



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102014014007-7 A2

(22) Data do Depósito: 10/06/2014

(43) Data da Publicação: 15/03/2016

(RPI 2358)



(54) Título: USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE THUJA OCCIDENTALIS COMO AGENTES ANTIOXIDANTES

(51) Int. Cl.: A61K 36/14; A61P 17/18; A61P 39/06

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ, FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO - UNIVASF

(72) Inventor(es): PEDRO JOSÉ ROLIM NETO, ROSALI MARIA FERREIRA DA SILVA, LARISSA ARAÚJO ROLIM, GRAZIELLA SILVESTRE MARQUES, CAIO CÉSAR DE ANDRADE RODRIGUES SILVA, WILLIANA TÔRRES VILELA, CARLOS ALBERTO AQUINO DA SILVA, GEORGE LAYLSON DA SILVA OLIVEIRA, RIVELILSON MENDES DE FREITAS

(57) Resumo: USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE Thuja occidentalis COMO AGENTES ANTIOXIDANTES. A presente patente aborda o uso do extrato aquoso e fração polissacarídica de Thuja occidentalis como agentes antioxidantes, que foi confirmado através da realização da atividade antioxidante in vitro. Vários métodos foram empregados para avaliar a capacidade antioxidante. Foram utilizadas metodologias baseadas nos métodos DPPH[•] e ABTS^{•+}, avaliação da capacidade antioxidante contra o radical hidroxilo gerado pela reação de Fenton, avaliação da inibição do óxido nítrico, e inibição da peroxidação lipídica (método TBARS), utilizando o extrato seco de T. occidentalis e a fração de polissacarídeos em várias concentrações, entre 0,9 e 7,2 µg/mL. Em todas as metodologias, foi utilizado como controle positivo o Trolox®. Os resultados obtidos são promissores e revelaram que o extrato aquoso e a fração polissacarídica de T. occidentalis possuem boas atividades antioxidantes, portanto, têm potencial para serem usados na produção de fitocosméticos e fitoterápicos.

RELATÓRIO DESCRITIVO

USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES

1. A presente patente aborda o uso do extrato aquoso e fração polissacarídica de *Thuja occidentalis* como agentes antioxidantes.
2. *Thuja occidentalis*, comumente conhecida como árvore da vida ou cedro branco, é uma árvore pertencente à família Cupressaceae. Originária do leste da América do Norte e cultivada no Brasil como árvore ornamental, esta espécie tem demonstrado diversas propriedades farmacológicas, dentre as quais pode-se citar para o extrato etanólico: atividades hepatoprotetora, antidiabética, antioxidante, anti-ulcerativa e anti-aterosclerótica; para o extrato metanólico, atividade antitumoral; para a fração de polissacarídeo, atividades antiviral e imunestimulante; e, para os óleos essenciais, atividade antimicrobiana.
3. Esta patente objetiva apresentar o uso do extrato aquoso e fração polissacarídica de *Thuja occidentalis* como agentes antioxidantes, que foi confirmado através da realização da atividade antioxidante *in vitro*.
4. Foram utilizadas amostras das partes aéreas de *T. occidentalis* coletadas no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco. Dentre os parâmetros para a coleta do material, foram selecionadas partes aéreas em igual estágio de desenvolvimento e com ausência de depredação. A identificação foi realizada e a exsicata depositada no Herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA).
5. O material vegetal fresco foi lavado com água purificada e aspergido com álcool a 60-80% (v/v). Em seguida, foi colocado em estufa de ar circulante por 80-90 h a 30-50°C. Após secagem, o material foi pulverizado em moinho de facas e acondicionado em recipiente de vidro, devidamente vedado e mantido em ausência de luz.
6. A solução extrativa de *T. occidentalis* foi obtida através de extração aquosa sob aquecimento, em banho-maria a 85-95°C, empregando-se uma proporção de 2,0-5,0 g de droga vegetal para cada 20-40 mL de água destilada, durante 2-5 h. Em seguida, a solução extrativa foi resfriada à temperatura ambiente e filtrada em algodão.
7. A obtenção do extrato seco de *T. occidentalis* realizou-se através da secagem da solução extrativa, anteriormente descrita, que foi congelada em ultrafreezer a 85-95°C por 12-36 h, e posteriormente liofilizada sob pressão de 20-30 μ mm de Hg; vácuo 215-225 Vca. por 90-100 h. O produto obtido foi acondicionado em frascos-ampola hermeticamente fechado e armazenados em

dessecador de vidro sob vácuo.

8. A fração de polissacarídeos de *T. occidentalis* foi obtida a partir da solução extrativa anteriormente descrita, empregando-se o método de precipitação com etanol, conforme o seguinte procedimento: transferiu-se uma alíquota de 1-3 mL da solução extrativa para tubos de ensaio contendo 0,20-0,30 mL de ácido tricloroacético (TCA) 10% (v/v). As amostras foram centrifugadas a 3000-5000 rpm, durante 3-6 min para remoção de interferentes proteicos por precipitação, e posterior tratamento do sobrenadante com etanol absoluto, na proporção 1:3, para precipitação dos polissacarídeos. Estes foram obtidos após centrifugação a 3000-5000 rpm, durante 10-20 min. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e a fração de polissacarídeos ressuspensa em 5-15 mL de água destilada para ser transferida ao congelamento em ultrafreezer a -85-95°C por 12-36 h, e posteriormente liofilizada sob pressão de 20-30 µmm de Hg; vácuo 215-225 Vca. por 90-100 h. O produto foi acondicionado em frasco-ampola hermeticamente fechados e armazenados em dessecador de vidro sob vácuo.

9. Para o método DPPH•, foi utilizada a metodologia descrita por Silva e colaboradores (2005), com algumas modificações. Uma mistura reacional contendo extrato seco de *T. occidentalis* e a fração de polissacarídeos em várias concentrações, entre 0,9 e 7,2 µg/mL, com 2-3 mL da solução estoque de DPPH• (30-50 µg/mL) foi agitada vigorosamente e incubada à temperatura ambiente na ausência de luz durante 30 minutos. A avaliação antioxidante foi realizada em triplicata e os valores das absorvâncias foram expressos como porcentagem de inibição do radical DPPH• pela seguinte equação:

$$\% \text{ de inibição do radical DPPH}\bullet = \{(A_{\text{controle}} - A_{\text{mistura reacional}}) \times 100\} / A_{\text{controle}}$$

na qual, A_{controle} é a absorvância inicial da solução etanólica de DPPH• e $A_{\text{mistura reacional}}$ é a absorvância da mistura reacional contendo o radical DPPH• e as concentrações do extrato seco de *T. occidentalis* e da fração de polissacarídeos. A concentração efetiva (CE_{50}) de *T. occidentalis* necessária para inibir o radical DPPH• em 40-60% a 515-520 nm foi determinada. O mesmo procedimento experimental também foi utilizado com o controle positivo Trolox® (130-150 µg).

10. Para a determinação da capacidade antioxidante pelo método do ABTS•+, foi utilizada a metodologia descrita por Re e colaboradores (1999), com modificações. Inicialmente, o cátion radical ABTS•+ foi formado a partir da reação de 4-6 mL de uma solução 6-8 mM de ABTS com 80-90 µL de uma solução 2-3 mM de persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$), incubada à temperatura ambiente e na ausência de luz por 15-20 horas. Transcorrido esse tempo, a solução de ABTS•+ foi diluída em etanol até obter uma solução com absorvância de 0,65-0,75, a 730-740 nm. Em ambiente escuro e à temperatura ambiente, foram transferidas várias alíquotas do extrato seco de *T. occidentalis* e da fração de polissacarídeos, entre 0,9 e 7,2 µg/mL para tubos de ensaio com 1900-

2000 μL do radical $\text{ABTS}\cdot+$. Foi realizada a leitura da absorbância à temperatura ambiente no tempo de 4-7 minutos em um espectrofotômetro a 730-740 nm e os resultados foram expressos como porcentagem de inibição do radical $\text{ABTS}\cdot+$ pela seguinte equação:

$$\% \text{ inibição do radical } \text{ABTS}\cdot+ = \{(A_{\text{controle}} - A_{\text{mistura reacional}}) \times 100\} / A_{\text{controle}}$$

na qual, A_{controle} é a absorbância inicial da solução etanólica de $\text{ABTS}\cdot+$ e $A_{\text{mistura reacional}}$ é a absorbância da mistura contendo o radical $\text{ABTS}\cdot+$ e as concentrações de *T. occidentalis*. A concentração efetiva (CE_{50}) do extrato seco de *T. occidentalis* e da fração de polissacarídeos necessária para reduzir a absorbância do radical $\text{ABTS}\cdot+$ em 40-60% a 730-740 nm foi determinada. O mesmo procedimento experimental também foi utilizado com o controle positivo Trolox[®] (130-150 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

11. Para a avaliação da capacidade antioxidante contra o radical hidroxilo gerado pela reação de Fenton, foi utilizada a metodologia descrita por Lopes e colaboradores (1999), com modificações. Várias concentrações do extrato seco de *T. occidentalis* e da fração de polissacarídeos, entre 0,9 e 7,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, foram adicionadas à mistura da reação de Fenton contendo 5-7mM de FeSO_4 , 4-6 mM de 2-desoxirribose, 80-120 mM de H_2O_2 e 15-25 mM de tampão fosfato (pH 7,4). A reação foi realizada durante 10-20 minutos à temperatura ambiente e estacionada pela adição de ácido fosfórico a 2-5% (v/v) seguido por 0,5-1,5% de ATB (w/v, em NaOH 40-60 mM). A mistura reacional foi aquecida durante 1-2 horas a 35-40°C e então arrefecida à temperatura ambiente. O experimento foi realizado em triplicata e as leituras das absorbâncias mensuradas a 530-535 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem como degradação da 2-desoxirribose. A concentração efetiva (CE_{50}) do extrato seco de *T. occidentalis* e da fração de polissacarídeos necessária para inibir a degradação da 2-desoxirribose em 40-60% a 530-535 nm foi determinada. O mesmo procedimento experimental também foi utilizado com o controle positivo Trolox[®] (130-150 μg).

12. Para a avaliação da inibição do óxido nítrico, empregou-se a seguinte metodologia: o óxido nítrico foi produzido a partir da decomposição espontânea de nitroprussiato de sódio (NPS) em 15-25 mM de tampão fosfato (pH 7,4). Uma vez gerado, o óxido nítrico interage com oxigênio para produzir íons nitrito, os quais foram medidos pela reação de Griess de acordo como o método de Basu e Hazra (2006). A mistura da reação (1-2 mL) contendo 15-25 mM de NPS em tampão fosfato e várias concentrações do extrato seco de *T. occidentalis* e da fração de polissacarídeos, entre 0,9 e 7,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, foi incubada a 37°C por 1-2 horas. Uma alíquota de 0,5-1,0 mL foi retirada e homogeneizada com 0,5-1,0 mL do reagente de Griess. A absorbância do cromóforo foi medida a 535-545 nm em um espectrofotômetro e os resultados foram expressos em porcentagem como inibição da formação de íons nitrito. A concentração efetiva (CE_{50}) do extrato seco de *T.*

occidentalis e da fração de polissacarídeos necessária para inibir a produção de íons nitritos em 40-60% a 535-545 nm foi determinada. O mesmo procedimento experimental também foi utilizado com o controle positivo Trolox[®] (130-150 µg/mL).

13. Para a determinação da capacidade antioxidante pela inibição da peroxidação lipídica, foi utilizado o método TBARS segundo Guimarães e colaboradores (2010). O homogenato da gema de ovo (1-2% w/v) em 40-60 mM de tampão fosfato (pH 7,4) foi utilizado como um substrato rico em lipídios. Uma alíquota de 0,5-1,0 mL do substrato foi sonicado e homogeneizado com várias concentrações do extrato seco de *T. occidentalis* e da fração de polissacarídeos, entre 0,9 e 7,2 µg/mL, e a peroxidação lipídica induzida pela adição de 0,1-0,2 mL de solução de AAPH (dihidrocloridrato de 2,2'-azobis 2-metilpropinamida 0,10-0,15 M). O experimento foi realizado em triplicata e a reação foi realizada durante 20-40 minutos a 35-40°C. Após resfriamento, as amostras (0,5-1,0 mL) foram centrifugadas com 0,5-1,0 mL de ácido tricloroacético (10-20%) a 1000-1300 rpm por 5-15 minutos. Uma alíquota de 0,5-1,0 mL do sobrenadante foi adicionada a 0,5-1,0 mL de ácido tiobarbitúrico (0,60-0,70%) e aquecido a 90-100°C por 15 minutos. Após o resfriamento, a absorbância das amostras foi medida usando um espectrofotômetro a 530-535 nm e os resultados da peroxidação lipídica foram expressos em porcentagem como níveis de TBARS formado pelo AAPH. A concentração efetiva (CE₅₀) do extrato seco de *T. occidentalis* e da fração de polissacarídeos necessária para inibir a peroxidação lipídica em 40-60% a 530-535 nm foi determinada. O mesmo procedimento experimental também foi utilizada com o controle positivo Trolox[®] (130-150 µg/mL).

14. Os valores da capacidade antioxidante do extrato seco de *T. occidentalis* e da fração de polissacarídeos contra o radical DPPH• nas concentrações entre 0,9 e 7,2 µg/mL foram, respectivamente, entre 47,05 e 72,94% e 20,19 e 50,83%, nas quais reduziram de forma significativa (p<0,05) a concentração da solução de radical DPPH• (sistema). O Trolox[®] (130-150 µg/mL) também reduziu o radical DPPH• de forma significativa (p<0,05), apresentando 84,00-86,00% de capacidade antioxidante. De acordo com os resultados da capacidade antioxidante na remoção do radical DPPH•, a CE₅₀ do extrato seco de *T. occidentalis* foi 2,00-3,00 µg/mL e da fração de polissacarídeos de 7,00-8,00 µg/mL.

15. Os valores da capacidade antioxidante correspondente ao sequestro do radical ABTS•+ pelo extrato seco de *T. Occidentalis* e da fração de polissacarídeos nas concentrações entre 0,9 e 7,2 µg/mL foram, respectivamente, de 44,00 a 89,00% e de 42,00 a 72,00%, - nas quais reduziram de forma significativa (p<0,05) a concentração da solução de radical ABTS•+ (sistema). O Trolox[®] (130-150 µg/mL) também reduziu de forma significativa (p<0,05) a solução de radical ABTS•+

(sistema), apresentando 84,00 – 86,00% de capacidade antioxidante. De acordo com os resultados da capacidade antioxidante na remoção do radical ABTS•+, a CE₅₀ do extrato seco de *T. occidentalis* foi 1,00-2,00 µg/mL e da fração de polissacarídeos de 1,00-2,00 µg/mL

16. Os radicais hidroxila foram gerados a partir da reação de Fenton. O extrato seco de *T. occidentalis* e a fração de polissacarídeos conseguiram atuar na inibição da degradação da 2-desoxirribose pela eliminação de radicais hidroxila de forma significativa ($p < 0,05$) em relação ao sistema (Radicais Hidroxila). Nas concentrações entre 0,9 e 7,2 µg/mL, o extrato seco de *T. occidentalis* e a fração de polissacarídeos apresentaram, respectivamente, capacidade antioxidante de 57,00 a 67,00% e de 50,00 a 67,00%. O Trolox[®] (130-150 µg/mL) também inibiu a degradação de 2-desoxirribose de forma significativa ($p < 0,05$) em relação ao sistema, apresentando 76,00-78,00% de capacidade antioxidante. De acordo com os resultados de inibição da degradação da 2-desoxirribose, a CE₅₀ do extrato seco de *T. occidentalis* foi 0,13-0,15 µg/mL e da fração de polissacarídeos de 1,70-1,90 µg/mL. Os valores da capacidade antioxidante correspondente à inibição da formação de íons nitrito pelo extrato seco de *T. occidentalis* e fração de polissacarídeos nas concentrações entre 0,9 e 7,2 µg/mL foram, respectivamente de 43,58 a 65,07% e de 36,74 a 55,39%, nas quais, reagiram com óxido nítrico reduzindo de forma significativa ($p < 0,05$) a produção de íons nitritos gerado pela decomposição espontânea do nitroprussiato de sódio (NPS). O Trolox[®] (130-150 µg/mL) também reduziu a quantidade de íons nitritos gerado de forma significativa ($p < 0,05$), apresentando 72,00-74,00 % de capacidade antioxidante. De acordo com os resultados da capacidade antioxidante pela inibição da produção de íons nitritos, a CE₅₀ do extrato seco de *T. occidentalis* foi 2,00-3,00 µg/mL e da fração de polissacarídeos de 4,00-5,00 µg/mL.

17. Os valores da capacidade antioxidante de *T. occidentalis* correspondente à inibição da peroxidação lipídica pela diminuição dos níveis de TBARS nas concentrações entre 0,9 e 7,2 µg/mL foram, respectivamente, de 51,42 a 68,77% e de 46,88 a 63,70%. O extrato seco de *T. occidentalis* e a fração de polissacarídeos reduziram de forma significativa ($p < 0,05$) os níveis de TBARS gerados a partir da peroxidação lipídica induzida pelo AAPH. O Trolox[®] (130-150 µg/mL) também reduziu os níveis de TBARS de forma significativa ($p < 0,05$) em relação ao AAPH, apresentando 80,00 – 82,00% de capacidade antioxidante. De acordo com os resultados da capacidade antioxidante pela diminuição dos níveis de TBARS, a CE₅₀ do extrato seco de *T. occidentalis* foi 0,60-0,70 µg/mL e da fração de polissacarídeos de 1,00-1,20 µg/mL.

18. Vários métodos são empregados para avaliar a capacidade antioxidante de um determinado composto, sendo o método que envolve o sequestro do radical livre estável DPPH• um dos mais utilizados por ser rápido e fácil de realizar. Neste método, a capacidade antioxidante é determinada

pela análise da diminuição da absorvância da solução de DPPH• a 515-520 nm em um espectrofotômetro, na qual o radical DPPH• de cor púrpura é reduzido à forma DPPH₂ de cor amarela. Com base neste princípio, o resultado obtido no presente estudo demonstrou que o extrato seco de *T. occidentalis* e a fração de polissacarídeos nas concentrações entre 0,9 e 7,2 µg/mL são potentes antioxidantes. Quando os resultados são comparados com o padrão Trolox[®], é observado que a capacidade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH• do extrato seco de *T. occidentalis* na maior concentração foi próximo ao Trolox[®], na qual possui uma concentração 20 vezes maior. De acordo com esse método espectrofotométrico, o sequestro do radical DPPH• pelo extrato seco de *T. Occidentalis* e fração de polissacarídeos pode ocorrer pela transferência de átomos de hidrogênio formando moléculas estáveis de DPPH₂.

19. A eliminação do radical ABTS•+ é um método antioxidante convencional, simples e extensivamente utilizado junto com o radical DPPH• para avaliar a capacidade antioxidante de um determinado composto. Neste método, o radical ABTS•+ de coloração azul/verde é produzido por meio da oxidação da solução de ABTS+ pelo persulfato de potássio e a reação com um compostos antioxidante é monitorada pela diminuição da absorvância da reação a 730-735 nm. Dessa forma e similarmente aos resultados obtidos no método DPPH, o presente estudo demonstrou que o extrato seco de *T. occidentalis* e a fração de polissacarídeos nas concentrações entre 0,9 e 7,2 µg/mL é um potente antioxidante pela remoção do radical ABTS•+. A capacidade antioxidante foi dependente da concentração e quando os resultados são comparados com o padrão, o extrato seco de *T. occidentalis* na concentração de 5,0-6,0 e 7,0-7,50 µg/mL (85,00 – 89,00%) apresentou capacidade antioxidante maior do que a do Trolox[®] (84,00-86,00%), em uma concentração 20 vezes menor que a do Trolox[®] (130-150 µg/mL). De acordo com esse método espectrofotométrico, o sequestro do radical ABTS•+ pelo extrato seco de *T. occidentalis* e fração de polissacarídeos pode ocorrer pela transferência de átomos de hidrogênio ou elétrons, formando moléculas estáveis de ABTS+.

20. O método antioxidante contra os radicais hidroxila é baseado na degradação da 2-desoxirribose pelos radicais hidroxila gerados pela reação de Fenton, sendo que, o produto de degradação produz o composto malonaldeído que, quando aquecido com ácido tiobarbitúrico em um pH ácido forma um complexo que pode ser medido a 530-534 nm. Sendo assim, quando um composto antioxidante é adicionado à mistura e reage com os radicais hidroxila, há uma diminuição da taxa de degradação da desoxirribose e dos valores da absorvância a 530-534 nm. O princípio desta reação foi utilizado nesta avaliação antioxidante e de acordo com o resultado obtido, o extrato seco de *T. occidentalis* e fração de polissacarídeos pode ser considerado como um potente sequestrador de radicais hidroxilas nas concentrações entre 0,9 e 7,2 µg/mL. A capacidade

antioxidante foi dependente da concentração e quando os resultados são comparado com o padrão Trolox[®] (76,00-78,00%), o extrato seco de *T. occidentalis* foi muito eficiente na inibição da degradação da 2-deoxirribose (67,00-69,00%). Esses resultados antioxidantes são promissores quando considera que o radical hidroxila é o mais reativo entre as espécies reativas derivadas de oxigênio e que induz a graves danos a importantes biomoléculas.

21. A medida da capacidade antioxidante pela eliminação do óxido nítrico foi baseado no princípio de que o nitroprussiato de sódio numa solução aquosa a pH fisiológico gera espontaneamente o óxido nítrico, o qual interage com o oxigênio para produzir íons nitrito ($\text{NO}_2^{\bullet-}$), que podem ser calculados por meio de um reagente de Griess. O princípio desta reação foi utilizado nesta avaliação antioxidante e de acordo com o resultado obtido, o extrato seco de *T. occidentalis* e a fração de polissacarídeos nas concentrações entre 0,9 e 7,2 $\mu\text{g/mL}$ reagiram com óxido nítrico e conseguiu inibir a produção de íons nitrito. A capacidade antioxidante foi dependente da concentração e quando os resultados foram comparados com o padrão Trolox[®] em 130-150 $\mu\text{g/mL}$ (72,00-74,00%), o extrato seco de *T. occidentalis* a partir das concentrações de 5,4-7,2 $\mu\text{g/mL}$ (61,00-66,00%) apresentou uma efetividade semelhante na diminuição da produção de íons nitrito.

22. O método TBARS tem sido amplamente utilizado para avaliar a extensão da peroxidação lipídica *in vitro*, na qual a oxidação dos ácidos graxos insaturados acontece a partir de uma fonte rica em lipídeos. Dessa forma, a capacidade antioxidante do extrato seco de *T. occidentalis* na inibição da peroxidação lipídica foi realizada utilizando homogenato da gema do ovo como fonte de lipídeos e de acordo com os resultados obtidos, o extrato seco de *T. occidentalis* e a fração de polissacarídeos inibiram a peroxidação lipídica pela diminuição dos níveis de TBARS dependente da concentração. Esses resultados são promissores quando é abordado que a peroxidação lipídica é um importante processo em muitos eventos patológicos e é uma das reações ocasionadas pelos radicais livres como hidroxila. Sendo assim, a capacidade antioxidante pela eliminação de radicais livres pode ser uma das possíveis razões de *T. occidentalis* ter apresentado elevada capacidade de inibição da peroxidação lipídica.

REIVINDICAÇÕES

1. **USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES**, caracterizado por ambos apresentarem uma boa atividade antioxidante a qual foi confirmada através da realização de testes *in vitro*.
2. **USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por utilizar várias metodologias para avaliar a capacidade antioxidante, baseadas nos métodos DPPH• e ABTS•+, avaliação da capacidade antioxidante contra o radical hidroxilo gerado pela reação de Fenton, avaliação da inibição do óxido nítrico, e inibição da peroxidação lipídica (método TBARS), utilizando o extrato seco de *T. occidentalis* e a fração de polissacarídeos em várias concentrações, entre 0,9 e 7,2 µg/mL.
3. **USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES**, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado por utilizar em todas as metodologias, como controle positivo, o Trolox[®] (130-150 µg/mL).
4. **USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES**, de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3, caracterizado por, de acordo com os resultados da capacidade antioxidante na remoção do radical DPPH•, a CE₅₀ do extrato seco de *T. occidentalis* ser 2,00-3,00 µg/mL e da fração de polissacarídeos ser 7,00-8,00 µg/mL.
5. **USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES**, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado por, de acordo com os resultados da capacidade antioxidante na remoção do radical ABTS•+, a CE₅₀ do extrato seco de *T. occidentalis* ser 1,00-2,00 µg/mL e da fração de polissacarídeos ser 1,00-2,00 µg/mL.
6. **USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES**, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 5, caracterizado por, de acordo com os resultados de inibição da degradação da 2-desoxirribose, a CE₅₀ do extrato seco de *T. occidentalis* ser 0,13-0,15 µg/mL e da fração de polissacarídeos ser 1,70-1,90 µg/mL.
7. **USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES**, de acordo com as reivindicações 1,

2, 3, 4, 5 e 6, caracterizado por, de acordo com os resultados da capacidade antioxidante pela inibição da produção de íons nitritos, a CE_{50} do extrato seco de *T. occidentalis* ser 2,00-3,00 $\mu\text{g/mL}$ e da fração de polissacarídeos ser 4,00-5,00 $\mu\text{g/mL}$.

8. **USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES**, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, caracterizado por, de acordo com os resultados da capacidade antioxidante pela diminuição dos níveis de TBARS, a CE_{50} do extrato seco de *T. occidentalis* ser 0,60-0,70 $\mu\text{g/mL}$ e da fração de polissacarídeos ser 1,00-1,20 $\mu\text{g/mL}$.
9. **USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES**, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, caracterizado por obter resultados promissores que revelam que o extrato aquoso e a fração polissacarídica de *T. occidentalis* possuem boas atividades antioxidantes, portanto, têm potencial para serem usados na produção de fitocosméticos e fitoterápicos.

RESUMO**USO DO EXTRATO AQUOSO E DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA DE *Thuja occidentalis* COMO AGENTES ANTIOXIDANTES**

A presente patente aborda o uso do extrato aquoso e fração polissacarídica de *Thuja occidentalis* como agentes antioxidantes, que foi confirmado através da realização da atividade antioxidante *in vitro*. Vários métodos foram empregados para avaliar a capacidade antioxidante. Foram utilizadas metodologias baseadas nos métodos DPPH• e ABTS•+, avaliação da capacidade antioxidante contra o radical hidroxilo gerado pela reação de Fenton, avaliação da inibição do óxido nítrico, e inibição da peroxidação lipídica (método TBARS), utilizando o extrato seco de *T. occidentalis* e a fração de polissacarídeos em várias concentrações, entre 0,9 e 7,2 µg/mL. Em todas as metodologias, foi utilizado como controle positivo o Trolox®. Os resultados obtidos são promissores e revelaram que o extrato aquoso e a fração polissacarídica de *T. occidentalis* possuem boas atividades antioxidantes, portanto, têm potencial para serem usados na produção de fitocosméticos e fitoterápicos.