



Avaliação do potencial das folhas do Boldo do Chile como inibidor da peroxidação lipídica

Kelly Barbosa da SILVA¹, Elisson Diego Souto COSTA², Iran Barbosa VITAL³, Aldenir Feitosa dos SANTOS⁴

¹Universidade Estadual de Alagoas-UNEAL/Arapiraca-AL; Grupo de Pesquisa em Química GRUPEQ/UNEAL; Graduada no curso de Licenciatura em Química; Email: kelly.barbosa.silva@gmail.com

²Fundação Educacional Jayme de Altavila-FEJAL/Centro Universitário Cesmac; Graduando do curso de Farmácia do Centro Universitário Cesmac; Email: elisson_diego@hotmail.com

³Fundação Educacional Jayme de Altavila-FEJAL/Centro Universitário Cesmac; Graduando do curso de Farmácia do Centro Universitário Cesmac; Email: iranvital@gmail.com

⁴ Universidade Estadual de Alagoas-UNEAL/Arapiraca-AL; Grupo de Pesquisa em Química - GRUPEQ/UNEAL; Centro Universitário Cesmac; Doutora em Química e Biotecnologia; Email: aldenirfeitosa@gmail.com

Resumo - O uso de espécies vegetais como fonte de novos medicamentos ainda oferece grandes vertentes para a investigação científica nos dias atuais. Desta forma, o boldo do Chile um tipo de espécie vegetal arbórea que pertence à família monimiaceae apresenta alguns benefícios farmacológicos para a saúde, pois é comumente usado na medicina popular para problemas digestivos e hepáticos. Assim, a presente pesquisa teve o propósito de avaliar o boldo do Chile como inibidor da peroxidação lipídica, através do método TBA (ácido tiobarbitúrico). Desta maneira, foi observado que resultados adquiridos indicaram que o extrato etanólico das folhas do boldo do Chile apresenta um significativo potencial de inibição da peroxidação lipídica equivalente a o antioxidante sintético BHT (di-terc-butyl metil fenol). O extrato vegetal apresentou o índice antioxidante (IA%) de 32,63006 a 100 µg/mL. Essa ação pode ser atribuída aos compostos fenólicos já detectados nesta espécie evidencia sua importância como fonte de produtos naturais bioativos para fins farmacológicos.

Palavras-chave: *Peumus boldus*, radicais, produtos naturais, ação farmacológica.

Abstract - The use of plant species as sources of new drugs still offers major areas for scientific research nowadays. Thus, the Chilean Boldo a type of plant species belonging to the family tree Monimiaceae presents some pharmacological benefits for health because it is commonly used in folk medicine for digestive problems and liver. Thus, the present study aimed to evaluate the bilberry of Chile as an inhibitor of lipid peroxidation, using the method TBA (thiobarbituric acid). Thus, it was observed that the results obtained indicated that the ethanolic extract from the leaves of bilberry Chile sigficativo presents a potential inhibition of lipid peroxidation equivalent to the synthetic antioxidant BHT (di- tert -butyl methyl phenol). The plant extract showed antioxidant index (AI %) 32.63006 to 100 mg / mL . This action can be attributed to phenolic compounds have been detected in this species shows its importance as a source of bioactive natural products for pharmacological purposes.

Keywords: *Peumus boldus*, radicals, natural products, pharmacological action.



Introdução

O potencial farmacológico das plantas ovaciona sua importância como fonte de novos fármacos, desta forma, ainda oferece grandes subsídios para investigação científica, pois das cercas de 250 000 a 500 000 espécies conhecidas, uma pequena porcentagem já foi investigada fitoquimicamente e apenas uma fração destas já foi avaliada quanto ao potencial farmacológico (RATES, 2001, p. 603). Mesmo entre as plantas com uso medicinal tradicional ainda há um grande percentual que não foi objeto de estudo visando à comprovação da eficácia e da segurança de seu uso (CORDELL & COLVARD, 2005, p. 6).

Vários estudos têm associado o consumo de chás e a redução do risco de desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas. Alguns desses demonstram que em relação a doenças cardiovasculares, o chá agiu diminuindo os níveis de colesterol total, pressão arterial e agregação plaquetária, além de atuarem inibindo a atuação de ácido araquidônico e seus metabólitos resultando em diminuição da resposta inflamatória (CRAIG, 1999, p. 491).

O boldo do Chile (*Peumus boldus*) é uma espécie arbórea, pertencente à família Monimiaceae e nativa das regiões central e sul do Chile, onde ocorre abundantemente. Suas folhas são usadas na medicina popular para tratamento de problemas digestivos e hepáticos. Além do uso popular, inúmeras preparações a base de boldo são descritas em vários textos farmacognósticos oficiais, como Martindale Extra Farmacopéia e as farmacopéias oficiais do Brasil, Chile, Alemanha, Portugal, Romênia, Espanha e Suíça. O boldo é também empregado na medicina homeopática (SPEISKY H & CASSELS, 1994, p. 3; BRANDÃO et al., 2006, p. 409 e AGRA et al., 2007, p. 116)

A maioria da população acredita que possui no quintal o boldo do Chile, no entanto o verdadeiro é raríssimo no Brasil. No país ocorrem algumas plantas que são chamadas de boldos e os principais são: o boldo da terra (boldo de folha peluda) e o boldo-baiano, que pode ser considerado o mais alto. As folhas do boldo do Chile possuem odor muito próximo da erva-de-santa-maria devido à presença de mesma substância. De qualquer maneira o boldo que é comercializado nas farmácias é o verdadeiro, pois o Brasil gasta muito dinheiro com importação desta espécie, apesar de possuir plantas com eficácia semelhante (SPEISKY H & CASSELS, 1994, p. 3).

A denominação boldo no início do século só era referência ao boldo do Chile e na Primeira Farmacopéia Brasileira de 1929, há somente citação deste com nome científico – Boldus - que atualmente não é mais utilizado, exceto em algumas farmácias. As seguintes atividades farmacológicas são atribuídas ao boldo do Chile: estimulante de secreções gástricas, facilitando a digestão (HOFFMANN, 1981, p.31), antidiséptico, colerético e colagogo, antiespasmódico, associado a drogas como a alcachofra, é utilizado em ardores esofágicos e epigástricos, e associações com cáscara-sagrada são usadas na constipação, tratamento de cálculos biliares, cistite e coledolitíase acompanhada de dor e diurético (SOUSA et al., 2013, p. 594; SCHWANZ, 2006, p. 16). Diversas pesquisas foram realizadas comprovando a ação antioxidante do boldo.

Seus principais princípios ativos são: Óleo essencial (eucaliptol, ascaridol, cineol, eugenol e alfa pineno); Alcalóides tais como boldina, iso-coridina, nor-isocoridina, N-metil-laurotetanina e esparteína; Taninos; Glicosídeos (glucoboldina ou boldoglucina); Flavonóides; Sitosterol; Ácido oléico, linoleico, linolênico e substâncias minerais (SOUSA et al., 2004,



p.445; MATSUBARA & RODRIGUEZ-AMAYA, 2006, p. 381) . A presença de compostos fenólicos nesta espécie vegetal justifica seu potencial antioxidante (CUNHA, 2013).

A capacidade antioxidante da boldina parece estar relacionada com a habilidade em seqüestrar radicais hidroxila e peroxila. Através de um mecanismo de ação antioxidante, a boldina mostrou-se capaz de atenuar a inativação do citocromo P450_{2E1} humano e de inibir a peroxidação de lipídios em microsomos hepáticos tratados com agentes redutores de atenuar o desenvolvimento de diabetes e de proteger células vermelhas da clivagem hemolítica induzida *in vitro* por 2,2'-azobis-(2-amidinopropano) (YOUN et al., 2002, p. 497; KRINGSTEIN & CEDERBAUM, 1995, p. 560; JANG et al., 2000, p. 363 e JIMÉNEZ et al., 2000, p. 340).

O termo antioxidante tem natureza multiconceitual. No entanto, de maneira geral e no contexto deste trabalho, 'antioxidante' pode ser definido como uma família heterogênea de moléculas naturais, que, presentes em baixas concentrações, comparativamente às biomoléculas que supostamente protegeriam, podem prevenir ou reduzir a extensão do dano oxidativo (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007; BROINIZI et al., 2007, p. 903).

Dentre os antioxidantes enzimáticos mais estudados, destacam-se as superóxido dismutases, consideradas como a linha de frente de defesa antioxidante, embora possam exibir atividade peroxidásica, na presença de excesso de H₂O₂ destacam-se também a catalase e as glutatonas peroxidases, encarregadas de reduzir peróxidos geradores de radicais [•]OH e [•]OR, respectivamente (FERREIRA & MATSUBARA, 1997, p. 63; VELLOSA et al., 2007, p.120; GOTTLIEB et al., 2011, p.69).

Segundo Sousa et al. (2007, p. 352) os compostos com ação antioxidantes estabilizam ou desativam as espécies de radicais antes que estes ataquem alvos biológicos nas células causando doenças. Sendo assim, eles inibem a oxidação de vários substratos através de duas formas, pela inibição da formação dos radicais (impossibilitando a etapa de iniciação) ou pela eliminação destes radicais (interrompendo a reação de oxidação em cadeia), podendo ser endógenos ou exógenos (SOARES, 2002, p. 72).

Quanto aos antioxidantes de baixo peso molecular (antioxidantes “químicos”), devem-se incluir algumas vitaminas (C, E e A), outros produtos naturais (ex.: carotenoides, flavonoides, outros polifenóis, furanoides e tióis) e produtos sintéticos (ex.: Ebselen, *N*-acetilcisteína e Trolox). É interessante notar que espécies carbonílicas no estado triplete, produzidas na termólise de dioxetanos e dismutação de radicais alcóxilas e peróxilas, formadas com altos rendimentos durante a peroxidação lipídica e outras oxidações biológicas, têm sido negligenciadas na literatura apesar de, *in vitro*, terem exibido reatividade similar à de radicais alcóxila (CILENTO & ADAM, 1995, p. 104; MCKAY & BLUMBERG, 2002, p. 3; VELLOSA et al., 2007, p.121).

Nos chás, a ação antioxidante está diretamente relacionada à sua estrutura química, na qual há a combinação de anéis aromáticos e grupos hidroxil, que proporcionam a capacidade de ligação e neutralização dos radicais livres (RL) (MCKAY & BLUMBERG, 2002, p. 2; SOARES, 2002, p. 73).

Diversos antioxidantes naturais já foram isolados de chás com ação bloqueadora da formação de malonildialdeído (MDA), um dos produtos finais da peroxidação lipídica (POVOA FILHO, 1995). Apesar da atividade antioxidante do boldo do Chile já ter sido comprovada, existe ainda uma grande necessidade de estudar seu efeito como inibidor da peroxidação lipídica buscando fundamentar ainda mais a importância desta espécie para fins medicinais, fornecendo mais validação para utilização farmacológica desta planta na produção de novos fármacos a partir de produtos naturais. Diante dessas premissas a presente pesquisa



teve o objetivo de avaliar o potencial das folhas de Boldo do Chile (*Peumus boldus*) como inibidor da peroxidação lipídica.

Metodologia

Campo de realização da pesquisa

A presente pesquisa foi desenvolvida na cidade de Maceió que pertence ao estado de Alagoas que fica localizado na região nordeste do Brasil (Figura 1). Esta pesquisa se trata de um estudo experimental com avaliação laboratorial *in vitro*, realizado no laboratório multidisciplinar de pesquisa pertencente ao Centro Universitário CESMAC.



Figura 1 - Localização da cidade de Maceió. Fonte: (SILVA, 2013, p.52).

Preparação do extrato etanólico das folhas do Boldo do Chile

O material vegetal para obtenção do extrato etanólico bruto das folhas do boldo do Chile foram obtidas em farmácias e lojas credenciadas para venda de ervas na cidade de Maceió-AL. O extrato etanólico do boldo do Chile (*Peumus boldus*) foi preparado através do método de maceração etanólica, no qual as folhas secas do Boldo do Chile foram pesadas e posteriormente trituradas em liquidificador e transferidas para um percolador juntamente com etanol absoluto por um período de 72 horas. Após esse período, o extrato foi filtrado com auxílio de algodão, esse procedimento foi repetido até extração exaustiva do material vegetal. A amostra etanólica e líquida do Boldo do Chile adquirida foi concentrada em um evaporador rotatório sob pressão reduzida (rota-evaporador) até a obtenção do extrato etanólico bruto das folhas do *Peumus boldus* (Figura 2).

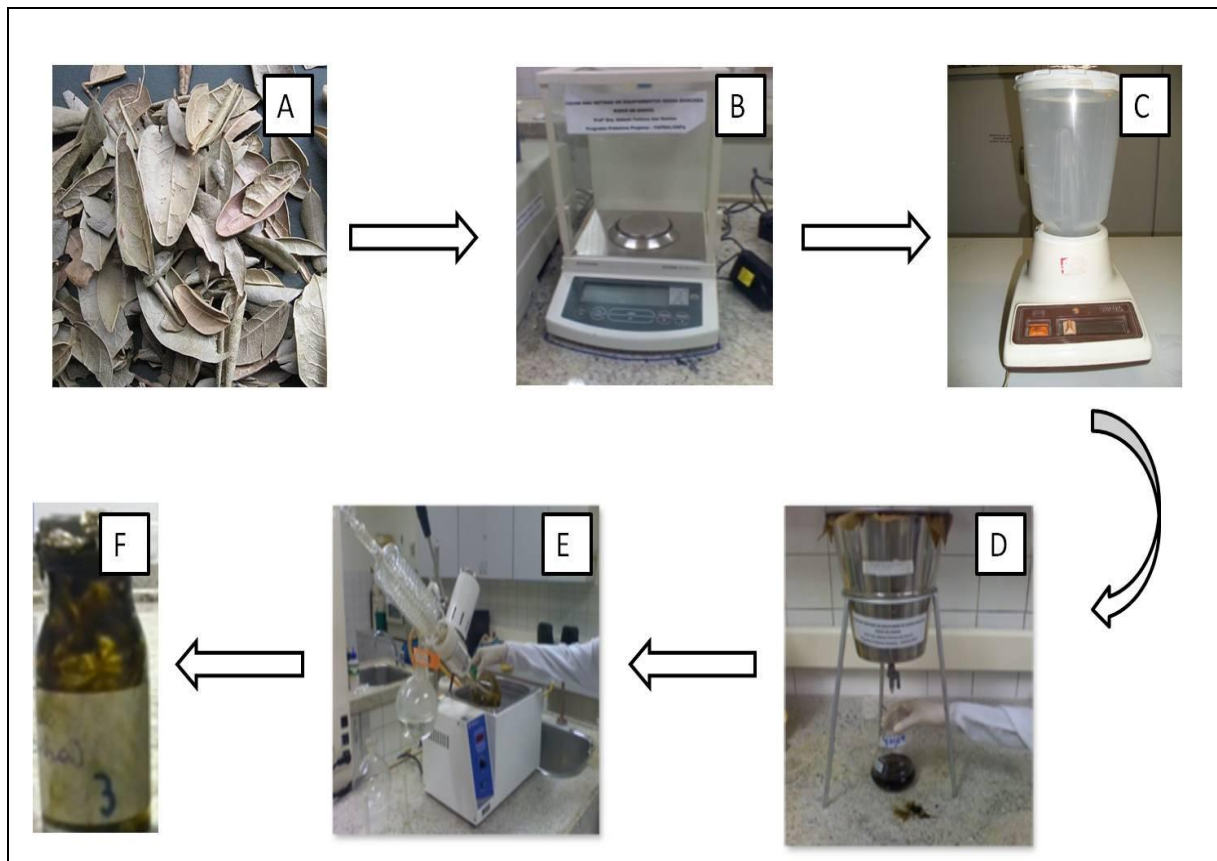


Figura 2 - Folhas secas do boldo (A); pesagem do material na balança (B); trituração no liquidificador (C); filtração no percolador (D); rota-evaporação (E) e extrato etanólico bruto das folhas do boldo (F). Fonte: Dados da pesquisa.

Avaliação da atividade antioxidante pelo método do ácido tiobarbitúrico – (TBA)

Foi utilizada solução de gema de ovo homogeneizada como meio rico em lipídeos. O procedimento foi feito em quintuplicata, conforme metodologia descrita por Moraes (2006). Em cinco tubos de ensaio foram adicionados 0,5 mL da solução de gema de ovo (10% m/v) e 0,1 mL de solução da amostra vegetal EEB (extrato etanólico bruto) dissolvida em metanol, completando-se o volume para 1 mL com água. A amostra EEB foi avaliada em três concentrações: 100, 500 e 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ (m/v).

Em seguida, foi adicionado, a cada tubo, 0,05 mL de cloreto de 2,2'-azo-bis (2-amidino propano) - ABAP (0,07 mol/L) para induzir a peroxidação dos lipídeos. Foram adicionados 1,5 mL de solução 20% de ácido acético (pH 3,5) e 1,5 mL de solução de TBA (0,8% m/v) em solução de dodecil sulfato de sódio - SDS (1,1% m/v).

No tubo controle foram adicionados todos os reagentes exceto a amostra vegetal para se observar à completa peroxidação dos lipídeos. Utilizou-se como padrão positivo o antioxidante 3,5-di-*tert*-butil-4-hidroxitolueno - BHT na mesma proporção a que foram submetidas às amostras vegetais. Os tubos de ensaio foram levados ao banho-maria a 95 °C, sob agitação, por 1 h. Após resfriamento, adicionou-se 5 mL de 1-butanol a cada tubo e centrifugados a 3000 rotações por minuto (rpm), durante 10 minutos.



Foi medida a absorvância da camada orgânica sobrenadante em um espectrofotômetro no comprimento de onda de 532 nm. Os valores obtidos foram aplicados na fórmula a seguir para determinação do Índice Antioxidante da amostra vegetal em percentual (IA%): $IA\% = (1 - A/C) \times 100$, onde C é a absorvância do controle totalmente oxidado e A, a média aritmética das absorvâncias da amostra testada (MORAIS, 2006, p. 908).

Resultados e discussão

Experimentos simples podem ser realizados para examinar diretamente a habilidade antioxidante *in vitro* e para testar possível efeito pro-oxidante em diferentes alvos moleculares. Um dos métodos mais utilizados consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2, 2 – difenil -1- picril-hidrazila - DPPH. Este teste permite determinar a porcentagem de atividade antioxidante que corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante ou a atividade sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio racional (BRAND-WILLIAMS et al., 1990, p. 26; SÁNCHEZ-MORENO, 2002, p. 122; SOUSA et al., 2007, p.352).

Outro método *in vitro* também utilizado para avaliar atividade antioxidante e o ensaio da desoxirribose. Este açúcar é degradado quando exposto ao radical hidroxil, gerado por uma mistura que contenha Fe^{3+} , ascorbato e H_2O_2 na presença de uma pequena quantidade de EDTA. Se a mistura resultante for aquecida em condições ácidas, forma-se malonaldeído (MDA), que pode ser detectado por sua habilidade em reagir com o ácido tiobarbitúrico (TBA), formando um cromóforo róseo. Qualquer composto adicionado na mistura reacional capaz de reagir com OH poderá competir com a desoxirribose por este radical, diminuindo assim a degradação deste açúcar e a formação de MDA. Este método mede a combinação de dois fatores: habilidade em remover íons ferro da desoxirribose e habilidade em tornar tais íons inativos ou pobremente ativos na geração de OH (HALLIWELL et al., 1987, p. 216).

O método da atividade quelante de ferro é também muito utilizado para examinar potencial antioxidante. Este experimento avalia a inibição da geração de OH pela ligação com o metal de transição Fe. Isto pode ocorrer por dois mecanismos: a ligação do antioxidante com íons metal pode alterar seu potencial de oxirredução e/ou a capacidade deste metal em participar da formação do radical OH. Outra possibilidade é que tal ligação não impediria as reações de oxirredução, mais sim direcionaria essas reações para o antioxidante, poupando o alvo mais importante (ARUOMA et al., 1987, 290; GUTTERIDGE, 1984, p. 763).

Portanto, a atividade antioxidante pode e deve ser avaliada com diferentes mecanismos. A maioria dos métodos químicos utilizados são baseados na habilidade de seqüestrar diferentes radicais livres, mais também a habilidade de absorver UV e de quelar íons metais de transição podem ser utilizados (MOURE et al., 2001, p. 146).

A técnica mais utilizada para medir a lipoperoxidação é o teste do ácido tiobarbitúrico (TBA), que é um método espectrofotométrico que mede a concentração dos produtos oriundos da peroxidação de lipídeos. O produto final medido é o malonaldeído ou substâncias reativas do ácido barbitúrico (MAIA, 2006).

No teste TBA extrato etanólico das folhas do *Peumus boldus* apresentou um índice antioxidante equivalente ao apresentado pelo antioxidante sintético BHT nas concentrações de 1000 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ e 100 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela1). O extrato vegetal apresentou o índice antioxidante (IA%) de 32,63006 a 100 $\mu\text{g/mL}$.



Tabela 1 – Índice antioxidante do extrato etanólico das folhas do *Peumus boldus*.

Amostras	Concentrações das amostras µg/mL - Valores de IA%		
	1000 µg/mL	500 µg/mL	100 µg/mL
Extrato vegetal	34,01734 %	33,98844 %	32,63006 %
Controle BHT	34,56647 %	33,98844 %	32,08092 %

Fonte: Dados da pesquisa.

A capacidade de inibição da peroxidação lipídica apresentada pelo extrato vegetal pode ser relacionada aos constituintes químicos já identificados para a espécie.

Conclusão

Portanto, a intensificação de pesquisas em torno de espécies vegetais ricas em ações medicinais auxilia a busca por novas fontes naturais para formulação de novos medicamentos, sendo assim, considera-se que inúmeras substâncias naturais advindas das plantas comumente usadas como chás podem ser responsáveis pelo efeito de proteção contra algumas patologias que agredem o organismo. Desta forma pesquisas e estudos químicos vem contribuir, a fim de comprovar as possíveis atividades farmacológicas dessas espécies que são essências e indispensáveis para indústria farmacêutica.

Diante disso, a partir da presente pesquisa foi possível comprovar *in vitro* que o extrato etanólico das folhas do boldo do Chile (*Peumus boldus*) apresenta ação inibitória contra radicais, equivalente ao antioxidante sintético BHT. Tal propriedade faz desta espécie uma promissora candidata a fonte de antioxidantes naturais de uso humano, intensificando cada vez mais a utilização dos produtos naturais para fins medicinais, uma vez que, estes apresentam resultados significativos como fontes de produtos bioativos ricos em ações biológicas e terapêuticas relevantes para produção de novos fármacos.

Referências bibliográficas

- AGRA, M. F.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 17: 114-140, 2007.
- ARUOMA, O. I.; GROOTVELD, M.; HALLIWELL, B. The role of iron in ascorbate-dependent deoxyribose degradation. Evidence consistent with a site specific hydroxyl radical generation caused by iron ions bound to the deoxyribose molecule. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 29, 289-299, 1987.
- BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; MOREIRA, R. A.; MONTE-MOR, R. L. M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 16: 408-420, 2006.
- BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER M.; BERSSET C. Use of free radical method evaluate oxidante activity. *Lebensm-wiss Technol.*, London, v. 28, p. 25-30, 1990.
- BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEVEDO, H. M. C. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). Campinas. 902-903 p. out - dez 2007.
- CILENTO, G.; ADAM W. From free radicals to electronically excited species. *Free Rad Biol Med*. 19:103-114. 1995.
- CORDELL, G. A.; COLVARD, M. D. Some thoughts on the future of ethnopharmacology. *J Ethnopharmacol*, 100: 5-14, 2005.
- CRAIG, W. J. Health-promotion properties of common herbs. *Am J Clin. Nutr.*, v. 70, p. 491. Supplement. 1999.



- CUNHA, A. P. Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes activos e fitoterapia. Disponível em: <http://www.antonioacunha.com.sapo.pt/> acesso em 22/05/13.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estresse oxidativo. Botucatu, SP. *Rev Ass Med Brasil*, 61-68 p. 1997.
- GOTTLIEB, M. G.; MORASSUTTI, A.; CRUZ, I. Transição epidemiológica, estresse oxidativo e doenças crônicas não transmissíveis sob uma perspectiva evolutiva. *Scientia Medica*. Porto Alegre; 21(2) 69-80. 2011.
- GUTTERIDGE, J. M. C. Reactivity of hidroxil and hydroxyl-like radical discriminated by release of thiobarbituric-acid-reactive material from deoxyribose, nucleosides and benzoate. *Biochemical Journal*, 224, 761-767, 1984.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4th ed.; Oxford University Press: Oxford, 2007.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; ARUOMA, O. I. The deoxyribose method: A simple “test-tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry*, New York, 165 (1), 215-219, 1987.
- HOFFMANN, A. J. Seasonal growth rhythms in *Peumus boldus*, a dioecious tree of the Chilean mediterranean vegetation. *Acta Ecologica, Ecología Plantarum* 2(16): 31-39. 1981.
- JANG Y. Y.; SONG, J. H.; SHIN, Y. K.; HAN, E. S.; LEE, C. S. Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacol Res* 42: 361-371, 2000.
- JIMÉNEZ, I.; GARRIDO, A.; BANNACH, R.; GOTTELAND, M.; SPEISKY, H. Protective effects of boldine against free radical-induced erythrocyte lysis. *Phytother Res* 14: 339-343, 2000.
- KRINGSTEIN, P., CEDERBAUM, A. I. Boldine prevents human liver microsomal lipid peroxidation and inactivation of cytochrome P4502E1. *Free Radical Biol Med* 18: 559-563, 1995.
- MAIA, M. S. Viabilidade espermática e geração de metabólitos reativos do oxigênio (ROS) no sêmen ovino criopreservado em diluidor aditivado de laurel sulfato de sódio, trolox-C e catalase [tese]. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de medicina veterinária e zootecnia, Botucatu; 2006.
- MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Conteúdo de mircetina, quercetina e kaempferol em chás comercializados no Brasil. *Cienc Teconol Aliment* 26: 380-385, 2006.
- MCKAY, D. L.; BLUMBERG, J. B. The role of tea in human health: an update. *J. Am. Coll. Nutr.*, v. 21, n. 1, p. 1-13, 2002.
- MORAIS, S. M. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de Croton do nordeste do Brasil [periódico online]. *Quim. Nova*, vol. 29, n 5. p. 907-910. 2006.
- MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NUNEZ, M. J.; PARAJO, J. C. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145-171, 2001.
- POVOA FILHO, H. *Radicais livres em patologia humana*. Rio de Janeiro: Imago, 1995.
- RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon* 39: 603-613, 2001.
- SANCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci. Technol. Int.* V.8 p.121-137, 2002.
- SCHWANZ, M. Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação da boldina em *Peumus boldus* Mol. (Monimiaceae) e avaliação preliminar e de sua estabilidade. *Dissertação*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 105p. Porto alegre, 2006.



- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev. Nutr.*, Campinas. v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.
- SOUSA, M. P.; MATOS, M. E. O.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A. Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de Plantas Mediciniais Brasileiras, Ed. UFC, 445p., 2004.
- SOUSA, C. M. M.; SILVA, M. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis Totais E Atividade Antioxidante De Cinco Plantas Mediciniais. *Química Nova*, v.30, n.2, p. 351-355, 2007.
- SOUSA, M. S.; SILVA, M. C. C.; SILVA, R. A. O.; ARAÚJO, I. M. S.; SANTOS FILHO, F. C.; SANTOS, M. R. M. C. Prospecção tecnológica: aplicações fitoterápicas do boldo. *Anais SIMTEC – ISSN: 2318-3403*. Vol. 1/n. 1/ p. 592-603. Aracaju/SE – 25 a 27/09/ 2013.
- SPEISKY H.; CASSELS, B. K. Boldo and boldine: an emerging case of a natural drug development. *Pharmacol Res* 29: 1-12, 1994.
- SILVA, S. T. da. A criança e o brincar nos limites institucionais numa escola em Maceió. Dissertação de mestrado. Universidade de Aveiro. 1- 146p. 2013.
- VELLOSA, C. R. J.; BARBOSA, F. V.; OLIVEIRA, M. M. F. O. Pesquisa de produtos naturais: plantas e radicais livres. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 5 (2):119-130. 2007.
- YOUN, Y. C.; KWON, O. S.; HAN, E. S.; SONG, J. H.; SHIN, Y. K.; LEE, C. S. Protective effect of boldine on dopamine-induced membrane permeability transition in brain mitochondria and viability loss in PC12 cells. *Biochem Pharmacol*, 63: 495-505, 2002.