinal induzida por AINE é a infiltração de neutrófilos, que pode levar a distúrbios na microcirculação e na produção de radicais livres tóxicos para a mucosa (ZHANG *et al.*, 2008). MPO é um marcador enzimático de inflamação e infiltração de neutrófilos que é elevado em condições ulceradas e reduzido durante o processo de cicatrização (SOUZA *et al.*, 2004). A enzima mieloperoxidase (MPO) está presente nos grânulos azurófilos dos neutrófilos e tem sido utilizada como marcador quantitativo da infiltração de neutrófilos nos processos inflamatórios em vários tecidos, entre eles o trato gastrointestinal, além de ter papel fundamental na produção de espécies reativas de oxigênio (BRADLEY *et al.*, 1982). No modelo experimental, o NAP foi capaz de promover uma maior infiltração de neutrófilo na parede gástrica, aumentando de forma significativa a concentração de MPO, quando comparado com o grupo controle (Figura 15).

Figura 15 – Determinação dos níveis de mieloperoxidase (MPO) na parede gástrica de camundongos previamente tratados com de extrato de casca de manga (ECM) e extrato de polpa de manga (EPM) (*Mangifera indica* L.) na gastropatia induzida por naproxeno (300 mg/kg).



O resultado foi expresso como média \pm S.E.M. para grupo de seis animais por grupo. (*) $p < 0,05$, quando comparado com o grupo CMC (controle); (◆) $p < 0,05$, quando comparado com o grupo NAP. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA, seguido do teste de Bonferroni.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Percebemos que a concentração de MPO na mucosa gástrica e no intestino mediano de camundongos aumentou concomitantemente com a ocorrência de lesão induzida pela administração de NAP (figura 15).

O pré-tratamento com EPM e ECM reduziu acentuadamente a lesão gastrointestinal, diminuindo os níveis de MPO com todas as doses administradas (figura 15). Assim, a supressão da infiltração de neutrófilos parece contribuir para o efeito protetor de EPM e ECM contra lesões induzidas por NAP, sendo possível sugerir que a atividade anti-inflamatória está associada com a inibição da migração de neutrófilos. Outros estudos demonstraram que os compostos fenólicos estão envolvidos na prevenção do estresse oxidativo, com suas propriedades anti-inflamatórias, inibindo a infiltração de neutrófilos, como mostrado por Vieira et al (2011).

Dessa forma, este resultado sugere uma possível atividade anti-inflamatória de ambos extratos. Nossos dados corroboram os resultados obtidos por Marquez *et al.* (2010), que testaram os efeitos anti-inflamatórios do extrato aquoso de manga (150 mg/kg) e este produziu uma inibição significativa da inflamação, resultando em melhoria dos sinais clínicos, com a redução da ulceração, redução da atividade de MPO, aumento nos níveis de GSH e redução dos níveis de MDA.

6 CONCLUSÕES

A extração a quente em meio hidroalcoólico se mostrou eficiente na obtenção de extratos ricos em compostos fenólicos. EPM e ECM demonstraram potente atividade antioxidantes *in vitro* e *in vivo*. A partir desses extratos, foi possível identificar importantes compostos fenólicos na análise QTOF, com destaque para a mangiferina, a quercetina e o ácido gálico, compostos bastante discutidos por suas evidentes propriedades biológicas, principalmente antioxidante e anti-inflamatória.

Os extratos da casca e da polpa de manga não apresentaram efeito tóxico às células (cultura IEC-6), e em algumas concentrações, inclusive, tiveram efeito proliferativo.

EPM e ECM foram capazes de inibir os danos inflamatórios causados pela ação oxidativa do naproxeno. Essa capacidade foi observada em ambos através da redução significativa dos níveis de mieloperoxidase, pela redução do malondialdeído, ao mesmo tempo em que os níveis de glutathione foram mantidos próximos ao controle em ambos extratos. EPM apresentou melhor eficácia em todos os parâmetros na dose de 10 mg/kg de peso corporal, enquanto ECM obteve melhores resultados em sua dose máxima, 100 mg/kg.

Conclui-se que o EPM e ECM apresentam efeito antioxidante, mecanismo pelo qual os extratos protegem a parede gástrica contra injúrias causadas por agentes oxidativos desencadeados pelo uso do naproxeno, reduzindo significativamente a gravidade das lesões, o que contribui para uma ação anti-inflamatória.

REFERÊNCIAS

- AADLAND E, et al.. Protection by misoprostol against naproxen-induced gastric mucosal damage. **Am J Med** n. 8, p. 37–49. 1987
- ADACHI, N. et al. Simultaneous analysis of acephate and methamidophos in human serum by improved extraction and GC-MS. **Forensictoxicology**, n. 26, p.76-79, 2008.
- AJILA, C. M., et al. Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n. 11, p. 219–224. 2010
- AJILA, C. M., et al. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. **Food Chemistry**, n. 105, p. 982–988. 2007
- AJILA, C.M., PRASADA-RAO, U.J.S. Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics. **Journal of functional foods**, n. 5 p. 444–450. 2013
- ALMEIDA, M. M. B.; et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, Essex, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.
- ANTUNES, D.C.; SILVA, I. M. L.; CRUZ, W. M. S. Quimioprevenção do Câncer Gástrico. **Revista Brasileira de Cancerologia**. Rio de Janeiro, v. 56, n. 3, p. 367-374, 2010
- APOSTOLIDES Z., et al., Inhibition of PhIP mutagenicity by catechins and by theaflavins and gallate esters, **Mutation Research**, v. 389, n. 23, p.167–172, 1997.
- ARAÚJO, C. R. *et al.* Phenolic Compounds and Metals in Tommy Atkins Mango (*Mangifera indica* L) Peels. **The Natural Products Journal**, v. 4, p. 2-7. 2014
- ARDREY, R. E; **Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction**. University of Huddersfield, Huddersfield, UK. John Wiley & Sons Ltd, 2003. 300 p.
- ARNAO, M. B.; CANO, A.; ACOSTA, M. Methods to measure the antioxidant activity in plant material. A comparative discussion. **Free Radical Res.**, n. 31, p89-96. 1999
- ARNHOLD J, FLEMMIG J. Human myeloperoxidase in innate and acquired immunity. **Arch Biochem Biophys**.. V. 500, n. 1, p. 92-106. 2010
- ARUOMA, O. I. Deoxyribose assay for detecting hydroxyl radicals. **Methods in Enzymology**, New York, v. 233, p. 57-66, 1994.
- ASHOUSH, I. S., GADALLAH, M. G. E. Utilization of mango peels and seed kernels powders as sources of phytochemicals in biscuit. **World Journal of Dairy & Food Sciences**, v. 6, n. 1, p. 35–42. 2011
- AWIKA, J. M. et al. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 51, n. 23, p. 6657-6662, Dec. 2003.

AYALA-ZAVALA, J. F., et al. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, n. 44, p. 1866–1874. 2011.

AZIZ, N. A. A., et al. (2012). Evaluation of processed green and ripe mango peel and pulp flours (*Mangifera indica* var Chokanan) in term of chemical composition, antioxidant compounds and functional properties. **Journal of the Science of Food & Agriculture**, n. 92, p. 557–563.

AZIZAH, A. H.; RUSLAWATTI, N. M.; TEE, T. S. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. **Food Chemistry**, London, v. 64, n. 2, p. 199-202, 1999.

AZMIR, J., et al. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n.4, p. 426-436. 2013

AZOUBEL, Patricia M.; et al. Cinética de Secagem de Manga com e sem Prétratamento Ultrassônico. In: XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2010, Foz do Iguaçu. **Anais Maringá: UEM: ABEQ: UNICAMP**, 2010.

BABIOR, B. M. NADPH oxidase. **Curr Opin Immunol.** V.16, n. 1, p. 42-7. 2004

BANERJEE, S.; MAZUMDAR, S.. Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Technique to Access the Information beyond the Molecular Weight of the Analyte. **International Journal of Analytical Chemistry**. 2012. 40 p.

GRAYSON, M. A. John Bennett Fenn: a curious road to the prize. **Journal of The American Society for Mass Spectrometry**, v. 22, n. 8, p. 1301–1308, 2011

BARBOSA, Kiriaque B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010

BARBOSA, T.N.R.M., FERNANDES, D. C. (2014). Compostos Bioativos e doenças cardiovasculares: revisando as evidências científicas. **Estudos**, v. 41, n. 2, p. 181-192. 2014

BARNES, R. et al. Profile of Gallic Acid Metabolites in Urine After the Intake of Mango (*Mangifera indica*, L.) cv. Keitt in Humans. **The FASEB Journal**. v. 29 n. 1. 2015.

BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P.. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29, n.1, p. 113-123. 2006

BARRETO, J.C. et al. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. N. 56, p. 5599–5610. 2008

BATLOUNI, Michel. Anti-inflamatórios não esteroides: Efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 94, n. 4, p. 556-563, Apr. 2010.

BECK, W.S.; et al. Gastrointestinal ulcerations induced by anti-inflammatory drugs in rats. **Arch. Toxicol.**, n. 64, p. 210–217. 1990

BENAVENTE-GARCÍA, O; CASTILLO, J. Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n.15, p. 6185-205. 2008

BENZIE, I.F.F., STRAIN, J.J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, n. 299, p. 15–27. 1999

BERARDINI, N. et al. Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins, and pectin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**., n. 53, p. 1563-1570. 2005

BHATTACHARYYA, A. et al. Oxidative Stress: An Essential Factor in the Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal Diseases. **Physiological Reviews**. Apr; v. 94, n. 2, p. 329–354. 2014

BICAS, J. et al. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1843–1855. 2011

BORGES, G. D. S. C. **Determinação de compostos bioativos e avaliação da atividade antioxidante das diferentes frações dos frutos de juçara (*Euterpe edulis* Mart.) cultivados no Estado de Santa Catarina**. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2013.

BOSCA, F., MARIN, M. L., MIRANDA, M. A. Photoreactivity of the nonsteroidal anti-inflammatory 2-arylpropionic acids with photosensitizing side effects. **Photochem Photobiol** n. 7, p. 637–655. 2001

BRADLEY, P. P.; et al Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **J Invest Dermatol**. Mar;v. 78,n. 3, p. 206-9. 1982

BRAZ, D.C., OLIVEIRA, L.R.S., VIANA, A.F.S.C. Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso da *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais** v. 15, p. 86-90. 2013

BRENOL, J.C.T., XAVIER, R.M., MARASCA, J. Antiinflamatórios não hormonais convencionais. *Rev Bras Med*; n. 57. 2000

BREWER, A. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive reviews in food science and food safety**. V. 10, n. 4, p. 221–247. 2011

BUENO, J. M., *et al.*. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part II: Chemical structure, color, and intake of anthocyanins. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 42, p. 126–151. 2012

BULUT, N. E.; et al. Beneficial effects of alpha lipoic acid on cerulein-induced experimental acute pancreatitis in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.*, v. 17, n.5, p.383-9, 2011.

- CALABRISO N. et al. Red Grape Skin Polyphenols Blunt Matrix Metalloproteinase-2 and -9 Activity and Expression in Cell Models of Vascular Inflammation: Protective Role in Degenerative and Inflammatory Diseases. **Molecules**. Ago v. 21, n. 9. 2016
- CAMPBELL, C. W. The 'Tommy Atkins' Mango. I FAS Agricultural Research and Education Center Homestead. **Florida State Horticultural Society**. p. 348-350. 1973
- CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L.; Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. **Free Radical Biol. Med.**, v. 22, n. 5, p. 749-760. 1997
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. "A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives". **Food and Chemical Toxicology**, v.51, 15. 2013.
- CARVALHO, N. S. et al. Gastroprotective Properties of Cashew Gum, a Complex Heteropolysaccharide of *Anacardium occidentale*, in Naproxen-Induced Gastrointestinal Damage in Rats. **Drug development research**. V. 76, n. 3, p. 143–151. 2015
- CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática. Piracicabano: Ed. **Agronômica Ceres**, 2005. 605 p.
- CECHINEL-FILHO, V.; VAZ, Z.R.; ZUNINO, L.; CALIXTO, J.B.; YUNES, R.A. Antinociceptive and anti-oedematogenic properties of astilbin, taxifolin and some related compounds. **Drug Res**, v. 50, n. 3, p. E281-E285, 2000.
- CHAMBERS E, et al. Systematic and comprehensive strategy for reducing matrix effects in LC/MS/MS analyses. **Journal of Chromatography B**; v. 852, p. 22–34. 2007
- CHAWLA, G.; RANJAN,C. Principle, Instrumentation, and Applications of UPLC: A Novel Technique of Liquid Chromatography. **Open Chemistry Journal**, V. 3, p. 1-16. 2016
- CHENGH. L., et al. Antiinflammatory and Antioxidant Flavonoids and Phenols from *Cardiospermum halicacabum* (Đào Di Lín). **J Tradit Complement Med**. Jan; v.3, n1, p. 33-40. 2013
- CHIARADIA, Mariza C.; COLLINS, Carol H.; JARDIM, Isabel C. S. F.. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008 .
- CHIBATA, I., TOSA, T, TAKATA, I. Continuous production of L-malic acid by immobilized cells. **Trends in biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 9-11. 1983
- CHICHESTER, C.O.; McFEETERS, R. Pigment degeneration during processing and storage. In: HULME, A.C. (Ed.). **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic, 1971. p.107.

CHITARRA, Maria I. F., CHITARRA, Admilson B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**.. Editora UFLA. 2ª ed. 2005. 783 fl

COLE, R. B., ed.; **Electrospray Mass Spectrometry: fundamentals, instrumentation & applications**; John Wiley & Sons: New York, 1997.

CONTRERAS-CALDERÓN, J. et al. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, p. 2047-2053, 2011.

COSTA D, et al. Antioxidant Activity and Inhibition of Human Neutrophil Oxidative Burst Mediated by Arylpropionic Acid Non-steroidal Antiinflammatory Drugs. **Biol Pharm Bull**. V. 29, n. 8,p. 1659-70. 2006

COX, H. E.; PEARSON, D. Técnicas de laboratório para el analisis de alimentos. Zaragoza. **Acribia**, p. 331, 1976.

CUSHNIE, T., LAMB, A.J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 38, p. 99 – 107. 2011

DALL'ACQUA, F.,VIOLA, G. Cellular and molecular targets of psoralens. In **Photobiology for the 21st Century** (Coohill T, ed), p. 325–341. Overland Park, KS, Valdenmar. 2001

DE OLIVEIRA ALVES, C. C.; DE RESENDE, J. V.; CRUVINEL, R. S. R.; PRADO, M. E. T. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 28, n. 4, p. 830-839, 2008.

DEBBAB A, Aly AH, Lin WH, Proksch P. Bioactive compounds from marine bacteria and fungi. *Microb Biotechnol* v. 3,p. 544–563. 2010

DEEPA, D'SOUZA, et al. Estimation of serum malondialdehyde in potentially malignant disorders and post-antioxidant treated patients: A biochemical study *Contemp Clin Dent*. 2012 Oct-Dec; v. 3, pn. 4,p. 448–451.

DELGADO, T.; et al. **Avaliação do efeito das condições experimentais sobre a capacidade redutora total de extratos de alface através de um desenho experimental**. Instituto politécnico de Bragança. Pôster do VII Congresso Ibérico de Agroingenieria y Ciências Hortícolas. 2013.

DENG, G. F. et al. Potential of fruits wastes as natural resources of bioactive compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 13, n. 7, p. 8308-8323, 2012.

DI SCALA, CRAPISTE, Drying kinetics and quality changes during drying of red pepper. **LWT: Food Science and Technology**, v. 41, n. 5, p. 789–795. 2008

DODDA, D.; CHHAJED, R.; MISHRA, J. Protective effect of quercetin against acetic acid induced inflammatory bowel disease (IBD) like symptoms in rats: Possible morphological and biochemical alterations. **Pharmacological Reports**. v. 66, p.169–173, 2014.

DORNAS, W. C. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n.3, p. 241- 249, 2007

DORTA, E. et al. Screening of phenolic compounds in by-product extracts from mangoes (*Mangifera indica* L.) by HPLC-ESI-QTOF-MS and multivariate analysis for use as a food ingredient. **Food Research International**, v.57, n. 10, 2014.

DORTA, E. *et al.* Using drying treatments to stabilize mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**. Spain., V. 45, n. 2, p. 261-268. 2011

DORTA, E., LOBO, M. G., GONZÁLEZ, M. Using drying treatments to stabilize mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 45,n. 2, p. 261–268. 2012a.

DORTA, Eva; LOBO, M. Glória; GONZÁLEZ, Mónica. Reutilization of Mango Byproducts: Study of the Effect of Extraction Solvent and Temperature on Their Antioxidant Properties. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 1, 2012b.

DUARTE, Abel J. A. Sensores **luminescentes para espécies reativas de oxigênio e azoto**. Tese. Programa Doutoral em Química Departamento de Química e Bioquímica. Faculdade de Ciências. Universidade de Porto. Portugal. 2013

EID, H.M. et al. A combination of (+)-catechin and (-)-epicatechin underlies the in vitro adipogenic action of Labrador tea (*Rhododendron groenlandicum*), an antidiabetic medicinal plant of the Eastern James Bay Cree pharmacopeia. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 178, p.251-258. 2016

EL-ELIMAT T, et al. Benzoquinones and terphenyl compounds as phosphodiesterase-4B inhibitors from a fungus of the order *Chaetothyriales* (MSX 47445). **J Nat Prod**. v. 3, p.382–387. 2013

EMIM, J. A.; OLIVEIRA, A. B.; LAPA, A. J. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, duartin and claussequinone, in rats and mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. V. 46, n. 2, p. 118-122, 1994.

ESPLUNGES J, MORCILLO EJ, ANDRÉS-TRELLES F. **Farmacología en Clínica Dental**. J.R Prous Editores, 1993. Cap 9-10 p.131-179

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2000.

FABRE, N. et al. Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry. **Journal of the American society for mass spectrometry**, v. 12, n 6, 707-715. 2001

FALLAS, M.M.; et al, D.V. Further investigations of the effect of pressure on retention in ultra-high-pressure liquid chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 1217, n. 3, p. 276-284. 2010

FANG, Z & BHANDARI, B. 2010 Encapsulation of polyphenols. **Trends in Food Science & Technology**. v. 21, p. 510-523. 2010

FAO – Food and Agriculture Organizational. **FAO Statistical Yearbook 2013** – World Food and Agriculture. 2013. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e03.pdf>

FENG-XIA, Liu, et al. Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1. P. 396-405. 2013.

FERREIRA, A.L.A., MATSUBARA, L.S.. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, vol. 43, n.1, p. 61-68. 1997

FITZ, GERALD, G. A.; PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **N Engl J Med**. Aug 9; v. 345, n.6, p. 433-42. 2001

FRANÇA, Bruna K., et al. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **GE Jornal Português de Gastrenterologia**, V. 20, n. 5, p. 199-206. 2013

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed.). Anthocyanins as food colors. New York: **Academic Press**, 1982. p.181-207. 280 fl.

FRANKEL, E. N. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. **Food Sci. Technol.**, v. 4, p. 220-225, 1993.

FUJII, T.; et al. Differential expression of glutathione reductase and cytosolic glutathione peroxidase, GPX1, in developing rat lungs and kidneys. **Free Radic Res.**, 36, n.10, p.1041-9, 2002.

FURLANETO, F de P. B., SOARES, A. de A. V. L., BERTANI, R. M. de A. Caracterização técnica e econômica da manga ‘Tommy atkins’ **Pesquisa & Tecnologia**, vol. 12, n. 2, Jul- Dez 2015

FURLANETO, F de P. B., SOARES, A. de A. V. L., BERTANI, R. M. de A. Caracterização técnica e econômica da manga ‘Tommy atkins’ **Pesquisa & Tecnologia**, v. 12, n. 2, Jul- Dez 2015

GÁMEZ-MEZA, N. et al. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson grape bagasse. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 76, n. 12, p. 1445-1447, 1999.

GARCÍA-LAFUENTE, Ana. In vitro anti-inflammatory activity of phenolic rich extracts from white and red common beans. **Food Chemistry**. V. 161, p. 216–223. 2014.

GEORGE B. O., OSHARECHIREN O. I. Oxidative stress and antioxidant status in sportsmen two hours after strenuous exercise and in sedentary control subjects. **Afr J Biotechnol**. V. 8, n. 3, p. 480-3. 2009

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. *Publicatio UEPG Ciências Biológicas e da Saude*, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006.

GIL-CHÁVEZ JG, et al. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. *Compr Rev Food Sci F*, v.12, p. 5–23, 2013

GOLD-SMITH, F.; FERNANDEZ, A.; BISHOP, K.. Mangiferin and Cancer: Mechanisms of Action. *Nutrients*, v. 8, n. 396. P. 1-25. 2016

GÓMEZ-CARAVACA, A. M. *et al.* HPLC-DAD-q-TOF-MS as a powerful platform for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part of mango and its by-products (peel, seed, and seed husk) 2016 *Eletrophoresis*. V 37, n. 8 P. 1072–1084

GONZALEZ-AGUILAR, G, et al. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. *Trends in Food Science and Technology*, v. 21, p. 475–482. 2010.

GORINSTEIN, S.; et al. Comparative content of some phytochemicals in Spanish apples, peaches and pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 82, n. 10, p. 1166-1170, 2002.

GORINSTEIN, S.; et al. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*, v. 74, n. 3, p. 309-315, 2001.

GRAY, D. A. et al. Antioxidant activity of oat extracts added to human LDL particles and in free radical trapping assays. *Journal of Cereal Science*, v. 36, n. 2, p. 209-218, 2002.

GROSSER T, FRIES S, FITZ GERALD GA. Biological Basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. *J. Clin. Invest.* V. 116, p. 4-15. 2006

GRUNDHÖFER, P.; et al. Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins *Phytochemistry*. 2001, v. 57, p. 915

GUAADAQUI A, Benaicha S, Elmajdoub N, Bellaoui M, Hamal A. What is a bioactive compound? A combined definition for a preliminary consensus. *Int J Food Sci Nutr* v. 3, p. 174–179. 2014

GUO C., et al. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, v. 23, p. 1719–1726. 2003

GURGEL, J. T. A. et al. **Fatores que afetam a determinação da vitamina C na goiaba (*Psidium guajava* L.)**. Anais da E. S. A. Luiz de Queiroz. 1951.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* v186, p. 1-85. 1990

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, v.142, n. 2, p. 231-55, 2004.

HAMANAKA, R.B, CHANDEL, N. S. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. **Trends in biochemical sciences**, v. 35, p. 505–513. 2010

HANAMURA, T; HAGIWARA, T; KAWAGISHI, H. Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (*Malpighia emarginata* D. C) fruit. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**. V. 69, p. 280-286, 2005.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R. and BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **J Nutr Biochem**, v. 13, p. 527-584. 2002

HEWAVITHARANA *et al.* Between fruit variability of the bioactive compounds, β -carotene and mangiferin, in mango (*Mangifera indica*). **Nutrition and Dietetics**. V. 70, n. 2, p. 158-163. 2013

HIRUMA-LIMA CA, et al. Antiulcerogenic activity of *Alchornea castaneaefolia*: effects on somatostatin, gastrin and prostaglandin. **J Ethnopharmacol**, v.104, p. 215-224. 2006

HUBER, P. C.; FÁTIMA, A. de. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim. Nova**, Vol. 31, No. 5, 1170-1179, 2008

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. **Comparativo das exportações brasileiras de frutas frescas**. Disponível em: [http:// www.ibraf.org.br/estatistica,est_frutas.asp](http://www.ibraf.org.br/estatistica,est_frutas.asp). 2014

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Banco de Dados Agregados: Sistema IBGE de Recuperação Automática: SIDRA: Pesquisas: **Produção Agrícola Municipal: PAM**. Rio de Janeiro, 2014.

JAHURUL, M. H. A. et al. Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. **Food Chemistry**. v. 183, p. 173-180. 2015

JIANG, L. Y., et al. (2010). Bioassay-guided isolation and EPR-assisted antioxidant evaluation of two valuable compounds from mango peels. **Food Chemistry**. V. 119, n. 4, p. 1285-1292. 2010.

JIMENEZ-ESCRIG, A. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 5489–5493. 2001

JNAWALI, Hum N. et al. Anti-inflammatory Activity of Rhamnetin and a Model of Its Binding to c-Jun NH2- Terminal Kinase 1 and p38 MAPK. **Journal of Natural Products**. V. 77, p. 258–263. 2014

JOSHI, V. K., & ATTRI, D. Solid state fermentation of apple pomace for the production of value added products. *Natural Product Radiance*, v. 5, n. 4, p. 289–296. 2006

JÚNIOR, J. O. L. et al. Os antiinflamatórios não hormonais.. **Prática hospitalar.** v. 51, p. 173-178. 2007

JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E. Antioxidant properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 2, p. 193-202, 2005.

KALAIIVANI T, RAJASEKARAN C, MATHEW L. Free radical scavenging, cytotoxic, and hemolytic activities of an active antioxidant compound ethyl gallate from leaves of *Acacia nilotica* (L.) Wild. Ex. Delile subsp. indica (Benth.) Brenan. **J Food Sci.** v. 76, n. 6, p. 144-9. 2011

KATSUBE, T.; et al. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 964-969, 2009.

KIM, H., et al. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. **Food Chemistry**, v. 121, p. 429–436. 2010

KIM, WOONG-HIUN et al. Ethyl Gallate Induces Apoptosis of HL-60 Cells by Promoting the Expression of Caspases-8, -9, -3, Apoptosis-Inducing Factor and Endonuclease G. **Int. J. Mol. Sci.**; v. 13, n. 9, p. 11912–11922. 2012

KIM, Y.; NARAYANAN, S.; CHANG, K. Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. **Antivir. Res.**, v. 88, p. 227-235. 2010

KIM, Youngmok; LOUNDS-SINGLETON, Angela J.; TALCOTT, Stephen T. Antioxidant phytochemical and quality changes associated with hot water immersion treatment of mangoes (*Mangifera indica* L.). **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 989–993. 2009

KLEBANOFF C. A., et al. Central memory self/tumor-reactive CD8+ T cells confer superior antitumor immunity compared with effector memory T cells. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 102, n. 27, p. 9571-6. 2005.

KRENEK, K. A.; BARNES, R. C; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and effects of commercial enzymes on the hydrolysis of gallic acid glycosides in mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Keitt') pulp . **Journal of agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 39, p. 9515-9521. 2014

KRGA, I. et al. An update on the role of nutrigenomic modulations in mediating the cardiovascular protective effect of fruit polyphenols. **Food & Function**. v.7, n. 9 p.3656 - 3676. 2016

KRIS-ETHERTON, P.M., et al. (2002) Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **Am J Med** 113:71–88

KROKIDA, M.; KARATHANOS, V.; MAROULIS, Z. Effect of freeze-drying conditions on shrinkage and porosity of dehydrated agricultural products. **Journal of Food Engineering**, v. 35, n. 4, p. 369-380, 1998.

KUNICKA-STYCZYŃSKA, A., POGORZELSKI, E. L-malic acid effect on organic acid profiles and fermentation by-products in apple wines. Czech. **J Food Sci**, v.27, p.228–231. 2009

LA ROCCA G, et al. Oxidative stress induces myeloperoxidase expression in endocardial endothelial cells from patients with chronic heart failure. **Basic Res Cardiol**, v. 104, p.307-320. 2009

LAINÉ L, WEINSTEIN W. M. Histology of alcoholic hemorrhagic gastritis: a prospective evaluation. **Gastroenterology**, v. 94, p. 1254-1262. 1988

LAINÉ, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, p. 41-60. 2008

LANAS A, SCHEIMAN J. Low-dose aspirin and upper gastrointestinal damage: epidemiology, prevention and treatment. **Curr Med Res Opin.**; v. 23, p. 163-73. 2007

LANÇAS, Fernando M.. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”? **Scientia Chromatographica**. | v. 1 | n. 2, p. 35-61. 2009

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 1390-1393, 1997.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 1390-1393, 1997.

LAUFENBERG, G., KUNZ, B., NYSTROEM, M. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. **Bioresource Technology**, v. 87, n. 2, p. 167-198. 2003.

LEE, I. T.; YANG, C. M. Role of NADPH oxidase/ROS in pro-inflammatory mediators-induced airway and pulmonary diseases. **Biochemical Pharmacology**, v. 84, n. 5, p. 581-590. 2012.

LEMANSKA, K.; et al. The influence of pH on the antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. **Free Radical Biol. Med.**, v. 31, p. 869-881. 2001

LEONARDUZZI, G.; SOTTERO, B.; POLI, G. "Targeting tissue oxidative damage by means of cell signaling modulators: the antioxidant concept revisited". **Pharmacology & Therapeutics**, v. 128, p. 336-74. 2010.

LEONG, L. P., SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, v.76, p. 69–75. 2002

LETELIER M.E. et al. Trypanosoma cruzi: A possible control of transfusion- induced chagas disease by phenolic antioxidants, **Exp. Parasitol.**, v.71, p. 357–363, 1990.

- LIMA, C.M.P. Avaliação da toxicidade aguda do extrato das cascas de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.4, p.832-838, 2014.
- LIMA, F. O.; BEZERRA, A. S. Flavonoides e radicais livres. **Disciplinarum Scientia**. Série: Ciências Naturais e Tecnológicas, Santa Maria, v. 13, n. 1, p. 111-124, 2012.
- LOBO, V. et al. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health **Pharmacogn Rev.** v. 4, n. 8, p. 118–126. 2010
- LOPES, Mônica M. A. et al. Low influence pulsed light enhanced phytochemical content and antioxidant potential of ‘Tommy Atkins’ mango peel and pulp. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n 33, p. 216-224. 2016
- LU, Y.; FOO, L. Y. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. **Food Chemistry**, v. 68, p. 81-85, 2000.
- LUTZ, Joseph A. et al. A nicotinic receptor-mediated anti-inflammatory effect of the flavonoid rhamnetin in BV2 microglia. **Fitoterapia**, v. 98, p. 11–21. 2014
- LUZ H.K.M., *et al.* Papel de agentes antioxidantes na criopreservação de células germinativas e embriões. **Acta Scientiae Veterinariae**, 39 (2011), p. 956
- MACHADO, H.; et al. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.
- MADSEN, H. L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 6, p. 271-277, 1995.
- MAHMOOD T., GUPTA K. J., KAISER W. M. Cadmium stress stimulates nitric oxide production by wheat roots. **Pak. J. Bot.** v. 41, p. 1285–1290. 2009
- MANTOVANI, A. et al. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. **Nat Rev Immunol**, v. 11, n. 8, p. 519-31, 2011.
- MARÍ, M., MORALES, A., COLELL, A., GARCÍA-RUIZ, C., FERNÁNDEZCHECA, J.C. Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 11, p. 2685–2700, 2009.
- MARQUES, L.G. **Liofilização de frutas tropicais**. Tese Doutorado em engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos - São Carlos, 2008.
- MARQUEZ, L. et al. Anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract in a model of colitis **World J Gastroenterol**, v. 16, n. 39, p. 4922-4931. 2010
- MARTÍNEZ, Ruth. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1520–1526. 2012

MARTINS S, et al. Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review. **Biotechnol Adv.** V. 29, p. 365–373. 2011

MASIBO, Martin; HE, Qian. Major Mango Polyphenols and Their Potential Significance to Human Health. **Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety**, V. 7, n. 4, P. 309–319. 2008

MATHARU, A. S. et al., Acid-free microwave-assisted hydrothermal extraction of pectin and porous cellulose from mango peel waste – towards a zero waste mango biorefinery. **Green Chemistry.**, n.18, p. 5280-5287. 2016

MAYNE, S.T. Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. **Journal of Nutrition**, v. 133 (Suppl 3) , p. 933–940. 2003

MAZZA G, MINIATI E (1993). Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains. **Food/Nahrung**, v. 38, n. 3. 2006.

MAZZEO T, et al. Effect of two cooking procedures on phytochemical compounds, total antioxidant capacity and colour of selected frozen vegetables. **Food Chem.** 2011 Oct 1; v. 128, n. 3, p. 627-33.

MEDLICOTT, A.P., REYNOLDS, S.B., THOMPSON, A.K., 1986a. Effects of temperature on the ripening of mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins). **J. Sci. Food Agric.** V. 37, p. 469-474.

MEDLICOTT, Andrew P.; THOMPSON, Anthony K. Analysis of Sugars and Organic Acids in Ripening Mango Fruits (*Mangifera indica* L. var Keitt) By High Performance Liquid Chromatography. **Tropical Development and Research Institute**, v. 36, n. 7, p. 561-566, 1985

MEHLA K, et al. Ethyl gallate isolated from *Pistacia integerrima* Linn. inhibits cell adhesion molecules by blocking AP-1 transcription factor. **J Ethnopharmacol.** V. 137, n. 3, p.1345-52. 2011

MELO, E. A; ARAÚJO, C. R. Mangas das variedades espada, rosa e Tommy Atkins: compostos bioativos e potencial antioxidante. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1451-1460, 2011

MENDIOLA-PRECOMA, J. et al. Therapies for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. **BioMed Research International** V. 2016 (2016), 17 p.

MENEZES, A.R. V.; et al. Estudo comparativo do pó da acerola verde obtido em estufa por circulação de ar e por liofilização. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.11, n.1, p.1-8, 2009.

METZLER, K. D. et al. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity. **Blood**, v. 117, n. 3, p. 953-9, 2011.

MICHELIN, D. C. **Estudo químico-farmacológico de Operculina macrocarpa L. Urb.** (CONVOLVULACEAE). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Farmacêuticas Campus Araraquara, 2008.

MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C. A. Factors influencing the anti-oxidant activity determined by the ABTS+ radical cation assay. **Free Radical Res.** V. 26, p. 195-199. 1997

MOLYNEUX, Philip. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin **J. Sci. Technol.** v. 26, n.2, p. 211-219. 2004

MONTESANO, M. A. et al. Method for determination of acephate, methamidophos, omethoate, dimethoate, ethylenethiourea and propylenethiourea in human urine using highperformance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology**, V.17, p.321–330, 2007.

MORAES, Maira S. **Avaliação do estresse oxidativo no intestino de ratos submetidos à carcinogênese hepática e ação da melatonina.** Porto Alegre, 2014. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Curso de Biomedicina TCC.

MOREIRA, T. B; ROCHA, É. M. F. F.; AFONSO, M. R. A; COSTA, J. M. C. Comportamento das Isotermas de Adsorção do Pó da Polpa de Manga Liofilizada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1093– 1098, 2013.

MORIKAWA, T. et al. Triterpene saponins with gastroprotective effects from tea seed (the seeds of *Camelia sinensis*). **J. Nat. Prod.**, v. 69, p. 185-190. 2006.

MOSMANN, Tim. "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol Methods**, V. 16, n. 65, p.55-63. 1983

MOTILVA, M. J., SERRA, A., MACIÀ, A. Analysis of food polyphenols by ultra high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry: an overview. **J Chromatogr A**, v. 1292, p. 66-82. 2013

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.

MUCHIRI, D. R., MAHUNGU, S. M., GITUANJA, S. N. Studies on Mango (*Mangifera indica*, L.) kernel fat of some Kenyan varieties in Meru. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, n. 89, p. 1567–1575. 2012.

MULLER, WEG, et al. (2004) Sustainable production of bioactive compounds by sponge-cell culture and gene cluster approach: a review. **Mar Biotechnol** v. 6, p. 105–117
N. A. M. Saleh, M. A. I. El-Ansari. Polyphenolics of twenty local varieties of *Mangifera indica*. **Planta Med**; v. 28, n. 6, p. 124-130. 1975

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Journal of The Japanese Society for Food Science and Technology**, v. 39, n. 10, p. 925–928, 1992.

NETO Francisco P. L.; SANTOS, Carlos A. F.; COSTA, João G. da. **Cultivo da Mangueira**. Embrapa Semiárido. Sistemas de Produção, 2 - 2ª edição. Ago/2010

NGUYEN, D.T.; et al. High throughput liquid chromatography with sub-2 microm particles at high pressure and high temperature. **J. Chromatogr. A**, v. 1167, n. 1, p. 76-84. 2007

NIJVELDT, R.J., et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Am J Cli Nutr**, v. 74, p. 418 – 425. 2001

NIKI, E. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivi. **Free Rad. Biol Med.**, v. 49, p. 503–515. 2010

NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**, 2015, n. 5, p. 27986-28006

OFMAN JJ, et al. A meta-analysis of severe upper gastrointestinal complications of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **J Rheumatol**. 2002; 29: 804-12.

OHISHI T. Anti-inflammatory Action of Green Tea. **Antiinflammatory & Antiallergy Agents in Medicinal Chemistry**. 2016. V. 15, n. 3.

OLAS, B. Sea Buckthorn as a Source of Important Bioactive Compounds in Cardiovascular Diseases. **Food Chem Toxicol** v. 97, p. 199-204. 2016.

OLIVEIRA, B. G. et al. Chemical profile of mango (*Mangifera indica* L.) using electrospray ionisation mass spectrometry (ESI-MS). **Food Chemistry**, v. 204, p. 37–45. 2016

OLIVEIRA, D. S. et al. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum. Health Sciences**. Maringá, v. 33, n. 1, p. 89-98, 2011

OLIVEIRA, D.M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Quim. Nova**, V. 34, N. 6, p. 1051-1056, 2011

ONOUE, S., TSUDA, Y. Analytical studies on the prediction of photosensitive/phototoxic potential of pharmaceutical substances. **Pharm Res**, v. 23, p. 156–164. 2006

OOSHIRO, Atsushi et al. Identification and activity of ethylgallate as an antimicrobial compound produced by *Geranium carolinianum*. *Weed Biology and Management*, June 2009, Vol.9(2), pp.169-172. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. V. 26, n. 6. p. 803-807. 2003.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4619-4626, 2001.

PADOL, I. T., HUNT, R. H. Association of myocardial infarctions with COX-2 inhibition may be related to immunomodulation towards a Th1 response resulting in atheromatous plaque instability: an evidence-based interpretation. **Rheumatology** 2010;49:837–843

PARK, Y.W. Effect of freezing, thawing, drying and cooking on carotene retention in carrots, broccoli and spinach. **Journal of Food Science**, London, v.52, n.4, p.1022, 1987.

PATIL, R. et al. Cellular Delivery of Doxorubicin via pH-Controlled Hydrazone Linkage Using Multifunctional Nano Vehicle Based on Poly (β -L-Malic Acid). **Int. J. Mol. Sci.**, 13 (2012), pp. 11681–11693

PEREIRA, Ana. C. da S. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante total de frutas tropicais e cítricas produzidas no Ceará**. Dissertação. Programa de pós-graduação de Ciências e tecnologia de alimentos. Universidade Federal do Ceará. 2009. 120f.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v.41, p.272-285, 2008.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, n. 7, p. 791-800, 2006.

PIO, A. **Doenças gastrointestinais custam R\$ 140 milhões anuais ao SUS**. Minas Gerais, 2013. Disponível em: http://www.em.com.br/app/noticia/gerais/2013/03/24/interna_gerais,361957/doencas-gastrointestinais-custam-r-140-milhoes-anuais-ao-sus.shtml Acesso em 01 de maio de 2016.

POTHEN, Joshua J.; POYNTER, Matthew E.; BATES, Jason H. T. The Inflammatory Twitch as a General Strategy for Controlling the Host Response. **The Journal of Immunology**. v. 190, n. 7, p. 3510-3516. 2014

PRIOR, R. L.; XIANLI, W.; SCHAICH, K. Standardized methods for determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, May 2005.

QUINTERO, B., MIRANDA, M. A. Mechanisms of photosensitization induced by drugs: a general survey. **ARS Pharm**, v. 41, p. 27–46. 2000

RADICAIS LIVRES. **Introdução aos Antioxidantes**. Publicado em 26/05/2013 por Guilherme Bächtold. Bioquímica e Biofísica. Universidade de Brasília. Disponível em: <https://radicaislivres97.wordpress.com/2013/05/26/introducao-aos-antioxidantes/>

RAJAT, G.; PANCHALI, D. A study on antioxidant properties of different bioactive compounds. **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**, v. 4, p. 105-115, 2014.

RAJENDRAN, Peramaian *et al.* Mangiferin in cancer hemoprevention and treatment: pharmacokinetics and molecular targets. **Journal of Receptors Signal Transduction**. 1–9. 2014

RAMIREZ, J. E. *et al.*, 2014. Antioxidant Properties and Hyphenated HPLC-PDA-MS Profiling of Chilean Pica Mango Fruits (*Mangifera indica* L. Cv. piqueño). **Molecules** 2014, v 19, p. 438-458

RAMOS, S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. **J Nutr Biochem.** 18, n. 7, p. 427-42. 2007.

REICHLIN, T. *et al.* Use of myeloperoxidase for risk stratification in acute heart failure. **Clinical Chemistry.** v.56, n. 6, p 944 -51. 2010

REPPETO, M. G. *et al.* Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.**v. 35, p. 523-534, 2002.

THOMPSON, M. G. *et al.* Dietary botanical diversity affects the resuction of oxidative biomarkers in women duo to high vegetable and fruit intake. **J. Nutr.**, v. 136, p. 2207-22-12, 2006

ROBERT, A. Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology*, v. 77, p. 761-767. 1979

RODEIRO, I. *et al.* Effects of *Mangifera indica* L. aqueous extract (Vimang) on primary culture of rat hepatocytes. **Food and Chemical Toxicology** v. 45, n. 12, p. 2506-2512. 2007

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. **Arch Latinoam Nutr.** V. 49, n. 3 p. 38-47. 1999

RODRIGUEZ-VITA, J; LAWRENCE, T. The resolution of inflammation and cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010 Feb; v. 21, n. 1, p. 61-5. 2009.

ROMAN JUNIOR W.A *et al.* Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso de *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.4, supl. I, p.774-781, 2015.

RUFINO, M. do S. M. *et al* **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro FRAP.** Comunicado Técnico 125, EMBRAPA Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, 2006.

RUFINO, M. do S. M. *et al.* **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS⁺.** Comunicado Técnico 128, EMBRAPA Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, 2007.

SALDANHA, Luiz L., VILEGAS, Wagner, DOKKEDAL, Anne L.. Characterization of Flavonoids and Phenolic Acids in *Myrcia bella* Cambess. Using FIA-ESI-IT-MSⁿ and HPLC-PAD-ESI-IT-MS Combined with NMR **Molecules**2013, 18, 8402-8416

SALIM, S; CHUGH, G; ASGHAR, M. Chapter One – Inflammation in anxiety. in: R. Donev (Ed.), **Advances in protein chemistry and structural biology**, vol. 88, Academic Press, San Diego (2012), p. 1–25

- SAMONINA, G. E. et al. Antiulcer effects of amilyn: a review. **Pathophysiology**, v. 11, n. 1, p. 1-6. 2004.
- SANTANA, F. C.; et al. Influência das variáveis solvente, temperatura e tempo na extração de compostos fenólicos totais em sementes de maracujá gerada no processamento industrial. **Nutrire**, v. 38, n. Suplemento, p. 75-75, 2013.
- SANTOS, F. A., RAO, V. S. 1,8-cineol, a food flavoring agente, prevents, etanol-induced gastric injury in rats. **Dig. Dis. Sci.** v. 46, p. 331-337. 2001.
- SANTOS, S. A. O. et al. Ultra-high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry applied to the identification of valuable phenolic compounds from Eucalyptus wood. **Journal of Chromatography B**, v. 938, p. 65-74, 2013.
- SANTOS, S.A.O., et al. Phenolic composition and antioxidant activity of Eucalyptus grandis, E. urograndis (E. grandis×E. urophylla) and E. maidenii bark extracts. **Ind. Crop. Prod.**, 39 (2012), p. 120
- SAUCO, G. V Worldwide mango production and market. Current situation and future prospects. In: INTERNATIONAL MANGO SYMPOSIUM, 9., 2010. Sanya. Proceedings. Sanya: **International Society for Horticultural Science**, 2010
- SAVI, M. et al. Parenchymal and stromal cells contribute to pro-inflammatory myocardial environment at early stages of diabetes: protective role of resveratrol. **Nutrients** 2016, 8(11), 729-751.
- SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, Los Angeles, v. 21, p. 207–213, 2005.
- SCHIEBER, A.; BERARDINI, N.; CARLE, R. Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (Mangifera indica L. cv. Tommy Atkins) peels by highperformance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5006-5011, 2003.
- SEDLAK, J., LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**. v. 25 n.1, p. 192-205. 1968
- SENFT et al., et al. The nontoxic natural compound Curcumin exerts anti-proliferative, anti-migratory, and anti-invasive properties against malignant gliomas. **BMC Cancer**, v.10, p. 491–499. 2010
- SHAHIDI, F. **Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications**: The American Oil Chemists Society, 1997
- SHALINI, R., GUPTA, D. K.. Utilisation of pomace from apple processing industries: A review. **Journal of Food Science and Technology**, 47, 365–371. 2010

SILVA, Camila Tainah da; JASIULIONIS, Miriam Galvonas. Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer. **Ciencia e Cultura**, São Paulo, v. 66, n. 1, 2014

SILVA, L. M. R. da, et al (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, 143, 398-404.

SILVA, L. M. R. da, et al (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, 143, 398-404.

SILVA, M. L. C. *et al.* Compostos fenólicos, caratenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacocognosia – da planta ao medicamento. 6 ed. Porto Alegre. Ed. Univerisidade UFRGS; Florianópolis. Editira da UFSC, 2010.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, jan/abr. 2002.

SOGI, D. S. et al. Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of ‘Tommy Atkins’ mango peel and kernel as affected by drying methods. **Food Chemistry**, v. 141, p. 2649–2655. 2013.

SOGI, M. *et al.* Total Phenolics, Carotenoids, Ascorbic Acid, and Antioxidant Properties of Fresh-cut Mango (*Mangifera indica* L., cv. Tommy Atkin) as Affected by Infrared Heat Treatment. **Journal of Food Science** V. 77, n. 11, 2012.

SOLÍS-FUENTES, J. A., DURÁN-DE-BAZÚA, M. C. Mango (*Mangifera indica* L.) seed and its fats. In: PREEDY, V., WATSON, R. R., PATEL, V. B. (Eds.), *Nuts and Seeds in health and disease prevention*. San Diego: Academic Press. Chapter 88, p. 741–748. 2011.

SOONG, Y.-Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v. 88, n. 3, p. 411-417, 2004.

SOSTRES, C. et al. . Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. **Best Practice and Research Clinical Gastroenterology**, v. 24, n. 2, p. 121-132. 2010

SOUBRIER, M., et al. Vascular effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs. **Joint Bone Spine**. V. 80, n. 4, P. 358–362. 2013

SOUZA, C. R. F. et al. Processing of *Rosmarinus officinalis* Linne extract on spray and spouted bed dryers. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. São Paulo, v. 25, n. 1, p. 56-69, 2008

SOUZA, L. M. Aplicações da espectrometrias de massas e da cromatografia líquida na caracterização estrutural de biomoléculas de baixa massa molecular.. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 2008. 182 f

- SOUZA-SARTORI, J. A. de; et al. L. Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com capacidade antioxidante total. *Biosci. J.*, v. 29, p. 297-307, 2013.
- SPAYD, S. E.; et al. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, v. 53, n. 3, p. 171-182, 2002.
- SUN, J. et al. Screening non-colored phenolics in red wines using liquid chromatography/ultraviolet and mass spectrometry/mass spectrometry libraries. *Molecules*, v. 12, p. 679-693, 2007.
- SUN, T.; HO, C. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*, v. 90, n. 4, p. 743-749, 2005.
- SVILAR, D.; et al "Base excision repair and lesion-dependent subpathways for repair of oxidative DNA damage". *Antioxidants & Redox Signaling*, v. 14, n. 12, p.2491-2507. 2010.
- TAAMALLI A, et al. UPLC-QTOF/MS for a rapid characterisation of phenolic compounds from leaves of *Myrtus communis* L. *Phytochem Anal*, v. 25, p. 89-96. 2014
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.
- TANAKA A, et al K.. Inhibition of both COX-1 and COX-2 is required for development of gastric damage in response to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Physiol*, v. 95, p.21–27. 2001
- TANAKA, T; SHNIMIZU, M; MORIWAKI, H. Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules*. V. 17, n. 3, p. 3202-42. 2012
- TANG W, et al. Effects of preparation and drying methods on the antioxidant activity of enzymatically hydrolyzed porcine placenta hydrolysates. *Drying Technol.* v. 31, p. 13–4. 2013
- THAIPONG, K. et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. V. 19, , p. 669–675. 2006
- THAPA, M. et al. Synthesis and antiviral activity of substituted quercetins. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* V. 22, p. 353-356. 2012
- TODOROVA M., TRENDAFILOVA A. *Sideritis scardica* Griseb., an endemic species of Balkan peninsula: Traditional uses, cultivation, chemical composition, biological activity. *Journal of Ethnopharmacology*.v. 152, n. 2, p. 256-265. 2014
- TRELLE, S., *et al.* Cardiovascular safety of non-steroidal antiinflammatory drugs: network meta-analysis. *BMJ* 2011;342:c7086.
- UCHIYAMA, M., MIHARA, M. Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*. V. 86, p. 271—278. 1978.

- VAN DE STEENE, J.C.; LAMBERT, W.E. Comparison of matrix effects in HPLC-MS/MS and UPLC-MS/MS analysis of nine basic pharmaceuticals in surface waters. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**. v. 19, p. 713–718. 2008
- VAN DYK, J. S., et al. Food processing waste: Problems, current management and prospects for utilization of the lignocellulose component through enzyme synergistic degradation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 26, p. 521–531. 2013
- VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quim. Nova**, V. 30, N. 5, p. 1323-1338, 2007
- VEGA AE, PUGSLEY MK. An overview of colorimetric assay methods used to assess survival or proliferation of mammalian cells. **Proceedings of the Western Pharmacology Society**., v.54, p. 10–4. 2011
- VÉKEY, K. Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography . **Journal of Chromatography A**. V. 921, n. 2, p. 227–236. 2001
- VEKIARI, S. A.; OREOPOULOU, V.; TZIA, C.; THOMOPOULOS, C. D. Oregano flavonoids as lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, Chicago, v. 70, n. 5, p. 483-487, 1993.
- VESTAL, M. L.; Methods of Ion Generation. **Chem. Rev.** v.101, n. 2, p. 361-376. 2001
- VIEIRA, T. O. et al. Antioxidant effects of crude extracts from *Baccharis* species: inhibition of myeloperoxidase activity, protection against lipid peroxidation, and action as oxidative species scavenger. *Rev. bras. farmacogn.* v. 21 no.4 Curitiba July/Aug. 2011
- WALLACE JL, GRANGER DN. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. **FASEB Journal**. 1996. V. 10, p. 731-740
- WANG, Bor-Sem. et al., 2014 Protective effects of an aqueous Pericarpium Granati extract against inflammatory damage in mice. **Journal of Functional Foods** v. 9, p. 183–191. 2014
- WELCH K. D., *et al.* Deleterious iron-mediated oxidation of biomolecules. **Free Radical Biological & Medicine**. 2002; v. 32, n. 7, p. 577-83.
- WILSON, K.; WALKER, J. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. Cambridge University Press, 7.ed. p. 352, 2010.
- WOLFE, K. L.; LIU, R. H. Apple peels as a value-added food ingredient. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 6, p. 1676-1683, 2003.
- WONG, SP; LEONG, LP; KOH, atividades JHW antioxidante de extratos aquosos de plantas selecionadas. **Food Chemistry**, v. 99, p. 775-783. 2006
- WRIGHT, Helen L., *et al.* Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases. **Rheumatology**. 2010. V. 49, p. 1618–1631

YAMASHITA, Fabio, et al. Embalagem individual de mangas cv. Tommy atkins em filme plástico: efeito sobre a vida de prateleira. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, v. 23, n. 2, p. 288-292, agosto 2001

YANG, B, et al. Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit—A review. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1837–1842. 2011.

YANG, B, et al. Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit—A review. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1837–1842. 2011.

YANG, B.; et al. Relationship of electrochemical oxidation of catechins on their antioxidant activity in microsomal lipid peroxidation. **Chem. Pharm. Bull.**2001, 49, 747.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 1, p. 41-48, 2006.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R. T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 1, p. 41-48, 2006.

YU, J. et al. Isoflavones: Anti-Inflammatory Benefit and Possible Caveats. **Nutrients**. v.8, n. 6, p. 2072-6643. 2016

YU, L. et al. Antioxidant properties of hard winter wheat extracts. **Food Chemistry**, v. 78, n. 4, p. 457-461, 2002.

ZENG, K. et al. Synthesis and biological evaluation of quinic acid derivatives as anti-inflammatory agents. **Bioorg Med Chem Lett**. V.19, n. 18, p. 5458-60. 2009

ZHANG, L. et al. Quinic Acid Could Be a Potential Rejuvenating Natural Compound by Improving Survival of *Caenorhabditis elegans* under Deleterious Conditions. **Rejuvenation Res**. v. 15, n. 6, p. 573–583. 2012

ZHANG, Q.F.; CHEUNG, H.Y.; ZENG, L.B. Development of HPLC fingerprint for species differentiation and quality assessment of *Rhizoma Smilacis Glabrae*. **Journal of Natural Medicines**, v. 67, p. 207–211, 2013a.