

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COLEGIADO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

DEISY AZEVEDO DOURADO VILELA

**MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PECTINAS DAS PLANTAS
MEDICINAIS *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul. L.P.) Queiroz E *Amburana cearensis*
(Allemão) A.C. Smith**

PETROLINA

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

DEISY AZEVEDO DOURADO VILELA

**MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PECTINAS DAS PLANTAS
MEDICINAIS *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul. L.P.) Queiroz E *Amburana cearensis*
(Allemão) A.C. Smith**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à banca examinadora da
Universidade Federal do Vale do São
Francisco para a obtenção do grau de
bacharel em Ciências Biológicas, sob a
orientação do Prof. Dr. Draulio Costa da
Silva.

PETROLINA

2015

	Vilela, Deisy
V695m	Métodos de extração e quantificação de pectinas das plantas medicinais <i>Libidia ferrea</i> (Mart. Ex Tull. L.P.) Queiroz e <i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C. Smith / Deisy Azevedo Dourado Vilela. -- Petrolina, 2015.
	xii, 44f.: il.; 29 cm.
	Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina, 2015.
	Orientador: Prof.Dr. Draulio Costa da Silva.
	Bibliografia.
	1. Pau-ferro. 2. Umburana. 3. Polissacarídeos I. Título. II Univasf. Universidade Federal do Vale do São Francisco
	CDD 581.634

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEISY AZEVEDO DOURADO VILELA

**MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PECTINAS DAS
PLANTAS MEDICINAIS *Libidia ferrea* (Mart. Ex Tull. L.P.) Queiroz E
Amburana cearensis (Allemão) A.C. Smith**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado
como requisito parcial à obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas no
Curso de Graduação em Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Vale
do São Francisco.

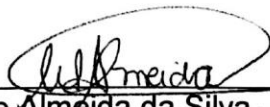
Aprovado em: 30 de Junho de 2015



Dr. Draulio Costa da Silva – Orientador
Universidade Federal do Vale do São Francisco



Dr.ª Michelly Correia Diniz
Universidade Federal do Vale do São Francisco



M.Sc. Marcelle Almeida da Silva – Segundo examinador
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Dr.ª Kyria Cilene de Andrade Bortoleti – Suplente
Universidade Federal do Vale do São Francisco

RESUMO

O uso de plantas medicinais representa um grande aliado à manutenção das condições da saúde humana, especialmente para a população de baixa renda. Dentre as várias espécies vegetais da Caatinga, utilizadas na medicina popular, podem-se citar as espécies *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis*, bastante relatadas quanto aos efeitos farmacológicos de seus metabólitos secundários, contudo, há escassez de pesquisas quanto ao uso dos polissacarídeos constituintes dessas duas espécies. É importante considerar o potencial farmacológico dos polissacarídeos vegetais, os quais têm se revelado possuidores de uma variedade de propriedades biológicas, a exemplo das pectinas, um grupo de polissacarídeos complexos com propriedades biológicas comprovadas na literatura. Para a melhor compreensão dos mecanismos de ação dessas moléculas, faz-se necessário a realização de estudos de caracterização química. O presente trabalho apresentou como objetivo geral a obtenção e análise química parcial de frações polissacarídicas extraídas de vagens de *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis*, de modo a subsidiar futuros estudos de aplicação biológica dessas macromoléculas, bem como outros de caracterização estrutural. As frações foram obtidas por meio de extrações aquosas, com soluções de ácido nítrico, ácido cítrico, oxalato de amônio e hidróxido de sódio. Quanto ao rendimento, foram obtidas quantidades de polissacarídeos que variaram entre 0,046 g a 1,931 g, para *L. ferrea* e 0,08 g a 4,32 g para *A. cearensis*, compreendidos entre 7,71% a 19,3% e 0,20% a 5,4%, respectivamente para as duas espécies. Todas as frações apresentaram significativos teores de carboidratos totais, sendo que para as frações provenientes da vagem de *L. ferrea* foram encontrados valores que variaram de $33,23 \pm 0,17$ à $83,60 \pm 0,07$ e para as frações correspondentes à *A. cearensis* o teor de carboidratos variou de $23,80 \pm 0,07$ à $82,0 \pm 0,13$. Quanto ao teor de ácido galacturônico, os valores encontrados nas frações polissacarídicas de *L. ferrea* variaram de $23,12 \pm 0,13$ à $52,53 \pm 0,07$ e para *A. cearensis* os valores foram de $21,33 \pm 0,003$ à $59,07 \pm 0,02$. As frações apresentaram ainda significativo teor de proteínas e compostos fenólicos, sendo que para as frações de *L. ferrea* esses valores de proteínas variaram de $17,6 \pm 0,02$ à $35,68 \pm 0,01$ e, compostos fenólicos de $5,81 \pm 0,0043$ à $16,75 \pm 0,004$. *A. cearensis* proteína valor mínimo de $5,4 \pm 0,004$ e valor máximo de $22,93 \pm 0,02$, o teor de compostos fenólicos nessas amostras variou de $4,16 \pm 0,004$ à $13,12 \pm 0,02$. Considerando-se os parâmetros avaliados, *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis* representam fontes potenciais de obtenção de pectinas. Valores significativos de compostos fenólicos nas amostras obtidas representam um dado importante, considerando as propriedades antiinflamatórias já descritas para *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis*. O elevado teor de proteínas das amostras pode sugerir a presença de contaminantes nas frações polissacarídicas obtidas, ou que o conteúdo proteico esteja associado covalentemente à estrutura das pectinas isoladas. Estudos de análise estrutural mais detalhados em associação aos dados obtidos neste trabalho são necessários para uma melhor

caracterização das moléculas obtidas e, assim, possibilitar uma futura avaliação de suas propriedades farmacológicas.

PALAVRAS-CHAVE: Pau-ferro; Umburana; polissacarídeos de parede celular; pectinas; caracterização química parcial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Libidibia ferrea</i>	13
Figura 2: <i>Amburana cearensis</i>	14
Figura 3: Modelo proposto das estruturas presentes na parede celular	18
Figura 4: Esquema representativo da estrutura básica de pectinas.	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Rendimento das frações polissacarídicas obtidas de <i>L. ferrea</i> sob diferentes condições de extração	32
Tabela 2: Rendimento das frações polissacarídicas obtidas de <i>A. cearensis</i> sob diferentes condições de extração.....	33
Tabela 3:Valores médios de carboidratos totais e ácido galacturônico nas frações polissacarídicas obtidas de <i>Libidibia ferrea</i>	35
Tabela 4:Valores médios de carboidratos totais e ácido galacturônico nas frações polissacarídicas obtidas de <i>Amburana cearensis</i>	36
Tabela 5: Valores de proteínas totais e fenois totais nas frações polissacarídicas de <i>Libidibia ferrea</i>	39
Tabela 6:Valores de proteínas totais e fenois totais nas frações polissacarídicas de <i>Amburana cearensis</i>	40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVO GERAL.....	11
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
3.1 Plantas medicinais	12
3.1.1 <i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz.....	13
3.1.2 <i>Amburana cearensis</i> (A.C. Smith).....	14
3.2 Polissacarídeos e parede celular.....	15
3.2.1 Polissacarídeos de reserva de parede celular	19
3.2.1.1 Celulose	19
3.2.1.2 Hemiceluloses.....	19
3.2.1.3 Pectinas	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 Reagentes.....	24
4.2 Material vegetal.....	24
4.3 Extração de polissacarídeos de parede celular de <i>Libidibia ferrea</i>	25
4.4 Extração de polissacarídeos de parede celular de <i>Amburana cearensis</i>	27
4.5 Extração fracionada de pectinas de <i>Amburana cearensis</i>	27
4.5.1 Extração em água	27
4.5.2 Extração em oxalato	28
4.5.3 Extração em meio ácido.....	28

4.5.4 Extração em meio básico	29
4.6 Análises químicas da frações polissacarídicas obtidas de <i>L. ferrea</i> e <i>A. cearensis</i>	30
4.6.1 Determinação de carboidratos totais.....	30
4.6.2. Determinação de ácido galacturônico	30
4.6.3 Determinação de proteínas solúveis totais.....	30
4.6.4 Determinação de compostos fenólicos	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 Extração e rendimento das frações polissacarídicas de <i>L. ferrea</i> e <i>A. cearensis</i> .	32
5.2. Análises químicas das frações polissacarídicas obtidas de <i>L. ferrea</i> e <i>A.</i> <i>cearensis</i>	35
6. CONCLUSÕES	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1. INTRODUÇÃO

É sabido que durante todo o desenvolvimento da humanidade as plantas acompanham o homem. Por eras elas têm fornecido uma ampla lista de itens que suprem as nossas necessidades mais básicas como a alimentação, e são também usadas em tratamentos terapêuticos. Por apresentarem uma rica mistura de compostos químicos diferentes (SEYFRIED, 2014), as plantas têm formado a base de um sofisticado sistema medicinal, com uma grande variedade de propriedades terapêuticas muitas vezes fortalecidas pelo conhecimento empírico ao longo do tempo. Esse interesse vem sendo elaborado nas últimas décadas na forma de um processo contínuo de procura e desenvolvimento de novos medicamentos sustentado pela constatação experimental, a qual é baseada nas observações, informações e costumes populares (HANDAM; AFIFI, 2004; FABRICANT; FARNSWORTH 2001).

O uso de plantas medicinais representa um grande aliado para a manutenção das condições da saúde humana, especialmente para a população de baixa renda (LIMA et al., 2013), visto que, além da facilidade de obtenção, a dificuldade de acesso ao atendimento médico e o alto custo dos medicamentos sintéticos fazem com que o comércio popular de plantas medicinais seja frequente (NUCCI, 2014).

As plantas são fontes importantes de novas drogas com potencial efeito terapêutico. Diversas novas moléculas, derivadas de plantas medicinais, com atividades biológicas interessantes já foram identificadas (AMANLOU *et al*, 2005). São muitos os relatos de atividades farmacológicas de extratos e frações de diferentes órgãos vegetais com registros na literatura científica e com uso na medicina popular. Metabólitos secundários de plantas têm auxiliado no entendimento dos mecanismos e processos de vários eventos fisiológicos importantes como a dor e a inflamação, por exemplo (CALIXTO *et al*, 2000; 2001; SOUZA *et al*, 2011; PEREZ, 2001).

O Brasil apresenta uma das maiores biodiversidades de vegetais do planeta, e pelo menos a metade das espécies pode possuir alguma propriedade terapêutica útil à população (MATOS, 1994). A Caatinga é um tipo vegetacional semi-árido único, ocorrendo quase que exclusivamente na região Nordeste do país (ALBUQUERQUE;

ANDRADE, 2002). Contudo, os estudos e conhecimentos existentes sobre as plantas medicinais da Caatinga são comparativamente menores aos de outras fitofisionomias do mundo (CARTAXO, 2009). Ainda assim, várias publicações destacam a rica flora dessa região com suas variadas utilizações medicamentosas (ALBUQUERQUE et al., 2007), enfatizado o potencial bioativo e os benefícios terapêuticos de plantas medicinais, como demonstrado na revisão de Silva et al. (2012). Dentre as várias espécies utilizadas na medicina popular da Caatinga, podem-se citar as espécies *Libidibia ferrea* e a *Amburana cearensis* bastante relatadas quanto aos efeitos farmacológicos de seus metabólitos secundários constituintes.

Conhecida popularmente como pau-ferro ou jucá, *Libidibia ferrea*, cujo sinônimo é *Caesalpineia ferrea*, é considerada uma importante planta medicinal. A espécie tem sido amplamente utilizada na medicina popular na forma de extratos, chás e infusões de seus diferentes órgãos, com comprovada ação farmacológica na literatura científica, que varia desde o tratamento de feridas, contusões, tosse crônica, diabetes, reumatismo e asma, até o combate à febre, diarreia e anemia. Além disso, estudos relataram a presença de metabólitos primários, indispensáveis à vida celular tais como carboidratos, proteínas, lipídeos, aminoácidos e ácidos nucleicos, e secundários, que são aqueles compostos orgânicos oriundos de diversas rotas metabólicas e do metabolismo primário, com efeitos anti-inflamatório e analgésico (BACCHI et al., 1995; PEREIRA et al., 2012; CARVALHO et al., 1996; SAWADA et al., 2014).

Por sua vez, a espécie *Amburana cearensis*, popularmente chamada de umburana, imburana-de-cheiro ou cumaru é bastante utilizada especialmente no tratamento de dor de barriga, reumatismo e tosse (ALMEIDA et al., 2010). Além disso, a casca do caule e as sementes são utilizadas como lambedor para tratamento de resfriado, bronquite, gripe e asma (SILVEIRA; PESSOA, 2010). A espécie é utilizada ainda em forma de chá para tratar dentre outras enfermidades, cólicas, derrame e dores no corpo (ROSSI, 2008; CANUTO, 2008).

As pesquisas científicas em torno de plantas medicinais apresentam focos majoritários definidos nas áreas da fitoquímica e farmacognosia. A primeira é responsável pela caracterização de possíveis compostos bioativos, enquanto a

farmacognosia contempla ensaios de bioatividade, identificação do modo de ação e sítios ativos para ação de fitoquímicos (BRISKIN, 2000). Assim, o avanço da ciência, especialmente da fitoquímica, permite que os componentes químicos vegetais sejam isolados e tenham os seus potenciais medicinais estudados (GURIB-FAKIM, 2006). Dentre os componentes químicos vegetais, têm-se os polissacarídeos (celulose, hemicelulose e pectina) o grupo de compostos mais abundante da biosfera, encontrado em todos os seres vivos, especialmente nas plantas, visto ser o principal constituinte da parede celular, o suporte estrutural das células vegetais (PEREIRA, 2011).

Contudo, ainda há poucos relatos sobre os aspectos estruturais e terapêuticos de polissacarídeos derivados de plantas da Caatinga. A maioria dos estudos enfatiza a ação terapêutica de compostos secundários desses vegetais. Por outro lado, é importante considerar esse potencial dos polissacarídeos vegetais, os quais têm se revelado possuidores de uma variedade de propriedades biológicas com interesse farmacológico. Dentre essas moléculas, as pectinas compõem um grupo de heteropolissacarídeos complexos e dotados de diferentes propriedades terapêuticas protegendo contra doenças cardiovasculares, inflamação, obesidade, diabetes e câncer (SILVA et al., 2011; 2012; JANEIRO *et al*, 2010; LYON, REICHERT, 2010; MELLO, LAAKSONEN, 2009; PROSKI, 2000; DANSB, 1998; CHAU, HUANG, 2005). Além disso, são dotadas de atividade imunomoduladora (OLIVEIRA, 2011; LEUNG *et al*, 2006).

Essa classe primária de biomoléculas, os carboidratos, especialmente os polissacarídeos, foi, durante muito tempo, considerada importante para o homem somente do ponto de vista nutricional, no entanto, muito se tem investigado sobre as diferentes estruturas destas moléculas e suas potenciais aplicações biológicas (BOHN; BEMILLER, 1995).

É importante salientar que para se compreender os reais efeitos desses polímeros como agentes terapêuticos, há que se atentar às suas principais características físicas e químicas. Isso é possível, primeiramente, através da determinação da melhor forma de obtenção das moléculas. As condições de extração de polissacarídeos são fatores determinantes sobre o rendimento e caracterização química e estrutural desses compostos, levando, muitas vezes à alterações importantes

nas suas propriedades funcionais. Em outras palavras, a investigação de um possível papel biológico deve, impreterivelmente, estar associado à determinação dos principais aspectos químicos da molécula em estudo (KLIEMANN *et al*, 2009).

Desse modo, considerando o potencial biotecnológico e farmacológico de polissacarídeos vegetais, é relevante que sejam desenvolvidos estudos cuja temática aborde métodos que auxiliem nos processos de extração, obtenção e caracterização química dessa classe de polímeros, de modo a permitir estabelecer uma relação entre os aspectos químico-estruturais dos compostos estudados e suas possíveis propriedades biológicas.

Assim, o presente estudo avaliou diferentes formas de obtenção, bem como a análise química parcial de frações polissacarídicas das plantas medicinais *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis*, com a finalidade de subsidiar estudos futuros de atividades biológicas dos polissacarídeos destas duas espécies medicinais.

2. OBJETIVO GERAL

Obter e analisar quimicamente frações polissacarídicas das plantas medicinais *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis*.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter frações polissacarídicas das vagens das plantas medicinais *Libidibia ferrea* a partir de diferentes agentes extratores (meio ácido, uso de quelantes e meio alcalino);
- Obter frações polissacarídicas das vagens das plantas medicinais *Amburana cearensis* a partir de diferentes agentes extratores (água, meio ácido, uso de quelantes e meio alcalino);
- Determinar o rendimento das diferentes frações obtidas
- Determinar o teor de carboidratos totais solúveis nas frações obtidas;

- Determinar o teor de ácido galacturônico nas frações obtidas, de modo a identificar a presença de pectinas;
- Determinar o teor de proteínas totais solúveis nas frações obtidas;
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais nas diferentes frações obtidas.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Plantas medicinais

O poder de cura das plantas medicinais é tão antigo quanto à própria espécie humana. Através de observações do comportamento dos animais, antigas civilizações perceberam que algumas plantas apresentavam princípios ativos, os quais ao serem experimentados no combate às enfermidades revelaram empiricamente poder de cura (BADKE et al., 2011). A difusão dos conhecimentos para as comunidades permitiu que as plantas fossem utilizadas para sanar a necessidade de determinadas enfermidades (NUCCI, 2014).

É grande o número de plantas que são utilizadas na medicina popular no Brasil, contudo, nem todas apresentam ação biológica comprovada, o que desperta a atenção multidisciplinar de pesquisadores da botânica, bioquímica, farmacologia, microbiologia e toxicologia. Juntas, essas áreas de pesquisa contribuem no que diz respeito ao conhecimento sobre fonte medicinal natural (MACIEL et al., 2002).

O Brasil é uma das mais ricas regiões em biodiversidade vegetal do planeta. Contudo, dentre toda essa diversidade de espécies vegetais, a Caatinga é a fitofisionomia menos estudada e um tipo vegetacional semi-árido único no mundo (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002). Estudos têm enfatizado o potencial bioativo e os benefícios terapêuticos de plantas medicinais da Caatinga (SILVA et al, 2012), corroborando com o conhecimento e o uso popular. Dentre essas plantas, trazemos neste estudo as espécies *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis*, dois tipos vegetais amplamente usados na medicina popular.

3.1.1 *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz

Libidibia ferrea é uma espécie arbórea pertencente à família Fabaceae nativa do Brasil, considerada endêmica das regiões Nordeste e Norte, presente principalmente na área geográfica dominada pela Caatinga (LEWIS, 2014). Além disso, a espécie é cultivada em outros países para a sua utilização na arborização de ruas e parques e é conhecida pelo nome de “pau-ferro brasileiro” (MATOS, 2007). Como características gerais, a árvore geralmente mede de 10 a 15 metros de altura e apresenta um tronco fino com diâmetro de 40 a 60 centímetros. Suas folhas são bipinadas, medindo cerca de 15 a 19 centímetros de comprimento, enquanto os frutos são do tipo vagem indeiscentes de coloração marrom escuro (LORENZI, 2002).

Figura 1: *Libidibia ferrea*

Fonte: Banco de imagens CNIP 2015



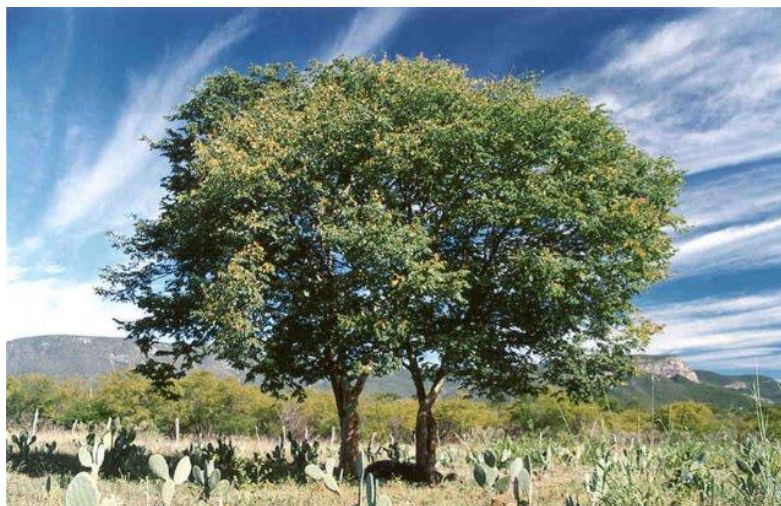
Considerada uma importante planta medicinal, a espécie tem sido amplamente utilizada na medicina popular na forma de extratos, chás e infusões de seus diferentes órgãos, com comprovada ação farmacológica na literatura científica que varia desde o tratamento de feridas, contusões, tosse crônica, diabetes, reumatismo e asma, até o combate à febre, diarreia e anemia. Há registros de uso popular da casca, frutos e raízes para o tratamento de diabetes e como agente cicatrizante e antitérmico (MAIA,

2004). Também foram relatados efeitos anti-inflamatório e analgésico (BACCHI et al., 1995; PEREIRA et al., 2012; CARVALHO et al., 1996; SAWADA et al., 2014). Recentemente, demonstrou-se que os polissacarídeos extraídos dos frutos de *L. ferrea* possuem ação anti-inflamatória em ratos contra diferentes agentes flogísticos de natureza osmótica e celular, também relacionada à imunomodulação, e que a atividade detectada possa estar ligada ao conteúdo de ácido urônico do polissacarídeo isolado, contudo, seu estudo para essa aplicabilidade, ainda é modesto ao se comparar com os registros de outros compostos primários e secundários originados de vegetais (PEREIRA et al., 2012).

3.1.2 *Amburana cearensis* (A.C. Smith)

Amburana cearensis é uma Fabaceae arbórea de origem nativa (LIMA, 2015) que ocorre desde a região Nordeste até o Brasil central, predominantemente, em regiões de Caatinga e na floresta pluvial de Minas Gerais (ALMEIDA et al., 2010). A espécie apresenta porte regular, podendo atingir até 10 metros de altura nas regiões de Caatinga. A planta apresenta folhas compostas pinadas, alternas, imparipinadas e raras vezes paripinadas. Pecíolo verde e piloso, os folíolos são curtopeciolados, elípticos e apresentam pêlos simples (CUNHA, 2003). Quanto à ecologia e biologia da espécie existem poucas informações, já que não é uma espécie domesticada (LEITE, 2005).

Figura 2: *Amburana cearensis*
Fonte: Banco de imagens CNIP 2015



Várias partes da planta são muito utilizadas na medicina popular, especialmente, as sementes e a casca do caule. Dentre as várias aplicações, chás dessas partes da planta são usados para o tratamento de dor de barriga, gripe, resfriado, asma, cólicas, derrame, dores no corpo (ROSSI, 2008; CANUTO, 2008). Apresenta ainda, atividade anti-inflamatória, anticoagulante, vasodilatadora, espasmolítica e antitrombótica(LIMA, 2013).

Essa planta é usada popularmente no tratamento de problemas respiratórios e como expectorante, sendo as sementes usadas contra inflamações e dores reumáticas (ALBUQUERQUE et al., 2010). Demonstrou-se que a casca e as sementes de *A. cearensis* são dotadas de efeitos anti-inflamatório, antitussivo e antiespasmódico. Lotufo et al. (2003) comprovaram a ação anti-inflamatória de IKPF, um flavonóide isolado da casca dessa planta, frente ao TNF-alfa, além de efeito antitumoral *in vitro*. A ação anti-inflamatória de IKPF também foi demonstrada em ratos por Leal et al. (2009), além de outros compostos secundários obtidos da casca de *A. cearensis* com efeito anti-inflamatório *in vivo* sendo capazes de inibir a migração de leucócitos e neutrófilos para a cavidade peritoneal de ratos sob indução de diferentes agentes flogísticos como carragenina, serotonina, histamina e *N*-formilmetil-leucil-fenilalanina (LEAL et al., 2003). Também foi demonstrado o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório do extrato etanólico da casca de *A. cearensis in vivo* (OLIVEIRA et al., 2009; LEAL et al., 2011). Contudo, não há registro de trabalhos que tratem de efeitos farmacológicos e informações de aspectos químicos dos polissacarídeos de *A. cearensis*.

3.2 Polissacarídeos e parede celular vegetal

Devido sua diversidade química, especificidade bioquímica e vasta capacidade de biossíntese, o uso de produtos naturais aliado aos instrumentos da química medicinal é uma estratégia bastante útil na prospecção de novas moléculas bioativas, e as tornam favoráveis à descoberta de novos fármacos (NUCCI, 2014). Assim, os polissacarídeos vegetais representam uma categoria de novas moléculas dotadas de propriedades biológicas importantes e com potencial uso terapêutico contra inúmeras

enfermidades. Com isso, a obtenção e a determinação das características químicas aliadas à elucidação dos aspectos estruturais, são critérios essenciais no estudo de aplicação farmacológica dessas macromoléculas, ainda pouco estudadas quanto a esse potencial (PEREIRA et al., 2012).

Do ponto de vista estrutural, os polissacarídeos são macromoléculas pertencentes ao grupo dos carboidratos, sendo este grupo considerado a mais importante fonte de energia do organismo. Os carboidratos são poliidroxi aldeídos ou poliidroxi cetonas, ou ainda substâncias que por hidrólise formam estes compostos. De acordo com o número de unidades de açúcar, podem ser classificados como monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (MOTTA, 2009).

Os monossacarídeos são açúcares simples, constituídos por apenas uma unidade poliidroxi aldeídica ou cetônica que não podem ser hidrolisados em carboidratos mais simples. Já os oligossacarídeos são aqueles formados por até dez monossacarídeos. Enquanto isso, os polissacarídeos são carboidratos de alta massa molecular, formados por mais de dez unidades monossacarídicas (MOTTA, 2009).

Assim como as proteínas e os ácidos nucleicos, os polissacarídeos fazem parte do grupo dos biopolímeros, um grupo de materiais que apresenta um elevado potencial de aplicação em diferentes setores e desempenham diversas funções em processos metabólicos (SILVA et al., 2006). Os biopolímeros são macromoléculas resultantes de processos químicos naturais, que podem ser encontradas tanto nos animais e vegetais quanto em microorganismos (NELSON; COX, 2006). Em geral, os polissacarídeos se destacam devido à sua facilidade de obtenção e industrialização (SOUZA, 2009).

Também conhecidos como glicanos, os polissacarídeos são bastante heterogêneos, e diferem entre si na unidade, no grau de ramificação, no tipo de ligação e no comprimento de suas cadeias, apresentando diferentes composições e funções (NELSON; COX, 2006). São considerados ferramentas farmacologicamente interessantes com a descrição de ação imunoestimulante (LEUNG et al., 2006; CUNHA et al., 2009), propriedades anticarcinogênicas e imunomoduladoras (ZONG et al., 2012;

SILVA et al., 2012), antitumorais, antivirais, antifúngicas, antiparasitárias, antibacterianas, entre outras (SILVA et al, 2011; 2012; OLIVEIRA, 2011).

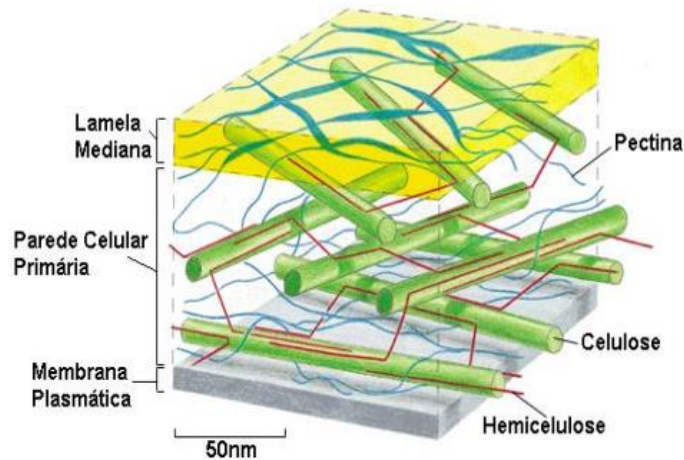
As angiospermas apresentam diferentes estratégias de adaptação aos seus respectivos ambientes, dentre elas, o acúmulo de certos compostos na parede celular. A parede celular é um envoltório presente nas células vegetais. Além de conferir características exclusivas a esses organismos, é responsável pela forma e proteção das células. Em sua composição, a parede vegetal é formada especialmente por polímeros de celulose, hemicelulose, pectina e proteínas (SANTI, 2014). Os polissacarídeos apresentam-se como um dos principais compostos de reserva (BUCKERIDGE et al., 2000).

A parede celular vegetal foi considerada, durante muitos anos, um envoltório celular morto e amorfo. Porém, sabe-se do complexo grau de estruturação da parede celular e das diversas funções que esta desempenha na vida do vegetal (BRETT; WALDRON, 1990). Este envoltório celular está presente em todas as células de vegetais superiores, com exceção de poucas, como os gametas (YORK et al., 1985; SCHINDLER, 1998). A importância da parede celular para a vida do vegetal dá-se pelas variadas funções que ela apresenta, sendo essencial na determinação da forma celular, da textura do tecido e da morfologia final do vegetal, através da força mecânica e rigidez que apresenta (RAVEN et al., 1999; REID, 1997). A parede celular é ainda de extremo valor quanto à proteção das células ao ataque de patógenos, pois ao degradarem-se parte dos polissacarídeos da parede celular, os oligossacarídeos gerados difundem ao redor das células vizinhas, promovendo reações de defesa local (BRETT; WALDRON, 1990), além de ativarem genes responsáveis pela síntese de fitocompostos, como por exemplo, a produção de fitoalexinas e antibióticos (BOWLES, 1990). Outra importante participação da parede celular na comunicação célula-célula, deve-se à necessidade de absorção, transporte e secreção de substâncias entre as células do vegetal, que são dependentes da parede celular (BRETT; WALDRON, 1990).

A parede celular de vegetais superiores é composta majoritariamente por carboidratos, os quais estão associados a proteínas (HELDT, 1997). A fração glicídica consiste de microfibrilas de celulose entrelaçadas em uma fase contínua de pectina e

hemicelulose, além da lignina presente em paredes celulares secundárias (WHISTLER, 1970). A distribuição destes polímeros na parede celular já deu origem a vários modelos estruturais, propostos na tentativa de desvendar a real estrutura da parede celular, que se encontra dividida em primária e secundária.

Figura 3: Modelo proposto das estruturas presentes na parede celular. Fonte: SEYFRIED (2014)



A parede celular primária é encontrada em células jovens, sendo de fundamental importância no processo de expansão celular (REID, 1997). É também observada em células de tecidos suculentos e parenquimáticos das folhas e frutos (FRESHOUR et al., 1996). A composição química da parede celular primária de dicotiledôneas é de, aproximadamente, 25-40% de celulose, 15-25% de hemicelulose, 15-40% de substâncias pécnicas, 5-10% proteínas e traços de compostos fenólicos (AVIGAD; DEY, 1997).

Já a parede celular secundária encontra-se entre a primária e a membrana plasmática da célula, conferindo rigidez aos tecidos vegetais (REID, 1997). A conversão da parede primária em secundária ocorre após o processo de lignificação, o qual interrompe o crescimento celular, e indica, portanto, o amadurecimento celular e a diferenciação terminal da célula (ALBERSHEIM et al., 1996). A constituição química deste tipo de parede, em dicotiledôneas, passa a ser de 40-45% de celulose, 15-35%

de hemicelulose, 15-30% de lignina e traços de pectina (AVIGAD; DEY, 1997). Do ponto de vista químico, as pectinas, a celulose e as hemiceluloses podem ser diferenciadas desde as formas de extração. As pectinas são, normalmente, extraídas por meio de soluções aquosas de oxalato de amônio ou EDTA, as quais são capazes de quelar o cálcio ou outros cátions metálicos divalentes. As hemiceluloses são mais difíceis de serem removidas da parede celular, requerendo-se, além do uso de água, o uso de soluções alcalinas, como hidróxido de sódio ou potássio. A celulose por sua vez é obtida a partir dos resíduos da extração de pectinas e hemiceluloses sendo, portanto, não solúvel em álcali (AVIGAD; DEY, 1997).

3.2.1 Polissacarídeos de reserva de parede celular

3.2.1.1 Celulose

A celulose é um componente característico encontrado em todas as paredes celulares de plantas. Apresenta como estrutura básica cadeias de monômeros de glucose com ligações glicosídicas que formam polímeros lineares e insolúveis em água (SEYFRIED, 2014). A molécula de celulose resiste a grandes trações e representa cerca de 20% a 30% da matéria seca da parede celular (OCHOAVILLARREAL et al., 2012). São moléculas extremamente organizadas, sendo considerados os polímeros mais ordenados das paredes celulares. Essa característica contribui com a sua funcionalidade, que proporciona força e ajuda a controlar o crescimento da célula (THOMAS et al., 2013).

3.2.1.2 Hemiceluloses

O termo hemicelulose foi proposto pela primeira vez por Schulze, em 1891, no intuito de designar polissacarídeos extraídos de plantas através de soluções alcalinas (WHISTLER, 1970). No entanto, tem-se relato de diversos polissacarídeos extraídos com água, como as arabinogalactanas e glucomananas que são também considerados hemiceluloses (FENGEL; WEGNER, 1989). Hemicelulose corresponde a um grupo heterogêneo de polímeros que apresenta uma cadeia principal composta por unidades de glucose, manose ou xilose ligadas em configuração equatorial nos carbonos 1 (C1) e

4 (C4) (ULVSKOV, 2010). Apesar de atuarem como moléculas sinalizadoras, ou como substâncias de reserva, a função mais conhecida desse polissacarídeo é estrutural.

Para alguns autores, o termo hemicelulose refere-se aos polissacarídeos de baixa massa molar, encontrados na parede celular de plantas terrestres, que se associam com a celulose e a lignina (COLLINS; FERRIER, 1995). REID (1997) conceitua as hemiceluloses como polímeros da parede celular que apresentam um tipo particular de estrutura molecular e exercem uma determinada função nesta parede. GABRIELLI e colaboradores (2000) adotam a definição descrita por ASPINALL (1969) e TIMELL (1964), na qual o termo hemicelulose refere-se aos polissacarídeos presentes em tecidos vegetais que ocorrem juntamente com a celulose e que podem ser isolados através de extrações aquosas ou, mais frequentemente, alcalinas.

Apesar da dificuldade conceitual do termo hemicelulose, muito se tem relatado sobre esta ampla diversidade de polímeros que constituem cerca de 20% do peso seco da parede celular dos vegetais. A composição química, abundância e distribuição das hemiceluloses dependem da espécie, tecido e condições de crescimento do vegetal (WHISTLE; Be MILLER, 1959; KITAYAMA et al., 2000). Outro fator determinante na caracterização de hemiceluloses é a idade da planta, sendo a maturidade do vegetal de grande influência na composição e abundância de diferentes polímeros (BUCHALA; WILKIE, 1974). Uma vez que existe uma ampla diversidade metodológica para a purificação de hemiceluloses, a caracterização destes polissacarídeos será dependente do protocolo utilizado (GHALI et al., 1974; CARPITA, 1984).

As hemiceluloses são constituídas por unidades monossacarídicas de D-xilose, D-manose, D-galactose, D-glucose, L-arabinose, ácido 4-O-metilglucurônico, ácido D-galacturônico e ácido D-glucurônico, sendo que eventualmente apresentam grupamentos O-acetil ligados às unidades pertencentes às cadeias principal e/ou lateral (FENGEL; WEGNER, 1989). Estes monossacarídeos encontram-se glicosidicamente ligados, constituindo diferentes polissacarídeos, sendo os principais incluídos nas classes denominadas arabinogalactanas, arabinoxilanas, xilanas, galactoglucomananas, glucuronoxilanas, glucomananas, mananas e xiloglucanas (PULS; SCHUSEIL, 1993; KACURÁKOVÁ et al., 2000).

3.2.1.3 Pectinas

Pectinas são polissacarídeos com alto grau de solubilidade em água, ricos em ácido galacturônico (AGa) o que lhes confere um caráter ácido (LEUNG et al., 2006). São considerados polissacarídeos formados de hidrocolóides com ocorrência natural em plantas superiores, sendo muito usadas na indústria de alimentos devida sua capacidade de formar géis e atuarem como estabilizante e emulsificante (WINNING et al., 2007). Na célula, as pectinas estão relacionadas com proteção e com a manutenção do meio iônico, modificando a difusão de íons pela parede celular e regulando sua porosidade (BUCKERIDGE; TINÉ, 2000).

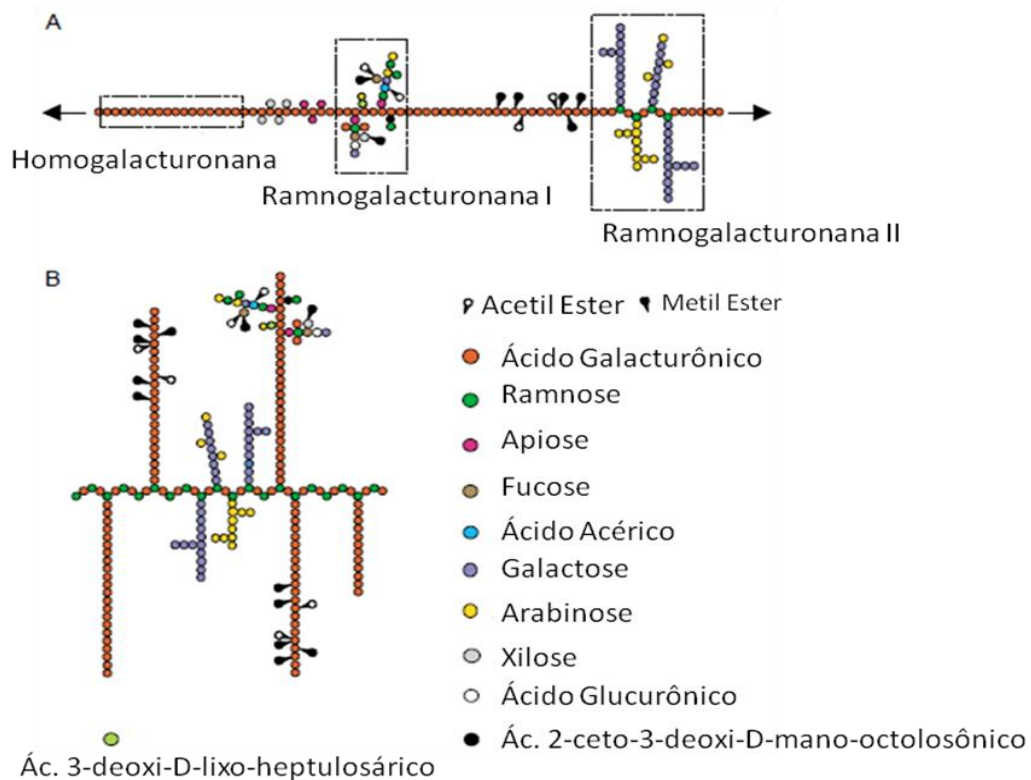
Quimicamente, pectinas são misturas de polissacarídeos complexos com a predominância de homogalacturonanas (HG) podendo também ser constituídas por ramnogalacturonanas (RG) (**FIGURA 4A**). Contém 10% ou mais de substâncias orgânicas, compostas de arabinose, galactose ou outros açúcares neutros como glucose, ramnose e xilose (MADHAV, 2002; YAPO; KOFFI, 2006), podendo também apresentar açúcares raros (**FIGURA 4B**) tais como apiose (DARVILL et al., 1978), ácido acérico (ou 3-Ccarboxi- 5-deoxi-L-xilose) (SPELLMAN et al., 1983), 2-O-metil-fucose (BARRETT; NORTHCOT, 1965; DARVILL et al., 1978), 2-O-metil-xilose (BARRETT; NORTHCOT, 1965; DARVILL et al., 1978), Kdo (ácido 2-ceto-3-deoxi-D-mano-octulosônico) (STEVENSON et al., 1988) e Dha (ácido 3-deoxi-D-lixo-2-heptulosárico) (YORK et al., 1985).

As homogalacturonanas são tipicamente polímeros lineares com unidades repetidas de ácido galacturônico unidas por ligações glicosídicas α -(1→4), formando longas cadeias (CAPEL et al., 2006), nas quais grupos ácidos podem estar metil-esterificados ou O-acetiladas em C-2 e C-3. Em cada caso, o percentual de esterificação é expresso como grau de metoxilação (DM) e grau de acetilação, respectivamente (LEVIGNE et al., 2002). Pectinas com DM equivalente a 14% e médias de esterificação entre 50 e 80% são consideradas como altamente metoxiladas, por outro lado, as que apresentam DM máximo de 7% ou grau de esterificação menor que 50% são classificadas como de baixo grau de metoxilação (LIMA et al., 2010). A

qualidade do gel formado pela pectina é dependente de seu conteúdo metoxil (MADHAV, 2002).

Ramnogalacturonanas constituem a região ramificada das pectinas sendo divididas em dois tipos: ramnogalacturonanas I (RG-I) e ramnogalacturonanas II (RG-II). RG-I consiste de uma cadeia principal de unidades alternantes de ácido D-galacturônico ligadas por ligações glicosídicas α -(1 \rightarrow 4), e ramnose ligadas por α -(1 \rightarrow 2), a qual se ligam cadeias laterais neutras tais como arabinanas e arabinogalactanas (De VRIES, 1988).

Figura 4: Esquema representativo da estrutura básica de pectinas.
Fonte: Willats *et al* (2006).



As arabinanas são polissacarídeos que apresentam uma cadeia principal de unidades furanosídicas de L-arabinose unidas por ligações glicosídicas α -(1 \rightarrow 5), com ramificações ligadas a várias unidades da cadeia principal na posição O-2 e/ou O-3 (PÉREZ; MAZEAU; Du PENHOAT, 2000).

As arabinogalactanas ocorrem em duas formas estruturalmente diferentes. As arabinogalactanas do tipo I têm uma cadeia linear de unidades piranosídicas de D-galactose ligadas β -(1→4) com 20-40% de unidades furanosídicas de L-arabinose ligadas α -(1→5) presentes em cadeias laterais curtas conectadas na posição O-3 das unidades de galactose (PÉRE; MAZEAU; Du PENHOAT, 2000; VORAGEN et al., 1995).

Já as arabinogalactanas do tipo II são polissacarídeos altamente ramificados, com cadeias de unidades de β -D-galactopiranosose unidas por ligações (1→3) e (1→6). As ligações (1→3) predominam nas cadeias internas, enquanto que as ligações (1→6) ocorrem principalmente nas cadeias externas, que são geralmente terminadas por unidades L-arabinofuranosil e em algum grau por unidades L-arabinopiranosil (VORAGEN et al., 1995).

A molécula da pectina é heterogênea, apresenta na sua composição vários açúcares, e pode variar de acordo com a fonte, fatores ambientais e métodos de extração (SANTI, 2014). É formada basicamente por uma estrutura central de 100 a 1.000 monômeros de ácido galacturônico e cadeias laterais compostas por muitos açúcares, como galactose, arabinose e xilose (KASHYAP et al., 2001).

A propriedade mais conhecida das pectinas é a sua capacidade de formação de gel com açúcares e ácidos. Na parede celular, essa molécula contribui para o crescimento e diferenciação celular, além de desempenhar papéis importantes na defesa do organismo contra agentes patogênicos e na regulação de transporte de íons (VORAGEN et al., 2009). Contribui ainda para a textura dos frutos durante o crescimento e amadurecimento (SANTI, 2005).

É importante considerar o potencial terapêutico de polissacarídeos de plantas, principalmente os de natureza péctica, os quais têm se revelado possuidores de uma variedade de propriedades biológicas com interesse farmacológico. As pectinas compõem um grupo de heteropolissacarídeos complexos e dotados de diferentes propriedades terapêuticas protegendo contra diversas patologias (SILVA et al., 2011; SILVA et al., 2015; LYON; REICHERT, 2010; MELLO; LAAKSONEN, 2009; PROSKI, 2000; DANSB, 1998; CHAU; HUANG, 2005). Além disso, são dotadas de atividade

imunomoduladora via ativação do sistema complemento, com ativação e indução de quimiotaxia de linfócitos que iniciam uma série de eventos por parte das células imunológicas (LEUNG et al., 2006).

Polissacarídeos imunomoduladores possuem origens variadas, e podem ser encontrados em bactérias, fungos e plantas (LEUNG et al., 2006). De acordo com a composição, existem três grandes grupos de polissacarídeos modificadores da resposta biológica: β -(1 \rightarrow 3)-D-glucanos, α/β -(1 \rightarrow 4)-mananos e os heteropolissacarídeos com alto grau de ramificação (LIU et al., 2006). Os polissacarídeos de composição heterogênea são caracteristicamente derivados de pectinas vegetais (GUO et al., 2000; YANEVA et al., 2002; EBRINGEROVA et al., 2003).

A partir disso, e considerando a escassez ou mesmo a inexistência de trabalhos que tratem da obtenção e das características químicas de polissacarídeos de plantas da Caatinga, justifica-se no presente trabalho a avaliação da presença de polissacarídeos pécnicos em frações de carboidratos obtidas das plantas medicinais *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis*, de modo a possibilitar estudos de aplicação biológica dessas macromoléculas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Albumina Sérica Bovina (BSA), metahidroxifenil, galactose e ácido galacturônico foram obtidos da Sigma, U.S.A. Os demais reagentes foram de grau analítico.

4.2 Material vegetal

Os frutos das espécies *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis* foram coletados no município de Petrolina (24L0331438) e identificados à nível de espécie. Após coletadas, as vagens passaram por um processo manual de seleção, onde as de aspecto saudável foram selecionadas para utilização, enquanto as que apresentavam danos ou pareciam estar contaminadas por fungos foram descartadas. As vagens saudáveis foram higienizadas utilizando-se uma esponja umedecida com álcool em gel.

Depois de limpas, as vagens foram separadas em béqueres e, posteriormente, com auxílio de um alicate, foram quebradas para a retirada das sementes. Depois de retiradas, as sementes foram guardadas e as vagens quebradas foram trituradas em um triturador até obtenção de um pó fino; este foi armazenado em frascos hermeticamente fechados, os quais foram identificados e guardados, protegendo a farinha da umidade.

4.3 Extração de polissacarídeos de parede celular de *Libidibia ferrea*

As farinhas obtidas da trituração das vagens foram utilizadas na preparação do material de parede celular sob a forma de sólidos insolúveis em álcool (SIAs), utilizado como material de partida para o isolamento de pectinas. Inicialmente, foram pesados 10 g da farinha, os quais foram colocados em 200 mL de solução etanólica a 80% (proporção sólido-líquido de 1:20, p/v) e aquecidas a 70 °C sob suave agitação magnética durante 45 minutos. Após esta etapa, a amostra foi filtrada em funil de vidro sinterizado G3 com auxílio de uma bomba de vácuo. O resíduo foi extensivamente lavado com etanol 80% para remover as impurezas, pigmentos e açúcares livres até que o filtrado ficasse incolor e, em seguida, secou-se por troca de solvente com etanol a 90%, depois com etanol a 95%, em seguida com acetona 70% e, posteriormente, com acetona absoluta. Finalmente, o resíduo foi armazenado num cadinho de porcelana e colocado numa estufa com circulação de ar a 35 °C durante 24 h para secagem e remoção de remanescente de acetona.

As SIAs secas foram pesadas, identificadas e guardadas em recipientes adequados, fechados e armazenados à temperatura ambiente. A extração e obtenção dos SIAs foi realizada com seis (06) repetições. Três das seis amostras de SIAs obtidas foram dialisadas extensivamente durante 72 horas contra água destilada em membranas de corte de 12.000 Da. O material remanescente da diálise foi adicionado a 4 volumes de etanol 95% e deixado em repouso durante 1 h à temperatura ambiente e, em seguida, armazenado a 4 °C durante a noite. Posteriormente, este material foi filtrado em funil de vidro sinterizado G3 e o resíduo foi lavado com etanol 95%, seguido por desidratação com acetona absoluta, e secagem em estufa, como anteriormente. O

material obtido foi denominado SIAs dialisado. O objetivo desta etapa foi verificar se compostos secundários ou de baixo peso molar, que pudessem estar presentes, seriam eliminados através do processo de diálise. As três outras amostras de SIAs (SIAs não dialisado) foram pesadas e devidamente armazenadas.

Após pesados, os SIAs de *Libidibia ferrea* foram submetidos à extração sob condições ácidas, ou na presença de agentes quelantes ou em meio alcalino. Para tanto, 10 g das amostras de SIAs foram suspensas em soluções de ácido nítrico (HNO₃) 0,1 M ou ácido cítrico (C₆H₈O₇) 0,1 M ou oxalato de amônio 0,5% ou hidróxido de sódio 0,1 M (proporção sólido-líquido 1:25, p/v) durante 1 h a 80 °C, sob suave agitação magnética. As suspensões resultantes foram refrigeradas a uma temperatura abaixo de 20 °C e, posteriormente, centrifugadas a 10.000 rpm durante 20 minutos a 15 °C. Os sobrenadantes foram filtrados em funil de vidro sinterizado G4 e com auxílio de um potenciômetro, as soluções tiveram seu pH medido e ajustado para 4,0 (para as extrações em meio ácido) ou pH 7,0 no caso das extrações realizadas na presença de oxalato de amônio ou hidróxido de sódio. Os resíduos das extrações foram ressuspensos no mesmo meio extrator e tratados como descrito anteriormente. Os sobrenadantes dessa segunda extração foram adicionados ao da primeira e tiveram seu pH ajustado para 4,0 ou 7,0. Os extratos obtidos foram submetidos a processo de diálise durante 24 horas, concentrados em evaporador rotativo e precipitados em etanol absoluto (proporção 1;4 v/v). Para a precipitação, os extrato foram mantidos em contato com etanol sob leve agitação por uma hora à temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram refrigeradas (4 °C) durante 12 a 24 horas para precipitação do material gelatinoso (fração polissacarídica). Após precipitação, o material foi filtrado em funil sinterizado G4, sendo o resíduo solubilizado em uma pequena quantidade de água destilada, mantido em banho maria a 60 °C para eliminação de acetona e liofilização para obtenção dos polissacarídeos extraídos em ácido nítrico, ácido cítrico, oxalato de amônio e hidróxido de sódio. As amostras obtidas foram utilizadas nas análises químicas para determinação do teor de carboidratos totais, ácido galacturônico, proteínas e compostos fenólicos.

4.4 Extração de polissacarídeos de parede celular de *Amburana cearensis*

Assim como o material referente à *L. ferrea*, a farinha obtida da maceração das vagens de *A. cearensis* foi usada na preparação do material de parede celular na forma de sólidos insolúveis em álcool (SIAs), utilizado como material de partida para o isolamento de fração de pectinas. Amostras da farinha (10 g) foram colocadas em solução fervente de metanol a 80% (proporção sólido-líquido de 1:4, p/v) durante 45 minutos e filtradas através de funil de placa de vidro sinterizado G3. O resíduo foi extensivamente lavado com etanol 80% para remover as impurezas, pigmentos e açúcares livres até o filtrado ficar incolor e, em seguida, secou-se por troca de solvente com etanol 95% e em seguida com acetona, e finalmente numa estufa com circulação de ar a 35°C durante 24 horas. As SIAs secas foram pesadas, embaladas em recipientes hermeticamente fechados e armazenados à temperatura ambiente, até o momento do uso. A preparação de SIAs foi realizada com três repetições.

4.5 Extração fracionada de pectinas de *Amburana cearensis*

4.5.1 Extração em água

Os SIAs foram dissolvidos em água destilada (proporção sólido-líquido 1:25, p/v), sob suave agitação magnética, durante 1 hora a 30 °C. A suspensão resultante foi centrifugada a 10.000 rpm durante 20 minutos a 15 °C. O sobrenadante foi filtrado em tecido de malha fino e a solução clarificada ajustada a pH 4,0 com solução 0,1 M de ácido nítrico. O resíduo foi ressuspenso em água destilada (proporção 1:25 p/v), extraído por mais uma hora e tratado como anteriormente. O sobrenadante da segunda extração foi adicionado ao da primeira e o pH ajustado a 4,0, sendo denominado extrato total. Os extratos totais combinados foram concentrados a vácuo e dialisados extensivamente por 24 horas contra água destilada em membranas de corte de 12.000 Da. O resíduo da segunda extração foi submetido à uma sequência de novas extrações com diferentes agentes (ácido nítrico, oxalato de amônio, e hidróxido de sódio). As extrações foram realizadas em duplicata.

O material remanescente da diálise foi colocado sob leve agitação magnética em 4 volumes de etanol a 95% e deixado em repouso durante 1 hora à temperatura ambiente e, em seguida armazenada a 4 °C durante aproximadamente 12 horas para precipitação das pectinas. A mistura foi centrifugada como anteriormente, o material gelatinoso (pectina precipitada) foi disperso em água destilada e em seguida, evaporou-se a vácuo para remover remanescente de etanol. A dispersão foi congelada e posteriormente, liofilizada. esse material foi denominado pectina extraída em água.

4.5.2 Extração em oxalato

Os resíduos da extração em água foram colocados em contato com solução de oxalato de amônio 0,5% (proporção sólido-líquido 1:25, p/v), sob suave agitação magnética, durante 1 hora a 80 °C. A suspensão resultante foi centrifugada a 10.000 rpm durante 20 minutos a 15 °C. O sobrenadante foi filtrado em tecido de malha fino e a solução clarificada ajustada para pH 4,0 com solução 0,1 M de ácido nítrico. O resíduo foi ressuspensão em solução de oxalato de amônio (proporção 1:25), extraído por mais uma hora e tratado como anteriormente. O sobrenadante da segunda extração foi adicionado ao da primeira e o pH ajustado para 4,0. O resíduo da segunda extração em oxalato de amônio foi empregado nas demais etapas da extração. Os extratos combinados foram concentrados a vácuo e dialisados extensivamente por 24 horas contra água destilada em membranas de corte 12.000 Da.

O material remanescente da diálise foi submetido ao mesmo procedimento utilizado na extração em água (item 4.4.1) para obtenção dos polissacarídeos. o material obtido foi denominado pectina extraída em oxalato de amônio.

4.5.3 Extração em meio ácido

Os resíduos da extração em oxalato de amônio foram submetidos à extração em solução de ácido nítrico 0,1 M (proporção sólido-líquido 1:25, p/v), sob suave agitação magnética, durante 1 hora a 80 °C. A suspensão resultante foi centrifugada a 10.000 rpm durante 20 minutos a 15 °C. O sobrenadante foi filtrado em malha fina e a solução clarificada ajustada para pH 4,0 com solução de hidróxido de sódio. O resíduo foi ressuspensão em solução de ácido nítrico 0,1 M (proporção 1:25), extraído por mais

uma hora e tratado como anteriormente. O sobrenadante da segunda extração foi adicionado ao da primeira e o pH ajustado para 4,0. O resíduo da segunda extração em ácido foi empregado nas demais etapas da extração. Os extratos combinados foram concentrados a vácuo e dialisados extensivamente por 24 horas contra água destilada em membranas de corte 12.000 Da.

O material remanescente da diálise foi tratado da mesma forma como citado para as extrações em água e oxalato de amônio. O material obtido foi denominado pectina extraída em ácido (PecAc).

4.5.4 Extração em meio básico

Os resíduos da extração em ácido nítrico foram colocados em contato com solução de hidróxido de sódio 0,1 M (proporção sólido-líquido 1:25, p/v), sob suave agitação magnética, durante 1 hora a 80 °C. A suspensão resultante foi centrifugada a 10.000 rpm durante 20 minutos a 15 °C. O sobrenadante foi filtrado em malha fina e a solução clarificada ajustada para pH 4,0 com solução de HCl 0,1 M. O resíduo foi ressuspenso em NaOH 0,1 M (proporção 1:25), extraído por mais uma hora e tratado como anteriormente. O sobrenadante da segunda extração foi adicionado ao da primeira e o pH ajustado para 4,0. Os extratos combinados foram concentrados a vácuo e dialisados extensivamente por 24 horas contra água destilada em membranas de corte 12.000 Da.

O material remanescente da diálise foi colocado sob leve agitação magnética em 4 volumes de etanol a 95% e deixado em repouso durante 1 hora à temperatura ambiente e, em seguida armazenada em geladeira durante aproximadamente 12 horas para precipitação da pectina. A mistura foi centrifugada como anteriormente, o material gelatinoso (pectina precipitada) foi disperso em água destilada e em seguida, evaporado em banho-maria para remoção de remanescente de etanol. A dispersão foi congelada e posteriormente, liofilizada, sendo denominada pectina extraída em base

4.6 Análises químicas da frações polissacarídicas obtidas de *L. ferrea* e *A. cearensis*

Para as análises descritas a seguir foram preparadas diluições das frações polissacarídicas obtidas de *L. ferrea* e *A. cearensis* a partir de uma solução estoque encerrando 1 mg.mL⁻¹.

4.6.1 Determinação de carboidratos totais

Para esta análise, 1 mL de cada diluição foi adicionado rapidamente a 3 mL de ácido sulfúrico concentrado em tubo de ensaio e agitado por 30 segundos. A solução foi resfriada em banho de gelo por 2 minutos e, após atingir a temperatura ambiente, foi realizada a leitura de absorbância a 315 nm em espectrofotômetro. Todas as análises foram realizadas em triplicata e a quantificação dos polissacarídeos foi realizada a partir de uma curva de calibração de concentrações crescentes de galactose ($R^2=0,9920$). Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (%).

4.6.2. Determinação de ácido galacturônico

O teor de ácido galacturônico foi determinado segundo o método descrito por Blumenkrantz e Asboe-Hansen (1973) em espectrofotômetro a 520 nm. Nesse método, 0,4 mL de solução de amostra foram adicionados em um tubo de ensaio a 2,4 mL de solução de tetraborato de sódio 0,125 M, preparada em ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram mantidos em banho maria fervente por 10 minutos, sendo então resfriados em banho de gelo. A cada tubo foram adicionados 40 μ L de solução de metahidroxifenil (0,15%). Em seguida as amostras foram lidas em espectrofotômetro. Os teores de ácido galacturônico foram calculados com base em uma curva de calibração construída com ácido galacturônico ($R^2=0,9949$), sendo as análises realizadas em triplicata e os resultados expressos como média \pm desvio padrão (%).

4.6.3 Determinação de proteínas solúveis totais

A quantidade de proteínas solúveis foi avaliada pelo método de Bradford (1976) em espectrofotômetro a 595 nm. Neste ensaio, 100 μ L de cada solução de amostra foram colocados em um tubo de ensaio. A cada tubo foram adicionados 2,5 mL do

reagente de Bradford. Após 10 minutos, as amostras foram lidas em espectrofotômetro. A concentração de proteínas foi estimada em relação a uma curva padrão construída com albumina sérica bovina ($R^2=0,9982$), sendo as análises realizadas em triplicata e os resultados expressos como média \pm desvio padrão (%).

4.6.4 Determinação de compostos fenólicos

Para a determinação do teor de compostos fenólicos, foi utilizado o microensaio adaptado de Singleton; Rossi (1965). Neste ensaio, 50 μ L de cada amostra foram colocados em um balão de 5 mL. A cada balão foram adicionados 250 μ L de reativo Folin e 2 mL de carbonato de sódio (7,5%). Completou-se o volume com água destilada e agitou-se vigorosamente em vortex. Após 1 hora protegido da incidência luminosa, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 765 nm. A concentração de compostos fenólicos nas amostras foi estimada com base em uma curva de calibração construída com soluções de concentração crescente de ácido pirogálico ($R^2=0,9968$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos de caracterização de moléculas orgânicas é um tema central abordado pela química de macromoléculas. A determinação dos principais aspectos químicos de novos compostos é útil para a sua elucidação estrutural, e conseqüentemente para a interpretação das informações acerca dos prováveis mecanismos de ação de moléculas biologicamente ativas. No que tange à química de carboidratos, diferentes técnicas analíticas tem sido empregadas de modo a esclarecer a diversidade estrutural e funcional de polissacarídeos vegetais (BUCKERIDGE et al., 2010, PEREIRA et al., 2012; SOUZA et al., 2015). Dentre esses métodos, a determinação da composição monossacarídica e da massa molar fornecem informações importantes para a compreensão das diferentes funções dessa classe molecular, caracterizada por diversidade de formas estruturais, muitas vezes relacionadas a diferentes fatores ou eventos ambientais e fisiológicos do próprio vegetal (BUCKERIDGE et al., 2010). Contudo, para se chegar a tais informações deve-se,

primeiramente, observar sua constituição a nível analítico. Para tanto, a determinação das melhores condições de extração, aliada à mensuração de parâmetros importantes como o rendimento, teor de proteínas e carboidratos totais solúveis são etapas importantes quando se pretende avaliar os demais aspectos no estudo químico de carboidratos (YAPO; KOFI, 2006).

No presente trabalho, foram avaliados diferentes meios de extração para obtenção de polissacarídeos de duas importantes espécies de plantas medicinais da Caatinga, *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis*. As etapas de extração foram também monitoradas através da determinação de parâmetros analíticos (carboidratos, proteínas e fenois totais). Considerando a importância das pectinas a nível biotecnológico e farmacológico, as amostras obtidas foram avaliadas quanto ao teor de ácido galacturônico, o principal componente desta classe molecular (CANTERI et al., 2012), sendo este um ótimo indicativo da quantidade e da qualidade de pectina extraída a cada etapa ou diferentes condições de extração (YAPO; KOFI, 2006).

5.1 Extração e rendimento das frações polissacarídicas de *L. ferrea* e *A. cearensis*

Amostras trituradas das vagens de *L. ferrea* (10 g) e *A. cearensis* (40 g) foram submetidas à extração de polissacarídeos sob diferentes condições de temperatura, pH e agentes extratores. Inicialmente, as amostras das vagens tratadas com etanol 80% sob aquecimento superior a 70 °C. O uso de etanol ou metanol é útil para eliminação de açúcares simples e compostos secundários, comumente presentes em tecidos vegetais (SEIBEL; BELÉIA, 2008). Ao final do processo foram obtidas quantidades de polissacarídeos que variaram entre 0,046 g a 1,931 g, para *L. ferrea* (TABELA 1) e 0,08 g a 4,32 g para *A. cearensis* (TABELA 2), com rendimentos compreendidos entre 7,71% a 19,3% e 0,20% a 5,4%, respectivamente para as duas espécies.

Tabela 1: Rendimento das frações polissacarídicas obtidas de *L. ferrea* sob diferentes condições de extração

AMOSTRA	PESO INICIAL	PESO FINAL	RENDIMENTO (%)
SIA's	10 g	0,046 g	0,45%
ÁCIDO NÍTRICO	10 g	1,931g	19,3%
ÁCIDO CÍTRICO	10 g	1,686 g	16,8 %

OXALATO DE AMÔNIO	3,2 g	0,247 g	7,71%
HIDRÓXIDO DE SÓDIO	3,1 g	0,631 g	7,96%

Valores apresentados como média.

Valores de desvio padrão para as amostras variaram entre 0,0 e 0,0007 (n=3).

Em relação ao rendimento dos polissacarídeos de *L. ferrea*, a fração proveniente de extração ácido nítrico foi a que apresentou maior percentual entre todas as frações (19,3%) , seguida das frações e ácido cítrico (16,8%). O rendimento obtido a partir da extração em solução de hidróxido de sódio (7,96%) foi superior ao encontrado por Pereira et al. (2012) para a mesma espécie (2,8%) sob as mesmas condições de extração.

Em relação à espécie *A. cearensis*, não há dados na literatura que tratem a respeito dos polissacarídeos obtidos dessa espécie. Contudo, observam-se valores relativamente altos de rendimento da fração obtida a partir da extração com oxalato de amônio. Provavelmente, o tipo de pectina presente em *A. cearensis* seja rica em ions metálicos como Ca^{2+} e Mg^{2+} , os quais são capturados na presença do quelante (SEIBEL; BELÉIA, 2008).

Tabela 2: Rendimento das frações polissacarídicas obtidas de *A. cearensis* sob diferentes condições de extração

	Peso Inicial	Peso Final	RENDIMENTO (%)
SIAS	40 g	4,32 g	10,8 %
ÁGUA	40 g	0,11 g	0,29 %
OXALATO I	40 g	0,17 g	5,4 %
ÁCIDO NÍTRICO I	40 g	0,080 g	0,20%
HIDRÓXIDO DE SÓDIO	40 g	0,176 g	0,43 %

Valores apresentados como média.

Valores de desvio padrão para as amostras variaram entre 0,0 e 0,001 (n=3).

O processo de extração dos polissacarídeos empregou, em alguns casos, aquecimento e acidificação, contudo, em todas as condições testadas, a precipitação em etanol foi realizada para obtenção das frações de pectina. Embora a extração de pectina varie de acordo com a matéria-prima, em linhas gerais, o processo compreende: extração do vegetal de origem em meio aquoso ácido; purificação desse líquido extraído e isolamento da pectina por precipitação (CHRISTENSEN, 1984).

A extração em meio ácido sob aquecimento é o método utilizado industrialmente para obtenção de pectinas a partir de resíduos industriais (CANTERI et al., 2012). Diferentes ácidos podem ser utilizados nesse processo. Em alguns países, os ácidos minerais são proibidos, sendo substituídos por cítrico, láctico ou tartárico (CANTERI et al., 2012). As condições de extração são variáveis, mas via de regra um pH na faixa de 1,5-3,0 é utilizado por 0,5-6,0 horas, numa faixa de temperatura de 60-100 °C. A razão sólido-líquido é geralmente 1:18 (THIBAULT et al., 1991).

Por outro lado, a extração empregando sais, como oxalato de amônio ou potássio, tem sido também amplamente usada para obtenção de pectinas de boa qualidade, bem como para o fracionamento de componentes da parede celular (SEIBEL; BELÉIA, 2008). Os sais de amônio e potássio atuam como quelantes, capazes de interagir com íons metálicos de Ca^{2+} e Mg^{2+} , os quais estão presentes como grupos constituintes de pectinas, complexados a resíduos de ácido galacturônico (SELVENDRAN; O'NEILL, 1987).

Da mesma forma, extrações em meios alcalinos são úteis na obtenção de pectinas da casca de frutos de plantas por conseguirem arrancar moléculas mais firmemente ancoradas à parede celular (PEREIRA et al., 2012; SOUZA et al., 2015).

Em relação ao isolamento de pectinas a partir do extrato total, o uso de diálise é normalmente usado para a eliminação de compostos contaminantes de baixo peso molecular, e a precipitação com etanol proporciona uma maior purificação da molécula. A pectina precipita em concentrações de etanol mais elevadas que 45% (m/v) (CANTERI et al., 2012). Metanol, etanol e 2-propanol podem ser usados. Para minimizar o volume de álcool, o extrato clarificado pode ser concentrado em evaporadores até 3-4% do volume inicial. O precipitado obtido pela adição de etanol é lavado posteriormente para remover contaminantes na forma de metais pesados, resíduos de agrotóxicos, ácidos, açúcares, compostos fenólicos, pigmentos e outros materiais insolúveis em álcool (VORAGEN et al., 1995). Esses procedimentos foram empregados para a obtenção das frações poolissacarídicas de *L. ferrea* e *A. cearensis*.

5.2. Análises químicas das frações polissacarídicas obtidas de *L. ferrea* e *A. cearensis*

As amostras de sólidos insolúveis em álcool (SIAs) das vagens de *L. ferrea* apresentaram, em média, $10,19 \pm 0,03\%$ de carboidratos totais. Enquanto isso, foram encontrados valores de $38,97 \pm 0,05\%$ e $33,23 \pm 0,17\%$ para as extrações em solução de ácido nítrico e de ácido cítrico, respectivamente. Pode-se observar, ainda, que as frações polissacarídicas derivadas da extração em solução de oxalato de amônio foram as que apresentaram os maiores teores de carboidratos totais, em média $83,60 \pm 0,07\%$, seguido pelas extrações em solução de hidróxido de sódio, cujo percentual médio foi de $47,73 \pm 0,06\%$ (TABELA 3).

Tabela 3: Valores médios de carboidratos totais e ácido galacturônico nas frações polissacarídicas obtidas de *Libidibia ferrea*

Amostra	Carboidratos totais (%) ^a	Ácido Galacturônico (%) ^b
SIAS	10,19 \pm 0,03	22,62 \pm 0,02
Pectina extraída em Ácido Nítrico	38,97 \pm 0,05	37,94 \pm 0,16
Pectina extraída em Ácido Cítrico	33,23 \pm 0,17	23,12 \pm 0,13
Pectina extraída em Oxalato de Amônio	83,60 \pm 0,07	52,53 \pm 0,07
Pectina extraída em Hidróxido de Sódio	47,73 \pm 0,06	25,62 \pm 0,06

^a Albalasmeh, Berhe, Ghezzehei (2013).

^b Blumenkrantz; Asboe-Hansen (1973).

Análises químicas realizadas por Souza et al. (2015) em polissacarídeos obtidos de cascas do tronco de *Geoffroea spinosa* evidenciaram um teor de 62% de carboidratos totais extraídos em solução de hidróxido de sódio 0,1 M. No trabalho de Pereira (2011), que também utilizou vagem de *L. ferrea* (*Caesalpinia ferrea*), o teor de carboidratos totais foi de 31%. Em estudos com o tegumento das sementes da espécie *Azadirachta indica*, Pereira et al. (2012) encontraram 54% de carboidratos totais nos polissacarídeos extraídos sob condições alcalinas. Em estudo com frações obtidas de frutos de *Abelmoschus esculentus* Seyfried (2014) obteve, em média, 52% de carboidratos totais em extrações aquosas.

As análises realizadas com o material provindo das vagens da espécie *A. cearensis* apontaram que, quanto ao teor de carboidratos totais, o SIAs apresentou em

média $15,27 \pm 0,002\%$ para esse parâmetro. Já as extrações conduzidas em água apresentaram valor percentual de aproximadamente $66,29 \pm 0,15\%$, enquanto as realizadas em oxalato de amônio, ácido nítrico e hidróxido de sódio apresentaram valores de $23,80 \pm 0,07\%$, $38,90 \pm 0,03 \%$ e $82,0 \pm 0,06\%$, respectivamente (TABELA 4).

Tabela 4: Valores médios de polissacarídeos totais e ácido galacturônico nas frações polissacarídicas obtidas de *Amburana cearensis*

Amostra	Carboidratos totais (%) ^a	Ácido Galacturônico (%) ^b
Sias	$15,27 \pm 0,002$	$9,0 \pm 0,002$
Pectina extraída em Água	$66,29 \pm 0,15$	$21,33 \pm 0,003$
Pectina extraída em Oxalato de Amônio	$23,80 \pm 0,07$	$30,53 \pm 0,09$
Pectina extraída em Ácido Nítrico	$38,90 \pm 0,03$	$59,07 \pm 0,02$
Pectina extraída em Hidróxido de Sódio	$82,0 \pm 0,13$	$28,10 \pm 0,06$

^a Albalasmeh, Berhe, Ghezzehei (2013).

^b Blumenkrantz; Asboe-Hansen (1973).

Dados apresentados correspondem à média \pm desvio padrão (n=3).

O elevado conteúdo de açúcares observado nas frações polissacarídicas obtidas a partir das extrações com diferentes agentes extratores, sugere que as duas espécies estudadas são fontes potenciais de polissacarídeos, os quais podem ser avaliados quanto ao aspecto farmacológico. Os frutos da espécie *Libidibia ferrea* já foram previamente analisados quanto a seus polissacarídeos constituintes (PEREIRA et al., 2012). Os frutos dessa espécie serviram de matéria-prima para a obtenção de frações polissacarídicas ricas em ácido galacturônico (35 a 48% dos polissacarídeos totais constituintes), a partir de condições alcalinas, as quais demonstrou-se serem possuidoras de significativa ação antiinflamatória em modelos animais. Em nosso estudo, as amostras de SIAs da farinha das vagens de *L. ferrea* apresentaram, em média, valores de $22,62 \pm 0,02 \%$ de ácido galacturônico. Enquanto isso, as amostras provenientes das extrações em ácido nítrico e ácido cítrico apresentaram em média $37,94 \pm 0,16\%$ e $23,12 \pm 0,13\%$, respectivamente. Da extração em solução de hidróxido de sódio, $25,62 \pm 0,06 \%$ foi o teor encontrado. Esse valor está próximo aos 31% de AGal encontrados para esta espécie por Pereira et al., (2012a), sob as mesmas condições de extração (meio alcalino sob aquecimento). O material da extração com

oxalato de amônio foi o que apresentou maior percentual médio de ácido galacturônico de $52,53 \pm 0,07$ % (TABELA 3).

Um ponto interessante para as extrações de *L. ferrea* é a similaridade observada entre os valores de carboidratos totais e ácido galacturônico na fração ácido nítrico (38,97% e 37,94%, respectivamente). Isso pode indicar que o referido ácido foi específico na extração de polissacarídeos pécticos. Contudo, observa-se que para essa espécie, as extrações conduzidas na presença do quelante (oxalato de amônio) apresentaram níveis mais elevados de carboidratos totais (83,6%) e de ácido galacturônico (52,53%), indicando que este agente extrator é mais eficiente para a obtenção de frações ricas em pectinas com valor de *AGal* próximo a 65%, valor este preconizado para identificar alto índice de pureza para pectinas (FCC, 1981).

Por outro lado, é interessante frisar que as extrações de polissacarídeos em *L. ferrea* foram realizadas de modo não-sequencial, ou seja, cada extração foi conduzida partindo-se do mesmo ponto inicial, as amostras de SIAs. Desse modo, pode-se sugerir que extrações com oxalato de amônio precedido de extrações em outros meios (em água, por exemplo) poderiam fornecer uma pectina com maior nível de pureza, avaliando-se o teor de ácido galacturônico.

O método mais usual para determinação de ácidos urônicos em amostras de polissacarídeos era a reação com carbazol, não específica para o ácido galacturônico. Posteriormente, o reativo foi substituído pelo metahidroxifenil, proposto em 1973 por Blumenkrantz e Asboe-Hansen. Esse método apresenta elevada sensibilidade e especificidade, com menor interferência por açúcares neutros como a glucose, a galactose, a xilose, a arabinose, a ramnose, a frutose ou componentes fenólicos (CANTERI et al., 2012).

Extrações sequenciais foram realizadas para a espécie *A. cearensis*. Os valores de ácido galacturônico variaram entre $9,0 \pm 0,002$ % e $59,07 \pm 0,02$ % (TABELA 4), sendo este maior valor encontrado na fração obtida a partir de extração em solução de ácido nítrico 0,1 M., e sugere a obtenção de uma pectina com maior grau de pureza em relação (YAPO; KOFI, 2006), o que poderá ser confirmado a partir da determinação da

composição monossacarídica dessa fração (YAPO; KOFI, 2006). O teor de ácido galacturônico encontrado para *A. cearensis*, nesse trabalho, é superior aos encontrados nas espécies *Caesalpinia ferrea* (*Libidibia ferrea*) (48%) e *Azadirachta indica* (31%) (PEREIRA et al., 2012a, 2012b) nos polissacarídeos totais obtidos sob condições alcalinas. Considerando a extração de pectinas de *A. cearensis* em meio com hidróxido de sódio 0,1 M, os valores de 52% indicam que a extração realizada de modo sequencial pode ser utilizada para a obtenção de pectinas a partir da espécie estudada.

É importante mencionar que este trabalho representa o primeiro estudo científico sobre polissacarídeos da espécie *Amburana cearensis*, uma planta medicinal amplamente utilizada na medicina popular e com uma série de relatos de propriedades farmacológicas na literatura científica (COSTA-LOTUFO et al., 2013, LEAL et al., 2003, 2009, 2011). Isso possibilitará, em uma perspectiva futura, o desenvolvimento de novas moléculas glicídicas com aplicação farmacológica em potencial.

Em relação à presença de proteínas, observou-se um valor médio de $14,5 \pm 0,11\%$ de conteúdo proteico nas amostras de SIAs das vagens de *L. ferrea*, determinado segundo o método de Bradford (1976). As amostras obtidas a partir de extração em solução de ácido nítrico e de ácido cítrico apresentaram respectivamente $18,6 \pm 0,001\%$ e $17,6 \pm 0,02\%$, enquanto que as extrações em solução de oxalato de amônio a 0,5% apresentaram um teor de $18,6 \pm 0,01\%$. As frações obtidas das extrações com solução de hidróxido de sódio apresentaram altos valores de $35,68\% \pm 0,01\%$.

Para a espécie *A. cearensis*, o conteúdo médio proteico nas amostras de SIAs foi de $14,7 \pm 0,002\%$. A extração em água foi a que apresentou maior teor de proteínas, $22,93 \pm 0,02\%$, seguido pela extração em ácido nítrico 0,1 M, que apresentou valor percentual médio de $19,06 \pm 0,002\%$. As extrações realizadas com oxalato de amônio 0,5% apresentaram valores médios de $5,4 \pm 0,004\%$ (TABELA 6).

Pode-se dizer que, em relação ao conteúdo proteico para as duas espécies, foram observados altos valores, considerando os dados registrados na literatura (SOUZA et al., 2015, PEREIRA et al., 2012a, 2012b). No caso de *L. ferrea*, o conteúdo

proteico similar para as frações obtidas por extração em ácido nítrico e cítrico pode indicar um grau de similaridade estrutural entre as mesmas.

Souza e colaboradores (2015) encontraram um teor de 9% de proteína nos polissacarídeos isolados de *Geoffroea spinosa*. Já nos estudos com frações polissacarídicas obtidas de frutos de *A. esculentus*, Seyfried (2014) encontraram valores médios de 2,4% de proteínas totais. Pereira et al. (2012) relataram um valor médio de 3% de proteínas nos polissacarídeos totais de *Caesalpinia ferrea* (*Libidibia ferrea*) extraídos em meio alcalino. Essa elevada diferença no teor proteico para a mesma espécie de estudo, e considerando as mesmas condições de extração dos polissacarídeos, poderia ser explicada por diferentes fatores ambientais aos quais as amostras de frutos estariam submetidas. Sabe-se que padrões diferenciados de solo, umidade e temperatura, bem como o estágio de maturação do indivíduo influenciam a composição de seus polissacarídeos constituintes (CANTERI et al., 2012).

Segundo Santos et al. (2006) há materiais proteicos em diferentes fontes de polissacarídeos. Todas as amostras polissacarídicas obtidas das vagens de *L. ferrea* e *A. cearensis* apresentaram proteínas em altas proporções. Isso pode sugerir que uma possível contaminação com proteínas provindas da própria parede celular, ou que tais proteínas estejam covalentemente aderidas à estrutura das pectinas isoladas (SEIBEL; BELÉIA, 2008). Para tanto, estudos com a aplicação de técnicas de avaliação estrutural são necessários.

Tabela 5: Valores de proteínas totais e fenóis totais nas frações polissacarídicas de *Libidibia ferrea*

Amostra	Proteínas (%) ^a	Compostos fenólicos (%) ^b
SIA s	14,53 ± 0,11	5,17 ± 0,015
Pectina extraída em Ácido Nítrico	18,61 ± 0,001	7,31 ± 0,0015
Pectina extraída em Ácido Cítrico	17,6 ± 0,02	5,81 ± 0,0043
Pectina extraída em Oxalato de Amônio	18,62 ± 0,01	15,19 ± 0,002
Pectina extraída em Hidróxido de Sódio	35,68 ± 0,01	16,75 ± 0,004

^a Bradford (1976);

^b Singleton; Rossi (1965).

Dados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3).

Tabela 6: Valores de proteínas totais e fenois totais nas frações polissacarídicas de *Amburana cearensis*

Amostra	Proteínas (%)	Compostos fenólicos (%)
Sias	14,71 ± 0,001	5,12 ± 0,009
Pectina extraída em Água	22,93 ± 0,02	13,12 ± 0,02
Pectina extraída em Oxalato de Amônio	5,4 ± 0,004	5,0 ± 0,005
Pectina extraída em Ácido Nítrico	19,06 ± 0,02	4,16 ± 0,004
Pectina extraída em Hidróxido de Sódio	11,49 ± 0,06	8,33 ± 0,008

^a Bradford (1976);

^b Singleton; Rossi (1965).

Dados apresentados correspondem à média ± desvio padrão (n=3).

Os valores de compostos fenólicos totais nas frações polissacarídicas de *L. ferrea* estão apresentados na TABELA 5. A determinação desse parâmetro foi realizada pelo microensaio utilizando o reagente *Folin-Ciocalteu* descrito por Singleton e Rossi (1965). As amostras de SIAs de *L. ferrea* apresentaram, em média 5,17 ± 0,015 % de compostos fenólicos. Já as amostras provenientes de extração em ácido nítrico e ácido cítrico apresentaram valores de 7,31 ± 0,005% e 5,81 ± 0,004%, respectivamente. As extrações em solução de oxalato de amônio apresentaram valor percentual médio de 15,19 ± 0,002% e as amostras de extração em hidróxido de sódio 0,1 M, 16,75 ± 0,004%.

Para as amostras de *A. cearensis*, foram encontrados valores médios de 5,12 ± 0,009% para as amostras de SIAs. Por outro lado, os valores referentes ao teor percentual médio de compostos fenólicos das extrações em água e oxalato de amônio foram de 13,12 ± 0,02% e 5 ± 0,005%, respectivamente. As frações da extração em meio ácido ou alcalino apresentaram os valores de 4,16 ± 0,004% e 8,33 ± 0,008%, respectivamente (TABELA 6).

No trabalho de Seyfried (2014) as frações polissacarídicas obtidas a partir de extrações aquosas de *Albemoschus esculentus* apresentaram 0,32% de compostos fenólicos sob extração aquosa à quente. Seibel; Beléia (2008) afirmaram que os resíduos de ácido galacturônico na estrutura das pectinas podem estar ligados covalentemente a compostos fenólicos. Esse é um dado importante, se considerarmos

que ambas as espécies deste estudo são citadas na literatura científica por suas propriedades antiinflamatórias, uma propriedade também descrita para compostos fenólicos.

6. CONCLUSÕES

- ✓ O rendimento da fração extraída de *L. ferrea* sob condições alcalinas foi superior ao encontrada para esta espécie por Pereira et al. (2012) sob as mesmas condições de extração. Condições ambientais ou estágio de maturação podem ser as responsáveis por tais diferenças no teor de polissacarídeos nessa espécie;
- ✓ Dentre as frações extraídas de *A. cearensis*, a obtida em oxalato de amônio foi a que apresentou maior rendimento. Isso pode indicar que pectinas nessa espécie sejam ricas em ions metálicos como Ca^{2+} e Mg^{2+} , os quais são capturados na presença do quelante
- ✓ *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis* representam fontes potenciais de obtenção de pectinas, considerando o elevado teor de carboidratos constituintes de suas paredes celulares;
- ✓ *Libidibia ferrea* apresentou elevado teor de ácido galacturônico (52,5%) na fração obtida por extração com agente quelante (oxalato de amônio) com rendimento acima de 7%. Esse valor de *AGal* é superior ao relatado na literatura para esta espécie a partir de extrações em meio alcalino (48%), o que pode representar uma pectina estruturalmente distinta nesta espécie e com maior grau de pureza;
- ✓ Extrações em ácido nítrico a partir de *A. cearensis* permitiram a obtenção de pectinas com 59,07% de ácido galacturônico;
- ✓ Teores de proteínas elevados podem sugerir a presença de contaminantes nas frações polissacarídicas obtidas, ou que o conteúdo proteico esteja associado covalentemente à estrutura das pectinas isoladas;

- ✓ Teores significativos de compostos fenólicos nas amostras obtidas representam um dado importante, considerando as propriedades antiinflamatórias já descritas para *Libidibia ferrea* e *Amburana cearensis*;
- ✓ Estudos de análise estrutural mais detalhados são necessários em associação aos dados obtidos neste trabalho para caracterizar melhor as moléculas obtidas e, assim, permitir uma avaliação futura quanto às suas possíveis propriedades farmacológicas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A.G.; O'NEILL, M.A.; SCHOLS, H.A.; VORAGEN, A.G.J. An hypothesis: the same six polysaccharides are components of the primary cell walls of all higher plants. *Progress in Biotechnology: Pectins and Pectinases*. Amsterdam: Elsevier, v. 14, p. 47-55, 1996.

ALBUQUERQUE, U.P. et al. Medicinal plants of the *caatinga* (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 114, p. 325–354, 2007.

ALBUQUERQUE, U.P.; ANDRADE, C.H.L. Uso de recursos vegetais da Caatinga: o caso Agreste do Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). *Interciências*. v. 27, n.7, p.335-364, 2002.

ALMEIDA, J.R.G.S. et al. *Amburana cearensis*: uma revisão química e farmacológica. *Scientia Plena*, v.6, n.11, 2010.

AMANLOU, M., DADKHAH, F., SALEHNIA, A., FARSAM, H. An anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Satureja khuzistanica* Jamzad extract. *J Pharm Pharmaceut Sci*, v. 8 (1), p. 102-106, 2005.

ASPINALL, G.O. Gums and mucilages. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, v. 24, p.333-379, 1969.

AVIGAD, G.; DEY, P.M. *Plant Biochemistry*, New York: Academic Press., 1997. p.143, 169, 177, 191-192.

BACCHI, E.M. et al. Antiulcer action of *Styrax camporum* and *Caesalpinia ferrea*. *Planta Medica*, Stuttgart, v.61, n.3, p. 204-207, 1995.

BADKE, M.R. et al. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. *Esc Anna Nery* v.15, n.1, p.132-139, 2011.

BARRETT; NORTHCOT, 1965;

BOHN, J. A.; Be MILLER, J. N. 1 →3 β-D-glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. *Carbohydr. Polym.*, v. 28, p. 3-14, 1995.

BOWLES, J. D. Defense-related proteins in higher plants. *Annu. Rev. Biochem.*, v.59, p. 873-907, 1990.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Analytical Biochemistry*, v.72, p.248–254, 1976.

BRETT; C., WALDRON; K. *Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls.*,

Unwin Hyman, p. 1-3, 114, 1990.

BRISKIN, D. P. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. **Plant. Physiol.**, v. 124, p. 507-514, 2000.

BUCHALA, A. J.; WILKIE, K. C. B. Total hemicelluloses from *Hordeum vulgare* plants at different stages of maturity. **Phytochemistry**, v. 13, p. 1447-1451, 1974.

BUCKERIDGE, M. S.; TINÉ, M. A. S. Composição polissacarídica: estrutura da parede celular e fibra alimentar. **Instituto de Botânica de São Paulo**, 2000.

BUCKERIDGE, M.S, et al. Mobilização da célula de armazenamento parede polissacarídeos nas sementes. **Plant Physiol Biochem** v. 38, p.141.

CALIXTO, J. B., SCHEIDT, C., OTUKI, M., SANTOS, A. R. S. Biological activity of plant extracts: novel analgesic drugs. **Expert Opinion on Emerging Drugs**, v. 6 (2), p. 261-279, 2001.

CALIXTO, J.B, BEIRITH, A., FERREIRA, J., SANTOS, A,R,, FILHO, V.C., YUNES, R.A. Naturally Occurring Antinociceptive Substances from plants. **Phytoterapy Research**, v. 14, p. 401-418, 2000.

CANUTO, K. M. et al. Uso de Plantas Jovens de *Amburana cearensis* A. C. Smith: Alternativa para Preservação e Exploração Econômica da Espécie. **Embrapa Semi- Árido**, Petrolina, p.15, abr. 2008.

CAPEL, F.; NICOLAI, T.; DURAND, D; BOULENGUER, P; LANGENDORFF, V. Calcium and acid induced gelation of (amidated) low methoxyl pectin **Food Hydrocolloid**, 20, 901 (2006).

CARLINI, E.A. Pesquisas com plantas brasileiras usadas em medicina popular. **Rev. Assoc. Méd. Brasil.**, v.29, n.5/6, p.109-110, 1983.

CARPITA, N. C. Fractionation of hemicelluloses from maize cell walls with increasing concentrations of alkali. **Phytochemistry**, v. 23, p. 1089-1093, 1984.

CARTAXO, S.L. **Diversidade e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga em Aiuabe-CE, Brasil**. 2009. 103p. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) Universidade Regional do Cariri, Crato, 2009.

CARVALHO, J.C.T. et al. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 53, n.3. p 175-178, 1996.

CHAU, C. F; HUANG, Y. L. Effects of the insoluble fiber derived from *Passiflora edulis* seed on plasma and hepatic lipids and fecal output. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 49, p. 786 - 790, 2005.

COLLINS, P. M.; FERRIER, R. J. **Monosaccharides: their chemistry and their**

role in natural products.

CHICHESTER: J. WILEY, 1995. 547p.

COSTA-LOTUFO, L. V., JIMENEZ, P. C., WILKE, D. V., LEAL, L. K. A. M., CUNHA, G. M. A., SILVEIRA, E. R., CANUTO, K.M., VIANA, G. S. B., MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O.; PESSOA, .C. Antiproliferative Effects of Several Compounds Isolated from *Amburana cearensis* A. C. Smith. **Z. Naturforsch.** v. 5, 675-680, 2003.

CUNHA, M.C.L.; FERREIRA, R.A. Aspectos morfológicos da semente e do desenvolvimento da planta jovem de *Amburana cearensis* (Arr. Cam.) A.C. Smith - Cumaru - Leguminosae Papilionoideae. **Revista Brasileira de Sementes.** v. 25, p.89-96, 2003.

CUNHA, P.L.R. et al. Isolation and characterization of galactomannan from *Dimorphandra gardneriana* Tul. Seeds as a potential guar gum substitute. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.23, n.3, p.880-885, 2009.

ANSB, 1998;

DARVILL et al., 1978

De VRIES, J. A. Repeating units in the structure of pectin. In: PHILIPS, G. O.; WEDLOCK, D. J.; WILLIAMS, P. A. (Eds.). **Gums and stabilisers from the food industry.** Oxford: IRL Press, v. 4, p. 25-29, 1988.

EBRINGEROVÁ, A.; HROMADKOVÁ, Z.; ALFODI, J.; HRIBALOVÁ, V. The immunologically active xylan from ultrasound-treated corn cobs: extractability, struture and properties. **Carbohydr. Polym.**, v. 37, p. 231-239, 1998.

FABRICANT, D. S., FARNSWORTH, N. R. The Value of Plants Used in Traditional Medicine for Drug Discovery. **Environmental Health Perspectives**, v. 109 (1), p. 69-75, 2001.

FENGEL, D.; WEGNER, G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions.** Berlin: Gruyter, W. 1989. 613p.

FOOD CHEMICALS CODEX, 3rd ed.; National Academy of Sciences: Washington, DC, 1981.

FRESHOUR, G.; CLAY, R. P.; FULLER, M. S.; ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A. G.; HAHN, M. G. Developmental and tissue-specific structural alterations of the cellwall polysaccharides of *Arabidopsis thaliana* roots. **Plant Physiol.**, v. 110, p. 1413- 1429, 1996.

GABRIELLI, I.; GATENHOLM, P.; GLASSER, W. G.; JAIN, R. K.; KENNE, L. Separation, characterization and hydrogel-formation of hemicellulose from aspen wood. **Carbohydr. Polym.**, v. 43, p. 367-374, 2000.

GHALI, Y.; YOUSSEF, A.; MOBDY, E. Structure of hemicelluloses isolated from *Canavalia ensiformis* and *Triticum aestivum* straws. **Phytochemistry**, v. 13, p. 605- 610, 1974.

GUO, Y.; MATSUMOTO, T.; KIKUCHI, Y.; IKEJIMA, T.; WANG, B.; YAMADA, H. Effects of a pectic polysaccharide from a medicinal herb, the roots of *Bupleurum falcatum* L. on interleukin 6 production of murine B cells and B cell lines. **Immunopharmacology**, v. 49, p. 307 - 316, 2000.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Mol Aspects Med.** v. 27,p.1-93, 2005.

HANDAM, I. I., AFIFI, F. U., Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 117-121, 2004.

HELDT, H.W. **Plant biochemistry and molecular biology**. New York: Oxford

ISERHARD, A. R. M. et al. Práticas culturais de cuidados de mulheres mães de recém-nascido de risco do Sul do Brasil. **Esc Anna Nery**. v.13, p.116-22, 2009.

KASHYAP, D.R., et al. Application of pectinases in the commercial sector: a review, **Bioresource Technology**, v. 77, p. 215-227, 2001.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger Princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 1202 p., 2006.

LEITE, E.J. State-of-knowledge on *Amburana cearensis* (Fr. Allem.) A.C. Smith (LeguminosaePapilionoideae) for genetic conservation in Brazil. **Journal for Nature Conservation**. v.13, p.49-65, 2005.

LEWIS, G.P. *Libidibia* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:<<http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB109828>> Acesso em: 16 Dez. 2014.

LIMA, H.C. de *Amburana* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22781>>. Acesso em: 18 Jun. 2015.

JANEIRO, D. I.; QUEIROZ, M. S. R.; SABAA-SRUR, A. U. O.; CUNHA, M. A. L.; DINIZ, M. F. F. M. Análise dos componentes da síndrome metabólica antes e após a suplementação alimentar com farinha da casca do maracujá, em pacientes diabéticos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, vol. 42 (3), p. 217-222, 2010.

KAKURÁKOVÁ, M.; CAPEK, P.; WELLNER, N.; EBRINGEROVÁ, A. FT-IR study of plant cell model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. **Carbohydr. Polym.**, v. 43, p. 195-203, 2000.

KITAYAMA, T.; MORIMOTO, M.; TAKATANI, M.; TAMURA, Y.; TAKUMI, M.; OKAMOTO, T. Isolation of hemicellulose from a sorghum, *Andropogon sorghum* Brot, Kumadake no. 263, and determination of its constituent sugars. **Carbohydr. Res.**, v. 325, p. 230-232, 2000.

KLIEMANN, E.; SIMAS, K. N.; AMANTE, E. R.; PRUDÊNCIO, E. S.; TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C.; AMBONI, R. D. M. C. Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 476 - 483, 2009.

LEAL, L.K.A.M, CANUTO, K.M, COSTA, K.C.S., NOBRE-JÚNIOR, H.V.; VASCONCELOS, S.M; SILVEIRA, E.R,; FERREIRA, M.V.P; FONTENELE, J.B; ANDRADE, G.M., VIANA, G.S.B. Effects of amburoside A and isokaempferide, polyphenols from *Amburana cearensis* on rodent inflammatory processes and myeloperoxidase activity in human neutrophils. **Basic Clin Pharmacol Toxicol.** v 104: p.198-205, 2009.

LEAL, L.K.A.M., PIERDONÁ, T.M.; GÓES, J.G.S., FONSÊCA, K.S., CANUTO, K.M., SILVEIRA, E.R. BEZERRA, A.M.E., VIANA, G.S.B. A comparative chemical and pharmacological study of standardized extracts and vanillic acid from wild and cultivated *Amburana cearensis* A.C. Smith. **Phytomedicine.** v. 18, p. 230–233, 2011.

LEAL, L.K.A.M; NECHIO, M; SILVEIRA, E.R; CANUTO, K.M; FONTENELE, J.B; RIBEIRO, R.A; VIANA, G.S.B.. Anti-inflammatory and smooth muscle relaxant activities of the hydroalcoholic extract and chemical constituents from *Amburana cearensis* A. C. Smith. **Phytother Res.** v. 17: p. 335-340, 2003.

LEUNG, M. Y. K.; LIU, C.; KOON, J. C. M.; FUNG, K. P. Polysaccharide biological response modifiers. **Immunology Letters**, v. 105, p. 101 - 114, 2006.

LEVIGNE, S.; RALET, M.C.; THIBAUT, J.F. Characterisation of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 145 - 153, 2002.

LIMA, M. S.; PAIVA, E. P.; ANDRADE, S. A. C.; PAIXÃO, J. A. Fruit pectins – A suitable tool for screening gelling properties using infrared spectroscopy. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 1 - 7, 2010.

LIU, C.; LEUNG, M. Y. K.; KOON, J. C. M.; ZHU, L. F.; HUI, Y. Z.; YU, B.; FUNG, K. P. Macrophage activation by polysaccharide biological response modifier isolated from *Aloe vera* L. var. *chinensis* (Haw.) Berg. **International Immunopharmacology**, v. 6, p. 1634 - 1641, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Nova Odessa/ Editora Plantarum, 2002.

LYON, M. R.; REICHERT, R. G. The effect of a Novel Viscous Polysaccharide along with Lifestyle Changes on Short-Term Weight Loss and Associated Risk Factors in Overweight and Obese Adults: An Observational Retrospective Clinical Program Analysis. **Alternative Medicine Review**, v. 15 (1), p. 68 - 75, 2010.

MACIEL, M. A. M., et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, p. 429-438, 2002.

MADHAV, A.; PUSHPALATHA, P. B. Quality Degradation of Jellies Prepared Using Pectin Extracted from Fruit Wastes. **Journal of Tropical Agriculture**, v. 40, p. 31 - 34, 2002.

MAIA, G. N. Caatinga - Árvores e arbustos e suas utilidades. 1ª. ed. São Paulo: D&Z, 2004. 413 p.

MATOS, F. J. A 1994. Farmácias Vivas: Sistema de Utilização de Plantas Medicinais Projetado para Pequenas Cidades, 2ª ed. EUFC, Fortaleza.

MELLO, V. D.; LAAKSONEN, D. E. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53 (5), p. 509 - 518, 2009.

MOTTA, V.T. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações**. 4ª edição. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2003.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios da bioquímica 4ª edição**. São Paulo: Sarvier, 2006.

NUCCI, C. **Potencial terapêutico do extrato etanólico dos frutos da *Pterodon pubescens* Bent no controle da dor aguda e crônica**. (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Florianópolis, 2014.

OLIVEIRA, C.P. **Ação de polissacarídeos de *Sarcocornia perennis* em ratinhos**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade de Aveiro, Departamento de Biologia. Aveiro, 2011.

OLIVEIRA, R. R. B., GÓIS, R. M. O., SIQUEIRA, R. S., ALMEIDA, J. R. G. S., LIMA, J. T., NUNES, X. P., OLIVEIRA, R., SIQUEIRA, J.S., QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Antinociceptive effect of the ethanolic extract of *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Sm., Fabaceae, in rodents. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v.19(3): p. 672-676, 2009.

PEREIRA et al. Anti-inflammatory polysaccharides of *Azadirachta indica* seed tegument. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.22,p. 617-622, 2012.

PEREIRA, L. M. da S. **Efeito antinociceptivo do HC-030031, um antagonista seletivo do receptor de potencial transitório anquirina subtipo 1 (TRPA1), em modelos de nocicepção visceral**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina. Fortaleza, 2011.

PEREIRA, M.F. et al. Terpenic fraction of *Pterodon pubescens* inhibits nuclear factor kappa B and extracellular signal-regulated protein kinase $\frac{1}{2}$ activation and deregulates gene expression in leukemia cells. **BCM Complementary and Alternative Medicine**, v.12, p. 231, 2012.

PEREZ, R. M. Anti-inflammatory activity of compounds isolated from plants. **Scientific World Journal**, v, 29 (1), p. 713-784, 2001.

PÉREZ, S.; MAZEAU, K.; du PENHOAT, C. H. The three-dimensional structures of the pectic polysaccharides. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 37 - 55, 2000.

PINHEIRO, E.R. **Pectina da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa)**: Otimização da extração com ácido cítrico e caracterização físico-química. (Dissertação mestrado em Ciências dos alimentos, Universidade federal de Santa Catarina) Florianópolis, 2007.

PROSKI, L. When is dietary fiber considered a functional food?. **Biofactors**, v. 12, p. 289 - 297, 2000.

PULS, J.; SCHUSEIL, J. Chemistry of hemicelluloses: relationship between hemicellulose structure and enzymes required for hydrolysis. In: **Hemicellulose and hemicellulases.**, London: Portland Press Research Monograph, 1993, p. 1-27.

RAVEN, P.; EVERT, R.F.; EICHORN, S.E. **Biology of Plants**, 6 ed., New York: W.H. Freeman, 1999.

REID, J. S. G. **Plant Biochemistry**. New York: Academic Press., p. 205-212, 1997.

ROSSI, T. Identificação de espécies florestais, *Amburana cearensis* (Freire Allemão) **.IPEF – Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**. São Paulo, 2008.

SANTI, L. et al. Pectinases e pectina: aplicação comercial e potencial biotecnológico. **Caderno pedagógico**, v. 11, n. 1, p. 130-139, Lajeado, 2014.

SANTI, L. Produção, caracterização e aplicação de preparados pectinolíticos produzidos por *Penicillium oxalicum* utilizando resíduos agroindustriais. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

SAWADA, L.A. et al. *Libidibia ferrea* Mature Seeds Promote Antinociceptive Effect by Peripheral and Central Pathway: Possible Involvement of Opioid and Cholinergic Receptors. **BioMed Research International**.v. 2014, p.10.abr, 2014.

SCHINDLER, T.M. **The view of primary cell wall.** Z. Pflanzenernähr. Bodenk., v.161, p. 499-508, 1998.

Schulze, em 1891

SEIBEL, N. F., BELÉIA, A. D. P. Carboidratos das fibras de cotilédones e proteínas de produtos derivados de soja (*Glycine max* (L.) Merril). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28 (3), p. 607-613, 2008.

SELVENDRAN, R. R.; O'NEILL, M. A. Isolation and analysis of cell walls from plant material. **Methods of Biochemical Analysis**, v. 32, p. 25-153, 1987.

SEYFRIED, M. **Caracterização química dos polissacarídeos provenientes dos frutos de *Abelmoschus esculentus* L. Moench e suas atividades biológicas in vitro** (Mestrado em Bioquímica) Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Curitiba, 2014.

SILVA, D. C. et al. Polysaccharide isolated from *Passiflora edulis*: Characterization and antitumor properties. **Carbohydrate Polymers**. v. 87, p.: 139–145, 2012.

SILVA, D.C., et al. Pectin from *Passiflora edulis* Shows Anti-inflammatory Action as well as Hypoglycemic and Hypotriglyceridemic Properties in Diabetic Rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 10, p.:1118-26, 2011.

SILVA, M. I. G., MELO, C. T. V., VASCONCELOS, L. F., CARVALHO, A. M. R., SOUSA, F. C. F. Bioactivity and potential therapeutic benefits of some medicinal plants from the Caatinga (semi-arid) vegetation of Northeast Brazil: a review of the literature. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 22(1): p. 193-207, 2012.

SILVA, T. M. S., et al. Studies on the alkaloids of *Solanum* of northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 15, v. 4, p. 292- 293, 2006.

SILVEIRA, E.R.; PESSOA, O.D.L. *Constituintes micromoleculares de plantas do nordeste com potencial farmacológico: com dados de RMN 13C*. Fortaleza: **Expressão Gráfica e Editora**, 2005. 216p.

SOUSA, P. J. C. et al Antinociceptive effects of the essential oil of *Mentha x villosa* leaf and its major constituent piperitenone oxide in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 42, p. 655-659, 2009.

SOUZA, W.J.M.; OLIVEIRA, J. F. F.; NICOLETE, R. Plantas Medicinais com Potencial Atividade Anti-Inflamatória Utilizadas pela População: Um Guia Prático e Ilustrativo. **Revista Florence**. v. 1 (1), p.: 1-23, 2011.

SPELLMAN et al., 1983

STEVENSON, T. T.; DARVILL, A. G.; ALBERSHEIM, P. 3-Deoxy-D-lyxo-2- heptulosaric acid, a component of the plant cell wall. **Journal of Plant Physiology**, v. 46, p. 739 - 744, 1988

TIMELL, T. E. Wood hemicelluloses Part I. **Adv. Carbohydr. Chem.**, v. 19, p. 247-302, 1964.

ULVSKOV, 2010

VORAGEN, A.G.J., W. PILNIK, J.F. THIBAUT, M.A.V.; AXELOS, C.M.G.C.; RENART. Pectins. In: Food Polysaccharides and Their Applications, Stephen, A.M. (Ed.). Marcel Dekker, New York, pp: 287-369, 1995.

VORAGEN, G. J.; PILNIK, W.; THIBAUT, J. F.; AXELOS, M. A. V. & RENARD, C. M. G. C-“*Pectins*”, in: Food polysaccharides and their applications, cap. 10, Stephen A. M. (ed.), Marcel Dekker Inc., New York (1995).

WHISTLER, R. L. **The Carbohydrates: Chemistry and Biochemistry**. London: Academic Press., p. 447-458, 1970.

WHISTLER, R. L.; BE MILLER, J. N. **Industrial Gums-Polysaccharides and their Derivatives**. New York: Academic Press, p. 271-515, 1959.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 97 - 104, 2006.

WINNING, H.; VIERECK, N.; NORGAARD, L.; LARSEN, J.; ENGELSEN, S. B. Quantification of the degree of blockiness in pectins using H ¹NMR spectroscopy and chemometrics, **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 256 - 266, 2007.

YANEVA, M. P.; BOTUSHANOVA, A. D.; GRIGOROV, L. A.; KOKOV, J. L.; TODOROVA, E. P.; KRACHANOVA, M, G. Evaluation of the immunomodulatory activity of Aronia in combination with apple pectin in patients with breast cancer undergoing postoperative radiation therapy. **Folia Medica**, v. 44, p. 22 - 5, 2002.

YAPO, B. M.; KOFFI, K. L. Yellow passion fruit rind-a potential source of low methoxyl pectin. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2738 - 2744, 2006.

YORK, W. S.; DARVILL, A. G.; McNEIL, M.; STEVENSON, T. T.; ALBERSHEIM, P. Cell wall. I. Isolation and characterization of plant cell walls and cell wall components. **Methods Enzymol.**, v. 118, p. 3-40, 1985.