



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**TALITA ROCHA DE MIRANDA PINTO**

**ESTUDO DO POTENCIAL FARMACOQUÍMICO DO ÓLEO DE BATIPUTÁ**  
**(*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.) COMO INSUMO FARMACÊUTICO**

**FORTALEZA**

**2017**

**TALITA ROCHA DE MIRANDA PINTO**

**ESTUDO DO POTENCIAL FARMACOQUÍMICO DO ÓLEO DE BATIPUTÁ  
(*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.) COMO INSUMO FARMACÊUTICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Biologia para a Saúde.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira.

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães.

**FORTALEZA**

**2017**

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)

---

- P732e Pinto, Talita Rocha de Miranda.  
Estudo do Potencial Farmacoquímico do Óleo de Batiputá (*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.) como  
Insumo Farmacêutico / Talita Rocha de Miranda Pinto. – 2017.  
85f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e  
Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2017.

Orientação: Profa. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira.

Coorientação: Prof. Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães.

1. *Ouratea fieldingiana*. 2. Batiputá. 3. Óleo fixo. I. Título.

CDD 615

---

**TALITA ROCHA DE MIRANDA PINTO**

**ESTUDO DO POTENCIAL FARMACOQUÍMICO DO ÓLEO DE BATIPUTÁ  
(*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.) COMO INSUMO FARMACÊUTICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Biologia para a Saúde.

Aprovada em: 25/10/2017.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Fabiana Pereira Soares  
Universidade de Fortaleza (Unifor)

---

Profa. Dra. Nirla Rodrigues Romero,  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À minha família, por ser meu alicerce, em especial:

À minha amada irmã, Lívia Rocha, grande fonte de inspiração!

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, meu Senhor, por toda sua misericórdia e cuidado especial com minha vida!

Aos meus pais, Tito e Fátima, pelo amor, carinho, compreensão e incondicional dedicação a nossa família. Pelo exemplo de dignidade e honestidade que formam o meu alicerce, a minha mais profunda gratidão.

Aos meus amados irmãos, Tito e Livia, por serem tão especiais e me proporcionarem força e apoio sempre. Pelos sublimes momentos com eles compartilhados, o meu orgulhoso agradecimento!

Ao meu querido cunhado, Helton Fabrício, por todo o apoio a mim dispensado não só no desenvolver desta dissertação, mas também na caminhada da vida. Meu muito obrigada!

À minha cunhadinha, Samanta Gadelha, pela ajuda tecnológica tão necessária. Obrigada, flor!

À toda minha família, pela peculiaridade com que ama, educa e faz cobranças mantendo-se sempre unida em qualquer situação e por compreender meus momentos de ausência durante o desenvolvimento deste trabalho.

À minha amiga-irmã Laís Martins pelo amor dedicado por todos esses anos. Obrigadash!

À minha amiga Rebeca Sales, minha “co-orientadora”, irmã científica e sempre incentivadora, meu sincero obrigada!

Às amigas Karine Lima, Patrícia Gonçalves, Márcia, Claudinha Nascimento e Santelma de Paiva pela amizade, carinho, compreensão, ensinamentos, alegrias e tristezas compartilhadas.

Aos demais colegas que tive a oportunidade e o grande prazer de conhecer e conviver durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Dona Fátima, que com muita simpatia e boa vontade me passou todo seu conhecimento sobre o batiputá estando comigo desde a coleta até a obtenção do óleo. A senhora e seus familiares estavam certos, o batiputá é muito rico!

Aos professores Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca e Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães pelo acolhimento e preciosos ensinamentos.

À Farmácia Escola, ao Nutec, em especial Rubens Carius, ao Padetec e à Embrapa pela concessão do espaço e de materiais para realização das análises.

A todos os queridos integrantes do Horto de Plantas Medicinais Professor Francisco José de Abreu Matos, ah como vocês me fazem bem. Obrigada por todo carinho!

Aos avaliadores por terem aceitado participar da banca de defesa desta dissertação.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento dessa dissertação, compartilhando comigo as alegrias e os desafios desta etapa da minha vida, minha sincera gratidão!

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

A minha querida orientadora Prof.<sup>a</sup> Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira, que me acolheu tão amavelmente, confiou e tanto me incentivou. Flor, tu és especial demais!

Agradeço-lhe por haver me cativado com a sua maneira simples e sincera de viver a vida, seu espírito leve e coração tão puro!

“O rio atinge os seus objetivos, porque aprendeu a contornar obstáculos”.

Lao-Tsé

## RESUMO

*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl., conhecida popularmente no Nordeste como Batiputá, é uma planta, essencialmente arbórea ou arbustiva, pertencente à família Ochnaceae, gênero *Ouratea*. De seus frutos pode ser extraído um óleo que é usado tanto na culinária quanto na medicina alternativa como anti-inflamatório, cicatrizante e no tratamento de tosse e estados gripais. Estudiosos observaram que extratos e frações obtidas de plantas pertencentes ao gênero *Ouratea* possuem diversas atividades biológicas importantes como antitumoral, antiviral, vasodilatadora e antimicrobiana, tornando evidente o potencial terapêutico dessas espécies, o que justifica a necessidade de se realizar um estudo farmacológico e explorar o potencial farmacêutico do insumo proveniente dos frutos da espécie originária do Estado do Ceará. O presente trabalho teve como objetivo realizar o estudo farmacológico do óleo de batiputá a partir dos frutos de *Ouratea fieldingiana* com vista à determinação da sua composição química e obtenção de insumo farmacêutico. Para isso, realizou-se, preliminarmente ensaios para selecionar a técnica mais indicada para dessecação dos frutos e para a determinação do teor de umidade. Para caracterização dos seus parâmetros de qualidade realizou-se previamente, uma abordagem fitoquímica, evidenciando a presença de alcaloides, catequinas, cumarinas, esteroides, fenóis livres, flavonoides, saponinas, traços antraquinônicos e triterpenoides e análise da sua composição mineral, que revelou riqueza de micro e macro nutrientes com importantes funções no organismo. Posteriormente, foram realizados ensaios, onde foram obtidas as especificações de qualidade do óleo extraído artesanalmente e laboratorialmente como caracteres organolépticos e físico-químicos, tais como: densidade, índices: de refração, acidez, saponificação, éteres e iodo, das amostras de óleo obtidas. A análise da constituição química dos óleos artesanal (O.A) e laboratorial (O.L) por CG-FID evidenciou a presença majoritária dos ésteres metílicos dos ácidos palmítico, oleico e linoleico. Os resultados obtidos nesse trabalho foram inéditos e fornecem evidências científicas da viabilidade de aplicação dos frutos na nutracêutica e do óleo de batiputá na dermo-cosmética, o que incentiva a manutenção e propagação dos saberes populares através de comprovação científica.

**Palavras-chave:** *Ouratea fieldingiana*; Batiputá; Óleo fixo.

## ABSTRACT

*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl., popularly known in the northeast as batiputá, is a plant, essentially arboreal or shrub, belonging to the family ochnaceae, genus ouratea. From its fruit can be extracted an oil that is used in both cooking and folk medicine as anti-inflammatory, healing and in the treatment of cough and flu states. It was observed that extracts and fractions obtained from plants belonging to the genus ouratea have important biological activities such as antitumor, antiviral, vasodilator, antimicrobial and inhibition of DNA topoisomerase, making evident the therapeutic potential of these species, which justifies the necessity of conducting a pharmacochemical study and to explore the pharmaceutical potential of the input from the fruits of the native species of Ceará's state. The present work had the objective of conducting the pharmacochemical study of batiputá oil from the fruits of *Ouratea fieldingiana* in order to determine its chemical composition and obtaining a pharmaceutical input. For this, preliminary tests were carried out to select the most suitable technique for fruit desiccation, with determination of the moisture content. In order to characterize its quality parameters, a phytochemical approach was performed, evidencing the presence of alkaloids, catechins, coumarins, steroids, free phenols, flavonoids, saponins, anthraquinones and triterpenoids and analysis of their mineral and metallic composition, which revealed richness of micro and macro nutrients with important functions in the body. Subsequently, tests were carried out, where the quality specifications of the oil extracted by hand and laboratory were obtained as organoleptic and physico-chemical characteristics, such as: density, refractive index, acidity, saponification, esthers and iodine, obtained. The analysis of the chemical composition of the artisanal (AO) and laboratory (LO) oils by CG-FID evidenced the presence of the acid methyl ethers, palmitic, oleic and linoleic. The results obtained in this work were unpublished and provide scientific evidence of the feasibility of applying the batiputá fruits in nutraceutical and batiputá oil in dermo-cosmetics, which encourages the maintenance and propagation of popular knowledge through scientific verification.

**Keywords:** *Ouratea fieldingiana*; Batiputá; Fixed oil.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Substâncias químicas isoladas de plantas do gênero <i>Ouratea</i>	22
Figura 2 - Ocorrências confirmadas de plantas da espécie <i>Ouratea fieldingiana</i> (Gardner) Engl	25
Figura 3 - Aspecto geral da <i>Ouratea fieldingiana</i> (Gardner) Engl. 1: Arbusto em hábitat natural; 2: Flor; 3: Frutos imaturos; 4: Folhas	26
Figura 4 - Registro fotográfico da exsicata depositado no Herbário Prisco Bezerra – UFC	31
Figura 5 - Fluxograma de metodologias aplicadas no ensaio	33
Figura 6 - Extração artesanal do óleo de batiputá	35
Figura 7 - Extração laboratorial em aparelho Soxhlet do óleo de batiputá	36
Figura 8 - Preparação e padronização do microrganismo teste	40
Figura 9 - Sistema utilizados no ensaio de contratilidade <i>in vitro</i>	42
Figura 10 - Detalhe da montagem dos anéis de aorta de rato no sistema de contratilidade <i>in vitro</i>	43
Figura 11 - Detalhe da montagem dos tecidos gastrointestinais de rato no sistema de contratilidade <i>in vitro</i>	44
Figura 12 - Cromatograma do Precipitado P.A.P.L obtido por Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CGM)	51
Figura - 13 Espectro de massa do ácido mirístico	53
Figura - 14 Espectro de massa do ácido palmítico	53
Figura - 15 Espectro de massa do ácido palmitoleico	53
Figura - 16 Espectro de massa do ácido esteárico	53
Figura - 17 Espectro de massa do ácido oleico	54
Figura - 18 Espectro de massa do ácido linoleico	54
Figura - 19 Rearranjo de MacLafferty	55
Figura - 20 Cromatograma do óleo artesanal metilado obtido por Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrômetro de massas com detector por ionização de chama (CG- FID)	56
Figura - 21 Cromatograma do óleo laboratorial metilado obtido por Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrômetro de massas com detector por ionização de chama (CG- FID)	56

Figura - 22	Espectro RMN H <sup>1</sup> do óleo artesanal de batiputá ( <i>Ouratea fieldingiana</i> (Gardner) Engl.)	59
Figura - 23	Espectro RMN H <sup>1</sup> do óleo laboratorial de batiputá ( <i>Ouratea fieldingiana</i> (Gardner) Engl.)	60
Figura - 24	Placas com crescimento microbiano, sem halos de inibição	61
Figura - 25	Experimento em anel isolado de aorta de rato (C1)	61
Figura - 26	Repetição do experimento em anel isolado de aorta de rato (C2)	62
Figura - 27	Experimento em corte histológico de tecidos do aparelho gastrointestinal de Rato (C3)	62

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios de umidade dos frutos frescos e dessecados e respectivos desvios-padrão	45
Tabela 2 - Triagem Fitoquímica do óleo e extratos dos frutos da espécie <i>Ouratea fieldingiana</i> (Gardner) Engl	46
Tabela 3 - Composição mineral e componentes metálicos dos frutos da espécie <i>Ouratea fieldingiana</i> (Gardner) Engl.	47
Tabela 4 - Rendimento do óleo obtido a partir dos frutos em diferentes condições	48
Tabela 5 - Parâmetros Físicos e Físico-Químicos dos óleos de batiputá	49
Tabela 6 - Proporção de saponificáveis e insaponificáveis presentes no óleo de batiputá	50
Tabela 7 - Componentes encontrados no precipitado (P.A.P.L)	52
Tabela 8 - Componentes encontrados no óleo artesanal (OA) e óleo laboratorial (OL) de batiputá ( <i>Ouratea fieldingiana</i> (Gardner) Engl.)	57

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>19</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo geral</b>	<b>19</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>19</b>
<b>4</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>20</b>
<b>4.1</b>	<b>A família Ochnaceae e o gênero <i>Ouratea</i>.</b>	<b>20</b>
<b>4.2</b>	<b><i>Ouratea fieldingiana</i> (Gardner) Engl. (Batiputá)</b>	<b>25</b>
<b>4.3</b>	<b>Considerações sobre óleo fixo</b>	<b>27</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>31</b>
<b>5.1</b>	<b>Material</b>	<b>31</b>
<b>5.1.1</b>	<b><i>Material Botânico</i></b>	<b>31</b>
<b>5.1.2</b>	<b><i>Reagentes, Solventes, meios de cultura e diluentes</i></b>	<b>32</b>
<b>5.1.3</b>	<b><i>Composição das soluções</i></b>	<b>32</b>
<b>5.1.4</b>	<b><i>Equipamentos</i></b>	<b>32</b>
<b>5.1.5</b>	<b><i>Outros Materiais</i></b>	<b>33</b>
<b>5.2</b>	<b>Métodos</b>	<b>33</b>
<b>5.2.1</b>	<b><i>Ensaio preliminares para obtenção da droga vegetal</i></b>	<b>34</b>
<b>5.2.1.1</b>	<b><i>Dessecação e Determinação do Teor de Umidade dos frutos</i></b>	<b>34</b>
<b>5.2.2</b>	<b><i>Caracterização dos parâmetros de qualidade dos frutos de batiputá</i></b>	<b>34</b>
<b>5.2.2.1</b>	<b><i>Abordagem Fitoquímica: Prospecção Preliminar dos Constituintes Químicos</i></b>	<b>34</b>
<b>5.2.2.2</b>	<b><i>Composição mineral dos frutos frescos de batiputá</i></b>	<b>34</b>
<b>5.2.3</b>	<b><i>Extração do Óleo de Batiputá</i></b>	<b>35</b>
<b>5.2.3.1</b>	<b><i>Extração Artesanal</i></b>	<b>35</b>
<b>5.2.3.2</b>	<b><i>Extração Laboratorial</i></b>	<b>35</b>
<b>5.2.4</b>	<b><i>Determinação de Caracteres Organolépticos.</i></b>	<b>36</b>
<b>5.2.5</b>	<b><i>Determinação de parâmetros Físicos e Físico-Químicos</i></b>	<b>36</b>
<b>5.2.5.1</b>	<b><i>Determinação do Índice de Refração</i></b>	<b>36</b>
<b>5.2.5.2</b>	<b><i>Determinação do Índice de Acidez</i></b>	<b>36</b>
<b>5.2.5.3</b>	<b><i>Determinação do Índice de Saponificação</i></b>	<b>37</b>

5.2.5.4	<i>Determinação do Índice de Ésteres</i>	37
5.2.5.5	<i>Determinação do Índice de Iodo</i>	37
5.2.5.6	<i>Determinação da Densidade do Óleo</i>	37
<b>5.2.6</b>	<b><i>Análise dos óleos fixos obtidos: artesanal e laboratorial</i></b>	<b>38</b>
5.2.6.1	<i>Determinação dos teores de saponificáveis e insaponificáveis (Reação de saponificação)</i>	38
5.2.6.2	<i>Partição do Óleo com Álcool Etílico</i>	38
5.2.6.2.1	<i>Identificação da Constituição Química do P.A.P.L</i>	38
5.2.6.3	<i>Identificação da Constituição Química dos Óleos Artesanal e Laboratorial</i>	39
5.2.6.4	<i>Caracterização da Constituição Químicas da Fração Insaponificável do óleo artesanal e laboratorial</i>	39
<b>5.2.7</b>	<b><i>Determinação da Atividade Antimicrobiana contra Staphylococcus aureus</i></b>	<b>40</b>
5.2.7.1	<i>Preparação e Padronização do Microrganismo Teste</i>	40
<b>5.2.8</b>	<b><i>Ensaio piloto para verificação de potencial vasodilatador e da contratilidade in vitro do óleo artesanal de batiputá</i></b>	<b>41</b>
5.2.8.1	<i>Experimentos com anéis de aorta de rato</i>	41
5.2.8.2	<i>Experimentos com segmentos de fundo de estômago, duodeno e íleo de rato</i>	43
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>45</b>
<b>6.1</b>	<b>Ensaio preliminares para obtenção da droga vegetal</b>	<b>45</b>
6.1.1	<i>Dessecação e Determinação do Teor de Umidade dos frutos</i>	45
<b>6.2</b>	<b>Caracterização dos parâmetros de qualidade dos frutos de batiputá</b>	<b>45</b>
6.2.1	<i>Abordagem Fitoquímica: Prospecção Preliminar dos Constituintes Químicos</i>	45
6.2.2	<i>Composição mineral dos frutos frescos de batiputá</i>	46
<b>6.3</b>	<b>Extração do Óleo de Batiputá (<i>Ouratea fieldingiana</i> (Gardner) Engl.)</b>	<b>48</b>
6.3.1	<i>Extração Artesanal</i>	48
6.3.2	<i>Extração laboratorial</i>	48
<b>6.4</b>	<b>Determinação de Caracteres Organolépticos</b>	<b>48</b>
<b>6.5</b>	<b>Parâmetros Físico-Químicos</b>	<b>49</b>
<b>6.6</b>	<b>Análise do Óleo</b>	<b>50</b>
6.6.1	<i>Reação de saponificação</i>	50
6.6.2	<i>Identificação da Constituição Química do Precipitado (P.A.P.L)</i>	51

6.6.3	<i>Identificação da Constituição Química dos Óleos Artesanal e Laboratorial</i>	55
6.6.4	<i>Caracterização da Constituição Química da Fração Insaponificável do óleo artesanal e laboratorial por RMN<sup>1</sup>H</i>	58
6.6.4.1	<i>Fração insaponificável do óleo artesanal</i>	58
6.6.4.2	<i>Fração insaponificável do óleo laboratorial</i>	59
6.7	<b>Determinação da Atividade Antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i></b>	60
6.8	<b>Ensaio piloto para verificação de potencial vasodilatador e da contratilidade in vitro do óleo artesanal de batiputá</b>	61
6.8.1	<i>Experimentos com anéis de aorta de rato</i>	61
6.8.2	<i>Experimentos com segmentos de fundo de estômago, duodeno e íleo de rato</i>	62
7	<b>DISCUSSÃO</b>	64
8	<b>CONCLUSÕES</b>	69
9	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS</b>	70
	<b>REFERÊNCIAS</b>	71
	<b>APÊNDICE A</b>	81

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais fazem parte da cultura popular e, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% usam plantas medicinais ou preparações destas (ROSA; CÂMARA; BÉRIA, 2011).

No Brasil, aproximadamente um quinto da população consome 63% dos medicamentos disponíveis e o restante encontra nos produtos de origem natural, especialmente nas plantas, a única fonte de recurso terapêutico. O Brasil é um país privilegiado neste aspecto, pois abriga 55 mil espécies de plantas, correspondendo aproximadamente a um quarto de todas as espécies conhecidas no mundo, entretanto um grande número dessas espécies ainda não foi estudado sob o ponto de vista químico e/ou farmacológico, o que tem contribuído para a diminuição do número de registros de novas substâncias isoladas provenientes do metabolismo secundário vegetal (DI STASI, 2007; ARAÚJO, 2010; CUNHA; SILVA; ROQUE, 2003; DAVID *et al.*, 2006; PINA, 2011).

Marinho; Silva; Andrade (2011) consideram que estudos relacionados com a medicina popular têm merecido cada vez mais atenção, em virtude da gama de informações e esclarecimento à ciência que eles proporcionam. Além disso, a utilização de produtos à base de plantas medicinais, seja pelo uso na medicina popular, ou pelos sistemas oficiais de saúde, como prática de cunho científico, orientada pelos princípios e diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS), é uma atividade que incentiva o desenvolvimento comunitário, a solidariedade e a participação social (RODRIGUES; DE SIMONI, 2010; BRASIL, 2012).

A fim de possibilitar a substituição do uso empírico tradicional pelo emprego científico e racional de matérias-primas ativas vegetais, criou-se o projeto Farmácias Vivas da Universidade Federal do Ceará, por meio dos esforços do professor Francisco José de Abreu Matos (*in memoriam*). Seu objetivo é a produção e a utilização de produtos com fins terapêuticos oriundos da flora medicinal da região cearense (PORTO, 2012).

“Pouco depois de aposentado, fiz um retrospecto de minha atividade ao longo de 20 anos, como professor e pesquisador em regime de Dedicção Exclusiva na UFC, nas áreas de farmacognosia e de química orgânica, especialmente com produtos naturais. Numerosas comunicações em congressos, trabalhos publicados no Brasil e no exterior, muitos dos quais sobre estudos, envolvendo as áreas da taxonomia botânica, química de produtos naturais secundários e farmacologia, realizados em espécies de plantas medicinais em ocorrência no Nordeste tinham aí a justificativa de suas propriedades. Isto, mais a minha participação no Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais, o PPPM, idealizado e coordenado pela antiga Central de Medicamentos do Ministério da Saúde (CEME), formaram a base para a criação do Projeto Farmácias

Vivas, com o objetivo de promover a substituição de plantas usadas empiricamente por outras com a garantia de eficácia e segurança disponíveis na região. Havia chegado à hora de retribuir para o povo o que recebi em muitos anos de estudos como aluno da escola pública, do ginásio até a universidade” (PORTO, 2012).

Com base nesses princípios pode-se destacar o Batiputá (*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.) de cujos frutos pode ser extraído um óleo que é utilizado tanto na culinária, para fritar peixes e carnes, quanto na medicina alternativa no combate a dores reumáticas, gripe, gastrite e inflamações. O nome popular Batiputá é dado no Nordeste do Brasil às espécies do gênero *Ouratea*, tratando-se de plantas pertencentes à família *Ochnaceae* que são plantas essencialmente arbóreas ou arbustivas, também empregadas em ornamentação urbana (BARROSO *et al.*, 1986 *apud* ARAÚJO, 2010).

A população costuma fazer uso das espécies de *Ouratea* como tônicas e adstringentes (*O. castanaefolia* e *O. parviflora*), como anti-inflamatório e em doenças da pele (*O. parviflora*) e no tratamento de doenças gástricas (*O. spectabilis*) (CORREA, 1974; PAULO *et al.*, 1986; FELICIO *et al.*, 2004 *apud* ARAÚJO, 2010).

Segundo Costa (1994) doutor em Farmácia e ex-diretor do Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Portugal, farmacocômica é o ramo da Farmacognosia que trata do estudo químico da droga com vista a sua aplicação farmacêutica. A Farmacognosia enquanto ciência, tem por objetivo o conhecimento dos fármacos, particularmente aos de origem vegetal, possibilitando seu estudo nos diversos aspectos da história, cultivo, preparação e conservação, identificação botânica e química, composição, pesquisa de falsificações, atividades farmacológicas, separação dos seus constituintes ativos e estabelecimento das relações bioquímicas.

A espécie *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl., de ocorrência notória no estado do Ceará, tem sido raramente estudada e relatada na literatura científica. Quase não se tem dados disponíveis sobre sua composição química, potencial médico ou industrial, sendo, porém, de uso popular no tratamento de diversas doenças na região Nordeste, e, portanto, seu estudo farmacocômico como insumo farmacêutico, tornou-se a proposição do presente trabalho (CARVALHO *et al.*, 2010).

## 2 JUSTIFICATIVA

O Prof. Francisco José de Abreu Matos, com base nas informações etnofarmacológicas e observando a necessidade de comprovação científica da planta nativa do litoral cearense, oriunda do gênero *Ouratea*, denominada popularmente batiputá, deixou arquivado no seu “Legado Científico” um roteiro para o estudo químico do óleo de batiputá. Verificou-se então, por meio de levantamento bibliográfico, a evidência do potencial terapêutico envolvido na utilização de espécies do gênero *Ouratea*, cujos extratos apresentam atividades biológicas importantes como antitumoral, antiviral, vasodilatadora, antimicrobiana e inibição da DNA topoisomerase (FIDELIS *et al.*, 2014), justificando assim a necessidade de se realizar um estudo farmacológico e explorar o potencial farmacêutico do insumo proveniente dos frutos da espécie originária do nosso Estado.

Além da importância da definição da identidade botânica da espécie que origina os frutos a serem utilizados na obtenção do óleo de batiputá, existe a necessidade de serem aprimoradas técnicas de maior rendimento para a obtenção deste óleo, com qualidade, bem como a realização do estudo da composição química do produto dessa extração e de suas propriedades farmacológicas, com base em estudos etnofarmacológicos, subsidiando, assim, a pesquisa e o desenvolvimento que culminem na produção de um óleo como insumo farmacêutico.

Os estudos a serem realizados neste trabalho são, em muitos aspectos, pioneiros e podem contribuir para a incorporação de uma nova espécie ao Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Ceará, bem como à Relação Estadual de Plantas Medicinais (REPLAME).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Realizar o estudo farmacocquímico do óleo de batiputá (*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.) com vista à determinação da sua composição química e obtenção de insumo farmacêutico.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o rendimento do óleo de batiputá artesanal e laboratorial em diferentes condições (a partir de frutos frescos, secos em estufa e liofilizados) com determinação do seu teor de lipídeos;
- Realizar uma abordagem fitoquímica para caracterização preliminar dos constituintes químicos presentes no óleo e extratos acetato de etila e metanólico do batiputá;
- Determinar a composição mineral dos frutos frescos de batiputá;
- Determinar os caracteres organolépticos do óleo artesanal e laboratorial do óleo de batiputá;
- Determinar os parâmetros físico-químicos: densidade relativa, índices de refração, acidez, saponificação, ésteres e iodo, do óleo de batiputá como parâmetro de qualidade para sua utilização como insumo farmacêutico;
- Identificação da constituição química (ácidos graxos) do óleo de batiputá;
- Caracterização da fração insaponificável do óleo de batiputá;
- Avaliar possível atividade antimicrobiana do óleo de batiputá artesanal e laboratorial;
- Avaliar potencial vasodilatador e de contratilidade *in vitro* do óleo artesanal de batiputá.

## 4 REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 A família Ochnaceae e o gênero *Ouratea*

A família Ochnaceae é constituída por representantes arbóreos, arbustivos e raramente herbáceos (METCALFE; CHALK, 1950), possui distribuição pantropical, incluindo aproximadamente 38 gêneros e cerca de 420 espécies (THE PLANT LIST, 2013). No Brasil são encontrados 14 gêneros e aproximadamente 200 espécies distribuídas entre as cinco regiões geográficas (SOUZA; LONRENZI, 2012). Das 53 encontradas na região Nordeste, 10 ocorrem no estado do Ceará (CHACON; YAMAMOTO, 2015).

Possui interesse econômico, restrito a algumas espécies ornamentais como a ocna (*Ocna serrulata*). No Brasil essa família é comum nos cerrados, especialmente as espécies *O. spectabilis* e *O. castaneafolia*, sendo esta última mais comum na parte ocidental desta formação (SOUZA; LONRENZI, 2012).

O gênero *Ouratea* é o maior desta família compreendendo aproximadamente 300 espécies tropicais que aparecem principalmente na América do Sul e na África Tropical (HEYWOOD, 1978; DAHLGREN, 1980). No Brasil ocorrem 120 espécies ditribuídas entre os seguintes domínios geográficos: amazônia, caatinga, cerrado e mata atlântica, sendo o maior número de espécies, 68, encontrado na região Norte do país, concentrado na amazônia, enquanto no nordeste ocorrem 37, das quais 9 (*O. caudata*, *O. castaneifolia*, *O. cearenses*, *O. cuspidata*, *O. fieldingiana*, *O. hexasperma*, *O. parviflora*, *O. parvifolia* e *O. salicifolia*) estão presentes no Ceará (CHACON; YAMAMOTO, 2015).

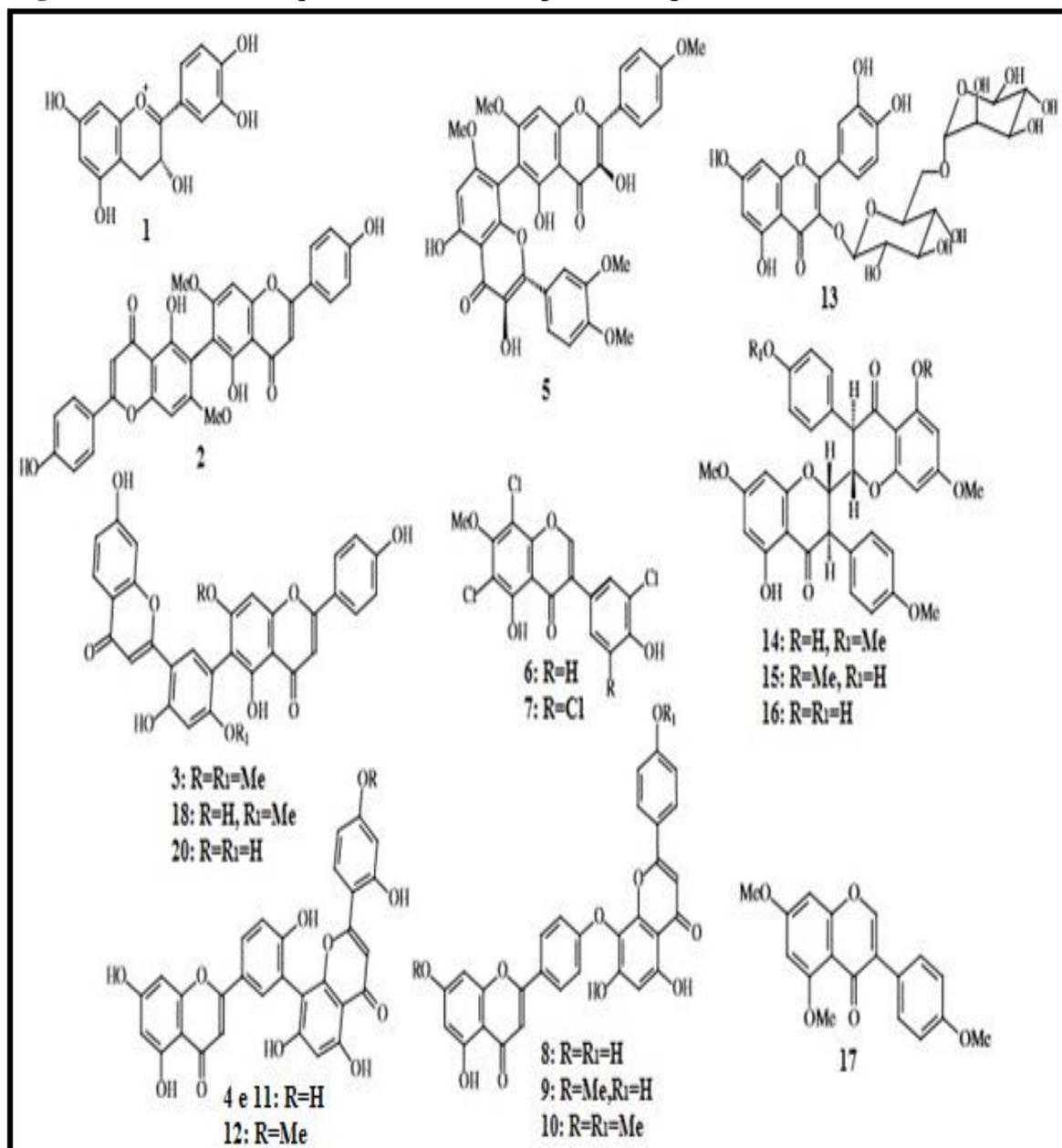
As espécies desse gênero caracterizam-se pelas flores geralmente vistosas, frequentemente amareladas, recebendo designações específicas como Angelim (*O. vaccinoides*), Caju Bravo (*O. floribunda* e *O. salicifolia*) e Coração de Bugre (*O. parviflora*), sendo que no Nordeste brasileiro são conhecidas como “batiputá”, cujas sementes fornecem um óleo adocicado e aromático utilizado em conservas e temperos (SUZART *et al.*, 2007).

Algumas espécies do gênero *Ouratea* são amplamente utilizadas na medicina popular para o tratamento de disenteria, diarreia, reumatismo e doenças gástricas (BOUQUET, 1969), e no Brasil são indicadas para cura de paralisias, erisipela e feridas no útero (BARROSO *et al.*, 1986); tratamento da tosse (*O. reticulata*) (MANGA; MESSANGA; SONDEGAM., 2001); tratamento de reumatismo, entorses e doenças artríticas (*O. parviflora*) (CARBONARI *et al.*, 2006); como adstringente e antiinflamatória (*O. semisserrata* (Mart) Engl. (MCNEILL; JURGENS, 2006), entre outras. Por outro lado, os compostos responsáveis por essas atividades

ainda não foram muito bem definidos, devido à escassez de estudos mais minuciosos sobre estas espécies (FIDELIS *et al.*, 2014).

Estudos químicos, realizados com diferentes partes da planta, tem proporcionado o isolamento de diversas substâncias, principalmente flavonóides, tais como: cianidina (**1**) de *O. affinis* Engl. e *O. calantha* Gilg. (GARTLAN *et al.*, 1980); bigenkanina (**2**) e 7,7''-O-dimetilagatisflavona (**3**) de *O. spectabilis* (Mart.) Engl. (FELÍCIO *et al.*, 1995); amentoflavona (**4**) e 3-OH-4',5,7OMe-flavona-(6→8'')-3''-OH-3''',4''',5'',7''-OMe flavona (**5**) de *O. multiflora* Pohl (FELÍCIO *et al.*, 2001); 3',6,8-cloro-4',5-OH-7-OMe isoflavona (**6**); 3',5',6,8-cloro-4',5-OH-7-OMe isoflavona (**7**); 5,7-OH-flavona-(4'→O→8'')-4''',5'',7''-OH flavona (**8**); 5-OH-7-OMe-flavona-(4'→O→8'')-4''',5'',7''-OH flavona (**9**); 5-OH-7-OMe-flavona-(4'→O→8'')-5'',7''-OH-4'''-OMe flavona (**10**); amentoflavona (**11**); podocarpusflavona (**12**) e rutina (**13**) de *O. semisserata* (Mart.) Engl. (VELANDIA *et al.*, 2002); Hexaspermona A (**14**); Hexaspermona B (**15**); Hexaspermona C (**16**); 5,7,4'-OMe-isoflavona (**17**); 7''-Ometilagatisflavona (**18**); 7,7''-O-dimetillanaraflavona (**19**); agastiflavona (**20**); epicatequina (**21**); 6-C-glicopiranosil-luteolina (**22**); 3-O-glicopiranosil-quercetina (**23**) e 2''-O-β-D-glicopiranosil-8-C-β-D-glicopiranosil luteolina (**24**) de *O. hexasperma* (St. Hil.) Bail. (MOREIRA *et al.*, 1994; DANIEL *et al.*, 2005); vitexina (**25**) e orientina (**26**) de *O. hexasperma* (SUZART *et al.*, 2012); o derivado vitexina 6''-O-acetylvitexina (**27**) isolado de *O. gilgiana* (NJOCK *et al.*, 2012) e, mais recentemente, dois novos derivados éster triterpenóide, o ácido 3-β-esteárico / palmítico-maslínico (**28**) e o ácido 2-α-esteárico / palmítico-maslínico (**29**) de *O. cuspidata* (SUZART *et al.*, 2016). As estruturas químicas dessas substâncias podem ser observadas na Figura 1.

**Figura 1** – Substâncias químicas isoladas de plantas do gênero *Ouratea*.



Fonte: Adaptado de Fidelis, 2014.



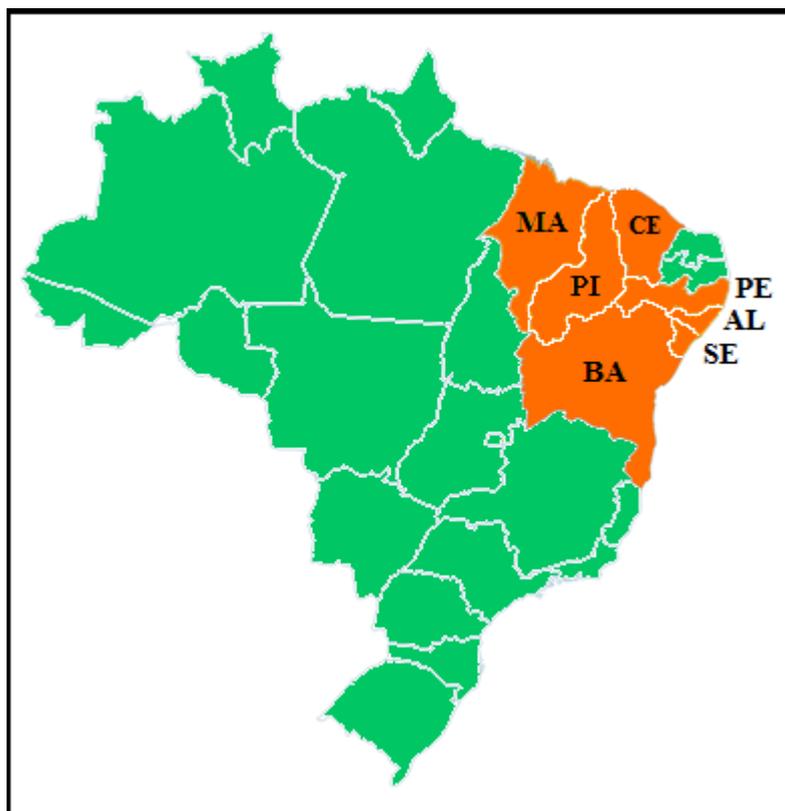
Diferentes atividades biológicas foram relatadas ao longo tempo através de estudos com extratos brutos e frações obtidos a partir de espécies de *Ouratea*. Os estudos de Oliveira *et al.*, (1972) demonstraram uma significativa atividade anti-tumoral de um dímero de flavanol, isolado de *Ouratea sp*, contra Sarcoma 180 e Walker 256 com a redução do crescimento tumoral em 50-70% em cinco dias de teste. Braga *et al.*, (2000) demonstraram que o extrato hidroalcolico de caule de *O. semiserrata* é capaz de inibir a enzima conversora de angiotensina (ECA) *in vitro*. Posteriormente, Valadares *et al.*, (2003) relataram uma potente atividade vasodilatadora deste extrato, também *in vitro*, o que aponta a espécie como fonte de substâncias bioativas, potencialmente úteis para o tratamento da hipertensão primária. Já os extratos metanólicos de *O. elongata*, *O. flava* e *O. sulcata* demonstraram atividade antimicrobiana contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus hirae* e *Candida albicans* (GANGOUE-PIEBOJI *et al.*, 2006). Extratos etanólicos de *Ouratea castaneaefolia*, *O. semiserrata* e *O. spectabilis* apresentaram atividade contra vírus herpes humano tipo 1 (HSV-1), vírus da vacina (VACV) e vírus da encefalomiocardite murina (EMCV) quando ensaiados pelo teste colorimétrico MTT (brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl) -2,5-difenil tetrazolium]) que avalia viabilidade celular. Esse teste foi realizado contra controles positivos aciclovir / Calbiochem e interferon  $\alpha$ -2a / Bérغامo (BRANDÃO *et al.*, 2011). Araújo (2010) concluiu que o óleo fixo de *Ouratea sp.* (batiputá) auxilia e acelera o processo de cicatrização de lesões cutâneas experimentais *in vivo*, induzindo re-epitelização, migração neutrofílica, proliferação de fibroblastos e aumento de fibras colágenas, o que justifica seu uso popular como agente cicatrizante.

Segundo Pieper e Caliri (2003), a utilização de óleos de origem vegetal em ferimentos, ocorre principalmente em países da América Latina, estando geralmente, associada a presença de ácidos graxos nestes, tais como: ácido oleico, linoleico e linolênico. A maioria dos estudos que abordam o tema ácidos graxos e cicatrização foram realizados na América do Sul, destacando-se o Brasil, e poucos estão publicados em revistas de circulação internacional (HATANAKA; CURI, 2007).

#### 4.2 *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. (Batiputá)

A espécie *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. é de origem nativa, não endêmica do Brasil, está distribuída na região Nordeste com ocorrências confirmadas em Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Piauí e Sergipe conforme mostra Figura 2 (FLORA DO BRASIL, 2017c).

**Figura 2** – Ocorrências confirmadas da espécie *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. no Brasil.

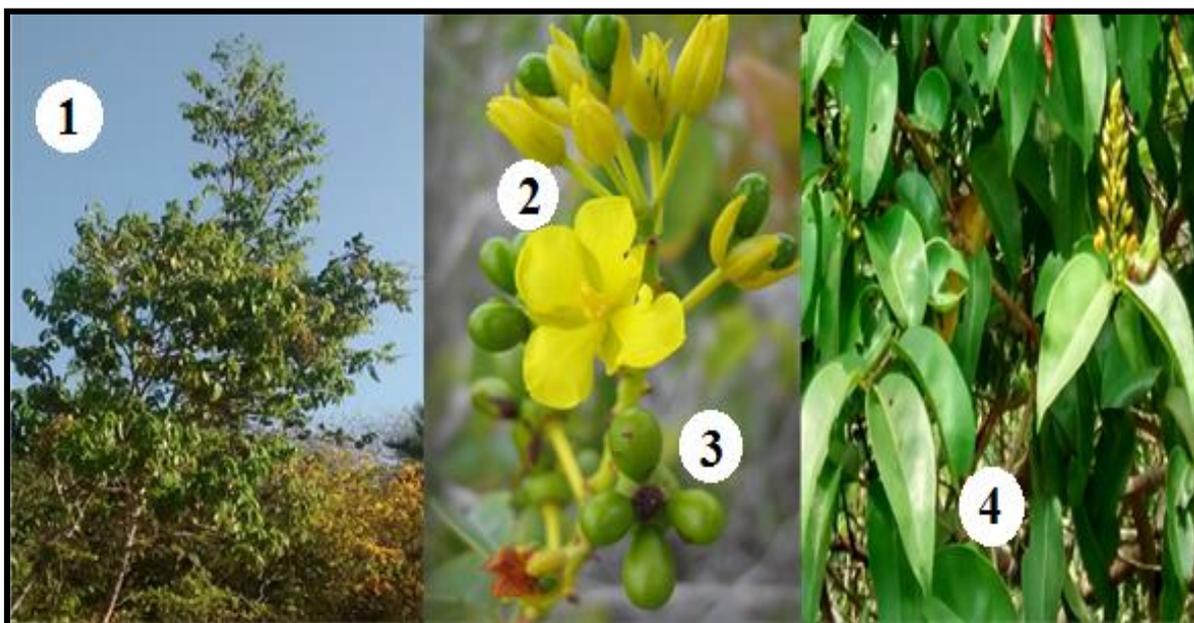


Fonte: Adaptado de Flora do Brasil, 2017.

Também conhecida como batiputá, essa espécie é descrita como um frutice arborescente com casca grisalha, ramos cilíndricos não suberosos, e folhas alternas com 10-18 cm de comprimento, dísticas, canaliculadas, com forma de uma canoa, denteadas perto do ápice, com nervura principal sulcada na face adaxial e proeminente na face abaxial, pecíolo medindo entre 5-8 milímetros, canaliculado na face adaxial, verde-claras, luzidias e providas de veias oblíquas elegantes. A espécie *O. fieldingiana* é um arbusto que raramente possui inflorescências em panícula racemiforme, quase sempre panificada, pêndulas, congestos, glabras com eixo principal medindo entre 10-16 cm e eixos laterais de até 5 cm. Possui três bractéolas, sendo uma externa e duas internas, persistentes, além de pedicelo medindo entre 5-10 milímetros,

glabro. Seu ginóforo mede de 1-1,5 milímetros de comprimento. Seus frutos maduros apresentam coloração escura tendendo a preto e são classificados como simples, carnosos, indeiscentes, tipo drupa, ou seja, frutos com endocarpo pétreo ou percaminoso, soldado à semente (OLIVEIRA; AKISUE, 1993). Ocorre frequentemente no domínio fitogeográfico da Caatinga cujos botões de flores apresentam cor sanguínea ficando depois amarelos ao desabrochar, possuindo cheiro suave. Esta arvoreta é abundante no litoral e atrai a atenção pelas suas folhas brilhantes e, na floração, pelos cachos de flores amarelas (PICKEL, 2008; CRISÓSTOMO, 2008; CARVALHO *et al.*, 2010; FLORA DO BRASIL, 2017c). Seu aspecto geral pode ser observado na Figura 3.

**Figura 3** - Aspecto geral da *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. 1: Arbusto em hábitat natural; 2: Flor; 3: Frutos imaturos; 4: Folhas.



**Fonte:** 1 e 4: Autoria própria; 2 e 3: Aldizio Lima de Oliveira, disponível em: <http://www.panoramio.com/photo/14006321>.

A utilização do óleo obtido dos frutos do batiputá (*Ouratea fieldingiana*) representa o resgate cultural de povos indígenas, que foram alvos de genocídio e etnocídio ao longo dos séculos, mas cujas tradições e conhecimentos sobreviveram e se mantêm, sendo reinventadas e retomadas, muitas vezes, como alternativa inclusive à indústria farmacêutica. Os índios Tremembé, que vivem hoje nos municípios cearenses de Itarema, Acaraú e Itapipoca celebram, a colheita destes frutos e a preparação do óleo de batiputá na Festa do Batiputá que ocorre todo início de ano, há exatos sete anos, na Aldeia São José, dos índios Tremembé, da Barra do Mundaú. O processo de extração do óleo leva quase um dia inteiro e envolve debulhar

os frutos, que se encontram em cachos, socar no pilão, cozinhar e separar o líquido, de maneira que são exigidas paciência e dedicação, pois, 15,0 kg do fruto resultam em apenas um litro de óleo que, por vezes, é comercializado na região e também em Fortaleza, capital do Ceará (MANTA, 2016).

### **4.3 Considerações sobre óleo fixo**

Os óleos fixos são misturas complexas, cujos principais componentes são os derivados de ácidos graxos, podendo ser obtidos de plantas ou de animais, onde apresentam a função principal de armazenamento de nutrientes, ou seja, energia. Quimicamente os óleos fixos são formados predominantemente por triacilgliceróis, que têm ácidos graxos diferentes ou idênticos, esterificados nas três posições hidroxila da molécula de glicerol, suas propriedades físico-químicas e organolépticas estão intimamente ligadas à sua composição química, principalmente aos tipos de ácidos graxos presentes (ROBBERS; SEPEEDIE; TYLER, 1997; RAMALHO; SUAREZ, 2012).

A utilização de óleos por humanos vem desde os primórdios da civilização, essas substâncias fazem parte dos primeiros insumos naturais que o homem usou para fins não alimentares, tanto na forma natural como a partir de modificações químicas. Da civilização egípcia até o século XIX, por exemplo, os óleos e gorduras eram uma das principais fontes de combustíveis líquidos para uso em sistemas de iluminação, como as lamparinas, ou de lubrificantes para engrenagens mecânicas, além da produção de sabões e tintas (RAMALHO; SUAREZ, 2012).

O desenvolvimento econômico e o crescimento populacional impulsionaram a demanda de óleos fazendo com que a produção mundial de óleos vegetais crescesse 19% nos três últimos anos. Segundo o departamento de agricultura dos Estados Unidos (USDA), a estimativa era de que a produção de óleos passaria de 150 mil toneladas em 2011 para 176.800 mil toneladas em 2014. Já no Brasil, segundo a ABIOVE (Associação Brasileira de Óleos Vegetais), a produção foi de 58 mil toneladas em 2013, sendo as regiões Sul e Centro Oeste as maiores responsáveis por esta produção, enquanto a região Norte representou a menor participação, apresentando, porém, ofertas de novos óleos impulsionada pela busca de novas características físicas e nutricionais, permitindo a diversificação de produtos para o mercado consumidor, cada vez mais exigente e interessado em um estilo de vida mais saudável e sustentável (FOOD INGREDIENTS BRZIL, 2014).

O processo de extração de óleos fixos se baseia fundamentalmente em duas técnicas: a extração por pressão, também chamada expressão, com utilização de prensas hidráulicas onde o óleo é removido parcialmente, e a extração por solventes orgânicos (esgotamento por solventes voláteis), cujo solvente mais comumente utilizado é o hexano, um destilado do petróleo (CRUZ, 2012; PINHEIRO, 2016).

A constituição química de compostos voláteis e /ou volatilizáveis que não sofrem decomposição química e podem estar presentes em um óleo vegetal, pode ser determinada através de diferentes técnicas cromatográficas como a cromatografia em camada delgada (CCD), a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), a eletroforese capilar (EC) e a cromatografia gasosa (CG) que, além de já possuir elevada sensibilidade e detectibilidade, pode ser acoplada a espectrometria de massas, possibilitando alto grau de identificação de substâncias em matrizes complexas (LIANG; XIE; CHAN, 2004; PENTEADO; MAGALHÃES; MASINI, 2008).

Nos últimos anos, a indústria petroquímica (biodiesel), a farmacêutica (bioquímica) e a de alimentos tem se destacado nos estudos qualitativos e quantitativos de ácidos graxos e seus ésteres (VISENTAINER, 2012), utilizando amplamente a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas com detector por ionização de chama (CG-FID). Esta técnica envolve a passagem da amostra por uma chama de hidrogênio/ar para que as moléculas orgânicas sejam oxidadas produzindo partículas eletricamente carregadas (íons, elétrons) que, quando recolhidos por um eletrodo localizado acima da chama, produzem um sinal elétrico cuja corrente é mensurada com um picoamperímetro (SKOOG; CROUCH; PASQUINI., 2009).

Estudos demonstrando os efeitos dos ácidos graxos na resposta imune foram realizados a partir da década de 70, comprovando que tais metabólitos interferem em diversas etapas do processo inflamatório como contração vascular, quimiotaxia, adesão, diapedese, ativação e morte celular, sendo a maioria, via derivados do ácido araquidônico como prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos e lipoxinas (HATANAKA; CURI, 2007).

Atualmente, os óleos fixos vegetais representam um dos principais produtos extraídos de plantas, sendo que aproximadamente 2/3 são usados em produtos alimentícios, fazendo assim parte integrante da dieta humana. São ainda bastante utilizados como produto farmacêutico e cosmético já que os ácidos graxos saturados e insaturados naturalmente presentes em sua composição, apresentam ponto de fusão inferior a 25°C, conferindo-lhes, portanto, propriedades emolientes importantes no desenvolvimento de formulações dermatológicas (FOOD INGREDIENTS BRAZIL, 2014; PEREIRA; MIGUEL; MIGUEL, 2005).

A importância dos lipídios na nutrição e desenvolvimento humano é reconhecida há muitas décadas. Os ácidos graxos são constituintes estruturais das membranas celulares, cumprem funções energéticas e de reservas metabólicas, além de formarem hormônios e sais biliares (VALENZUELA; NIETO, 2003).

O ser humano é capaz de sintetizar alguns ácidos graxos saturados e insaturados, porém essa capacidade é limitada quando se trata de ácidos graxos essenciais, sem os quais nosso organismo não funciona adequadamente.

Os ácidos graxos saturados são divididos entre os de cadeia média, com 8 a 12 carbonos compondo a cadeia, e os de cadeia longa apresentando mais de 14 carbonos em sua cadeia. Os de cadeia média, após a absorção intestinal são transferidos para a corrente sanguínea, não sendo responsáveis pelo aumento do colesterol sérico, enquanto os de cadeia longa, como o mirístico (14:0), encontrado no leite e seus derivados; palmítico (16:0), cujas principais fontes são a gordura animal e o óleo de palma, sendo o mais abundante na alimentação humana e o esteárico (18:0), presente na gordura do cacau, são esterificados nos enterócitos, formando os triglicérides, forma de armazenamento de gordura no organismo. Os ácidos graxos insaturados por sua vez são classificados em razão do número de dupla ligações, podendo ser mono ou poli-insaturados. Eles são encontrados especialmente na configuração *cis* da dupla ligação. A localização da primeira dupla ligação da cadeia carbônica a partir do grupo metila identifica a série do ácido graxo, por meio da letra  $\omega$ , sendo os principais,  $\omega$ -3,  $\omega$ -6 e  $\omega$ -9, destes, o único que pode ser sintetizado pelo organismo é o ômega 9, mas para isso a presença prévia dos outros no organismo é condição obrigatória (SANTOS *et al.*, 2013).

Os óleos fixos de origem vegetal são ricos em ácidos graxos, sua composição pode variar de espécie para espécie sendo alguns, bastante frequentes como: ácido caprílico (8:0), ácido cáprico (10:0), láurico (12:0), mirístico (14:0), ácido palmítico (16:0), palmitoleico (16:1), ácido esteárico (18:0), ácido oleico (18:1), ácido vacênico (18:1 *cis* 11), ácido linoleico (18:2), ácido linolênico (18:3) e ácido araquídico (20:0) (MEYER, 2013; NICKAVA *et al.*, 2003; MATOS, 1992).

Pesquisas científicas têm apontado que utilização destes “ômega” em quantidades suficientes na alimentação, traz benefícios para a saúde humana, prevenindo enfermidades cardiovasculares, câncer de cólon, doenças imunológicas e favorecendo o desenvolvimento cerebral e da retina (VALENZUELA, 2003; 2001).

Segundo Padilha e Pinheiro (2004) os ácidos graxos poli-insaturados, como o ômega 3 (ácido linolênico) são um dos principais alimentos funcionais, sendo considerados, benéficos à saúde. São encontrados abundantemente em certas plantas e em óleo de peixe,

apresentam dois derivados muito importantes, o EPA – ácido eicosapentaenoico, importante na prevenção de doenças cardiovasculares e hipertensão e o DHA - ácido docosahexaenóico que, além de prevenir doenças cardíacas, reduz a taxa de triglicerídeos e é importante no desenvolvimento da função visual e cerebral.

Os ácidos graxos ômega 6, por sua vez, são precursores das prostaglandinas e leucotrienos, muito importantes na regulação do metabolismo hormonal que inclui a síntese do colesterol podendo, porém, o seu excesso, na forma de ácido linolênico, ser prejudicial à saúde. Uma vez que a concentração de  $\omega$ -3 influencia a de  $\omega$ -6, o equilíbrio destes na dieta se faz necessário (ANJO, 2004; VAINIO; MUTANEM, 2000; THURNHAM, 1999; CONNOR, 1997; GIBSON; MAKRIDES, 2000; POLLONIO, 2000).

Para serem considerados funcionais, os alimentos devem apresentar propriedades benéficas, além das nutricionais básicas. Eles fazem parte de uma nova concepção de alimento lançada pelo Japão na década de 80 com objetivo de desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida (COLLI, 1998).

Para legislação brasileira, alimentos funcionais são “todo alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, produz efeitos metabólicos, fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica (BRASIL, 1999). Seu registro como alimento funcional, só pode ser realizado após comprovação científica de propriedades funcionais ou de saúde com base no consumo previsto ou recomendado pelo fabricante quanto a finalidade, condições de uso e valor nutricional, quando for o caso, com base em evidências científicas, tais como: composição química, caracterização molecular e ou formulação do produto; ensaios bioquímicos; ensaios nutricionais, fisiológicos e ou toxicológicos em animais de experimentação; estudos epidemiológicos; ensaios clínicos; evidências abrangentes da literatura científica, organismos internacionais de saúde e legislação internacionalmente reconhecidas sob propriedades e características do produto e comprovação de uso tradicional, observado na população, sem associação de danos à saúde (MORAES; COLLA, 2006).

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

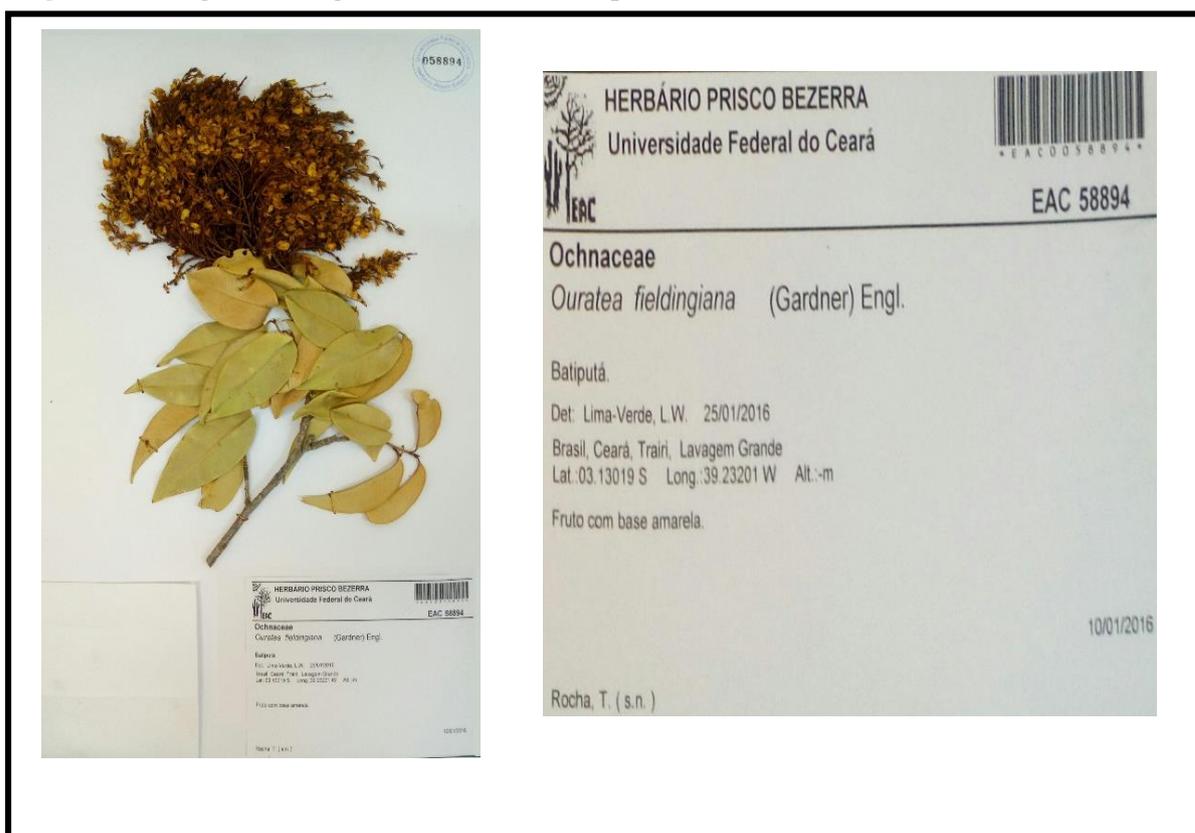
### 5.1 Material

#### 5.1.1 Material Botânico

O material botânico, frutos maduros de *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. (Batiputá) foi coletado no município de Trairi, distrito de Canaã, Estado do Ceará, sob a localização geográfica latitude 3°13'01.9" S, longitude 39°23'20.1" W.

Na mesma ocasião, foram amostrados ramos da mesma árvore para o processo de identificação botânica, cuja exsicata está depositada sob o número 58894, no Herbário Prisco Bezerra EAC-UFC, Centro de Ciências – Departamento de Biologia, BL 906, Campus do Pici-Universidade Federal do Ceará (UFC) (Figura 4).

**Figura 4** – Registro fotográfico da exsicata depositado no Herbário Prisco Bezerra – UFC



**Fonte:** Autoria própria.

### 5.1.2 Reagentes, solventes, meios de cultura e diluentes

Acetato de etila; ácido acético glacial; ácido clorídrico; ácido sulfúrico; diclorometano; hexano; hidróxido de potássio e metanol foram adquiridos da VETEC (Brasil); álcool, éter etílico, clorofórmio e sulfato de sódio anidro, da Dinâmica (Brasil); e ágar Müller-Hinton, da Himedia (Índia) e Tween 80 (Diluyente Tensoativo) da Sigma-Aldrich (EUA).

### 5.1.3 Composição das soluções

- **Solução esterificante:**  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (10 g) em metanol (300 mL) seguido de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (15 mL).
- **Solução de amido:** solução de amido solúvel a 2% (p/v) em água quente.
- **Solução de Krebs-Henseleit (mmol/L):**  $\text{NaCl}$  (118,0),  $\text{KCl}$  (4,7),  $\text{CaCl}_2$  (2,5),  $\text{MgSO}_4$  (1,2),  $\text{NaHCO}_3$  (25,0),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1,2), glicose (10,0).
- **Solução nutritora de Tyrode normal modificada:**  $\text{NaCl}$  (136 mM),  $\text{KCl}$  (5 mM),  $\text{MgCl}_2$  (0,98 mM),  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0,36 mM),  $\text{NaHCO}_3$  (11,9 mM),  $\text{CaCl}_2$  (2 mM) e glicose (5,5 mM)

### 5.1.4 Equipamentos

Balança analítica (Shimadzu, modelo AUY 220); centrífuga de refrigeração (Hettich, modelo universal 320 R); chapa aquecedora retangular (Uimis, modelo Q313.22); manta aquecedora de fundo redondo; medidor de umidade por infravermelho modelo IV2500 (GEHAKA); liofilizador de bancada Labconco Freezone, com capacidade para 4,5 L, refrigeração 1/3 hp, temperatura  $-50^\circ\text{C}$  e acoplado à bomba de vácuo da marca Labconco® com potência de 86 L/min; rota evaporador (Fisatom, modelo 804) e bomba a vácuo (Primatec, modelo 131); estufa com circulação de ar (Ethik, modelo 400 6ND,  $300^\circ\text{C}$ , potência 3000W); banho maria (Fisatom, modelo 558); espectrofotômetro de plasma induzido- ICP (THERMO SCIENTIFIC, modelo iCAP 6000 series); cromatógrafo a gás (THERMO, modelo trace GC ultra) e cromatógrafo a gás (THERMO, modelo focus GC com detector FID); espectrômetro Bruker, modelo DRX-500; fotômetro de Chama (DIGIMED, modelo DM-61); sistema digestor micro-ondas (Milestone, Start D);

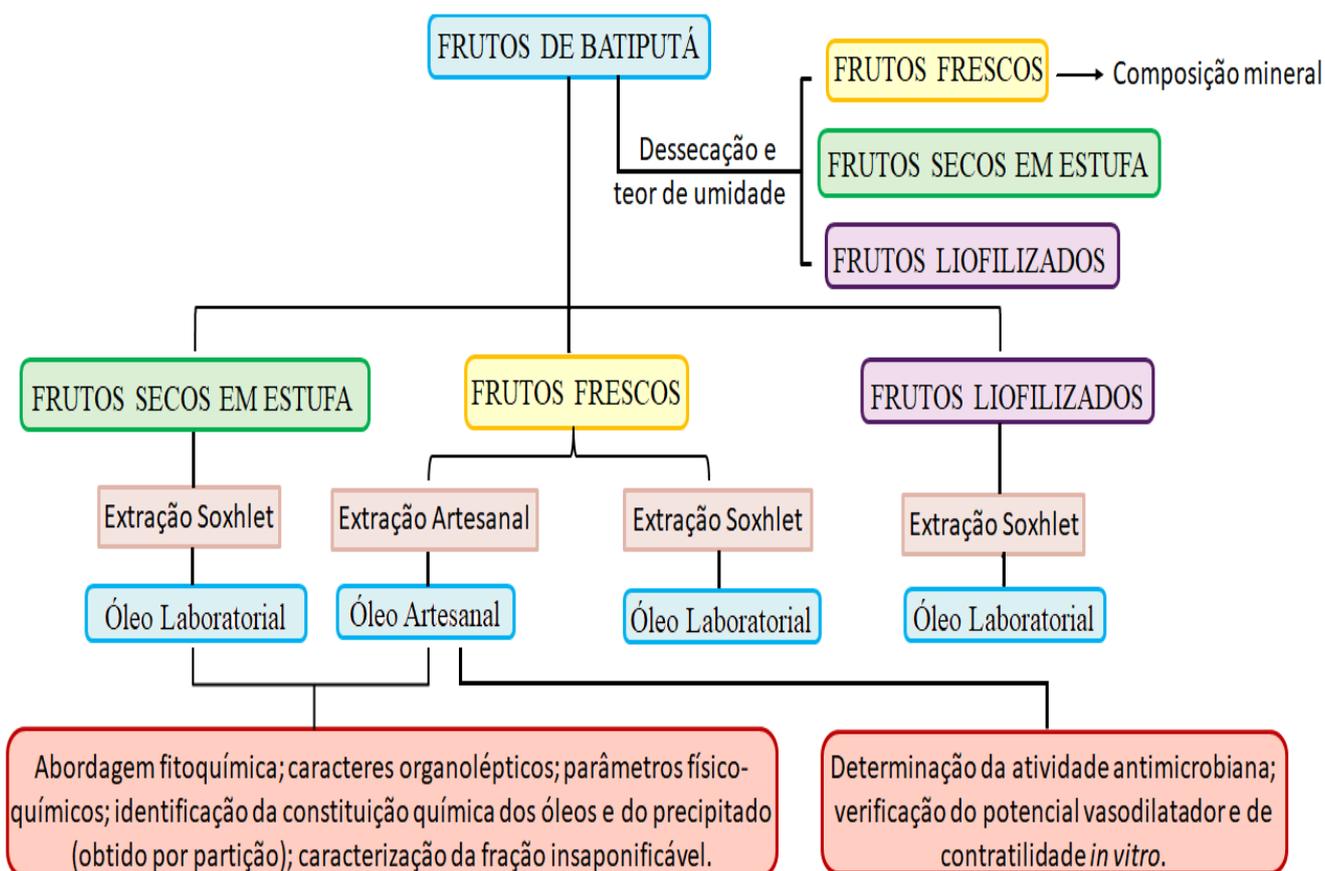
### 5.1.5 Outros Materiais

Sílica Gel 60 0,063 - 0,200mm (Vetec, Brasil), placas de sílica em suporte de alumínio (Merck, Alemanha), coluna cromatográfica de vidro, pulverizador com junta esmerilhada, vidrarias volumétricas comuns de laboratório e placas de Petri.

### 5.2 Métodos

O presente ensaio foi conduzido conforme o fluxograma abaixo (Figura 5)

**Figura 5** – Fluxograma de metodologias aplicadas no ensaio



**Fonte:** autoria própria.

## **5.2.1 Ensaio preliminares para obtenção da droga vegetal**

### **5.2.1.1 Dessecação e Determinação do Teor de Umidade dos frutos**

Os frutos de *O. fieldingiana*, recém coletados foram submetidos a duas diferentes técnicas de dessecação, a secagem por estufa com circulação de ar a 60°C durante três dias e a Liofilização a -53°C e 0,045 mBar, também por três dias consecutivos, para escolha da melhor técnica de conservação dos frutos (BRASIL, 2010). O material, pós secagem, foi acondicionado em frascos de vidro âmbar hermeticamente fechados.

O teor de umidade do fruto foi verificado em determinador de umidade por infravermelho, onde foram pesadas três porções do fruto fresco e previamente secas em estufa de circulação de ar e liofilizador, aproximadamente 0,5 g cada, a qual foi distribuída uniformemente no coletor de alumínio e a leitura realizada à 105°C por 1 hora. Os resultados foram expressos em perda de massa percentual, através da média das três determinações (BRASIL, 2010).

## **5.2.2 Caracterização dos parâmetros de qualidade dos frutos de batiputá**

### **5.2.2.1 Abordagem Fitoquímica: Prospecção Preliminar dos Constituintes Químicos**

A prospecção química preliminar foi realizada nas amostras constituídas por óleo (artesanal e laboratorial), extrato acetato de etila e extrato metanólico dos frutos de acordo com as técnicas descritas por Matos (2008). Foram pesquisados os seguintes constituintes químicos: alcaloides, antraquinonas, açúcares redutores, catequinas, cianogenéticos, cumarinas, esteroides, fenóis livres, flavonoides, saponinas, taninos e triterpenoides.

### **5.2.2.2 Composição mineral dos frutos frescos de batiputá**

A análise da composição mineral foi realizada a partir de amostras dos frutos frescos, por digestão peróxido- nítrica em digestor de micro-ondas a 200°C, onde quantificou-se os componentes Na, Li, K, Ca, empregando-se a técnica de espectroscopia de emissão por chama, através do fotômetro de chama e os componentes As, B, Ba, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Sb, Se, Sr, V e Zn, os quais foram quantificados através da técnica

multielementar de espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES). Os resultados foram expressos em mg/100g de fruto (NOVAES *et al.*, 2015).

### 5.2.3 Extração do Óleo de Batiputá

#### 5.2.3.1 Extração Artesanal

A extração artesanal do óleo foi realizada no município de Trairi, por uma moradora da região, acompanhada pela pesquisadora. Os frutos maduros e frescos (15 kg) foram submetidos à fervura em água. Posteriormente obteve-se uma massa gordurosa, pela passagem dos frutos fervidos em peneira fina, da qual obteve-se o óleo por retirada do sobrenadante em água fria. O cálculo do rendimento foi obtido pela relação entre a quantidade, em grama, de frutos que foram triturados manualmente em pilão e a quantidade de óleo obtido (% p/p) (Figura 6).

**Figura 6** – Extração artesanal do óleo de batiputá.

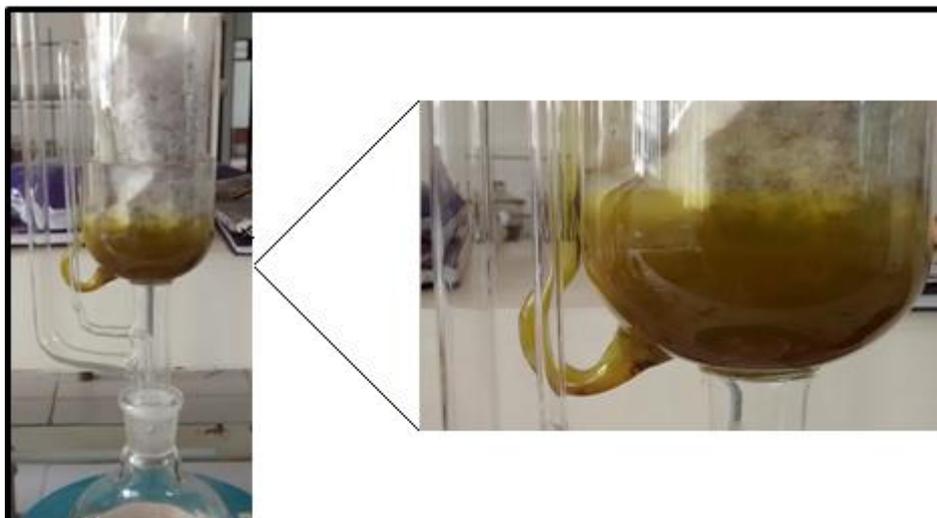


**Fonte:** Autoria própria. A: cacho de frutos imaturos; B: frutos maduros; C: cozimento dos frutos.

#### 5.2.3.2 Extração Laboratorial

Aproximadamente 200 g de frutos secos em estufa foram triturados e submetidos a extração com hexano, por cinco horas, em aparelho extrator de Soxhlet. O cálculo do rendimento foi obtido empregando-se a relação entre a quantidade, em grama, de frutos que foram triturados e a quantidade de óleo obtido (% p/p) (Figura 7) (BRASIL, 2010).

**Figura 7** – Extração laboratorial em aparelho Soxhlet do óleo de batiputá.



Fonte: Autoria própria.

#### **5.2.4 Determinação de Caracteres Organolépticos**

Os óleos obtidos através das duas metodologias de extração, artesanal e laboratorial, foram quanto ao aspecto, cor, odor, sabor e tato (BRASIL, 2008).

#### **5.2.5 Determinação de parâmetros Físicos e Físico-Químicos**

Os parâmetros físicos e físico-químicos dos óleos obtidos pelos processos de extração artesanal (óleo artesanal) e laboratorial em aparelho extrator de Soxhlet (óleo laboratorial), com frutos dessecados em estufa, foram avaliados em triplicata.

##### **5.2.5.1 Determinação do Índice de Refração**

A medição do índice de refração dos óleos de batiputá foi realizada em refratômetro de Abbé equipado com escala-padrão e ajustado com água destilada a  $20^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  (BRASIL, 2010).

##### **5.2.5.2 Determinação do Índice de Acidez**

O índice de acidez,  $I_A$ , expressa, em miligramas, a quantidade necessária de hidróxido de potássio para a neutralização dos ácidos graxos livres em 1 g de amostra. No óleo

de batiputá foi determinado pelo método titulométrico, cuja solução titulante utilizada foi hidróxido de potássio 0,1 M e o indicador fenolftaleína (BRASIL, 2010).

#### *5.2.5.3 Determinação do Índice de Saponificação*

O índice de saponificação,  $I_s$ , exprime, em miligramas, a quantidade de hidróxido de potássio necessária para neutralizar os ácidos livres e saponificar os ésteres existentes em 1 g de substância. No óleo de batiputá foi determinado pelo método titulométrico, cuja solução titulante foi o ácido clorídrico 0,5 M e o indicador fenolftaleína (BRASIL, 2010).

#### *5.2.5.4 Determinação do Índice de Ésteres*

O índice de ésteres,  $I_E$ , expressa a quantidade de hidróxido de potássio, em miligramas, necessária para a saponificação dos ésteres presentes em 1 g de amostra. O  $I_E$  foi calculado a partir do índice de saponificação  $I_S$  e do índice de acidez  $I_A$  conforme a equação:  $I_E = I_S - I_A$  (BRASIL, 2010).

#### *5.2.5.5 Determinação do Índice de Iodo*

O índice de iodo,  $I_i$ , expressa, em gramas, a quantidade de iodo suscetível a complexação em 100 g de substância. No óleo de batiputá foi determinado pelo método titulométrico, cuja solução titulante foi o tiosulfato de sódio 0,1 M e o indicador solução de amido, segundo metodologia farmacopeica (BRASIL, 2010).

#### *5.2.5.6 Determinação da Densidade do Óleo*

Para determinação da densidade, utilizou-se picnômetro limpo e seco, previamente calibrado. O picnômetro vazio foi pesado em balança analítica e o seu peso ( $M_0$ ) anotado. A seguir, completou-se o volume com água recentemente destilada e fervida, a 20°C, evitando-se a introdução de bolhas. Após secá-lo cuidadosamente, fez-se nova medida do peso ( $M_1$ ). O mesmo procedimento foi adotado para o óleo de batiputá e o peso anotado ( $M_2$ ) (BRASIL, 2010).

Cálculo:

$$d = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

Onde: d = densidade

M<sub>0</sub> = massa do picnômetro vazio, em gramas

M<sub>1</sub> = massa do picnômetro com água purificada, em gramas

M<sub>2</sub> = massa do picnômetro com a amostra, em gramas

### **5.2.6 Análise dos óleos fixos obtidos: artesanal e laboratorial**

#### *5.2.6.1 Determinação dos teores de saponificáveis e insaponificáveis (Reação de saponificação)*

Uma alíquota de cada óleo (artesanal e laboratorial) foi saponificada sob refluxo com solução de KOH em metanol conforme descrito por MATOS (2008) para o cálculo da proporção de saponificáveis e insaponificáveis.

#### *5.2.6.2 Partição do Óleo com Álcool Etílico*

Realizou-se a partição direta óleo : álcool etílico P.A. (1:1) com óleo artesanal e, óleo laboratorial, separadamente, com auxílio de funil de separação, por meio do qual, obteve-se um precipitado branco que foi reunido com auxílio de uma centrífuga de refrigeração.

Comparou-se os precipitados obtidos de cada óleo, artesanal (P.A) e laboratorial (P.L) por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando-se como eluente diclorometano: acetato de etila (9:1) e revelação com vanilina sulfúrica. Por apresentarem o mesmo perfil cromatográfico e rendimentos aproximados, reuniu-se P.A e P.L (P.A.P.L) para as análises posteriores.

#### *5.2.6.2.1 Identificação da Constituição Química do P.A.P.L*

Realizou-se a esterificação de P.A.P.L por meio de reação com solução de hidróxido de sódio 0,5M em metanol e uma solução esterificante composta por cloreto de amônio em ácido sulfúrico. Os ésteres metílicos de ácidos graxos obtidos foram analisados e

identificados por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (CG-EM) com um detector de massas Shimadzu, modelo GC/MS-QP 5050, gerenciado pelo software NIST08. Coluna capilar DB-1 (dimetil-polisiloxano) com 30 m de comprimento, com 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura do filme. As condições de análise programadas foram: temperatura inicial do injetor 25°C, da interface 230°C e do forno 50°C; o gás de arraste foi o Hélio, com pressão de entrada da coluna 100 kPa, fluxo 1,7mL/minuto e velocidade linear 47,4cm/seg. O modo de injeção foi o Split 27. Os espectros de massa obtidos foram comparados com padrões de espectros da biblioteca Wiley (LUTZ, 2008).

#### *5.2.6.3 Identificação da Constituição Química dos óleos artesanal e laboratorial*

O procedimento de identificação da constituição química foi igualmente realizado em alíquotas do óleo obtido pelo método artesanal e laboratorial esterificado para determinação da composição de ácidos graxos saturados e insaturados por Cromatografia Gasosa com detector por ionização de chama (CG-FID) Thermo, modelo Focus GC, gerenciado pelo software Xcalibur, coluna Carbowax com 30 m de comprimento, com 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura do filme. As condições de análise programadas foram: temperatura inicial do injetor 70°C, aumentando para 240°C, permanecendo por 10 min, taxa de aquecimento 5°C/min. Temperatura do injetor 250°C e temperatura do detector 280°C. O gás de arraste foi o Nitrogênio, fluxo 1,0mL/minuto e volume de injeção 1  $\mu\text{L}$ . O modo de injeção foi o Split 1:10. Os espectros de massas obtidos foram comparados com padrões de espectros da NIST (LUTZ, 2008).

#### *5.2.6.4 Caracterização da Constituição Químicas da Fração Insaponificável do óleo artesanal e laboratorial*

A fração constituída de insaponificáveis, obtida após a reação de saponificação de cada óleo, foi analisada por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $\text{H}^1$ ) para caracterização da sua constituição química.

### 5.2.7 Determinação da Atividade Antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*

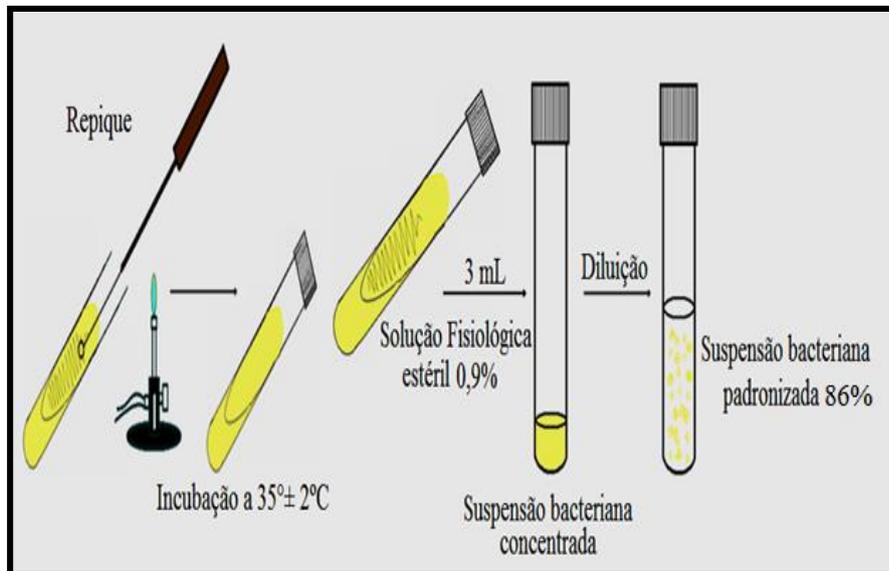
A determinação da atividade antimicrobiana foi realizada nos óleos artesanal e laboratorial pela adaptação da técnica preconizada pela Farmacopeia Brasileira (2010), utilizando-se o teste de difusão em ágar, também denominado de difusão em placas.

#### 5.2.7.1 Preparação e Padronização do micro-organismo Teste

Para a preparação da suspensão inóculo utilizou-se o microrganismo-teste *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) da coleção estoque, ativada em meio de cultura ágar Müller Hinton inclinado e incubada por 24 horas, a  $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Após o período de incubação, o crescimento foi lavado com auxílio de 3,0 mL de solução fisiológica estéril 0,9%, obtendo-se uma suspensão bacteriana concentrada.

Para a padronização da suspensão realizou-se uma série de diluições com solução fisiológica estéril 0,9% até a obtenção de 86% de transmitância em espectrofotômetro a 582 nm de comprimento de onda (Figura 8).

**Figura 8** - Preparação e padronização do microrganismo teste.



Fonte: Autoria própria

As placas receberam, inicialmente, uma camada base de ágar Müller-Hinton (nutre cepas de bactérias) e uma camada semeada com o microrganismo. Posteriormente, foram confeccionados os poços, de 5mm de diâmetro interno, utilizando-se perfurador estéril, onde

foram aplicados volumes de 50 µL do óleo em questão. Como controle positivo foi utilizado o antimicrobiano comercial, cefalexina, e como controle negativo, o diluente tensoativo (Tween 80) do óleo. Após incubação a 35°C por 18-24 horas (*Staphylococcus aureus*) foram lidas as placas para medição dos possíveis halos de inibição com auxílio de paquímetro.

A cepa microbiana utilizada nesse ensaio (*Staphylococcus aureus*) é proveniente da ATCC (*American Type Culture Collection*) e foi doada pelo Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico de Medicamentos e Cosméticos-UFC.

#### ***5.2.8 Ensaio piloto para verificação de potencial vasodilatador e da contratilidade in vitro do óleo artesanal de batiputá***

Realizou-se um ensaio piloto para verificar uma possível atividade vasodilatadora do óleo obtido artesanalmente em segmentos de aorta e verificar a contratilidade *in vitro* de tecidos do trato gastrointestinal expostos ao óleo. Para os ensaios biológicos, utilizou-se segmentos de aorta e fragmentos do fundo de estômago, duodeno e íleo de ratos da raça Wistar, provenientes do biotério central da Universidade Federal do Ceará (UFC) e mantidos no biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC, sendo o experimento realizado no Laboratório de Farmacologia do Músculo Liso (LAFARMULI).

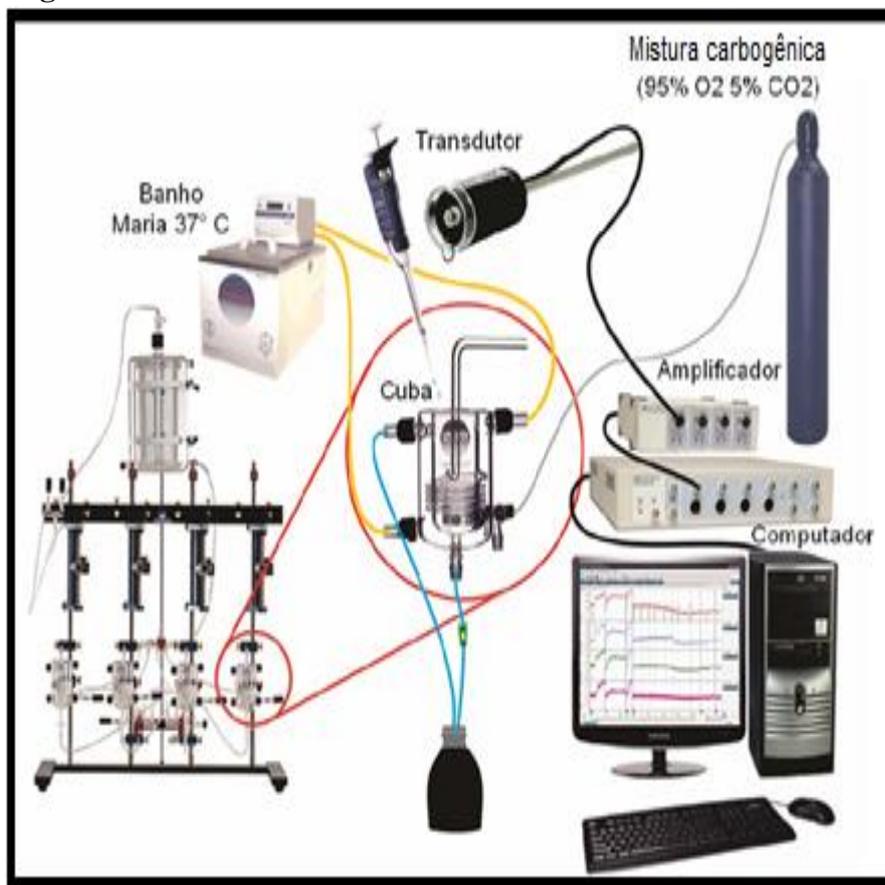
Os animais que foram utilizados no ensaio piloto receberam água e ração *ad libitum* e foram mantidos em condição controlada de temperatura (22±2°C) com ciclo 12 h claro/12 h escuro. Imediatamente antes da realização do ensaio, foram sacrificados por deslocamento cervical para obtenção dos tecidos que foram imersos no meio de perfusão a temperatura ambiente.

##### ***5.2.8.1 Experimentos com anéis de aorta de rato***

No experimento com anéis de aorta, realizado conforme Brito (2012), a aorta foi cortada transversalmente em segmentos cilíndricos em forma de anel e ligados a peças triangulares de fio de aço que foram então suspensas em cuba para órgão isolado de 5 mL contendo solução de Krebs a 37°C, continuamente aerada com mistura carbogênica (95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>). Os anéis de aorta foram então submetidos a uma tensão basal de 1 g, sendo a tensão gravada por um transdutor de força isométrico (ML870B60/C-V, AD Instruments, Austrália) conectado a um sistema de aquisição de dados (PowerLab™ 8/30, AD Instruments,

Austrália), conforme Figura 9. O endotélio foi retirado pela raspagem da luz vascular e então, preparações com endotélio intacto ou sem endotélio, foram pré-contraídas com fenilefedrina ( $1 \mu\text{M}$ ), e após o estabelecimento de um platô de concentração foram desafiadas com  $10 \mu\text{M}$  de acetilcolina. Foram considerados anéis sem endotélio os que não apresentaram efeito vaso relaxante promovido pela acetilcolina. Após um período de estabilização, 60 min, contrações controles foram induzidas pelo aumento hipertônico da concentração de  $\text{K}^+$  para 60 mM na solução extracelular no banho. O equilíbrio das preparações foi considerado quando duas contrações sucessivas apresentaram amplitudes semelhantes e assim a amostra pudesse ser introduzida ao sistema.

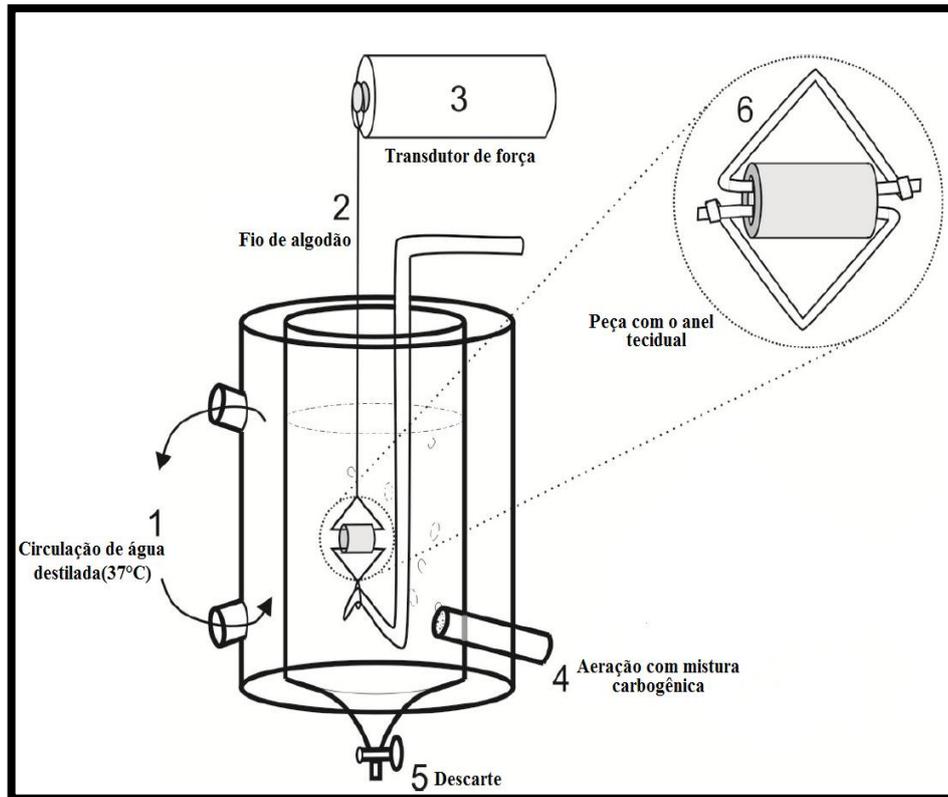
**Figura 9** – Sistema utilizado no ensaio de contratilidade *in vitro*.



**Fonte:** Laboratório de Farmacologia e Fisiologia do Músculo Liso (LAFARMULI).

Na Figura 10 pode-se observar o esquema de montagem dos anéis de aorta no sistema de contratilidade *in vitro*. Alterações no diâmetro da luz vascular promoviam contração, ou seja, estreitamento da luz vascular, ou relaxamento, aumento da luz vascular.

**Figura 10** – Detalhe da montagem dos anéis de aorta de rato no sistema de contratilidade *in vitro*.



**Fonte:** Laboratório de Farmacologia e Fisiologia do Músculo Liso (LAFARMULI). 1. Circulação de água destilada (37°C); 2. Fio de algodão; 3. Transdutor de força; 4. Aeração com mistura carbogênica; 5. Descarte; 6. Anéis de aorta presos em peças triangulares de aço.

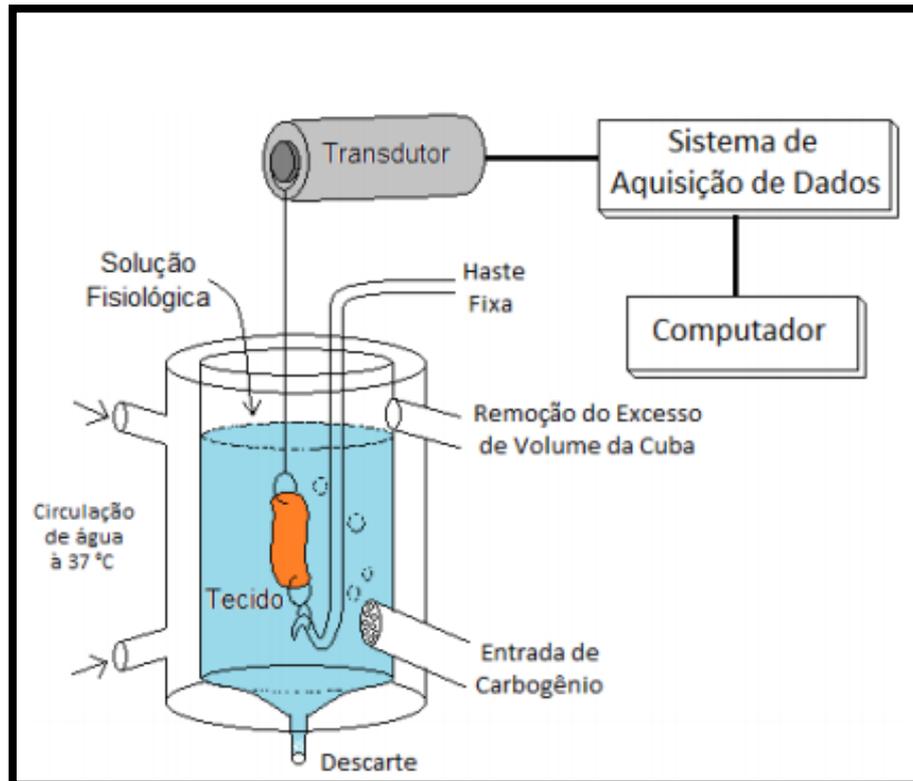
#### 5.2.8.2 Experimentos com segmentos de fundo de estômago, duodeno e íleo de rato

Neste experimento testou-se o óleo de batiputá nos seguintes protocolos: avaliação do bloqueio da resposta contrátil, causada por KCl (60mM) em fundo de estômago e avaliação dos tônus basais do duodeno e íleo, reduzido ou aumentado, em relação a uma resposta controle de KCl (60mM).

O experimento com segmentos de tecidos do trato gastrointestinal (TGI) foi realizado conforme Lima Júnior (2013). Os tecidos foram removidos por laparotomia e transferidos para uma placa de Petri contendo solução nutritora de Tyrode normal modificada. Os segmentos do estômago foram obtidos do fundo e cortados linearmente em tamanho aproximado de 1cm de comprimento, enquanto o duodeno e o íleo foram cortados transversalmente em tamanho aproximado de 0,5cm. Os tecidos foram então ligados a fios

inextensíveis de algodão, um lado foi preso a um ponto fixo da câmara e o outro a uma unidade transdutora de força apropriada para registro isométrico de contrações, e suspensos em solução fisiológica de Tyrode (5 mL/pH 7,4) mantida aquecida a 37°C e constantemente aerada conforme figura 11.

**Figura 11** – Detalhe da montagem dos tecidos gastrointestinais de rato no sistema de contratilidade *in vitro*.



**Fonte:** Laboratório de Farmacologia e Fisiologia do Músculo Liso

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Ensaio preliminares para obtenção da droga vegetal

#### 6.1.1 Dessecação e Determinação do Teor de Umidade dos frutos

As operações de dessecação realizadas com os frutos de *O. fieldingiana* foram realizadas em triplicata e os valores médios foram expressos em porcentagem, como mostra a Tabela 1.

**Tabela 1** – Valores médios de umidade dos frutos frescos e dessecados e respectivos desvios-padrão.

Amostras Frutos	Medidas (%)			Umidade Média (%)
	1ª medida	2ª medida	3ª medida	
Frescos	24,5	20,8	21,4	22,2333 ± 1,98
Secos em Estufa	0,5	1,2	1,4	1,0333 ± 0,47
Liofilizados	6,4	7,3	10,4	8,0333 ± 2,01

Fonte: autoria própria

A técnica de secagem em estufa com circulação de ar destacou-se como a melhor técnica para conservação dos frutos de batiputá uma vez que os frutos secos por esta técnica apresentaram o menor teor de umidade quando comparados à técnica de liofilização.

### 6.2 Caracterização dos parâmetros de qualidade dos frutos de batiputá

#### 6.2.1 Abordagem Fitoquímica: Prospecção Preliminar dos Constituintes Químicos

A reação de caracterização realizada diretamente nos óleos, artesanal e laboratorial, demonstrou somente a presença de esteroides. Nos extratos acetato de etila e metanólico dos frutos de batiputá, foi demonstrada a presença de alcaloides, catequinas, cumarinas, esteroides, fenóis livres, flavonoides saponinas e traços antraquinônicos (Tabela 2).

**Tabela 2** - Triagem Fitoquímica do óleo e extratos dos frutos da espécie *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.

Classe de Compostos	Amostras			
	Óleo Artesanal	Óleo Laboratorial	Extrato Acetato de Etila	Extrato Metanólico
Alcaloides	-	-	+	+
Antraquinonas	-	-	traços	traços
Açúcares redutores	-	-	-	-
Catequinas	-	-	+	+
Cianogenéticos	-	-	-	-
Cumarinas	-	-	+	+
Esteroides	+	+	+	+
Fenóis livres	-	-	+	+
Flavonoides	-	-	+	+
Saponinas	-	-	+	+
Taninos	-	-	-	-
Triterpenóides	-	-	-	-

**Fonte:** autoria própria. (+) Resultado Positivo; (-) Resultado Negativo. Traços (resultado fracamente positivo).

### 6.2.2 Composição mineral dos frutos frescos de batiputá

Os resultados da composição mineral dos frutos frescos, encontram-se sumarizados na Tabela 3.

**Tabela 3** – Composição mineral dos frutos da espécie *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.

<b>Elementos</b>	<b>Frutos Frescos</b>
As	Zero
B	13,8404
Ba	0,1917
Bi	Zero
Ca	36,7779
Cd	0,0022
Co	Zero
Cr	0,2599
Cu	0,5193
Fe	4,5736
K	259,4886
Li	1,8860
Mg	53,8275
Mn	3,4066
Mo	0,0091
Na	28,7622
Ni	0,1070
P	61,2337
Sb	0,0485
Se	0,0133
Sr	0,5200
V	Zero
Zn	0,8770

**Fonte:** Aatoria própria.

Os frutos frescos de batiputá demonstraram, como componentes majoritários (mg/100g) em ordem decrescente: K- potássio (259,4886), P- fósforo (61,2337), Mg- magnésio (53,8275), Ca- cálcio (36,7779), Na- sódio (28,7622) e B- boro (13,8404).

### 6.3 Extração do Óleo de Batiputá (*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.)

#### 6.3.1 Extração Artesanal

A partir da extração de 15000 g de frutos frescos, obteve-se 915,4 g (6,1% p/p) de óleo.

#### 6.3.2 Extração laboratorial

A partir da extração de 200 g de frutos frescos, obteve-se 11,6133 g (5,8% p/p) de óleo. De 93,4890 g de frutos secos em estufa, obteve-se 19,3043 g (20,6487% p/p) de óleo e de 87,5188 g de frutos liofilizados, obteve-se 19,6130 g (22,4100% p/p) (Tabela 4).

**Tabela 4** – Rendimento do óleo obtido a partir dos frutos em diferentes condições.

Amostras	Peso (g)	Peso (g)	Rendimento (%)
	Frutos utilizados	Óleo obtido	
Óleo artesanal (Frutos Frescos)	15000	915,4	6,1026
Óleo laboratorial (Frutos Frescos)	200	11,6133	5,8066
Óleo laboratorial (Frutos secos em estufa)	93,4890	19,3043	20,6487
Óleo laboratorial (Frutos liofilizados)	87,5188	19,6130	22,4100

Fonte: Autoria própria.

Observou-se uma pequena diferença entre os rendimentos do óleo artesanal (6,1%) e laboratorial (5,8%), obtidos a partir dos frutos frescos, e dos rendimentos dos óleos laboratoriais obtidos a partir de frutos secos em estufa (20,6%) e por liofilização (22,4%) e que os rendimentos dos óleos obtidos após processo de secagem dos frutos em estufa e por liofilização, foram muito próximos.

### 6.4 Determinação de Caracteres Organolépticos

Os óleos obtidos dos frutos de batiputá apresentaram sabor ligeiramente adocicado e aroma particular que lembra terebentina. Untuoso ao toque e, quando em contato com papel

de filtro, formaram uma nódoa persistente. À temperatura ambiente apresentaram leve formação de precipitado com aparência gordurosa. A baixas temperaturas tornaram-se sólido com consistência de manteiga, sendo mais espessa nos óleos obtidos a partir dos frutos secos em estufa e liofilizados.

A coloração do óleo variou de acordo com a técnica de extração utilizada. O óleo artesanal, cuja extração foi realizada pela fervura em água, apresentou-se castanho claro. O óleo laboratorial obtido por extração hexânica em aparelho de Soxhlet a partir dos frutos frescos apresentou-se com coloração amarela, enquanto os obtidos a partir de frutos dessecados por estufa e aparelho liofilizador apresentaram-se castanhos claros, mais espessos e com odor mais forte que os demais.

## 6.5 Parâmetros Físico-Químicos

Na Tabela 5 encontram-se os valores médios observados em cada parâmetro avaliado no óleo artesanal e no óleo laboratorial a partir de frutos dessecados de batiputá.

**Tabela 5** – Parâmetros físico-químicos dos óleos de batiputá.

Tipos de óleos	Parâmetros Físico-Químicos					
	D.R	I.R	I.A	I.S	I.E	I.I
Óleo Artesanal	0,9154	1,4680	5,1849	205,2275	200,0426	52,1460
Óleo Laboratorial	0,9155	1,4706	13,2870	210,1729	196,8859	43,5147

**Fonte:** autoria própria. D.R: densidade relativa (g/mL); I.R: índice de refração; IA: índice de acidez (mg KOH/g); I.S: índice de saponificação (mg KOH/g); I.E: índice de ésteres (mg KOH/g); I.I: índice de iodo (g I<sub>2</sub>/100g amostra).

A densidade de óleos vegetais pode estar diretamente relacionada com a estrutura molecular de seus componentes, quanto maior o comprimento da cadeia carbônica, maior será a densidade, no entanto, quanto maior for o número de insaturações presentes na molécula, menor a densidade (ALMEIDA *et al.*, 2011). Pode-se observar que os valores de densidade encontrados foram bastante semelhantes o que nos permite inferir que os óleos apresentaram composição química semelhantes independente da técnica de extração utilizada.

O índice de refração está relacionado ao grau de saturação das ligações, e aumenta com o grau de instauração dos ácidos graxos constituintes dos triglicerídeos (MENDES *et al.*, 1999), sendo novamente semelhantes independente da metodologia de extração.

De acordo com os resultados expressos, o índice de acidez do óleo laboratorial foi 2,5 vezes maior que o do óleo artesanal. O índice de acidez está intimamente relacionado a qualidade do óleo e, segundo Brasil (2005), óleos não refinados devem apresentar uma acidez máxima de 4,0 mg KOH/g de amostra, o que permite supor que o óleo laboratorial apresenta má qualidade, quando comparado ao artesanal.

O índice de saponificação é importante para demonstrar a presença de óleos ou gorduras de alta proporção de ácidos graxos de baixo peso molecular em misturas com outros óleos e gorduras, servindo também como um padrão de qualidade, auxiliando a verificação de possível adulteração do óleo. Segundo Freire (2001), o padrão britânico preconiza que um óleo de alta qualidade é suposto apresentar um índice de saponificação entre 177 a 187 mg KOH/g quando refinado, o que não é o caso dos óleos de batiputá analisados no trabalho que são maiores e considerados óleos brutos, com valores de 205,22 e 210,17, respectivamente, para o óleo artesanal e óleo laboratorial.

O Índice de iodo relaciona-se com a quantidade de duplas ligações presentes na amostra, indica a medida do grau de insaturação de um óleo ou de uma gordura (MORETTO *et al.*, 2002). Pode-se observar um maior índice de iodo no óleo artesanal quando comparado ao laboratorial, isso permite inferir que o óleo artesanal apresenta uma maior concentração de ácidos graxos insaturados o que lhe confere melhor qualidade quando comparado ao óleo obtido em laboratório.

## 6.6 Análise do Óleo

### 6.6.1 Reação de saponificação

As proporções de saponificáveis e insaponificáveis presentes no óleo obtido pelas distintas técnicas de extração encontram-se sumarizadas na Tabela 6.

**Tabela 6:** Proporção de saponificáveis e insaponificáveis presentes no óleo de batiputá.

Tipos de óleos	% Saponificáveis	% Insaponificáveis
Óleo Artesanal	50,7960	31,7546
Óleo Laboratorial	65,9377	2,99

Fonte: Autoria própria.

A extração laboratorial do óleo em Aparelho de Soxhlet conduziu à um maior teor de saponificáveis (óleo fixo) e a um menor teor de insaponificáveis do que a extração artesanal.

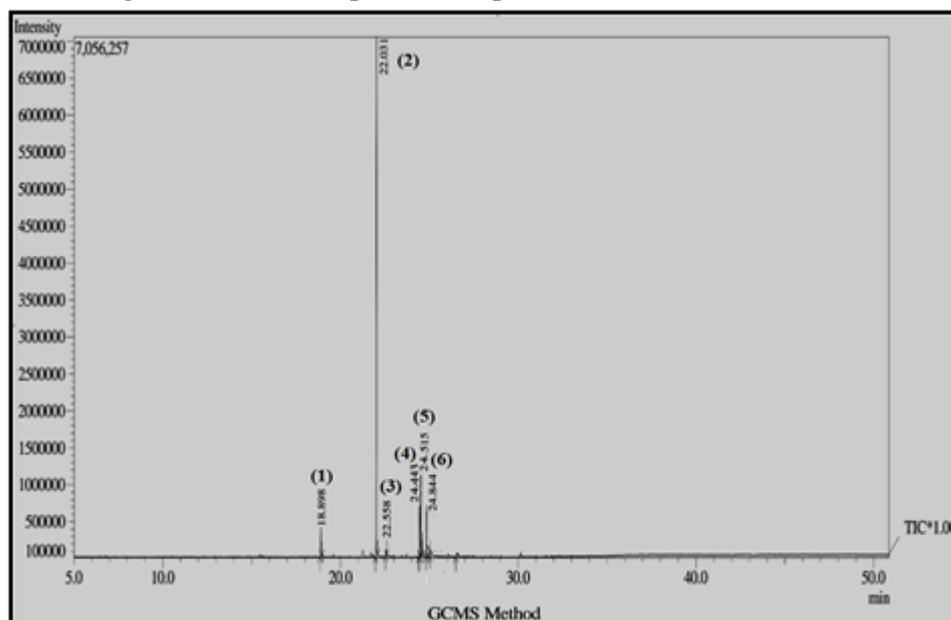
O solvente hexano é um dos mais indicados para a extração de óleos fixos em pesquisas laboratoriais. A menor porcentagem de insaponificáveis no óleo laboratorial pode ser explicada pela solubilização destes componentes em hexano, enquanto na técnica artesanal o uso de água e aquecimento conduziu a um maior teor de insaponificáveis.

### 6.6.2 Identificação da Constituição Química do Precipitado (P.A.P.L)

Na Figura 12, pode-se observar os constituintes químicos identificados neste precipitado como ésteres metílicos dos ácidos graxos, encontram-se listados com seus respectivos tempos de retenção e porcentagens em área (Tabela 7).

Em geral os ácidos graxos livres nos óleos vegetais podem ser provenientes de hidrólise enzimática acelerada pelo calor. Como o P.A.P.L é proveniente tanto do óleo artesanal como do óleo laboratorial, sendo este último obtido com temperatura controlada, pode-se cogitar que estes ácidos graxos estão naturalmente livres, ou seja, a própria enzima do fruto pode ter conduzido a hidrólise dos triglicerídeos (COSTA, 1994).

**Figura 12** – Cromatograma do Precipitado P.A.P.L metilado obtido por Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CGM).



**Fonte:** autoria própria. (1); (2); (3); (4); (5); (6): Picos do Cromatograma.

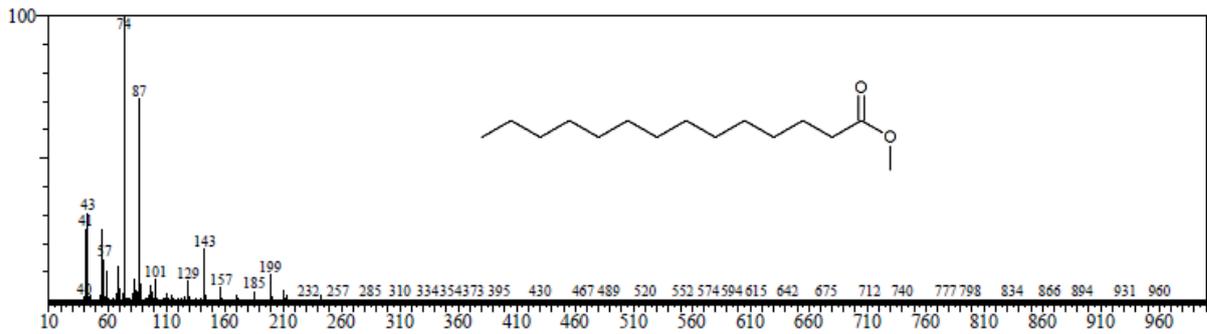
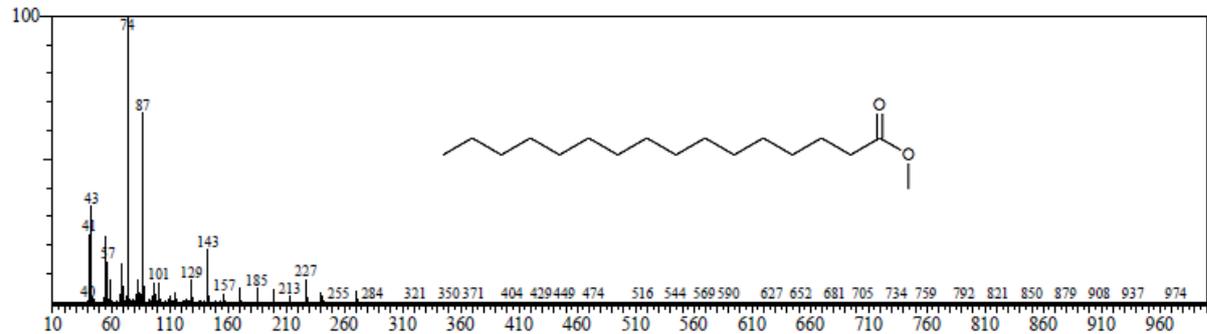
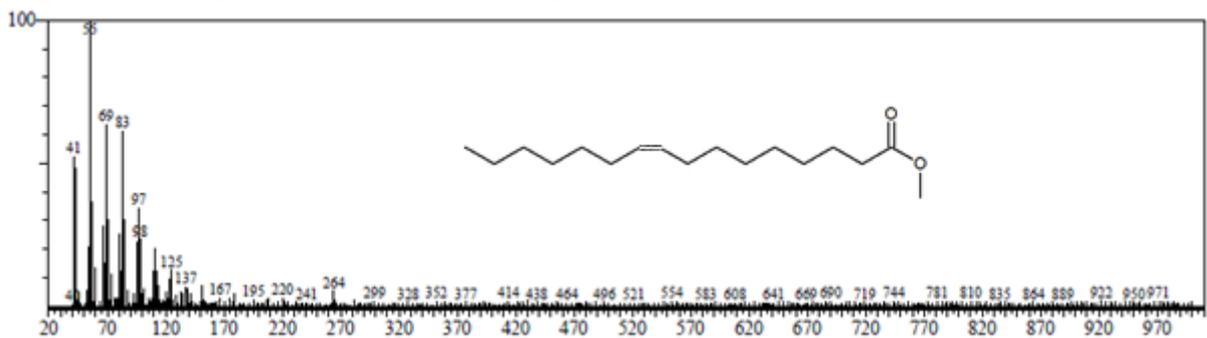
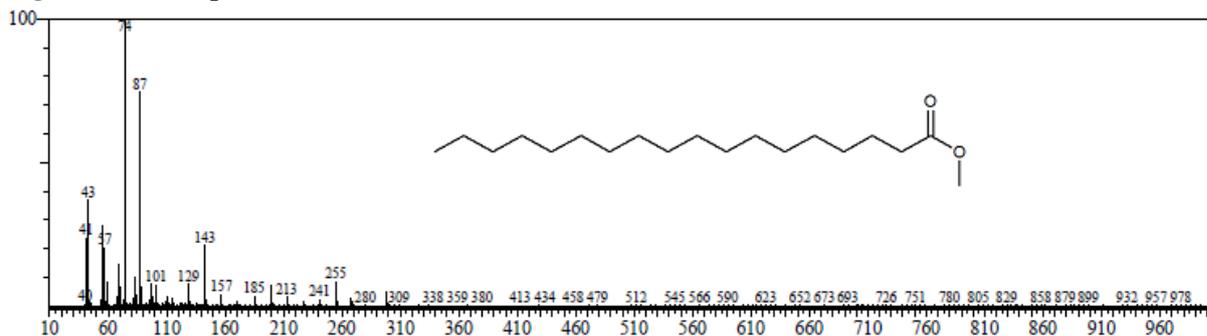
**Tabela 7** - Componentes encontrados no precipitado (P.A.P.L).

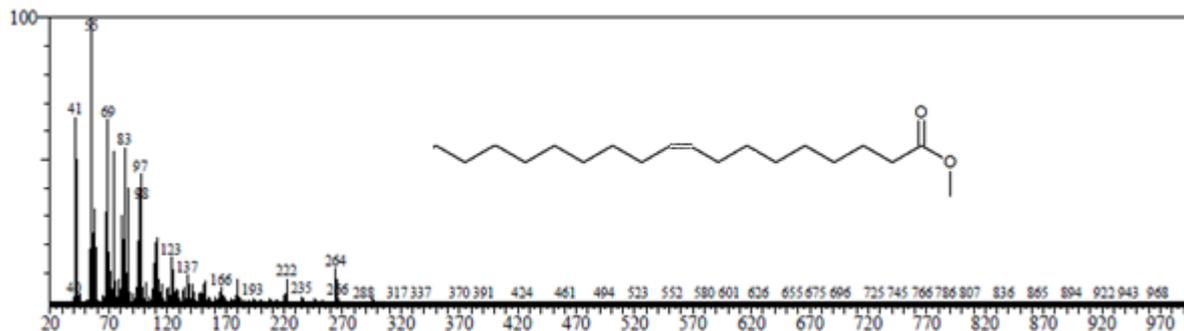
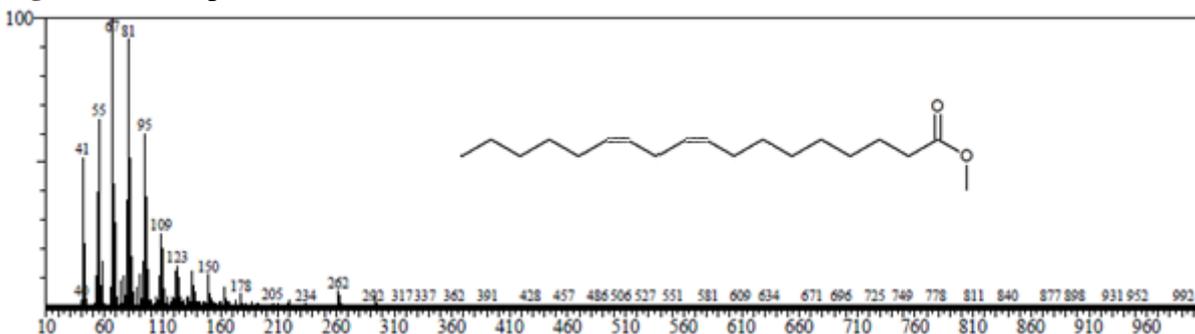
Pico	Tempo de		Classificação	
	Retenção (min)	Nome do Composto	Nº Carbonos e insaturação	Área (%)
1	18.898	E. M. Ácido Mirístico	C14:0	3.99
2	22.031	E. M. Ácido Palmítico	C16:0	67.66
3	26.542	E. M. Ácido Palmitoleico	C16:1	3.50
4	24.844	E. M. Ácido Esteárico	C18:0	6.84
5	24.515	E. M. Ácido Oleico	C18:1	11.12
6	24.443	E. M. Ácido Linoleico	C18:2	6.90
				100.00

**Fonte:** autoria própria. E.M: éster metílico do ácido graxo.

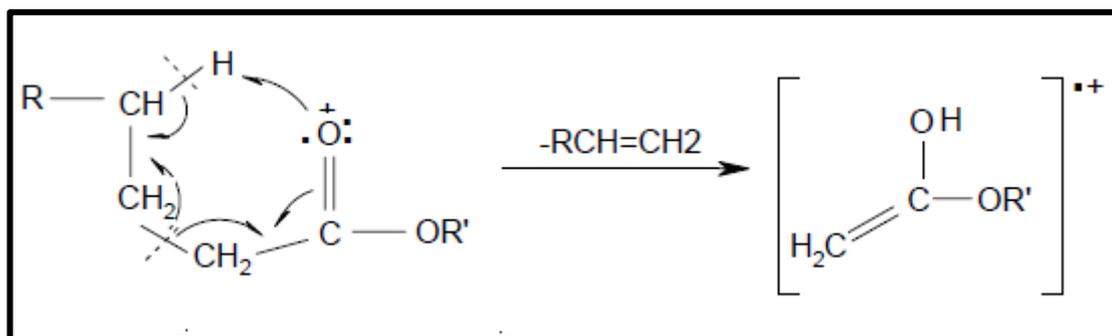
A composição química de óleos fixos pode ser determinada por Cromatografia Gasosa Acoplada a um Espectrômetro de Massas (CG-MS), através da identificação dos ésteres metílicos derivados dos ácidos graxos que os compõem. Os espectros de massa são caracterizados por um gráfico, que revela a abundância (intensidade) relativa de cada íon que aparece na forma de picos, com a razão de número de massa e número de carga ( $m/z$ ) definida (WILSON; WALKER, 2010).

Segundo Keen; Hamming (1971) e Santana (2011), os ésteres de ácidos graxos saturados que apresentam cadeia linear fornecem espectros de massa que podem ser facilmente identificados através de alguns tipos de picos resultantes de fragmentações básicas, dentre eles: o íon molecular  $M^+$  detectável, o pico do cátion acílio ( $RC \equiv O^+$ ), o pico correspondente ao rearranjo de McLafferty, e o intenso pico do íon  $[CH_2=CHCOHOR]^+$ . Ésteres com alta massa molecular apresentam em geral espectros com um pico do íon molecular  $M^+$  de intensidade notável, sendo bastante útil para identificação, porém muitos ésteres com peso molecular entre 130 a 200 apresentam picos pequenos demais, podendo impossibilitar a identificação pela análise do espectro, principalmente quando se trata de ésteres com pureza incerta. Neste contexto, os íons moleculares do ácido mirístico ( $m/z$ : 242) (figura 13), do ácido palmítico ( $m/z$ : 270) (figura 14), do ácido palmitoleico ( $m/z$ : 268) (figura 15), do ácido esteárico ( $m/z$ : 298) (figura 16), do ácido oleico ( $m/z$ : 296) (figura 17) e do ácido linoleico ( $m/z$ : 294) (figura 18), não foram intensos conforme pode-se observar em seus respectivos espectros de massa.

**Figura - 13:** Espectro de massa do ácido mirístico (éster)**Figura – 14:** Espectro de massa do ácido palmítico (éster)**Figura – 15:** Espectro de massa do ácido palmítoleico (éster)**Figura – 16:** Espectro de massa do ácido esteárico (éster)

**Figura – 17:** Espectro de massa do ácido oleico (éster)**Figura – 18:** Espectro de massa do ácido linoleico (éster)

O pico do cátion acílio ( $RC=O^+$ ), que resulta da quebra da ligação  $\alpha$  entre o carbono da carbonila e o oxigênio do radical alcoxila, geralmente origina um dos picos mais úteis na identificação. Ésteres que apresentam tanto o íon molecular quanto o cátion acílio são facilmente identificados, o que não foi o caso dos ésteres metílicos encontrados no precipitado obtido do óleo de batiputá, que apresentaram as seguintes razões  $m/z$  para o cátion acílio também não intensos no espectro de massa: ácido mirístico ( $m/z$ : 211), do ácido palmítico  $m/z$ : 215), do ácido palmitoleico ( $m/z$ : 237), do ácido esteárico ( $m/z$ : 267), do ácido oleico ( $m/z$ : 265) e do ácido linoleico ( $m/z$ : 263). Para grande parte dos ésteres que contém o hidrogênio  $\gamma$  na cadeia acila, o rearranjo de McLafferty (figura 19) é um recurso de fragmentação dominante, apresentando quebra de ligação  $\beta$  acompanhada pela transferência deste hidrogênio da cadeia acila para o átomo de oxigênio do grupo  $C=O$ . A intensidade do pico correspondente a este rearranjo depende do tamanho da cadeia do radical alcoxila, sendo tanto menor, quanto maior for a cadeia (SANTANA, 2011).

**Figura – 19:** Rearranjo de MacLafferty

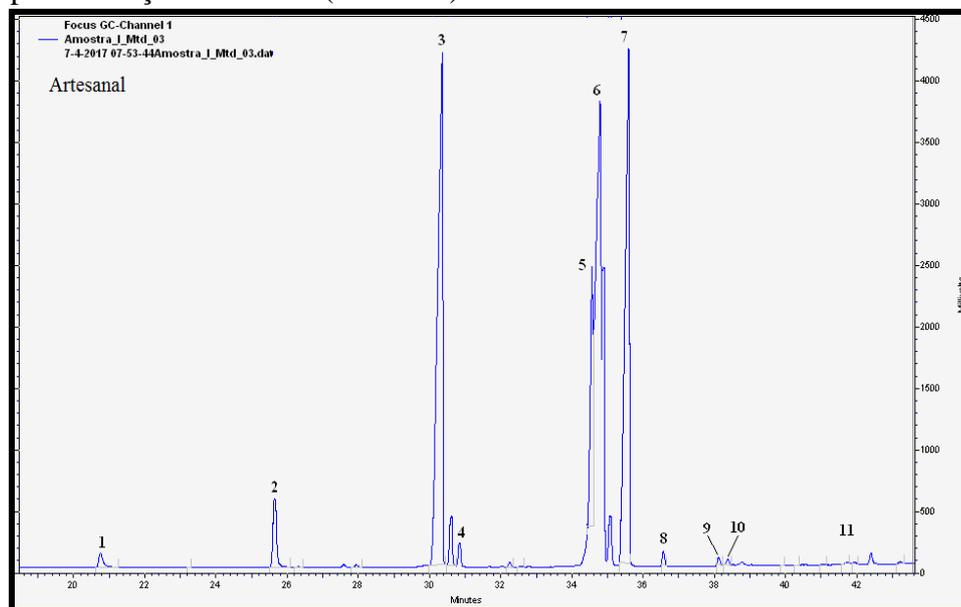
Fonte: Adaptado de Santana, 2011.

Os ácidos graxos saturados mirístico, palmítico e esteárico, apresentaram picos mais intensos, do rearranjo de MacLafferty, em  $m/z$  74. Enquanto os insaturados palmitoleico, oleico e linoleico apresentaram o pico intenso em  $m/z$  53, sendo produzido por uma estrutura de fórmula  $C_xH_y$  em consequência de quebra próxima a ligação dupla. A presença de vários outros picos pode ser interpretada pela caracterização de intervalos de 14 unidades referente a  $^+CH_2$ , comum em ácidos graxos (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000)

### 6.6.3 Identificação da Constituição Química dos Óleos Artesanal e Laboratorial

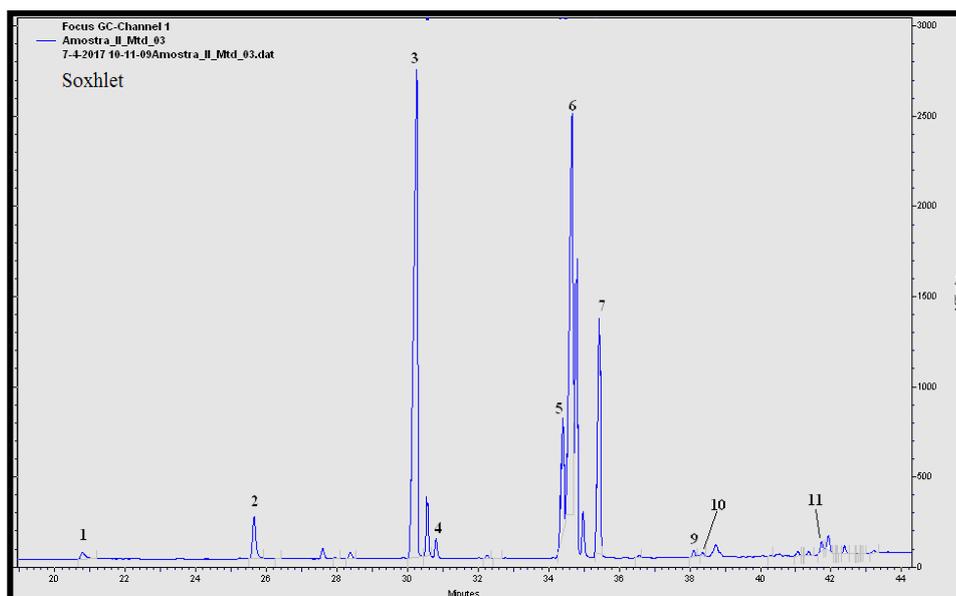
Os cromatogramas obtidos por Cromatografia Gasosa Acoplada ao Espectrômetro de Massas com detector por ionização de Chama (CG-FID) do óleo de batiputá artesanal (Figura 20) e do óleo laboratorial (Figura 21) apresentaram-se com perfis cromatográficos semelhantes, diferenciando-se apenas pela intensidade dos picos. Os ésteres metílicos identificados estão listados na Tabela 8, com seus respectivos tempos de retenção e porcentagem em área.

**Figura 20** – Cromatograma do óleo artesanal metilado obtido por Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrômetro de massas com detector por ionização de chama (CG- FID).



Fonte: Autoria própria. (1); (2); (3); (4); (5); (6); (7); (8); (9); (10); (11): picos do Cromatograma.

**Figura 21** – Cromatograma do óleo laboratorial metilado obtido por Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrômetro de massas com detector por ionização de chama (CG- FID).



Fonte: Autoria própria. (1); (2); (3); (4); (5); (6); (7); (8); (9); (10); (11): picos do Cromatograma.

**Tabela 8** - Componentes encontrados no óleo artesanal (OA) e óleo laboratorial (OL) de batiputá (*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.)

Pico	Tempo de Retenção (min)	Nome do Composto	Classificação Nº Carbonos e Insaturação	(OA)	(OL)
				Área (%)	Área(%)
1	20.76	E.M Ácido Láurico	C12:0	0.7903	0.6587
2	25.60	E.M Ácido Mirístico	C14:0	3.6436	2.4357
3	30.05	E.M Ácido Palmítico	C16:0	22.7919	25.6815
4	30.58	E.M Ácido Palmitoleico	C16:1	3.4533	9.3610
5	34.25	E.M Ácido Estearico	C18:0	8.3180	9.4841
6	34.48	E.M Ácido Oleico	C18:1	23.5728	26.6099
7	35.34	E.M Ácido Linoleico	C18:2	31.5352	18.5489
8	35.91	E.M Ácido Linolênico	C18:3	0.6233	0.1819
9	38.09	E.M Ácido Araquídico	C20:0	0.2076	0.2808
10	38.36	E.M Ácido Gadoleico	C20:1	0.1922	0.1448
11	42.20	E.M Ácido Erúxico	C22:1	0.0060	0.6689
				100.00	

**Fonte:** Autoria própria. E.M: éster metílico do ácido graxo.

A análise do óleo artesanal (OA) e do óleo laboratorial (OL) proporcionou, respectivamente, a determinação da porcentagem de ácidos graxos saturados: 36,1299% e 39,5725%; insaturados: 59,4733% e 56,0613%; monoinsaturados: 27,2673% e 37,1958%; polinsaturados: 32,1913% e 18,7647%, e ainda a porcentagem de ômega 3: 0,62674 e 0,2158; ômega 6: 31,5645 e 18,5489, e ômega 9: 23,7858 e 27,5246. Pode-se observar também a predominância dos ácidos linoleico (C18:2) (31,5352%), oleico (C18:1) (23,5728%) e palmítico (C16:0) (22,7919%) no óleo artesanal (OA) e dos ácidos oleico (C18:1) (26,6099%), palmítico (C16:0) (25,6815%) e linoleico (C18:2) (18,5489) no óleo laboratorial (OL).

Os ácidos graxos saturados possuem maior afinidade pelo hexano que os ácidos graxos insaturados, o que pode justificar a predominância de ácidos graxos saturados encontrados no óleo laboratorial (OL), embora a diferença tenha sido de apenas 3,38%.

Ambos óleos, artesanal e laboratorial, apresentaram perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos muito semelhantes, com predomínio de ácido palmítico, oleico e linoleico que somam 77,8999% e 70,8403% respectivamente.

Os perfis se diferenciam pelas proporções de ésteres metílicos de ácidos graxos presentes. Predominando, em ambos os óleos, os ácidos graxos insaturados.

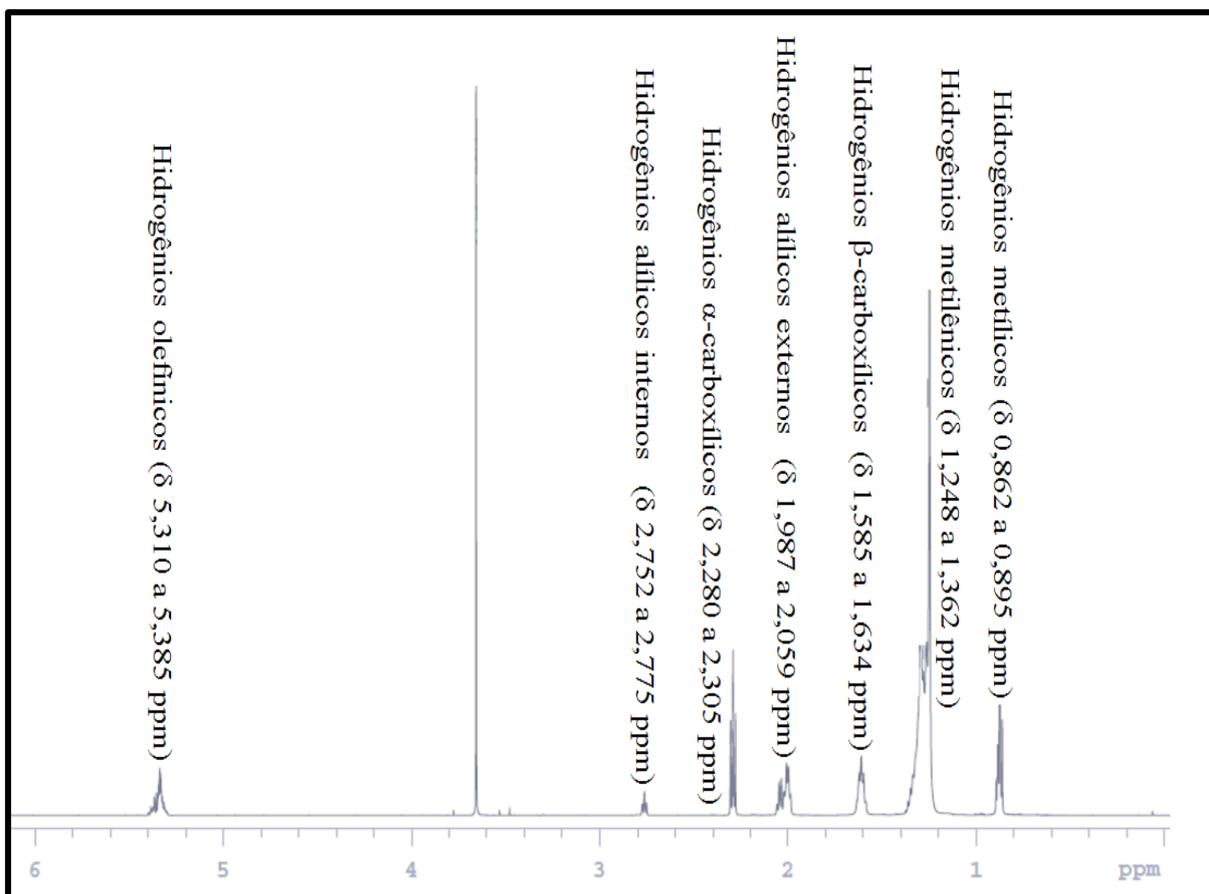
#### ***6.6.4 Caracterização da Constituição Química da Fração Insaponificável do óleo artesanal e laboratorial por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H)***

Observou-se por meio de RMN H<sup>1</sup> da fração insaponificável tanto do óleo artesanal (figura 22) como do laboratorial (figura 23) a presença predominante de ácidos graxos, o demonstrou que a reação de saponificação não foi completa, destacando-se também a presença de ácidos graxos livres conforme identificado no precipitado P.A.P.L, tabela 7.

##### ***6.6.4.1 Fração insaponificável do óleo artesanal***

Verifica-se, no espectro RMN H<sup>1</sup> de OA, deslocamentos químicos entre  $\delta$  0,862 a 0,895 ppm correspondentes aos hidrogênios metílicos. Entre  $\delta$  1,248 a 1,362 ppm deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios metilênicos; os hidrogênios  $\beta$ -carboxílicos entre  $\delta$  1,585 a 1,634; os hidrogênios alílicos externos entre  $\delta$  1,987 a 2,059 ppm; os hidrogênios  $\alpha$ -carboxílicos entre  $\delta$  2,280 a 2,305 ppm; os hidrogênios alílicos internos entre  $\delta$  2,752 a 2,775 ppm e os hidrogênios olefínicos entre  $\delta$  5,310 a 5,385 ppm (VIGLI *et al.*, 2003; REDA, 2008).

**Figura 22** – Espectro RMN  $H^1$  (500MHz-  $CDCl_3$ ) do óleo artesanal de batiputá (*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.)

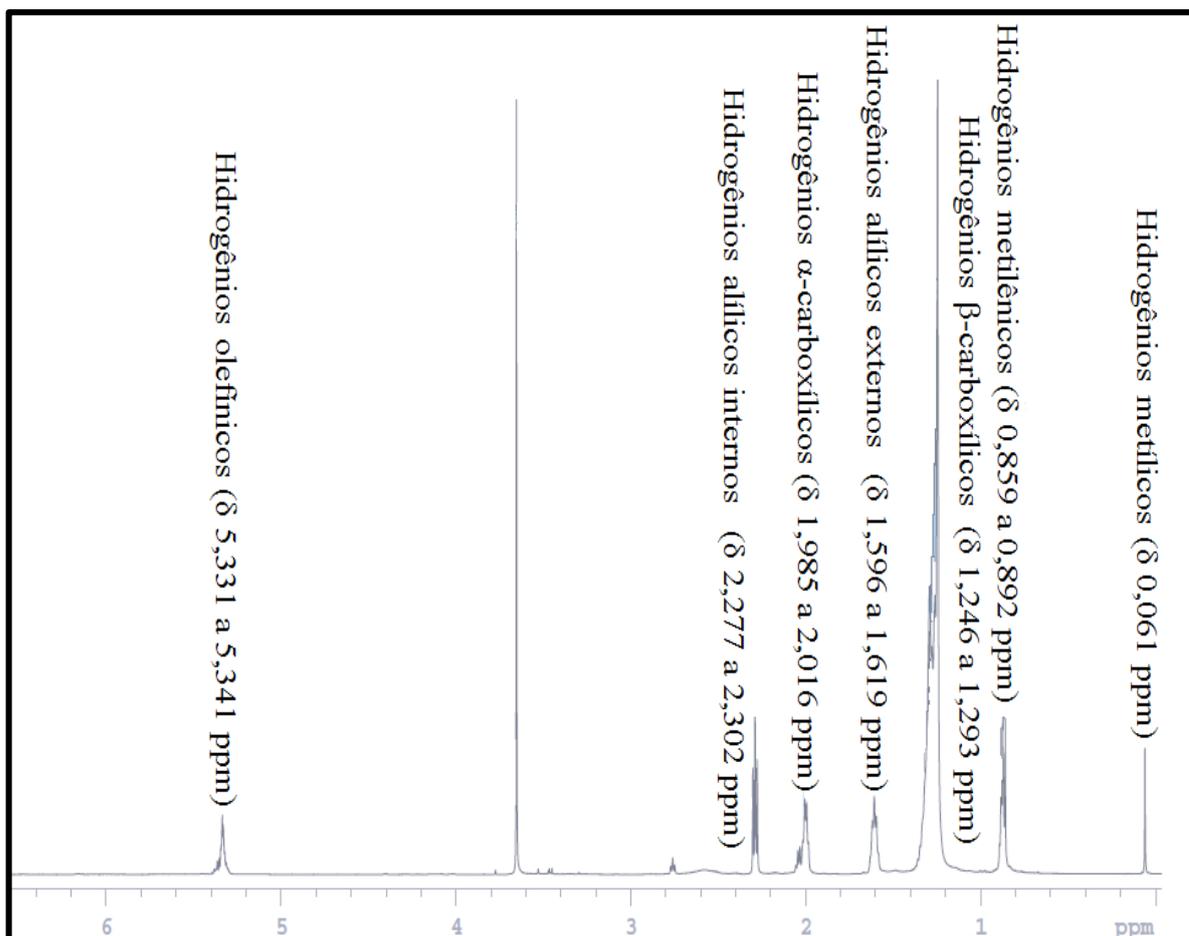


Fonte: Autoria própria.

#### 6.6.4.2 Fração insaponificável do óleo laboratorial

No espectro RMN  $H^1$  de OL (Figura 23), verifica-se um deslocamento químico em  $\delta$  0,061 ppm correspondente aos hidrogênios metílicos. Entre  $\delta$  0,859 a 0,892 ppm deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios metilênicos; os hidrogênios  $\beta$ -carboxílicos entre  $\delta$  1,246 a 1,293; os hidrogênios alílicos externos entre  $\delta$  1,596 a 1,619 ppm; os hidrogênios  $\alpha$ -carboxílicos entre  $\delta$  1,985 a 2,016 ppm; os hidrogênios alílicos internos entre  $\delta$  2,277 a 2,302 ppm e os hidrogênios olefinicos entre  $\delta$  5,331 a 5,341 ppm (VIGLI *et al.*, 2003; REDA, 2004).

**Figura 23** – Espectro RMN  $H^1$  (500MHz-  $CDCl_3$ ) do óleo laboratorial de batiputá (*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.)

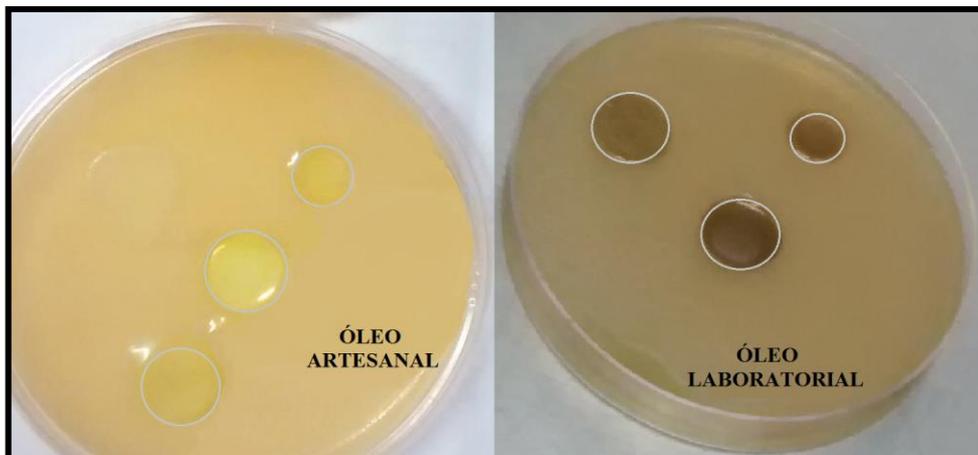


Fonte: Autoria própria.

## 6.7 Determinação da Atividade Antimicrobiana

Após incubação das placas não foi observado a formação de halos de inibição do crescimento microbiano em nenhuma das amostras testadas, óleo artesanal e laboratorial, evidenciando que os mesmos não possuem atividade antimicrobiana contra a cepa de *Staphylococcus aureus* utilizada no ensaio (Figura 24).

**Figura 24** – Placas com crescimento microbiano, sem halos de inibição.



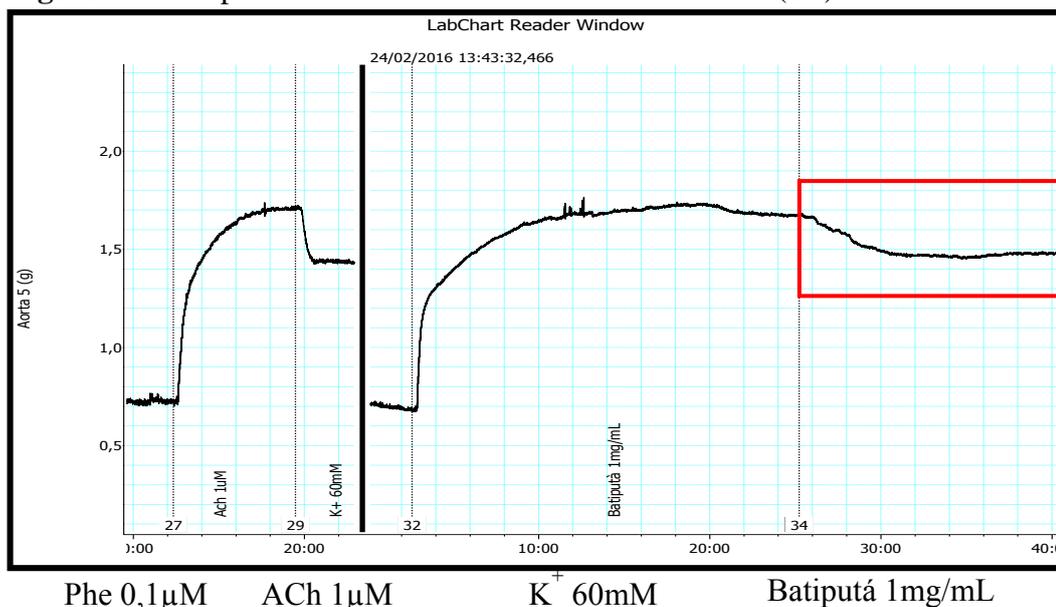
Fonte: A autoria própria.

## 6.8 Ensaio piloto para verificação de potencial vasodilatador e da contratilidade in vitro do óleo artesanal de batiputá

### 6.8.1 Experimentos com anéis de aorta de rato

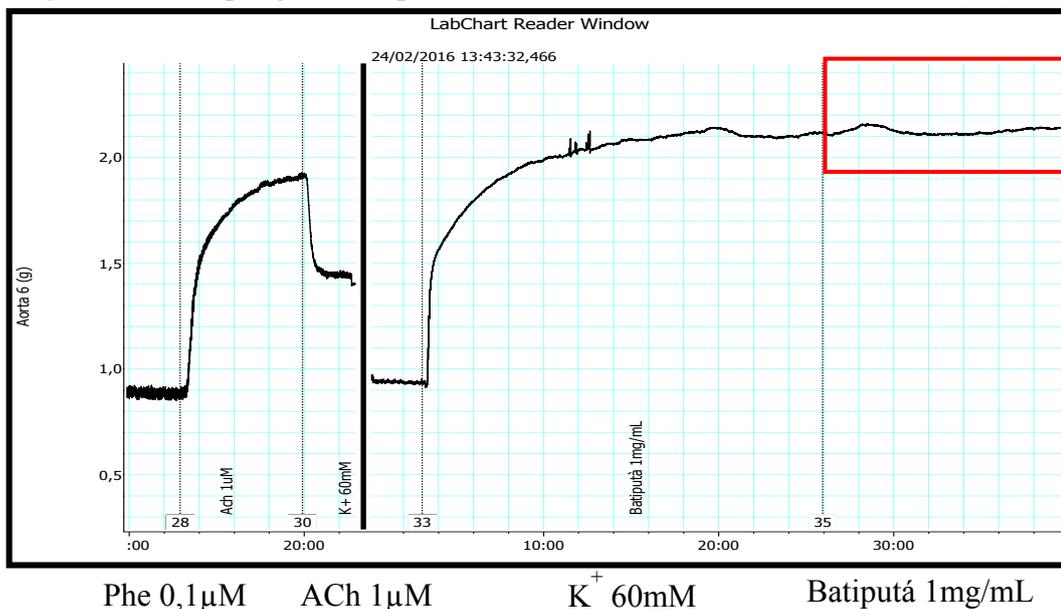
Realizaram-se dois experimentos dos quais apenas um apresentou pequeno efeito em segmento aórtico. O experimento foi repetido em um segundo segmento de aorta isolada e não revelou a mesma atividade (Figuras 25 e 26).

**Figura – 25:** Experimento em anel isolado de aorta de rato (C1).



Fonte: Laboratório de Fisiofarmacologia do Músculo Liso (LAFARMULI).

**Figura – 26:** Repetição do experimento em anel isolado de aorta de rato (C2)

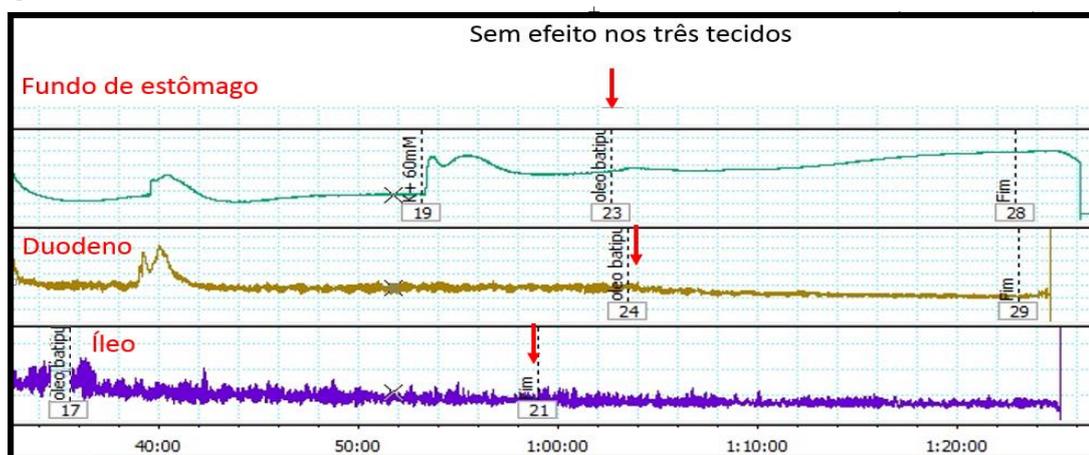


Fonte: Laboratório de Fisiopharmacologia do Músculo Liso (LAFARMULI).

### 6.8.2 Experimentos com segmentos de fundo de estômago, duodeno e íleo de rato

Os outros experimentos realizados no fundo de estômago, duodeno e íleo também não apresentaram uma resposta positiva, desmotivando assim a busca de atividade farmacológica utilizando-se o modelo proposto (Figura 27).

**Figura – 27:** Experimento em corte histológico de tecidos do aparelho gastrointestinal de Rato (C3)



Fonte: Laboratório de Fisiopharmacologia do Músculo Liso (LAFARMULI).

Em todos os experimentos a concentração de óleo utilizada foi de 1 mg/mL, considerada uma concentração suficientemente alta para que substâncias atinjam o líquido extracelular produzindo um dado efeito. Portanto, do ponto de vista farmacológico, o óleo de *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. não apresentou uma atividade vasodilatadora promissora para esse tipo de abordagem. Os testes realizados, entretanto, não excluem a possibilidade de atividade farmacológica do óleo em outros sistemas fisiológicos.

## 7 DISCUSSÃO

Por serem sazonais, com safra entre os meses de janeiro a fevereiro, os frutos de batiputá foram submetidos a duas diferentes técnicas de dessecação, a secagem por Estufa de Circulação de ar e Liofilização, para posterior verificação da influência destas na qualidade do óleo extraído, garantindo assim a conservação das suas propriedades e viabilizando as análises durante todo o período de desenvolvimento da pesquisa.

Segundo Oliveira e Akisue (1993), frutos apresentam de 15 a 95% de umidade, sendo a umidade permitida na droga vegetal entre 8 a 15%. Portanto, a porcentagem de umidade observada nos frutos frescos de batiputá, 22,33%, está dentro dos valores especificados na literatura para frutos, bem como os resultados verificados para porcentagem de umidade residual dos frutos secos em estufa e liofilizados, 1,0333 e 8,0333% respectivamente, estão dentro das especificações técnicas para conservação dos mesmos. Por ser uma técnica mais usual e bem mais acessível em termos de custo, a secagem dos frutos por estufa de circulação de ar foi a técnica escolhida para conservação dos frutos de batiputá utilizados nas análises.

Produtos de origem vegetal apresentam, em geral, reduzidos tempos de armazenamento, principalmente, pelo alto teor de água que é um componente inerente aos alimentos e contribui para acelerar o seu processo de deterioração, pois possibilita a ação de enzimas, além de propiciar o desenvolvimento de fungos e bactérias (FELLOWS, 1994; FARIAS, 2003).

A eliminação da umidade por processos de secagem permite a redução de peso e, geralmente, também, a diminuição de volume, fato que incide na redução dos custos de transporte, embalagem e armazenamento de produtos desidratados, sendo estes fatores, estímulo para a sua produção e sua comercialização (FELLOWS, 1994; FARIAS, 2003).

A investigação fitoquímica de espécies pertencentes ao gênero *Ouratea* tem demonstrado riqueza de substâncias possivelmente ativas como flavonoides e biflavonoides, considerados seus marcadores químicos (DELLE MONACHE *et al.*, 1967; VELANDIA; CARVALHO; BRAZ FILHO, 1998; VELANDIA *et al.*, 2002; CARVALHO *et al.*, 2008; FELICIO *et al.*, 2001; 2004; FIDELIS *et al.*, 2012; 2014), catequina (MONACHE *et al.*, 1967); diterpenos e triterpenos (VELANDIA; CARVALHO; BRAZ FILHO, 1998) e esteroides (CHAURASIA; WICHTH, 1987; NES; NORTON, BENSON, 1992; FORGO; KÖVÉR, 2004). Por se tratarem de marcadores químicos, a presença de flavonoides em extratos provenientes dos frutos de *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.), conforme observado na Tabela 2, página 47, confirma a relação quimiotaxonômica entre as demais espécies do gênero.

Observou-se na espécie *O. nítida*, ésteres metílicos e etílicos dos ácidos láurico, mirístico, palmítico, esteárico e oleico, éster etílico do ácido linoleico e éster metílico do ácido araquidônico (CHARLES *et al.*, 2005), o que corrobora com os resultados observados na tabela 8, que traz os teores de ésteres de ácidos graxos para o óleo artesanal (OA) e laboratorial (OL) obtido da espécie em estudo.

O potencial bioativo e nutricional dos frutos de batiputá foi analisado por Farias *et al.* (2010). Os frutos se mostraram especialmente ricos em proteínas ( $21,58 \pm 2,02$  g/100 g) e fibras dietéticas ( $46,7 \pm 0,52$  g/100 g). Seu conteúdo de carboidratos digestíveis representou apenas uma pequena fração de sua composição (17,7 g/100 mg) e a concentração calórica encontrada (270 kcal/100 g) nos frutos, levou os pesquisadores a classificá-los como uma boa fonte de energia, quando comparado ao *Phaseolus vulgaris* L (228 kcal/100 g), feijão preto, que ocupa destaque na agricultura brasileira, cujos grãos representam importante fonte de proteína e minerais da população (MECHI *et al.*, 2005; YOKOYAMA, 2002).

Os minerais e as vitaminas, são substâncias que não podem ser produzidas pelo organismo, devendo ser ingeridas na alimentação. Eles não fornecem calorias, mas desempenham importantes funções no organismo como regulação do metabolismo enzimático, manutenção do metabolismo ácido-básico e balanço da pressão osmótica. Eletrólitos como o sódio (Na) e o potássio (K) são importantes na manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico, os micronutrientes: zinco (Zn), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn) e os macronutrientes: cálcio (Ca), magnésio (Mg) e fósforo (P) apresentam ainda funções específicas no organismo, podendo, sua falta ou excesso, estar relacionados a diversas patologias (PINHEIRO; PORTO; MENEZES, 2005). A composição mineral e de componentes metálicos (tabela 3) realizada no presente estudo, reafirma o potencial nutricional dos frutos de batiputá e contribui de maneira significativa para o conhecimento deste e sua possível aplicabilidade nutricional, já que a concentração de diversos componentes observados pode ser comparada a alimentos que já são utilizados há tempos pelo homem.

No Ceará, a utilização mais comum dos frutos de batiputá é na forma de óleo fixo extraído após o cozimento destes em água, no presente estudo nomeado óleo artesanal. O óleo além de possuir características medicinais pode ser utilizado para fins alimentícios. Segundo Freire *et al.*, (1996) e Caetano (2006), o interesse na pesquisa e na produção de frutas e sementes oleaginosas está aumentando, tanto para a indústria oleoquímica como para a alimentícia, que absorvem a maioria dos óleos obtidos de fontes naturais, o que justifica, portanto, a caracterização do óleo extraído dos frutos de *O. fieldingiana* realizada no presente trabalho.

As extrações dos óleos a partir dos frutos de *O. fieldingiana* foram realizadas artesanalmente (fervura em água) e laboratorialmente em aparelho extrator de Soxhlet proporcionando rendimentos (6,10%) e (20,64%) respectivamente, o que caracteriza esta última como uma boa extração, com valores próximos aos encontrados na literatura para outras oleaginosas bastante utilizadas no país, tais como: pinhão bravo (25,2%), soja (17%), algodão (15%), girassol (28-48%) e dendê (20%). A presença de água nos frutos pode dificultar a penetração do solvente nas estruturas celulares armazenadoras de óleo, podendo assim reduzir a quantidade de óleo extraída o que pode explicar a grande diferença de rendimentos encontrada (COSTA, 1994). Necessário se faz adequar esta técnica de extração artesanal com boas práticas de produção farmacêutica (RIBEIRO, 2007).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2005), análises da densidade, índice de refração, índice de acidez, índice de saponificação, índice de ésteres e índice de iodo do óleo são indicados para a caracterização e controle de qualidade do mesmo.

Segundo a Agência Nacional de Petróleo (APN), a densidade esperada de óleos varia de 0,86 a 0,9 g/mL. A densidade encontrada para o óleo artesanal e laboratorial de batiputá foi 0,9154 e 0,9155 g/mL e, portanto, encontram-se dentro da norma APN e apresentam valores próximos a densidades encontradas por Beltrão e Oliveira (2008) em outros óleos vegetais tais como: óleo de pinhão bravo (0,9163 g/mL); óleo de soja (0,9160 g/mL); óleo de algodão (0,8760 g/mL); óleo de girassol (0,8796 g/mL); óleo de dendê (0,9220 g/mL) e óleo de mamona (0,9590 g/mL).

O índice de refração é um parâmetro importante na comparação da massa molar média de um óleo com outros óleos (MENDES *et al.*, 1999), foi encontrado no óleo de batiputá artesanal e no óleo laboratorial os índices 1,4680 e 1,4706 respectivamente, sendo bastante semelhantes entre si e também aos índices de alguns óleos convencionais como: óleo de algodão (1,458-1,466), milho (1,465-1,468) e soja (1,466-1,470) (CODEX ALIMENTARIUM COMMISSION, 2009).

O índice de acidez indica o estado de conservação do óleo (MACHADO; CHAVES; ANTONIASSI, 2006), quanto maior for o índice de acidez de um óleo, maior será o grau de oxidação da amostra, já que os produtos ácidos formados são resultantes da oxidação. Os índices encontrados no óleo artesanal e no óleo laboratorial de batiputá foram 5,1849 mg KOH/g e 13,2870 mg KOH/g respectivamente. Para a ANVISA (2005) o nível máximo permitido para óleos prensados a frio e não refinados é 4 mg KOH/g, o que indica que o óleo de batiputá se encontra fora das especificações. Este elevado índice de acidez pode ser devido a ocorrência natural de hidrólise enzimática nos frutos frescos anteriormente à extração ou à

presença natural de ácidos graxos livres, que podem ser considerados, pelos resultados, característicos dos frutos de batiputá.

A reação de saponificação pode estabelecer o grau de deterioração e a estabilidade, bem como verificar se as propriedades dos óleos estão de acordo com as especificações e identificar possíveis fraudes e adulterações (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). De maneira geral, quanto menor o peso molecular do ácido graxo, maior será o índice de saponificação, e para as gorduras vegetais, quanto mais altos os índices de saponificação mais se prestam para fins alimentares (MORETTO e FETT, 1998). Os óleos de batiputá, artesanal e laboratorial, apresentaram índices de saponificação 205,2275 e 210,1729 respectivamente, semelhantes aos óleos: de babaçu (203,1300 mg KOH/g óleo) (COSTA, 2015); de abacate (175-190 mg KOH/g óleo) (TANGO E TURATTI, 1992); de macaúba (263 mg KOH/g óleo) (LIMA, 2005); de girassol (186,13 ±16,71 mg KOH/g óleo) (BAPTISTA, 2015) já descritos na literatura.

O índice de iodo indica o grau de insaturação do óleo ou gordura. Considerando que o iodo reage com as duplas ligações, quanto maior for o grau de insaturação, maior será, proporcionalmente, o índice de iodo. Neste contexto, a porcentagem em área de ésteres metílicos de ácidos graxos insaturados encontrados no óleo artesanal (59,3828%) foi maior que a encontrada no óleo laboratorial (55,5154%) relacionando-se assim, com o maior índice de iodo (52,14) para o óleo artesanal que o óleo laboratorial (43,51) observado na tabela 5. Vale salientar que o consumo de ácidos graxos poli-insaturados, presentes em maior concentração no óleo artesanal, está relacionado à redução de doenças coronarianas. Seu consumo foi estimulado pelo Comitê de Nutrição da American Heart Association. Tal observação permite afirmar que a metodologia de extração artesanal proporcionou um óleo de melhor qualidade quando comparado ao obtido laboratorialmente (HARIS *et al.*, 2009).

Esse índice foi também avaliado por outros autores em diversos outros óleos vegetais tais como, óleo de semente coco (15,5), óleo de piaçava (16,3), óleo de tucumã (19,4), óleo de polpa de pequi (55,5), óleo de macadâmia (78,7), óleo de andiroba (74,0), óleo de amêndoa (88,1), óleo de girassol (127), óleo de milho (117), óleo de canola (110) e óleo de soja (125) (TOMA, 2009; FUENTES, 2011).

O presente trabalho fez um estudo piloto com o óleo fixo proveniente dos frutos de batiputá (*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Eng.) a fim de investigar uma possível atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, agente patogênico frequentemente causador das infecções crônicas de garganta, bem como o potencial vasodilatador e de contratilidade *in vitro* do mesmo, na busca de uma correlação entre estas atividades e os efeitos medicinais atribuídos ao óleo pela comunidade, porém não houve um resultado expressivo que pudesse justificar o

uso popular deste óleo para estes propósitos. No entanto, outros modelos farmacológicos podem ser avaliados no intuito de investigar tais potenciais do óleo referidos pela comunidade.

O presente estudo com o óleo obtido a partir dos frutos de *O. fieldingiana*, mais conhecida popularmente no Nordeste como “Batiputá”, mostrou-se inédito em muitos aspectos, pois raros são os registros na literatura científica dessa espécie.

## 8 CONCLUSÕES

- O estudo farmacológico do óleo de *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. contribuiu de forma relevante para o conhecimento e aproveitamento de matérias primas vegetais nativas, trazendo ao meio científico resultados até então desconhecidos;
- A pesquisa revelou diferentes técnicas para conservação dos frutos e extração do óleo, sendo a de maior rendimento, a técnica de extração laboratorial a partir de frutos liofilizados.
- A técnica de extração artesanal a partir de frutos frescos, utilizada pela comunidade, apesar de ter menor rendimento, é uma técnica viável uma vez que as características do produto final obtido foram semelhantes entre as duas técnicas, destacando-se ainda uma maior quantidade de ácidos graxos insaturados que empregam uma melhor qualidade ao óleo.
- Possibilitou a determinação da composição de minerais e componentes metálicos dos frutos de batiputá indicando que o mesmo apresenta valor nutricional;
- Possibilitou a determinação dos índices físico-químicos, bem como a caracterização dos constituintes químicos do óleo como parâmetros de qualidade que auxiliem no desenvolvimento de um insumo farmacêutico dentro das especificações técnicas estabelecidas no Brasil;
- Os estudos farmacológicos preliminares realizados no presente trabalho não apresentaram atividade diante dos protocolos aplicados, mas a riqueza de classes químicas encontradas nos frutos e no óleo obtido através destes, tornam evidente a necessidade da continuidade da pesquisa em busca de novos modelos farmacológicos que possam comprovar o uso popular do óleo de batiputá difundido no Ceará.

## 9 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos nesse trabalho fornecem evidências científicas da viabilidade de aplicação do óleo de batiputá na dermo-cosmética, pelo potencial emoliente relacionado a quantidade e qualidade de ácidos graxos nele presentes que permitem, por exemplo, a formulação de um Linimento óleo calcáreo, forma farmacêutica presente no Formulário Terapêutico Nacional para uso tópico em dermatoses pruriginosas e queimaduras. A substituição do óleo de amendoim, linhaça ou amêndoas, normalmente utilizados na formulação, pelo óleo de batiputá, reduz o custo da preparação além de torná-la mais acessível ao uso da comunidade incentivando assim, a medicina alternativa, a manutenção e propagação dos saberes populares através de comprovação científica.

A riqueza de minerais presentes no fruto e de ômega no óleo despertam a atenção para uma aplicação nutracêutica, já que esses constituintes, como já demonstrado em estudos científicos, podem atuar como adjuvantes, junto a uma alimentação balanceada, na prevenção de doenças cardíacas.

Portanto, a espécie *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. pode ser considerada uma espécie de grande potencial, devendo ser melhor estudada, para que, uma vez comprovadas atividades terapêuticas, esta possa ser incluída na Relação Nacional de Plantas Medicinais e sua utilização segura promova efetivamente a melhoria da qualidade de vida de pessoas que a utilizem.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. K. P.; NUNES, G. P.; TEIXEIRA, C. C. M.; RODRIGUES, D. P.; MELLO, J. R. **Caracterizações físico-químicas de óleos vegetais utilizados para produção de biodiesel com metodologias alternativas simples**. Belo Horizonte: Abepro, 2011. 14 p.
- ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **J. Vasc. Bras.**, v. 3, n. 2, 2004.
- ARAUJO, A. K. L. **Aspectos morfológicos do processo de cicatrização induzido por *Ouratea sp.*** 2010. 177f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.
- BAPTISTA, B. C. S. **Transesterificação etílica de óleo de girassol**. 2015. 47f. Monografia (Graduação em Bacharelado em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2015.
- BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. Sistemática de Angiosperma do Brasil. **Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa**, Viçosa, v. 3, 1986.
- BOUQUET, A. Féticheurs et Medicines Traditionnelles du Congo (Brazzaville). **Mémoires Orstom.**, v. 36, p. 178-179, 1969.
- BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P. OLEAGINOSAS E SEUS ÓLEOS: VANTAGENS E DESVANTAGENS PARA PRODUÇÃO DE BODIESEL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro Nacional de Pesquisa de Algodão. Documentos 201. Campina Grande-PB, 2008.
- BRAGA, F. C.; WAGNER, H.; LOMBARDI, J. A.; OLIVEIRA, A. B. Screening the Brazilian flora for antihypertensive plant species for in vitro angiotensin-I-converting enzyme inhibiting activity. **Phytomedicine**, Jena, v. 245, p. 245-50, 2000.
- BRANDÃO, G. C.; KROON, E. G.; SANTOS, J. R.; STEHMANN, J. R.; LOMBARDI, J. A.; OLIVEIRA, A. B.; Antiviral activity of plants occurring in the State of Minas Gerais (Brazil): Part III. **J. Chem. Pharm. Res.**, v. 3, p. 223-236, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos – Uma abordagem sobre ensaios físico-químicos / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2ª edição, revista – Brasília: Anvisa, 2008. 120 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Fiocruz, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398. Brasília: Ministério da Saúde; 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005*. Aprovada pelo Regulamento Técnico Para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais E Creme Vegetal. Brasília, DF: ANVISA, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 31. 156 p. Brasília - DF, 2012.

BRITO, T. S. **Vasodilatação causada pelo 1-nitro-2-feniletano em aorta de rato: provável estimulação da guanilatociclase**. 2012. 109 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012

CAETANO, Mariana. **O Desafio do Biodiesel**. In: **Revista globo rural**. v. 253, p. 40-49, Ago. 2006.

CARBONARI, K. A.; FERREIRA, E. A.; REBELLO, J. M.; FELIPE, K. B.; ROSSI, M. H.; FELÍCIO, J. D.; FILHO, D. W.; YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C. Free radical scavenging by *Ouratea parviflora* in experimentally-induced liver injuries. **Redox Report.**, v. 11, p. 124. 2006.

CARVALHO, A. F. U.; FARIAS, D. F.; BATISTA, A. B.; FEIJÃO, A. P.; ARAÚJO, E. S.; MARQUES, E. C.; OLIVEIRA, H. P.; de OLIVEIRA, J. S.; CAVALHEIRO, M. G.; de SOUSA, N. M.; BEZERRA, C. B. R.; VASCONCELOS, I. M.; CARVALHO, A. F. U. Nutritional, bioactive enzymatic properties of *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. (Ochnaceae) fruits. A little-known plant from Northeastern Brazil. **Journal of Applied Botany and Food Quality.**, v. 83, p. 151-156, 2010.

CARVALHO, M. G.; SUZART, L. R.; CAVATTI, L. C.; KAPLAN, M. A. C. New flavonoids and other constituents from *Ouratea hexasperma* (Ochnaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v.19, p. 1423-1428, 2008.

CHACON, R.G.; YAMAMOTO, K. Rio de Janeiro, 2015. *Ouratea* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB19917>>. Acesso em: 11 maio. 2017<sup>a</sup>.

CHARLES, S. E.; OLIVEIRA, F. M.; CONSERVA, L. M.; LIMA, L. F. C. O.; BARROS, E. C. P.; BARROS, A. C. P.; ROCHA, E. M. M.; ANDRADE, E. H. A. Constituintes químicos e avaliação preliminar *in vivo* da atividade antimalárica de *Ouratea nítida* Aubl (Ochnaceae). **Rev. Bras. Farmacog.**, n. 15, v. 3, p. 195-198, jul./set, 2005.

CHAURASIA, N.; WICHTH, M. J. Sterols and steryl glycosides from *urticadioica*. **J Nat Prod.**, v. 50, p. 881-885, 1987.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex-Stan 210: *Codex standard for named vegetable oils*. Roma: FAO/WHO Food Standards, 2009.

COLLI, C. Nutraceutico é uma nova concepção de alimento. **Informativo da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, n.1, p. 1-2, 1998.

CONNOR, W. E. Do they fatty acids from fish prevent deaths from cardiovascular disease? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 66, p. 188-189, 1997.

CORRÊA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Di Giorgio, 1975. 1-6 v.

COSTA, Aloísio Fernandes. **Farmacognosia**. 5. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 1994. 992 p.

COSTA, C. L.; FRANÇA, E. T. R.; SANTOS, D. S.; COSTA, M. C. P.; BARBOSA, M. C. L.; NASCIMENTO, M. D. S. B. Caracterização físico-química de óleos fixos artesanais do coco babaçu (*Orbignya phalerata*) de regiões ecológicas do estado do Maranhão, Brasil. **Pesquisa em Foco**, São Luís, v. 20, n. 1, p. 27-38, 2015.

CRISÓSTOMO, R. B. B.; CORRÊA, M. P. F.; RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; MOURA, C. F. H.; LUZ, J. M. Q. Potencial de utilização de algumas frutas silvestres do litoral do Estado do Ceará, Brasil. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v. 52, p. 221-223, 2008.

CRUZ, M. R. **Extração de óleo da torta de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) com etanol para a remoção de éster de forbol**. 2012. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - Minas Gerais, 2012.

CUNHA, A. P.; SILVA, A.P; ROQUE, O. R. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003, p.21-61.

DAHLGREN, R. M. T. A revised system of classification of the angiosperms. **Bot. J. Line Soc.**, v. 80, p. 91-124, 1980.

DANIEL, J. F. D. S.; CARVALHO, M. G. de; CARDOSO, R. D. S.; AGRA, M. de F.; EBERLIN, M. N. Others flavonoids from *Ouratea hexasperma* (Ochnaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, p. 634, 2005.

DAVID, J.P. de L.; DAVID, J.M.; SOARES, M.B.P *et al.* Introdução. In: LUCCHESI, A.M. (ed). Instituto do Milênio do Semi-árido. **Plantas da Caatinga: perfil botânico, fitoquímica e atividade biológica**. v.4. Recife: Associação de Plantas do Nordeste, p.15-17. 2006.

DELLE MONACHE, F.; D'ALBUQUERQUE, I. L.; FERRARI, F.; MARINI-BETTÓLO, G. B. A new catechin and a dimeric proanthocyanidin from *Ouratea* sp. **Tetrahedron Lett**, v. 8, p. 4211-4214, 1967.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: verdades e mentiras: o que os usuários e profissionais de saúde precisam saber**. São Paulo, Ed. UNESP, 2007.

FARIAS, M.R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: Simões, C.M.O. et al (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre / Florianópolis: Ed. Universidade - UFRGS/ Ed. da UFSC, 2003.

FARIAS, D.F.; BATISTA, A.B.; FEIJÃO, A.R.; ARAÚJO, E.S.; MARQUES, E. C.; OLIVEIRA, H.P.; OLIVEIRA, J.S.; CAVALHEIRO, M.G.; SOUSA, N.M.; BEZERRA, L.C.B.R, VASCONCELOS, I.M.; CARVALHO, A.F.U. Nutritional, bioactive na enzymatic properties of *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.fruits. A little-known plant from Northeastern Brazil. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, v.83, p. 151-156, 2010.

FELICIO, J. D.; GONÇALEZ, E.; BRAGGIO, M. M.; COSTANTINO, L.; ALBASINI, A.; LINS, A. P. Inhibition of lens aldose reductase by biflavones from *Ouratea spectabilis*. **Planta Medica**, v. 61, p. 217-220, 1995.

FELICIO, J. D.; ROSSI, M. H.; PARK, H. R; GONÇALEZ, E.; BRAGGIO, M. M.; DAVID, J. M.; CORDEIRO, I. Biflavonoids from *Ouratea multiflora*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 453-455, 2001.

FELÍCIO, J. D.; ROSSI, M. H.; BRAGGIO, M. M; GONÇALEZ E, P. A. K. A.; CORDEIRO, I.; FELÍCIO, R. C. Chemical constituents from *Ouratea parviflora*. **J. Biochem. Syst. Ecol.**, v. 32, p. 79-81, 2004.

FELLOWS, P. **Tecnología del processado de los alimentos: principios y practicas**. Traducido por F. J. S. Trepal. Zaragoza: Acibis, 1994.

FIDELIS, Q. C.; CASTRO, R. N.; GUILHON, G. M. S. P.; RODRIGUES, S. T.; SALLES, C. M. C.; SALLES, J. B.; CARVALHO, M. G. Flavonoids and other compounds from *Ouratea ferruginea* (Ochnaceae) as anticancer and chemopreventive agents. **Molecules**, v. 17, p. 7989-8000, 2012.

FIDELIS, Q. C.; RIBEIRO, A. N.; ARAÚJO, M. F.; CARVALHO, M. G. *Ouratea* genus: chemical and pharmacological aspects. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 24, p. 1-19, 2014.

FOOD INGREDIENTES BRAZIL: dossiê óleos. São Paulo: Editora Insumos Ltda, n.31, setembro/outubro/novembro. 2014.

FORGO, P.; KÖVÉR, K. E. Gradient enhanced selective experiments in the <sup>1</sup>H NMR chemical shift assignment of the skeleton and side-chain resonances of stigmasterol, a phytosterol derivative. **Steroids**, v. 69, p. 43-50, 2004.

FREIRE, R. M. M.; DOS SANTOS, R. C.; BELTRÃO, N. E. Qualidade nutricional e industrial de algumas oleaginosas herbáceas cultivadas no Brasil. **Óleos & Grãos**, São Paulo, v. 5, n. 28, p. 49-53, 1996.

FREIRE, R. M. M.; AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F. Ricinoquímica. O agronegócio da mamona no Brasil. **Comunicação para transferência de tecnologia**, p. 295-335, 2001.

FUENTES, P. H. A. **Avaliação da qualidade de óleos de soja, canola, milho e girassol durante o armazenamento**. 2011. 109 f. Dissertação (Mestrado) – Pós-graduação em dos alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis, 2011.

GANGOUE-PIEBOJI, J.; PEGNYEMB, D. E.; NIYITEGEKA, D.; NSANGOU, A.; EZE, N.; MINYEM, C.; MBING, J. N.; NGASSAM, P.; TIH, R. G.; SODENGAM, B. L.; BODO, B.

- The in-vitro antimicrobial activities of some medicinal plants from Cameroon. **Annals of tropical medicine and parasitology**, v. 100, n. 3, p. 237-43, 2006.
- GARTLAN, S.; MCKEY D. B.; WATERMAN, P. G.; MBI, C. N.; STRUHSAKER, T. T.; A. Comparative study of the phytochemistry of two African rain forests. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 8, p. 401-422. 1980.
- GIBSON, R.; MAKRIDES, M. N-3 polyunsaturated fatty acid requirements of term infants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 251-255, 2000.
- HARRIS, W.S.; MOZAFFARIAN, D.; RIMM, E.; KRIS-ETHERTON, P.; RUDEL, L.L.; PPEL, L.J. Omega-6 fatty acids and risk for cardiovascular disease: a science advisory from the American Heart Association Nutrition Subcommittee of the Council on Nutrition, physical Activity, and Metabolism; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 119(6):902-7, 2009.
- HATANAKA, E.; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. *Rev Bras Farmacol.* 88(2):53-8, 2007.
- HEYWOOD, V.H. Flowering Plants of the World. **London: Oxford University Press**, 1978.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, p. 247, 1985.
- LIANG, Y.; XIE, P.; CHAN, K. Quality control of herbal medicines. **Journal of Chromatography B**, v. 812, p. 53-70, 2004.
- LIMA JÚNIOR, F. J. B. **Ação antiespasmódica gastrointestinal e potencial efeito anti-inflamatório do cinamato de metila em ratos sujeitos a modelo de colite por ácido acético**. 2013. 96 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.
- LIMA, J. R. O. **Síntese e caracterização físico-química, térmica e espectroscópica de biodiesel de babaçu (*Orbignya sp.*), tucum (*Astrocaryum vulgare*), macaúba (*Acrocomia aculeata*) e soja (*Glycine max*) por rota alcalina metálica e etélica**. 2005. 109 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Naturais, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2005.
- LUTZ, Instituto Adolfo (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.
- MACHADO, G. C.; CHAVES, J. B. P.; ANTONIASSI, R. Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu. **Revista Ceres**, v.53, n. 308, p. 463-470, 2006.
- MARINHO, M. G. V.; SILVA, C. C.; ANDRADE, L. H. C. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n. 2, p.170-182, 2011.

- MANGA, S. S. E.; MESSANGA, B. B.; SONDEGAM, B. L. 7,8 - dihydrobenzofuranones from *Ouratea reticulata*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 706-708, 2001.
- MANTA, Júlia. Batiputá dos tremendaú. **O Estado**. Fortaleza, CE, 19 jan. 2016. 1-5 p. Disponível em: <<http://www.oestadoce.com.br/cadernos/oev/batiputa-dos-tremedau>>. Acesso em: 1 jul. 2017.
- MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; Ácidos graxos de algumas oleaginosas tropicais em ocorrência no nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 15, n. 3, p. 179-273, 1992.
- MATOS, Francisco José de Abreu. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3. ed. Fortaleza: Editora UFC, 2008. 150p.
- MCNEILL, J. R.; JURGENS, T. M. A systematic review of mechanisms by which natural products of plants origin evoke vasodilatation. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 84, p. 803-821, 2006.
- MECHI, R.; CANIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. **Cien. Tecnol. Alimentos**, v. 25, p. 109-114, 2005.
- MENDES, H. C.; SOUZA, E. M.; NETO, J. M. M. Óleo de babaçu: estudo refratométrico e avaliação multivariada do perfil cromatográfico. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v. 48, n. 2, p. 82-85, 1999.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons. **Clarendon Press**, Oxford, p. 1500, 1950.
- MEYER, J. M. **Teor e composição de ácidos graxos de óleos de frutos de palmeiras nativas**. 2013. 90 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, São Paulo, 2013.
- MONACHE, F. D.; D'ALBUQUERQUE, I. L.; FERRARI, F.; MARINI-BETTOLO, G. B. New catechol, (-)-3,3',5,5',7-pentahydroxy-4'-methoxyepicatechol. **Annali Chim.**, v. 57, 964-971. Apud Chemical Abstract, 68, 78077, 1967.
- MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109- 122, 2006.
- MOREIRA, I. C.; SOBRINHO, D. C.; CARVALHO, M. G. de; BRAZ-FILHO, R. Isoflavanone dimers hexaspermone A, B and C from *Ouratea hexasperma*. **Phytochem.**, v. 35, p. 1567-1572, 1994.
- MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L.; KUSKOSKI, E. **Introdução à ciência de alimentos**. Florianópolis, SC: Ed. da UFSC, 2002. 255p.
- MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais**. São Paulo: Varela, 1998. 150p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. BRASIL, 2012.**

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO AGRÁRIO. **Políticas de Inclusão Produtiva Ampliam Participação de Mulheres na Produção Rural. BRASIL: MDA, 2012.**  
Disponível em: <[http://portal.mda.gov.br/portal/noticias/item?item\\_id=9385951](http://portal.mda.gov.br/portal/noticias/item?item_id=9385951)>. Acesso em: 15 dez. 2013.

NES, W. D.; NORTON, R. A.; BENSON, M. Carbon  $^{13}\text{C}$  NMR studies on sitosterol biosynthesized from [ $^{13}\text{C}$ ] mevalonates. **Phytochemistry**, v. 31, p. 805-811, 1992.

NICKAVAR, B.; MOJAB, F.; JAVIDNIA, K.; AMOLI, M. A. R. Chemical Composition of the Fixed and Volatile Oils of *Nigella sativa* L. from Iran. Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen. <<http://www.znaturforsch.com>>. Tübingen, 2003.

NJOCK, G. B. B.; BARTHOLOMEUSZ, T. A.; FOROOZANDEH, M.; PEGNYEMB, D.E.; CHRISTEN, P.; JEANNERAT, D.; NASCA-HMBC. A new NMR methodology for the resolution of severely overlapping signals: application to the study of agathisflavone. **Phytochem. Anal.**, v. 23, p. 126-130, 2012.

NOVAES, C. G.; NETO, J. H. S.; LEDO, P. F.; SANTOS, M. J. S.; SANTOS, B. G.; RIBEIRO, J. P. Determinação de Ca, Fe, K, Mg e Zn em frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) usando Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente. **Exatas online**, v. 6, n. 2, p. 11-20, 2015.

MANTA, Júlia. **Na mata dos Tremembé.** Fortaleza, CE, 27 jan. 2015. Disponível em: <<http://www.oestadoce.com.br/cadernos/oev/opinia-na-mata-dos-tremembe>>. Acesso em: 3 jun. 2017.

OLIVEIRA, F., AKISSUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1993. 216 p.

OLIVEIRA, M. M.; SAMPAIO, M. P.; SIMON, F.; GILBERT, B.; MORS, W. B. Antitumour activity of condensed flavanols. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, v. 44, p. 41-44, 1972.

*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl. in **Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB19917>>. Acesso em: 29 de junho. 2017.

PADILHA, P. C.; PINHEIRO, R. L. O Papel dos Alimentos Funcionais na Prevenção e Controle do Câncer de Mama. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 50, n. 3, p. 251-260, 2004.

PAULO, M. Q., LIMA, E. O., MAIA, R. F., XAVIER FILHO, L. Antimicrobial activity of the oil of the fruit of *Ouratea parviflora* Baill (Ochnaceae). **CCS**, v. 8, p. 19-21, 1986.

PENTEADO, J. C. P.; MAGALHÃES, D.; MASINI, J. C. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2190-2193, 2008.

PEREIRA, N. P.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Composição química do óleo fixo obtido dos frutos secos da [*Chamomilla recutia* (L.) Rauschert] produzida no município de Mandirituba-PR. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 334-337, 2005.

PICKEL, D. Bento José. **Flora do Brasil segundo Piso e Marcgrave: no século XVII**. Recife: EDUFRPE, 2008. 312 p.

PIEPER, B.; CALIRI, M.H. Nontraditional wound care: a review of the evidence for use of sugar, papaya/papain, and fatty acids. **J Wound Ostomy Continence Nurs**, v.30, n.4, p.175-83, 2003.

PINA, E. M. L. **Estudo fitoquímico das cascas da raiz de *Guettarda platypoda* DC. (Rubiaceae)**. 2011. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

PINHEIRO, A. A. V. **Contribuição para o conhecimento fitoquímico de *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) e avaliação da atividade antimicrobiana do seu óleo essencial**. 2016. 116 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa- PB, 2016.

PINHEIRO, D. M.; PORTO, K. R. A.; MENEZES, M. E. S. **A química dos alimentos: carboidratos, lipídios, proteínas e minerais**. Maceió: Edufal, 2005. 52 p.

POLLONIO, M. Alimentos funcionais: as recentes tendências e os envolvidos no consumo. **Higiene Alimentar**, v. 14, p. 26-31, 2000;

PORTO, Anderson. **Entrevista Professor Abreu Matos – Criador do Projeto Farmácia Viva**. Brasil, 24 fev. 2012, 12:11h. Disponível em: <<https://tudosobreplantas.wordpress.com/2012/02/24/entrevista-com-o-professor-francisco-jose-de-abreu-matos-criador-do-projeto-farmacias-vivas/>>. Acesso em: 6 jan. 2015.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino. **Rev. Virtual Quim.**, v. 5. n. 1. p. 2-15, 2012.

REDA, Seme Youssef; COSTA, Bill; SOSSELA, Renato. **Determinação da Glicerina Livre em Amostras de Biodiesel Etílico por RMN de Hidrogênio**. Curitiba: UFPR, 2008. 5 p.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**, p.194. 2004.

RIBEIRO, Paulo César Lima. **O biodiesel no Brasil e no mundo e o potencial do estado da Paraíba**. Brasília: Biblioteca Digital da Câmara dos Deputados, 2007. 33 p.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. 1. ed. São Paulo: Editora Premier, 1997. 372 p.

RODRIGUES, A. G.; DE SIMONI, C. Plantas medicinais no contexto de políticas públicas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 7-12, mar./abril, 2010.

ROSA, C.; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciências & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 311-318, 2011.

SANTANA, A. L. B. D. **Estudo químico, antitermítico e antifúngico da madeira de lei *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan Var. Cebil (Griseb) Von Reis Alt. (Angico-de-carço)**. 2011. 187 f. Tese (Doutorado em Química) - Curso de Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

SANTOS R. D.; GAGLIARDI A. C. M.; XAVIER H. T.; MAGNONI C. D.; CASSANI R.; LOTTENBERG, A. M. P.; CASELLA FILHO A.; ARAÚJO, D. B.; CESENA, F. Y.; ALVES, R. J.; FENELON, G.; NISHIOKA, S. A. D.; FALUDI, A. A.; GELONEZE, B.; SCHERR, C.; KOVACS, C.; TOMAZZELA, C.; CARLA, C.; BARRERA-ARELLANO, D.; CINTRA, D.; QUINTÃO, E.; NAKANDAKARE, E. R.; FONSECA, F. A. H.; PIMENTEL, I.; SANTOS, J. E.; BERTOLAMI, M. C.; ROGERO, M.; IZAR, M. C.; NAKASATO, M.; DAMASCENO, N. R. T.; MARANHÃO, R.; CASSANI, R. S. L.; PERIM, R.; RAMOS, S. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 100 n. 1, Jan., 2013.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, 2000. 460 p.

SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R.; PASQUINI, C. **Princípios de Química Analítica**. 6. Ed. São Paulo: Thomson, 2009.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias das Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2012.

SUZART, L. R.; CARVALHO, M. G.; CAVATI, L. C.; KAPLAN, M. A. C. Chemical constituents from the inflorescences of *Ouratea hexasperma*. **Chem. Nat. Comp.**, v. 48, p. 472-473, 2012.

SUZART, L. R.; DANIEL, J. F. de S.; CARVALHO, M. G. Biodiversidade Flavonoídica e Aspectos Farmacológicos em Espécies dos Gêneros *Ouratea* e *Luxemburgia* (*Ochnaceae*) **Quim. Nova**, v. 30, n. 4, p. 984-987, 2007.

SUZART, L. R.; FIDELIS, Q. C.; de CARVALHO, M. G.; KAPLAN, M. A. C. Special Metabolites Isolated from Engl. (*Ochnaceae*). **Rev. Virtual Quim.**, v. 8, n. 1, p. 288-295, 2016.

TANGO, J. S.; TURATTI, J. M. Óleo de abacate. In: ITAL. Abacate: cultura, matéria-Prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas: ITAL, 1992. p. 156-192.

THE PLANT LIST. United Kingdom, 2013. Disponível em:< <http://www.theplantlist.org/> >. Acesso em: 11 de maio 2017.

THURNHAM, D. I. Functional foods: cholesterol-lowering benefits of plants sterols. **Br. J. Nutr.**, v. 82, p. 255-256, 1999.

TOMA, D. **Análise da qualidade de óleos vegetais em sementes intactas por RMN de baixa resolução.** 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Instituto de Química de São Paulo, Universidade de São Paulo, 2009.

VALADARES, Y. M.; OLIVEIRA, A. B.; CÔRTEZ, S. F.; LOMBARDI, J. A.; BRAGA, F. C. Atividade vasodilatadora in vitro de espécies de *Ouratea* (Ochnaceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.** v. 39, n. 1, jan. /mar., 2003.

VAINIO, H.; MUTANEM, M. Functional foods. Blurring the distinction between food and medicine. **Scand. J. Work Environ. Health**, n. 2692, p. 178-80, 2000.

VALENZUELA, A.B.; NIETO, S.K. Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal: su importancia en el desarrollo del sistema nervioso y visual. **Rev. Chil. Pediatr.**, n. 74, p. 149-57, 2003.

VALENZUELA, A.B.; NIETO, S.K. Ácido docosahexaenoico (DHA) em el desarrollo fetal y em la nutrición materno-infantil. **Rev Med.**, Chile, n. 129, p. 1203-11, 2001.

VELANDIA, J.R.; de CARVALHO, M. G.; BRAZ FILHO, R. Novel trichloro and trachloro isoflavone isolated from *Ouratea semiserrata*. **Nat Prod Lett**, n. 12, p. 191-198, 1998.

VELANDIA, J. R.; CARVALHO, M. G. de; BRAZ-FILHO, R.; WERLE, A. A. Biflavonoids and a glucopyranoside derivative from *Ouratea semiserrata*. **Phytochemical. Analysis.**, n. 13, p. 283-292, 2002.

VISENTAINER, J. V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. **Química nova**, Maringá-PR, v. 2, n. 35, p. 274-279, jul., 2012.

VIGLI, G.; SPYROS, A.; DAIS, P. Classification of edible oils by employing <sup>31</sup>P and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy in combination with multivariate statistical analysis. A proposal for the detection of seed oil adulteration in virgin olive oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5715-5722, 2003.

WILSON, Keith; WALKER, John. **Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology.** 7. ed. United Kingdom: Cambridge University Press, 2010. 352 p.

YOKOYAMA, L. P. Aspectos conjunturais da produção de feijão. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F. (Ed.). *Produção de feijoeiro comum em várzeas tropicais.* Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, p. 249-292, 2002.

APÊNDICE A

Número	Composto	Espécie	Parte	Referência
1	Cianidina	<i>O. affinis</i> / <i>O. calantha</i>	-	GARTLAN <i>et al.</i> , 1980
2	Bigenkanina	<i>O. spectabilis</i>	Folhas	FELÍCIO <i>et al.</i> , 1995
3	7,7''- O-dimetilagatisflavona	<i>O. spectabilis</i>	Folhas	FELÍCIO <i>et al.</i> , 1995
4	amentoflavona	<i>O. multiflora</i>	Folhas	FELÍCIO <i>et al.</i> , 2001
5	3-OH-4',5,7OMe-flavona-(6→8'')- 3''-OH -''' 4''' 5''' 7'''-OMe flavona	<i>O. multiflora</i>	Folhas	FELÍCIO <i>et al.</i> , 2001
6	3',6,8-cloro-4',5-OH-7-OMe isoflavona	<i>O. semisserata</i>	Hastes e galhos	VELANDIA <i>et al.</i> , 2002
7	3',5',6,8-cloro-4',5-OH-7-OMe isoflavona	<i>O. semisserata</i>	Hastes e galhos	VELANDIA <i>et al.</i> , 2002
8	5,7-OH-flavona-(4'→O→8'')-4''' 5''' 7'''-OH flavona	<i>O. semisserata</i>	Hastes e galhos	VELANDIA <i>et al.</i> , 2002
9	5-OH-7- OMe-flavona-(4'→O→8'')- 4''' 5''' 7'''-OH flavona	<i>O. semisserata</i>	Hastes e galhos	VELANDIA <i>et al.</i> , 2002
10	5-OH-7-OMe-flavona-(4'→O→8'')-5''' 7'''-OH-4'''-OMe flavona	<i>O. semisserata</i>	Hastes e galhos	VELANDIA <i>et al.</i> , 2002
11	Amentoflavona	<i>O. semisserata</i>	Folhas	VELANDIA <i>et al.</i> , 2002
12	Podocarpusflavona	<i>O. semisserata</i>	Folhas	VELANDIA <i>et al.</i> , 2002
13	Rutina	<i>O. semisserata</i>	Flor	SUZART <i>et al.</i> , 2012
14	Hexaspermona A	<i>O. hexasperma</i>	Raiz	MOREIRA <i>et al.</i> , 1994
15	Hexaspermona B	<i>O. hexasperma</i>	Raiz	MOREIRA <i>et al.</i> , 1994
16	Hexaspermona C	<i>O. hexasperma</i>	Raiz	MOREIRA <i>et al.</i> , 1994
17	5,7,4'-OMe-isoflavona	<i>O. hexasperma</i>	Folhas	DANIEL <i>et al.</i> , 2005

APÊNDICE A

18	7"-Ometilagatisflavona	<i>O. hexasperma</i>	Folhas	DANIEL <i>et al.</i> , 2005
19	7,7"-O-dimetilanaflavona	<i>O. hexasperma</i>	Folhas	DANIEL <i>et al.</i> , 2005
20	Agastiflavona	<i>O. hexasperma</i>	Folhas	DANIEL <i>et al.</i> , 2005
21	Epicatequina	<i>O. hexasperma</i>	Folhas	DANIEL <i>et al.</i> , 2005
22	6-C-glicopiranosil-luteolina	<i>O. hexasperma</i>	Folhas	DANIEL <i>et al.</i> , 2005
23	3-O-glicopiranosil-quercetina	<i>O. hexasperma</i>	Folhas	DANIEL <i>et al.</i> , 2005
24	2"-O-β-D- glicopiranosil-8-C-β-D-glicopiranosil luteolina	<i>O. hexasperma</i>	Folhas	DANIEL <i>et al.</i> , 2005
25	Vitexina	<i>O. hexasperma</i>	Inflorescência	SUZART <i>et al.</i> , 2012
26	Orientina	<i>O. hexasperma</i>	Inflorescência	SUZART <i>et al.</i> , 2012
27	6"-O-acetylvitexina	<i>O. gilgiana</i>	Folhas	NJOCK <i>et al.</i> , 2012
28	Ácido 3-β-esteárico / palmítico-maslínico	<i>O. cuspidata</i>	Folhas e galhos	SUZART <i>et al.</i> , 2016
29	Ácido 2-α-esteárico / palmítico-maslínico	<i>O. cuspidata</i>	Folhas e galhos	SUZART <i>et al.</i> , 2016

Fonte: Adaptado de Fidelis, 2014 e Suzart, 2016.