

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

**AVALIAÇÃO DE FLAVONÓIDES EM EXTRATOS
VEGETAIS POR MEIO DA TÉCNICA DE CLAE**

Marília Masson Loureiro dos Reis 10/0115306

Orientadora: Prof^ª. Dra. Yris Maria Fonseca-Bazzo

Brasília
2015

MARÍLIA MASSON LOUREIRO DOS REIS

**AVALIAÇÃO DE FLAVONÓIDES EM EXTRATOS
VEGETAIS POR MEIO DA TÉCNICA DE CLAE**

Trabalho apresentado ao curso de graduação em Farmácia da Universidade de Brasília, como requisito parcial para aprovação na disciplina de Elaboração de Trabalho Científico.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Yris Maria Fonseca-Bazzo

**Brasília
2015**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura Geral dos flavonóides	9
Figura 2 – Estrutura Geral dos Flavonóis.....	10
Figura 3 – Fórmula estrutural da Rutina	11
Figura 4 – Fórmula estrutural da quercetina	11
Figura 5 – Fórmula estrutural do hiperosídeo	12
Figura 6 – Fórmula estrutural da Isoquercitrina	12
Figura 7 – Cromatograma do hiperosídeo (padrão de referência) (1 mg/mL)	26
Figura 8 – Cromatograma da isoquercitrina (padrão de referência) (1 mg/mL)	26
Figura 9 – Cromatograma da quercetina (padrão de referência) (1 mg/mL)	27
Figura 10 – Cromatograma da rutina (padrão de referência) (1 mg/mL). Condições	27
Figura 11 – Cromatograma do extrato aquoso de <i>Erythroxylum daphnites</i>	28
Figura 12 – Espectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 25,19.....	29
Figura 13 – Espectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 29,087	29
Figura 14 – E spectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 33,407.....	29
Figura 15 – Cromatograma do extrato etanólico de <i>Erythroxylum suberosum</i>	31
Figura 16 – Espectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 28,83.....	31
Figura 17 – Espectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 29,400.....	32
Figura 18 – Espectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 31,260.....	32
Figura 19 – Cromatograma do extrato aquoso de <i>Eugenia dysenterica</i>	32
Figura 20 – Cromatograma do extrato etanólico de <i>Sapindus saponaria</i>	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Gradiente de eluição por CLAE	18
Tabela 2 – Espécies vegetais com relatos de atividade antioxidante e presença de flavonóides	20
Tabela 3 – Tempos de retenção, máximos de absorção e áreas dos padrões das substâncias.....	25
Tabela 4 – Tempo de retenção, áreas, similaridade, pureza e concentração dos padrões no extrato aquoso de <i>E. daphnites</i>	29
Tabela 5 – Tempo de retenção, áreas, similaridade, pureza e concentração dos padrões no extrato aquoso de <i>E. suberosum</i>	31

SUMÁRIO

RESUMO	6
1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS.....	15
3 METODOLOGIA	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5 CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS.....	35

RESUMO

Os flavonóides são compostos do metabolismo secundário dos vegetais e possuem grande importância farmacológica, já que atuam na prevenção de doenças degenerativas gerando benefícios para a saúde humana. Muitos estudos constataram uma grande diversidade de atividade biológica desses compostos. Dentre essas atividades são destacados efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, ação vasodilatadora, ação contra a evolução de tumores (PETERSON; DWYER, 1998). As riquezas terapêuticas advindas da natureza, em especial da região do Cerrado, muitas vezes têm uma grande aceitabilidade, por serem ricas em princípios ativos, em especial os flavonóides, que geralmente são isentos de efeitos indesejáveis (PETERSON; DWYER, 1998). Diante desse contexto, determinou-se a presença de flavonóides, como hiperosídeo, rutina, isoquercitrina e quercetina, em extratos vegetais da *Erythroxylum daphnites*, *Eugenia dysenterica*, *Erythroxylum suberosum* e *Sapindus saponaria* provenientes da região do Cerrado. Além disso, por meio de levantamentos bibliográficos no desenvolvimento do trabalho, observou-se a riqueza de plantas com características antioxidantes. Foi possível também quantificar o teor dos flavonóides identificados nos extratos analisados.

Palavras-chave: Flavonóides. CLAE. Flavonóis.

1 INTRODUÇÃO

O estudo foi desenvolvido para a análise e quantificação de flavonóides pré-determinados em extratos vegetais utilizando o método de Cromatografia Líquida de Alto Eficiência (CLAE), já que esses metabólitos são de grande importância no processo de oxidação de radicais livres.

As riquezas terapêuticas advindas da natureza, em especial da região do Cerrado, muitas vezes têm uma grande aceitabilidade, por serem ricas em princípios ativos, em especial os flavonóides, que geralmente são isentos de efeitos indesejáveis. As estruturas químicas desses vegetais são diferenciadas por posicionamentos e pelos tipos dos açúcares presentes, sendo analisados para uma maior aceitabilidade no tratamento de doenças degenerativas.

A análise de flavonóides no trabalho provou a presença desses compostos e o benefício que eles podem gerar para o tratamento de patologias. Muitas das desordens relacionadas ao miocárdio são ocasionadas pelo acúmulo de colesterol e têm gerado um aumento na taxa de mortalidade em grande parte da população. Essas desordens são potencializadas por fatores de risco que envolve estresse, sexo, nível de colesterol, idade e outros fatores individuais que são ligados às taxas de colesterol no sangue e também com atividades oxidativas de radicais livres que atuam nas lipoproteínas de baixa densidade – LDL, apesar de existir muitas alternativas farmacológicas para tratar esses tipos de problemas citados previamente, elas normalmente são abandonadas diante de prescrição prolongada, devido aos eventos adversos. Assim, por esses e outros fatores, os flavonóides são constantemente estudados para uma melhor qualidade de vida para a população (RATTY E DAS, 1998).

1.1 FLAVONÓIDES

Em 1930, o doutor Szent György, teve o primeiro contato com os flavonóides. Ao estudar a casca do limão ele isolou a citrina e observou que a essência da fruta tinha alto caráter de controle da permeabilidade dos capilares (MARTÍNEZ-FLORES et al., 2002). Essa classe do metabolismo secundário das plantas é obtida da via dos fenilpropanóides, os chamados polifenóis (ZUANAZZI; MONTANHA, 2003).

Os flavonóides são encontrados em frutas, flores e em alguns tipos de vegetais. Esses compostos provocam grandes propensões a estudos já que revelam uma relação inversamente proporcional ao uso desses metabólitos e a ocorrência de doenças degenerativas como o câncer (KNEKT et al., 1996).

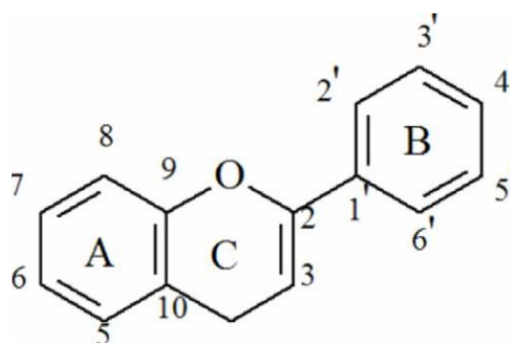
Analisou-se que provavelmente as atividades realizadas pelos flavonóides são provenientes de sua ação antioxidante por causa das suas capacidades de sequestrar oxigênio, de quelar metais e/ou doar oxigênio, sendo poderosos sequestradores de radicais livres. (HUBER et al., 2007).

Os principais antioxidantes explorados no comércio são ácido ascórbico, tocoferóis e alguns extratos de plantas. Esses extratos apresentam em sua composição compostos fenólicos especialmente flavonóis e ácido fenólicos que são mais explorados pelas atividades antioxidantes, anticancerígena e por ter ação a fim de diminuir o risco de doenças cardiovasculares (LOULI et al., 2004; PINELO et al., 2005). Os flavonóides são encontrados em plantas sob forma de glicosídeos e na maioria das vezes são coadjuvantes para a absorção nos organismos vivos (MOLNÁR-PERL; FÜZFAI, 2005).

Os flavonóides são encontrados em vários modelos de estruturas, possuindo 15 átomos de carbono no centro fundamental, composto de duas fenilas unidas por uma cadeia de três carbonos (ZUANAZZI & MONTANHA, 2003). As diferenças dos grupos dos

flavonóides são a alteração no número e posição das hidroxilas, por mudanças nos núcleos e pelo nível que as estruturas estão metiladas e glicosiladas (HAVSTEEN, 2002). Isso pode ser observado na Figura 1. Eles são denominados a partir das suas estruturas químicas: flavanonas (encontradas em frutas cítricas), flavonóis (constante em vegetais e frutas), flavonas (frutas cítricas e cereais), isoflavonas (particularmente encontrados na soja), flavanóis e antocianinas (presentes em frutas e flores). A diferenciação nas estruturas químicas dos flavonoides utilizados no trabalho descrito é basicamente a posição e o tipo de açúcar (carbono 3 do núcleo do flavonóide). Assim, a rutina possui um dissacarídeo (raminose + glicose) na posição C-3 do flavonóide (PEDRIALI, 2005); a quercetina é uma flavona sem molécula de açúcar presente na estrutura, sendo classificada como aglicona (MI et al., 2010); a isoquercitrina é um flavonóide glicosado (3-O-glicosídeo) (ROGERIO, et al., 2007); o hiperosídeo é um flavonóide que possui um açúcar na região 3 (O-galactosídeo).

Figura 1 – Estrutura Geral dos flavonóides

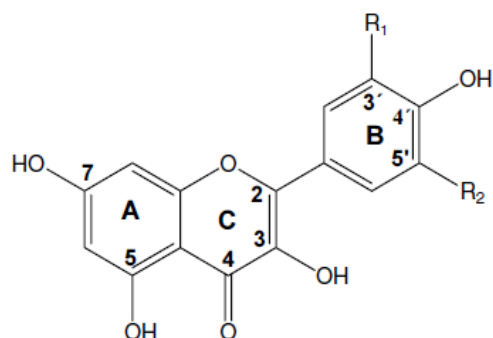


Fonte: Russo e Sanchez, 2006

Os flavonóis são uma das relevantes subclasses de flavonóides. Flavonóis possuem uma estrutura em forma de anel aromático com uma ligação dupla nas posições 2-3, como pode-se observar na Figura 2. Os flavonóis são semelhantes às flavonas, sendo que há uma mudança na posição C-3 por uma hidroxila, para os flavonóis. Esses compostos são provenientes da 3-hidroxiavonona e são conhecidos por apresentarem coloração amarela de flores e raízes (ZUANAZZI & MONTANHA, 2003). Estas moléculas são encontradas nas

uvas, maçãs, acerola, caju, goiaba, figo, em chás (erva doce, erva cidreira, erva mate) principalmente na casca sob a forma de monoglicosídeo, com o resíduo de açúcar ligado ao grupo hidroxila, prevalecendo na posição C-3 do anel contendo O (oxigênio) (SANTOS-BUELGA; WILLIAMSON, 2003).

Figura 2 – Estrutura Geral dos Flavonóis



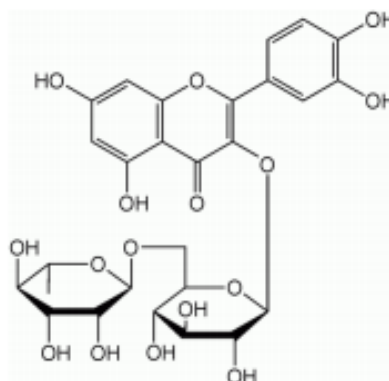
$R_1 = H$	$R_2 = H$	Kaempferol
$R_1 = OH$	$R_2 = H$	Quercetin
$R_1 = OH$	$R_2 = OH$	Myricetin

Fonte: Silva et al., 2005

A rutina (Figura 3), pertence à subclasse dos flavonóides, o flavonol. Principalmente encontrada em frutas cítricas e também nas cascas dos frutos (ISAI et al., 2009). A rutina é conhecida por demonstrar atividade antioxidante e atuar no colesterol (fígado e corrente sanguínea), reduzindo-o (SUN et al., 2011). A rutina também tem a capacidade de acabar com os radicais e impossibilitar a peroxidação lipídica em circunstância de estresse oxidativo promovido pela estreptozotocina (uma nitrosamida), que induz diabetes tipo I (ISAI et al., 2009).

A estrutura química da rutina apresenta um dissacarídeo (raminose + glicose) conectado a região (posição) 3 (três) da estrutura do anel (PEDRIALI, 2005).

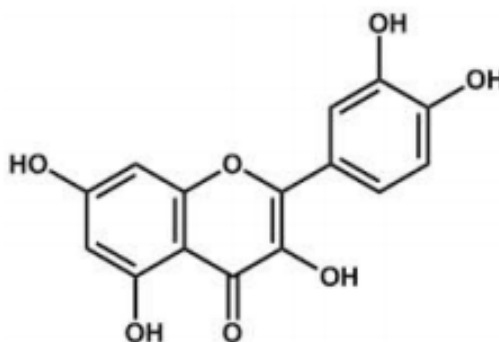
Figura 3 – Fórmula estrutural da Rutina



Fonte: Rahmat et al., 2012

A quercetina é uma flavona que pode ser encontrada na dieta humana como a maçã e o brócolis (MI et al., 2010). Ensaios laboratoriais, demonstraram que a quercetina possui atividade antioxidante, antitumoral (ATAWODI et al., 2009) o que faz com que a citotoxicidade provocada pelo medicamento antineoplásico doxorrubicina a células hepáticas saudáveis seja diminuída (WANG et al., 2012).

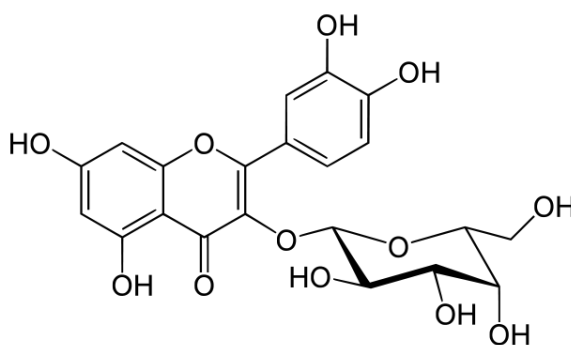
Figura 4 – Fórmula estrutural da quercetina



Fonte: Pecivová et al., 2012

Hiperosídeo (Figura 5) é um flavonóide glicosado (3-O galactosídeo) possuindo ação anti-inflamatória e antidepressiva sendo amplamente utilizado na clínica para aliviar a dor e melhorar as funções cardiovasculares. (RUI-LI LIU et al., 2012).

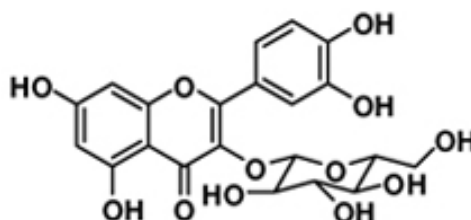
Figura 5 – Fórmula estrutural do hiperosídeo



Fonte: Bernadi et al., 2005

A isoquercitrina (Figura 6) é um flavonol glicosado e possui uma diversidade de ação biológica como atuação na supressão da inflamação dos eosinófilos sendo também utilizado para tratar alergias (ROGERIO, et al., 2007).

Figura 6 – Fórmula estrutural da Isoquercitrina



Fonte: Rebuglio et al., 2011

1.2 PLANTAS UTILIZADAS NESTE ESTUDO

As plantas utilizadas neste estudo foram selecionadas considerando relatos prévios de presença de flavonóides, todas as espécies pertencem ao Bioma Cerrado. As espécies analisadas para determinação de flavonóides foram: *Eugenia dysenterica*, *Erythroxylum daphnites*, *Sapindus Saponaria* e *Erythroxylum suberosum*.

Eugenia dysenterica

A *Eugenia dysenterica* da família *Myrtaceae* é uma árvore oriunda do cerrado e é comumente chamada de cagaita. As folhas e os frutos são aproveitados para usos

terapêuticos como disenteria e constipação intestinal, respectivamente. É possível achar nas folhas da *E. dysenterica* alta presença de compostos fenólicos, como tanino e flavonóide (ZORZIN, 2014).

Erythroxylum daphnites

Predominante no cerrado, a *Erythroxylum daphnites*, também conhecida como “chapadinho” é da família *Erythroxylaceae*. Em ensaios realizados a partir das folhas durante os últimos anos foi possível identificar por meio do isolamento dos compostos a presença de flavonóides, esteróides, glicerídeos, entre outros (MARTINS, 2015).

Sapindus saponária

Sapindus Saponaria da família *Sapindaceae* conhecida como fruta-de-sabão é uma árvore que pode ser encontrada nas regiões dos trópicos, incluindo América e Índia. Alguns pesquisadores encontraram atividade contra úlceras nos seus extratos (MEYER, 2002) e lesões ocasionadas por fungos (MURGU; RODRIGUES, 2006).

Erythroxylum suberosum

Procedente da família *Erythroxylaceae*, o gênero *Erythroxylum* possui cerca de 230 espécies, sendo a mais conhecida, *E. Coca L.*, a partir da qual se obtém a cocaína (PLOWMAN; HENSOLD, 2004). Extratos das folhas dessa espécie são utilizados no tratamento de problemas hepáticos, hemorragias, também como anti-inflamatórios (GONZÁLEZ-GARCIA et al., 2005). A espécie *E. Suberosum* comumente chamada de “cabelo-de-negro”, é utilizada basicamente para distúrbios gastrointestinais e como anestésico (AQUINO et al., 2007, BARBOSA; PINTO, 2003). Estudos sobre o uso farmacológico da espécie ainda não foram realizados, mas o gênero é conhecido pela presença de flavonóides, terpenos e alcalóides (LEITE et al, 2014).

1.3 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – CLAE

A necessidade para lançar novas composições/ apresentações de medicamentos em um menor prazo de tempo, gerou uma grande pressão sob a indústria farmacêutica no processo de desenvolvimento. As novas fórmulas desenvolvidas devem ser testadas quanto às suas potências e pureza. Para a análise de estabilidade das amostras, geralmente utiliza-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A análise em um equipamento de CLAE dura em torno de 60 minutos e também serve para obter dados analíticos para liberar um lote ou até mesmo para controlar um dos processos de fabricação. Então, uma análise ágil é importante não só no processo de desenvolvimento, mas um elemento-chave ao longo de todo o ciclo de vida de um produto. O equipamento de HPLC é utilizado para o desmembramento de substâncias de uma amostra entre fases imiscíveis, a fase estacionária que fica contida em uma coluna em forma de cilindro e a fase móvel, que são os solventes (BRASIL 2010).

As separações são realizadas por diversos meios, como exclusão por diferença de tamanho, troca de íons, coeficiente de partição, adsorção e dependem do padrão da fase estacionária. As vantagens da cromatografia de alta eficiência são relacionadas à separação de amostras que são sensíveis ao aumento de temperatura e que também não evaporam (volatilidade) com facilidade. As misturas a serem analisadas possuem diversas naturezas químicas, então elementos químicos e físicos podem influir na separação das substâncias.

O equipamento é composto de um reservatório que comporta a fase móvel, bomba de solvente que tem o propósito de lançar a fase móvel ao longo do equipamento, um injetor para inserir a amostra no sistema, a coluna em forma de cilindro e um sensor que captura os picos e os transformam em dados que são traduzidos por um programa de software (BRASIL, 2010).

2 OBJETIVOS

Geral

- Analisar a presença de flavonóides em extratos vegetais utilizando a técnica CLAE.

Específico

- Realizar levantamento bibliográfico de estudos que relataram a presença de flavonoides em plantas medicinais com atividade antioxidante, agrupando estas plantas por famílias.
- Analisar a presença de flavonóides, tais como rutina, quercetina, hiperosídeo, isoquercitrina em extratos vegetais de *Erythroxylum daphnites*, *Eugenia dysenterica*, *Erythroxylum suberosum* e *Sapindus saponaria* utilizando CLAE.
- Quantificar o teor dos flavonóides identificados nos extratos.

3 METODOLOGIA

3.1 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO DE ESTUDOS QUE RELATAM A PRESENÇA DE FLAVONOIDES EM PLANTAS MEDICINAIS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

As plantas contendo relato da presença de flavonoides foram pesquisadas de forma ativa nos sítios eletrônicos: SCIELO, SCIENCE e GOOGLE ACADÊMICO. Utilizou-se palavras chaves que contemplem o tema (flavonoides, plantas, extratos, quercetina, rutina, antioxidante, ente outros). De forma exploratória, foi considerado combinações entre as palavras chaves e o idioma a ser aplicado (português ou espanhol ou inglês).

3.2 OBTENÇÃO DAS ESPÉCIES VEGETAIS

As folhas das espécies vegetais *Eugenia dysenterica*, *Erythroxylum suberosum*, *Erythroxylum daphnites* e *Sapindus saponaria* foram coletadas e identificadas pelo colaborador Prof. Dr. Christopher Willian Fagg do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília. Voucher Fagg 2305 *E. daphnites*, Voucher Fagg CW2192 *E. suberosum*, Voucher UB 916 *S.saponaria*, *E. dysenterica* Voucher UB 914.

3.3 REAGENTES E EQUIPAMENTOS

Acetonitrila (4000mL) com alto grau de pureza para HPLC, marca Tedia Brasil.

Ácido Fosfórico (4000mL) em água Milli-Q a 1% com alto grau de pureza para HPLC, marca Tedia Brasi.l

Água milli-Q utilizada para HPLC.

Etanol com alto grau de pureza para HPLC, marca Tedia Brasil.

Moinho triturador de folhas secas TE – 648, rotação fixa em 1730 RPM.

Liofilizador SP scientific customer e Technical Service Model Advantage Plus XL-70

CLAE LaChrom Elite (Hitachi, Tokyo, Japan), contando com bomba L2130, injetor L2200, forno para coluna L2300, mantido a 25 °C e detector L2455 DAD;

Percolador em aço inox 304, com torneira, disco furado, tampa e suporte 5.000 mL.

3.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

As folhas das espécies vegetais foram recolhidas e após um processo de secagem e moagem, foi obtido o extrato aquoso bruto pelo processo de infusão do rasurado das folhas secas. O extrato obtido foi liofilizado e o extrato seco utilizado para determinação de flavonóides por CLAE.

3.5 DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES POR CLAE

Utilizou-se cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) LaChrom Elite (Hitachi, Tokyo, Japan), contando com bomba L2130, injetor L2200, forno para coluna L2300, mantido a 25 °C e detector L2455 DAD (Hitachi, Tokyo, Japan). O detector de UV visível foi ajustado para coletar dados na faixa de 230 nm e 400 nm. A fase móvel foi constituída de solução de ácido fosfórico 1% (Bomba A) e acetonitrila (Bomba B), com

gradiente de eluição, de acordo com a tabela 1. O fluxo de fase móvel foi de 0,6 mL/min. A coluna utilizada PurospherStar RP C18e (150 x 4.6 mm, 5 mm, Merck, Germany), acoplada a pré-coluna de mesmas características (4 x 4; 5mm particlesize, Merck, Germany). Os dados foram adquiridos por EZChrom Elite software version 3.3.2 SP1 Scientific Software. Inc. (LEITE et al, 2014).

Tabela 1 – Gradiente de eluição por CLAE

Gradiente de eluição na análise por CLAE		
Tempo (min)	Bomba A	Bomba B
0	90%	10%
40	70%	30%
50	50%	50%
55	90%	10%

Fonte: LEITE et al., 2014

3.6 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA PARA ANÁLISE EM CLAE

Pesou-se 10mg de extrato aquoso liofilizado dos diferentes extratos, sendo dissolvidos em 10 mL de metanol, exceto para a *Eugenia dysenterica* que foi dissolvido em 10 mL de água. A solução obtida foi posteriormente filtrada e submetida ao CLAE.

3.7 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS FLAVONÓIDES

A identificação dos flavonoides foi realizada por comparação dos tempos de retenção e espectros de absorção UV/VIS de padrões autênticos, utilizando biblioteca de padrões presente no equipamento. Foram utilizados os seguintes compostos para comparação: rutina, quercetina, isoquercetrina e hiperosídeo.

Para verificar o teor dos padrões autênticos identificados nos extratos foi utilizada a

fórmula a seguir:

$$\text{CPA} = [(\text{AA} \times \text{CP}) \div \text{AP}] \times \text{FC}$$

CPA = concentração do padrão na amostra (mg/mg)

AP = área obtida pela rutina, isoquercitrina, hiperosídeo, quercetina, padrões autenticos

CP = concetração do padrão em mg/mL

AA = área obtida pela amostra de extrato teste

FC = fator de correção diluição

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 FLAVONOIDES EM PLANTAS MEDICINAIS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Compostos antioxidantes são responsáveis por atuarem nos radicais livres amenizando e/ou cessando os efeitos gerados por ele (BARBOSA et al., 2010). Há vários mecanismos de ação como: inibição da formação de radicais livres, o que evita a atividade desses ou pela contribuição da reconstituição de tecidos biológicos danificados (BARBOSA et al., 2010). Espécies reativas de oxigênio desempenham uma função relevante em processos de degeneração como a senescência da pele (HALLIWELL, B., 1989). Vegetais com essas características podem ser visualizados resumidamente na Tabela 2.

Segue abaixo uma tabela relacionando a atividade antioxidante classificada por famílias.

Tabela 2 – Espécies vegetais com relatos de atividade antioxidante e presença de flavonóides

Família	Espécie	Nome popular	Indicação	Substâncias ativas biologicamente
<i>Cecropiaceae</i>	<i>Cecropia pachystachya T</i>	Embaúba, Embaúva Branca	Analgésico, Antioxidante	Flavonóides C-glicosilados, orientina. (COSTA et al., 2011)
<i>Fabaceae</i>	<i>B. purpúrea</i>	Pata-de-vaca roxa, coração-roxo	Antioxidante	Flavonóides (ZAKARIA et al., 2007).
<i>Guttiferae</i>	<i>Hypericum Brathys</i>	-	Antioxidante	Flavonóides (AVATO et al., 2004)
<i>Lamiaceae</i>	<i>H. Marrubioides</i>	-	Antioxidante	Flavonóides (SOUZA E LORENZI, 2008)
<i>Lamiaceae</i>	<i>H. Lantanifolia</i>	-	Antioxidante	Flavonóides (SOUZA E LORENZI, 2008)
<i>Lamiaceae</i>	<i>H. suaveolens</i>	-	Antioxidante	Flavonóides (SOUZA E LORENZI, 2008)
<i>Lamiaceae</i>	<i>H. microphylla</i>	-	Antioxidante	Flavonóides (SOUZA E LORENZI, 2008)
<i>Malpighiaceae</i>	<i>Davilla elliptica</i>	Lixeirinha	Antioxidante	Flavonóides; quercetina e da miricetina. (SOUZA E LORENZI, 2008)
<i>Leguminosae (Mimosaceae)</i>	<i>Stryphnodendron obovatum Benth</i>	Barbatimão	Cicatrizante e antioxidante	Flavonóides; flavonóis e flavonas (PINHO ET AL., 2012).
<i>Myrtaceae</i>	<i>E. brasiliensi,</i>	Grumixama	Antioxidante	Flavonóides (MAGINA et al., 2010)
<i>Myrtaceae</i>	<i>E. orbiculata</i>	-	Antioxidante	Flavonóides (MAGINA et al., 2010)
<i>Myrtaceae</i>	<i>Eugenia umbeliflora</i>	Biguaçu	Antioxidante	Flavonóides (MAGINA et al., 2010)
<i>Myrtaceae</i>	<i>Eugenia dysenterica</i>	Cagaita	Antioxidante	Flavonóides (MARTINS, 2015)
<i>Verbenaceae</i>	<i>Lippia sidoides</i>	Alecrim-pimenta, estrepa-cavalo	Antioxidante	Flavonóides (COSTA et al, 2002)
<i>Rubiaceae</i>	<i>Palicourea rígida</i>	Douradão	Antioxidante	Flavonóides (VON POSER et al., 2004)

A família *Fabaceae* vem do gênero *Bauhinia* que é composto por volta de 300 espécies, sendo encontrada principalmente na região amazônica (SILVA; CECHINEL, 2002). As espécies desse gênero possui uma diversidade de compostos, como flavonóides,

alcaloides, esteróides, entre outros (NOGUEIRA; SABINO, 2012). Estudos sobre a ação antioxidante da espécie *B. purpurea* estão recebendo uma atenção significativa, visto que os extratos dessa planta têm mostrado grande poder quando comparados utilizando-se os testes para esta atividade descrita (ZAKARIA et al., 2007).

A família *Malpighiaceae* é composta de aproximadamente 75 gêneros, que são encontrados em regiões subtropicais e tropicais do globo, sendo que no Brasil o gênero *Byrsonima* é encontrado na região Nordeste (SOUZA; LORENZI, 2008). Vegetais dessa família possuem compostos antioxidantes em abundância tais como flavonóides e taninos (GOTTLIEB; BORIN, 2001). As espécies *Davilla elliptica* e *Byrsonima crassifolia* foram caracterizadas quimicamente, sendo possível encontrar e isolar substâncias voláteis provenientes dos frutos como ácidos triterpênicos, triterpenos, catequinas, das folhas os flavonóides e do caule, taninos (RASTRELLI et al., 1997).

A família *Myrtaceae* possui 400 espécies do gênero *Eugenia*. Visando a potência antioxidativa, diversas espécies desse gênero foram estudadas, como a *E. brasiliensis*, *E. orbiculata*, *Eugenia umbelliflora* entre outras que são encontradas no sul e sudeste do país (FONTENELLE; MACHADO, 1994). Usada pela população para tratamento de artrite e diabetes o extrato do gênero *Eugenia*, se mostrou eficaz com uma ação antioxidante relevante (REVILLA, 2002; MAGINA et al., 2010).

A família *Guttiferae* possui 1200 espécies é composta pelo gênero *Hypericum*. Há uma diversidade de espécies do gênero *Hypericum* como a *Brathys*, sendo amplamente usadas pela população para o tratamento de diferentes doenças como diabetes, verminoses e atua também como antiretroviral (TROVATO et al., 2001). Em estudos da capacidade farmacológica foi observada ação antioxidante e antiinflamatória para cicatrizar ferimentos (AVATO et al., 2004).

O gênero *Lippia* proveniente da família *Verbenaceae* compõe por volta de 200 espécies presentes na América Central e América do Sul (PASCOAL et al., 2001). *Lippia sidoides*, uma das espécies desse gênero, é classificada popularmente como alecrim-pimenta sendo possível encontrá-la no Nordeste principalmente no Rio Grande do Norte. Pesquisas dessas plantas indicaram a existência de flavonóides, ácidos orgânicos, lignanas, entre outros (COSTA et al., 2002).

O gênero *Cecropia* da família *Urticaceae* abrange cerca de 60 espécies presentes na América Latina, a espécie *Cecropia pachystachya* Trécul é comum na região sul do Brasil (BERG; ROSSELLI, 2005). Essa espécie é conhecida como Embaúba, sendo utilizada pela população como antihipertensivo, antiinflamatório e também atua como antioxidante. Estudo realizado a partir da análise fitoquímica, foi possível encontrar flavonóis e catequinas (LORENZI, 2008).

A família *Leguminosae* responsável pelo gênero *Stryphnodendron* Mart, é composta por volta de 48 espécies, como *Stryphnodendron obovatum* Benth conhecida como o barbatimão, que são oriundas do cerrado brasileiro (DURIGAN et al., 2004). A parte da planta utilizada pelos habitantes nativos é o caule para tratamento de cicatrização e diarreia (SANTOS; MELLO, 2004). Na avaliação fitoquímica desse gênero foi possível observar a presença de saponinas, flavonóides e taninos (LOPES et al., 2009).

A família *Rubiaceae* é composta por cerca de seiscentos e trinta gêneros (ROBBRECHT, 1988). O gênero *Paicourea* possui duzentas e trintas espécies. As plantas deste gênero apresentam uma diversidade de metabólitos como alcaloides e cumarinas (NASCIMENTO et al., 2006). A espécie *Palicourea rigida*, popularmente chamada de douradão é utilizada para inflamações (VENCATO et al., 2005). Em experimentos observou a presença de flavonóides, compostos antioxidantes como quercetina foram encontrados nas folhas desse vegetal (VON POSER et al., 2004).

O gênero *Hyptis* da família *Lamiaceae* é bastante presente no cerrado com 22 espécies, algumas de suas espécies *H. Marrubioides*, *H. Lantanifolia*, *H. suaveolens* e *H. microphylla*, possuem em suas estruturas perfis aromáticos, esse gênero é bem usado na medicina popular por ter alto poder antioxidativo (SOUZA; LORENZI, 2008).

4.2 IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES EM ESPÉCIES VEGETAIS POR CLAE

Extratos aquosos das folhas das espécies vegetais *E. dysenterica*, *E. suberosum*, *E. daphnites* e *S. saponaria* foram submetidos a técnica CLAE para determinação de flavonóides, seguindo o sistema de eluição proposto por LEITE *et al*, 2014. A detecção da presença de flavonóides foi observado pela avaliação espectral dos principais picos eluidos para cada extrato observando os máximos de absorção. Segundo ARAPITSAS (2008), flavonóis possuem características espectrais no UV/VIS apresentando máximos de absorção entre 340 e 370 nm. Desta forma, com os dados obtidos a partir da análise por CLAE pode ser observada a presença ou não de flavonóides nos extratos analisados. Os picos com características espectrais semelhantes a flavonóis foram comparados com os espectros e tempo de retenção de padrões autênticos, como quercetina, rutina, hiperosídeo e isoquercetrina para identificação e quantificação dos mesmos.

Abaixo estão apresentados os cromatogramas obtidos para os padrões autênticos (Figura 7 – 10). A tabela 3 apresenta os tempos de retenção, máximos de absorção e áreas encontrados para cada substância padrão.

Tabela 3 – Tempos de retenção, máximos de absorção e áreas dos padrões.

Padrões	Tempo de retenção	Máximo de absorção (lambida λ)	Área
<i>Hiperosídeo</i>	28,813	256, 353	14422063
<i>Isoquercetrina</i>	30,38	256, 354	24671707
<i>Quercetina</i>	47, 740	255, 371	34584536
<i>Rutina</i>	29,140	256, 354	8732052

Figura 7 – Cromatograma do hiperosídeo (padrão de referência) (1 mg/mL). Condições da análise: coluna C 18, eluição em gradiente: ACN:H₃PO₄ (1%), detecção: 354nm, vazão: 0,6mL/min

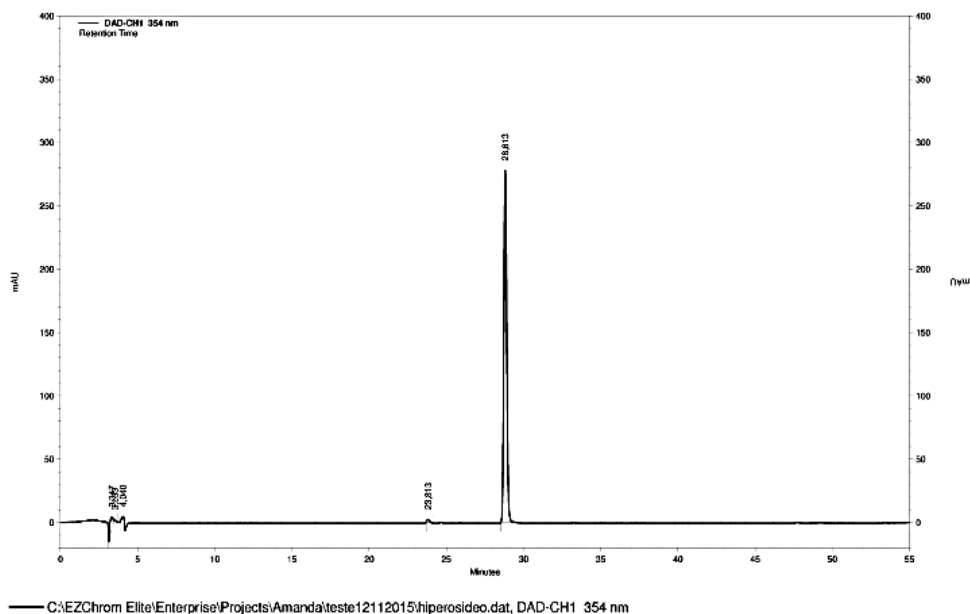


Figura 8 – Cromatograma da isoquercitrina (padrão de referência) (1 mg/mL) Condições da análise: coluna C 18, eluição em gradiente: ACN:H₃PO₄ (1%), detecção: 354nm, vazão: 0,6mL/min

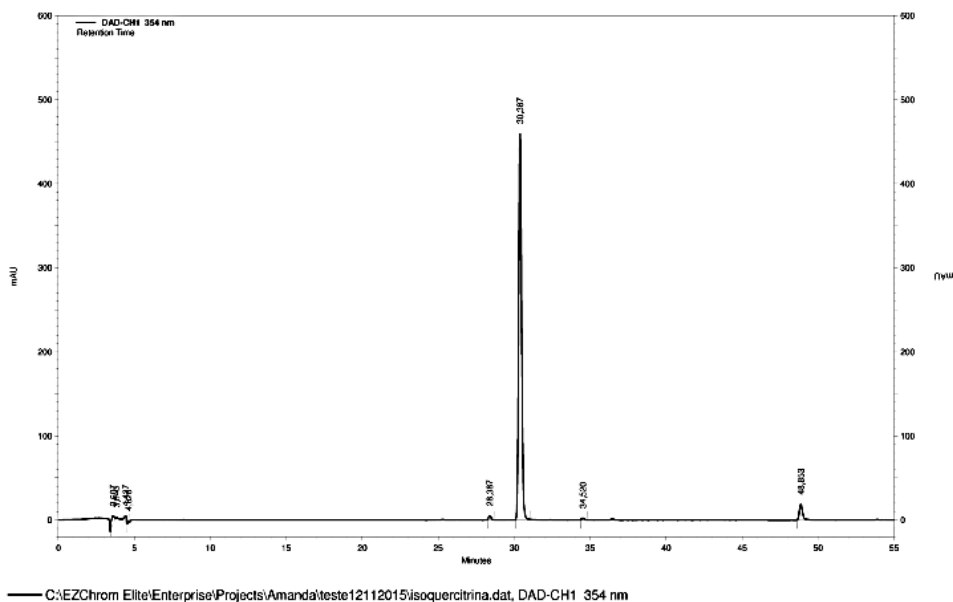


Figura 9 – Cromatograma da quercetina (padrão de referência) (1 mg/mL). Condições da análise: coluna C 18, eluição em gradiente: ACN:H₃PO₄ (1%), detecção: 354nm, vazão: 0,6mL/min

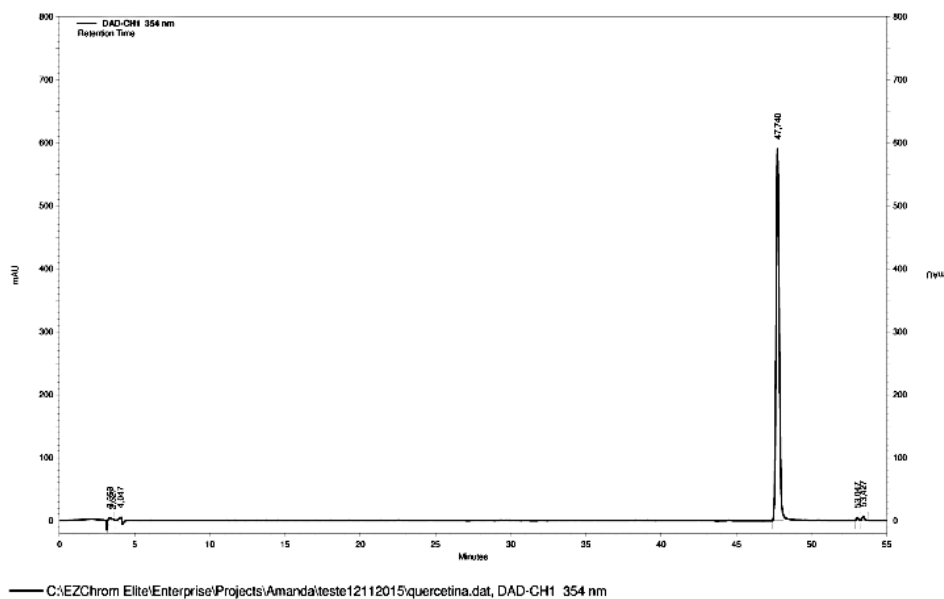
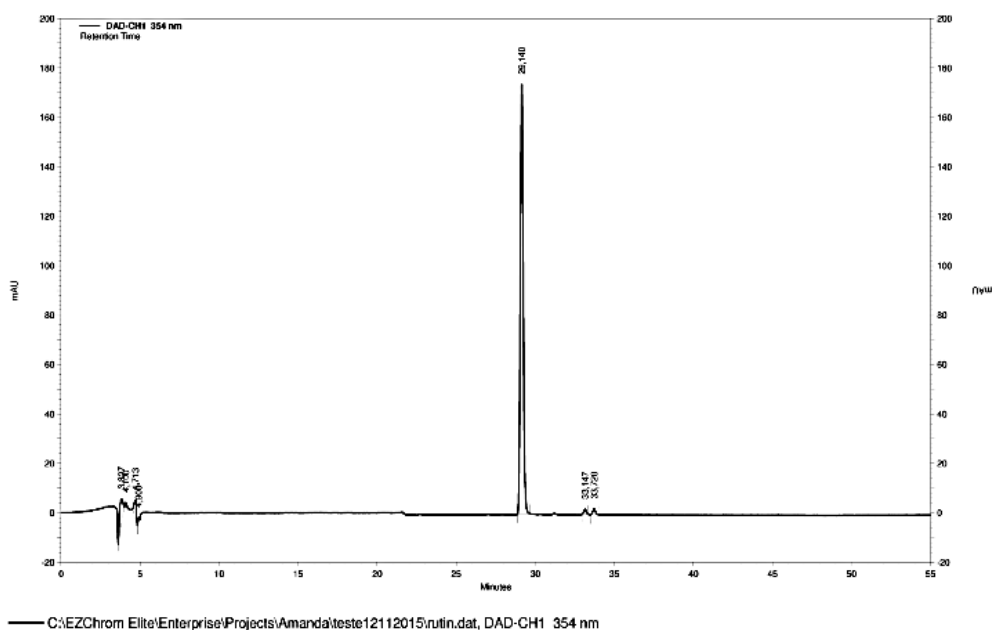


Figura 10 – Cromatograma da rutina (padrão de referência) (1 mg/mL). Condições da análise: coluna C 18, eluição em gradiente: ACN:H₃PO₄ (1%), detecção: 354nm, vazão: 0,6mL/min



Para o extrato etanólico de *E. daphnites* foi observado cinco principais picos de substâncias, sendo possível identificar uma delas, rutina (TR 29,09), conforme demonstrado na Figura 11. Além disso, os picos em 25,19 min e 33,40 min são flavonoides

derivados da quercetina, com base na semelhança espectral com padrão de quercetina. Os picos em 27,72 min. e 32,44 min. não são flavonoides, e portanto não foi possível identificá-los utilizando os métodos e padrões disponíveis. Nas figuras (12-14) é possível observar o lambda máximo dos picos dos tempos de retenções avaliados.

O teor de rutina encontrado no extrato aquoso de *E. daphnites* foi de 0,199 µg/mL.

Figura 11 – Cromatograma do extrato aquoso de *Erythroxyllum daphnites*. Condições da análise: coluna C 18, eluição em gradiente: ACN:H₃PO₄ (1%), detecção: 354nm, vazão: 0,6mL/min

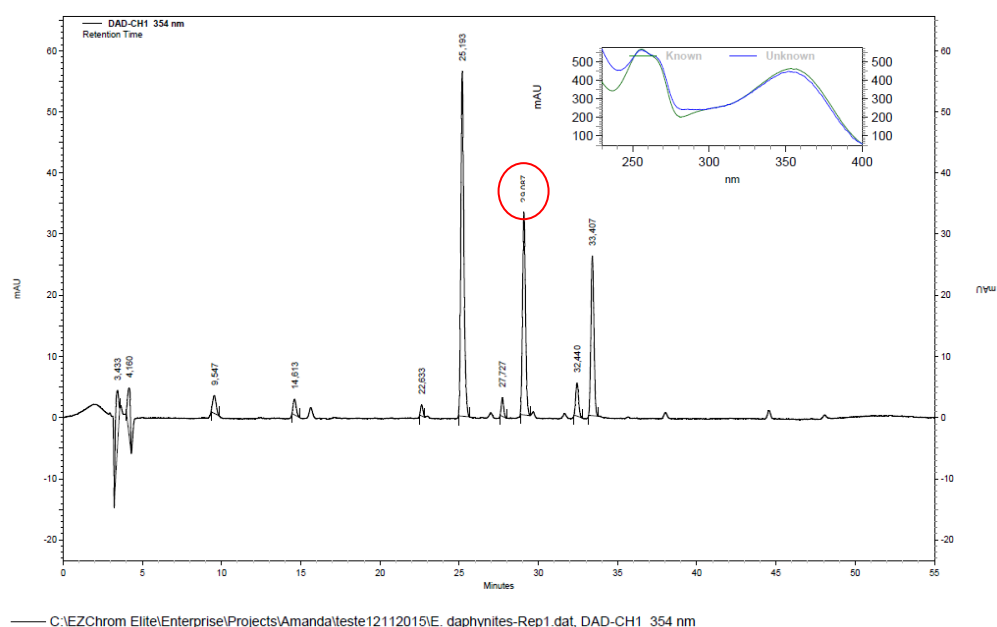


Tabela 4 – Tempo de retenção, áreas, similaridade, pureza e concentração dos padrões no extrato aquoso de *E. daphnites*.

Tempo de Retenção			Área			Similaridade	Pureza	Concentração de padrão (µg/mL)
Média	Desvio padrão	Coefficiente de variância	Média	Desvio padrão	Coefficiente de variância			
25,10	0,08	0,003	3003136	1322,86	0,0004	0,992	1000000	0,086 derivado da quercetina
28,99	0,08	0,002	1739568	4590,07	0,0026	0,998	1000000	0,199 rutina
33,30	0,09	0,002	1365961	2644,56	0,0019	0,994	1000000	0,039 derivado de quercetina

Figura 12 – Espectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 25,19. Absorção máxima 256, 353

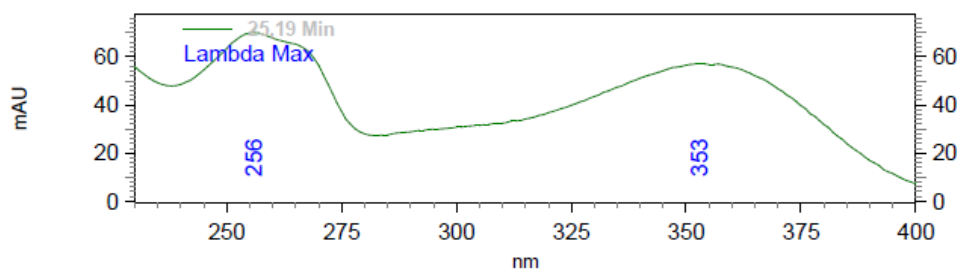


Figura 13 – Espectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 29,087. Absorção máxima 256, 352

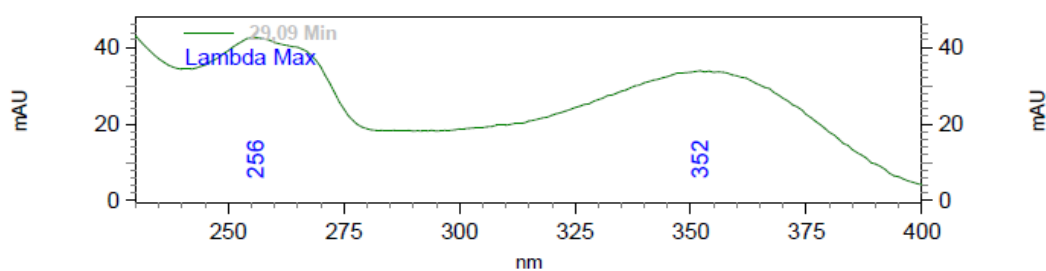
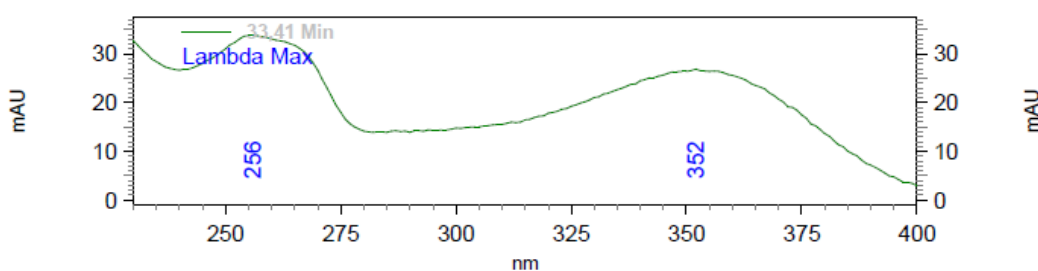


Figura 14 – E spectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 33,407. Absorção máxima 256, 352



Para o extrato etanólico de *E. suberosum* foi observado cinco principais picos de substâncias, sendo possível identificar algumas delas, hiperosídeo (TR 28,83) rutina (TR 29,09), isoquercitrina. (TR 31,26) conforme demonstrado na Figura 15. Nas Figuras 16-18 é possível observar o lambda máximo dos picos dos tempos de retenções avaliados.

Os teores de dos flavonóides encontrados no extrato aquoso de *E. suberosum* foi de 0,320 µg/mL para hiperosídeo, 0,994 µg/mL para rutina e 0,067 µg/mL para isoquercitrina.

Figura 15 – Cromatograma do extrato etanólico de *Erythroxylum suberosum*. Condições da análise: coluna C 18, eluição em gradiente: ACN:H₃PO₄ (1%), detecção: 354nm, vazão: 0,6mL/min.

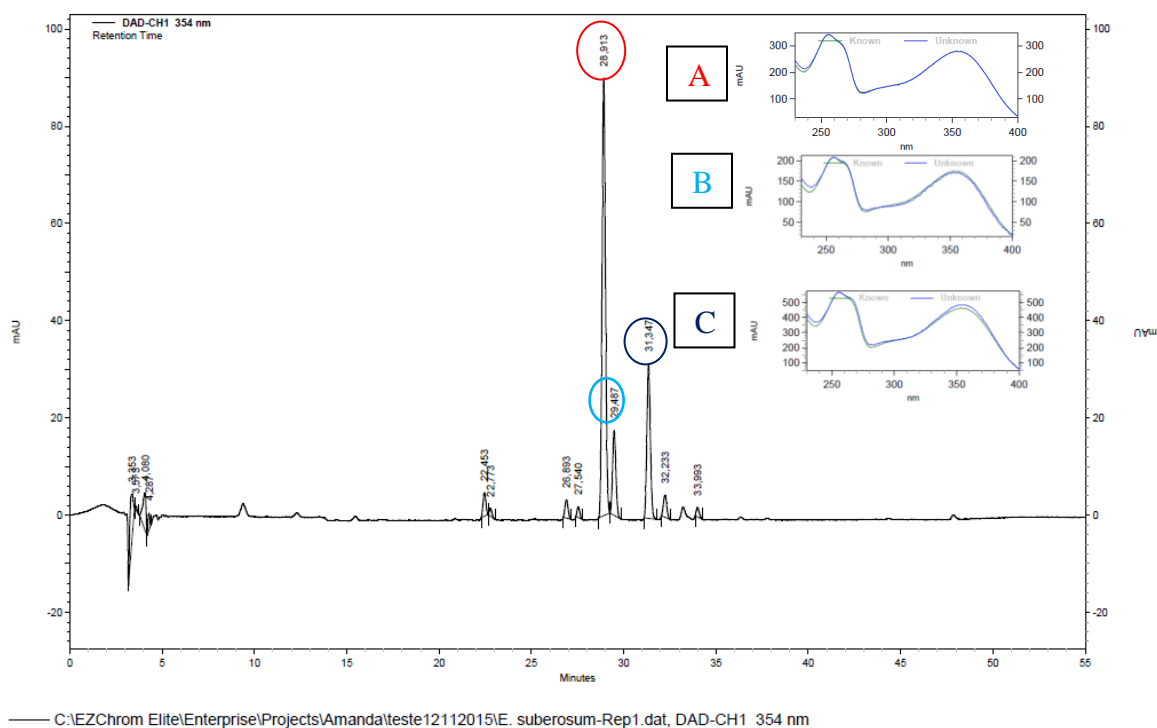


Tabela 5 – Tempo de retenção, áreas, similaridade, pureza e concentração dos padrões no extrato aquoso de *E. suberosum*.

Tempo de Retenção			Área			Similaridade	Pureza	Concentração de padrão (µg/mL)
Média	Desvio padrão	Coefficiente de variância	Média	Desvio padrão	Coefficiente de variância			
28,87	0,04	0,001	4617172	8379,42	0,001	0,999	1000000	0,320 hiperosídeo
29,43	0,04	0,001	868253	2694,42	0,003	0,999	1000000	0,994 rutina
31,3	0,04	0,001	1659727	2061,21	0,001	0,999	1000000	0,067 isoquercetrina

Figura 16 – Espectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 28,83. Absorção máxima 256, 357

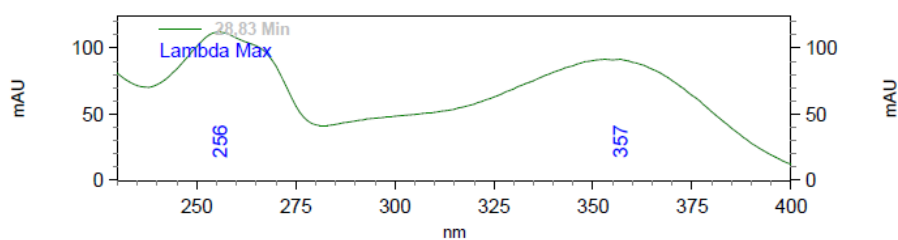


Figura 17 – Espectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 29,400. Absorção máxima 256, 352

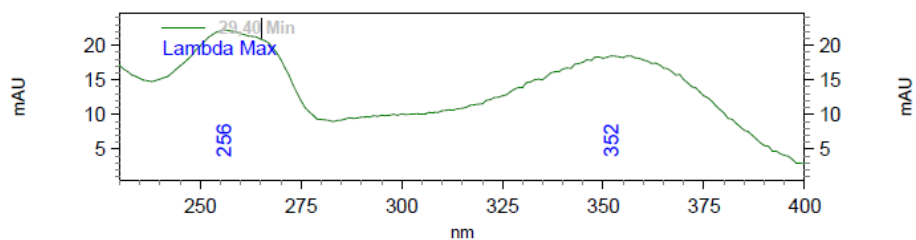
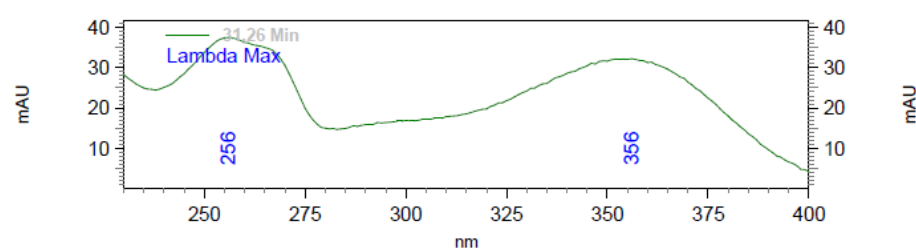


Figura 18 – Espectro de absorção Uv/VIS referente ao pico com tempo de retenção de 31,260. Absorção máxima 256, 356



Tanto para o extrato aquoso de *E. dysenterica*, Figura 19, quanto para o da *S.saponaria*, Figura 20, não foi possível identificar substâncias presentes, mas sabe-se que não se tratam de flavonóides e sim de outros compostos. No cromatograma da *S. saponária*, observou-se a inexistência de picos na faixa de absorção selecionada no equipamento, o que pode ser a ausência de grupos cromóforos nos compostos presentes nesta espécie.

Figura 19 – Cromatograma do extrato aquoso de *Eugenia dysenterica*. Condições da análise: coluna C 18, eluição em gradiente: ACN:H₃PO₄ (1%), detecção: 354nm, vazão: 0,6mL/min

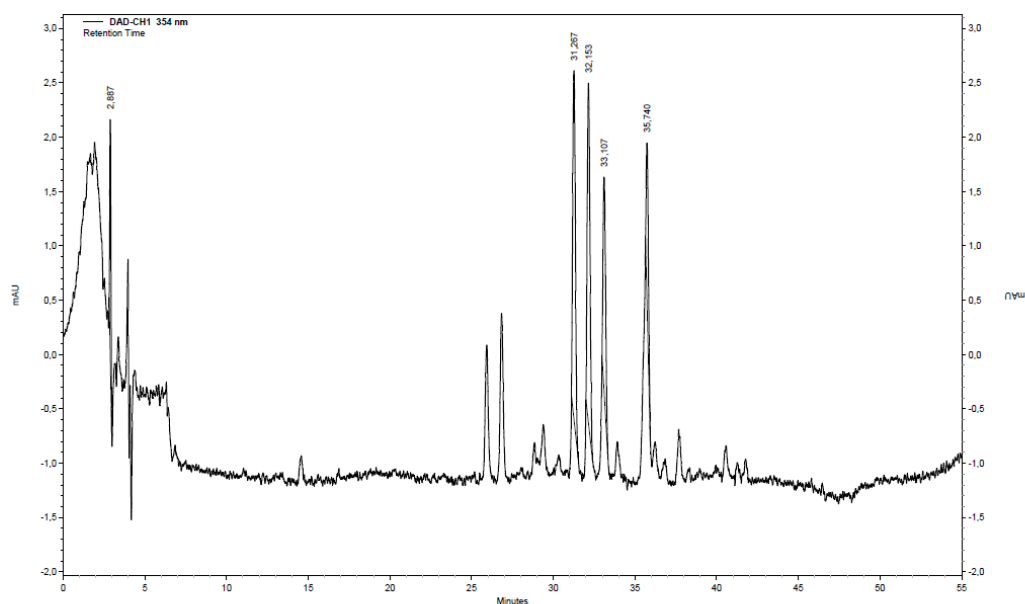
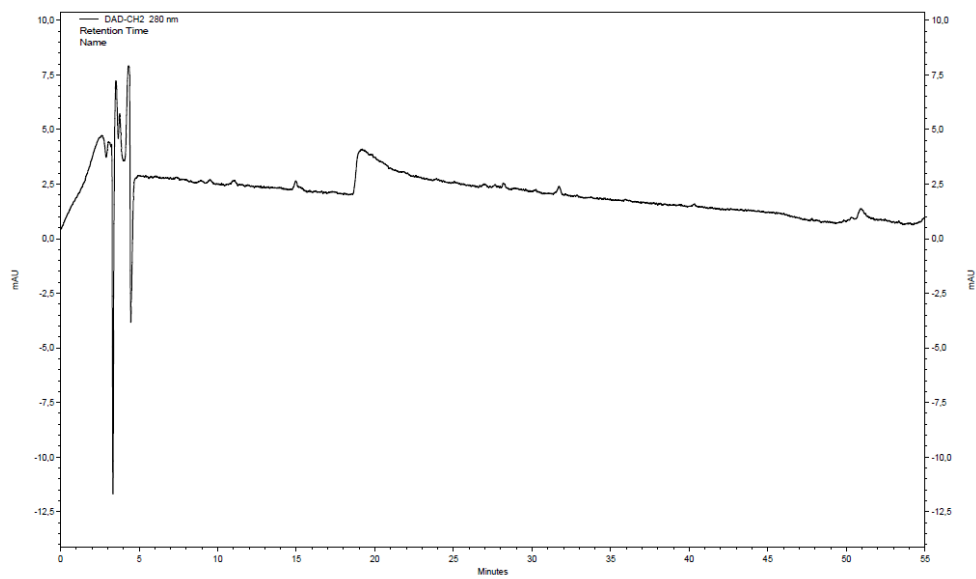


Figura 20 – Cromatograma do extrato etanólico de *Sapindus saponaria*. Condições da análise: coluna C 18, eluição em gradiente: ACN:H₃PO₄ (1%), detecção: 354nm, vazão: 0,6mL/min



— C:\EZChrom Elite\Enterprise\Projects\Amanda\teste12112015\S_saponaria-Rep1.dat, DAD-CH2 280 nm

5 CONCLUSÃO

Foi observado por meio de levantamento bibliográfico que o cerrado possui uma grande diversidade de vegetais com características antioxidantes, gerando um vasto campo de pesquisa e estudos dessas plantas. De acordo com os resultados obtidos é possível perceber que os extratos das plantas *E. suberosum* e *E. daphnites* possuem os compostos ativos pesquisados (rutina, hiperosídeo e isoquercitrina). Já os outros dois extratos, *S. saponária* e *E. dysenterica* possuem outros compostos ativos não flavonóides e não identificados neste estudo. Por meio da equação descrita no trabalho foi possível quantificar o teor dos flavonóides identificados, teor de rutina encontrado no extrato aquoso de *E. daphnites* foi de 0,199 µg/mL, já os teores de dos flavonóides encontrados no extrato aquoso de *E. suberosum* foi de 0,320 µg/mL para hiperosídeo, 0,994 µg/mL para rutina e 0,067 µg/mL para isoquercitrina.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/conteudo/cont_saiba_mais.htm#1>. Acesso em: 5 mai. 2015.
- AQUINO F.G.; WALTER B.M.T.; RIBEIRO J.R.. Espécies Vegetais de Uso Múltiplo em Reservas Legais de Cerrado - Balsas, MA. **Rev Bras Biocienc** 5: 147 – 149, 2007.
- ARAPITSAS P. Identification and quantification of polyphenolic compounds from okra seeds and skins. **Food chem** 110: 1041 – 1045, 2008.
- ATAWODI, S.E. et al.. Polyphenol composition and antioxidant potential of *Hibiscus esculentus* L. fruit cultivated in Nigeria. **J Med Food**, v. 12, n. 6, p. 1316–1320, 2009.
- AVATO, P.; RAFFO, F.; GUGLIETMI G.; VITALI, C.; ROSATO A. Extracts from St John's Wort and their antimicrobial activity. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 230-232, 2004.
- BARBOSA W.L.R.; PINTO L.N.R. Documentação e valorização da fitoterapia tradicional Kayapó nas aldeias A'Ukre e Pykanu - sudeste do Pará. **Rev Bras Farmacogn** 13: 47-49, 2003.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. de C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, n. 23, v. 4, p. 629-643, 2010.
- BERG, C. C.; ROSSELLI, P. F.. **Cecropia, Flora Neotropica**. The New York Botanical Garden: New York, 2005.
- BERNADI, A.P.; MATOS, N.J.; MARCHIORO, M.K.; VON POSER, G.L.; RENCH, S.B. Phenolic compounds profiles during ex vitro acclimatization of micropropagated *Hypericum polyanthemum*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, p. 649-690, 2008.
- COSTA, G. M. et al. An HPLC-DAD method to quantification of main phenolic compounds from leaves of *Cecropia* Species. **Journal Brazil Chemical Society**, São Paulo, v. 22, n. 6, jun. 2011.
- COSTA, S. M. O.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; ASSUNÇÃO, J. C. C.; BRAZ-FILHO, R.; **Rev. Bras. Farmacogn.**, 12, 66, 2002.
- DURIGAN, G., BAITELLO, J.B., FRANCO, G.A.D.C. & SIQUEIRA, M.F. **Plantas do Cerrado Paulista: imagens de uma paisagem ameaçada**. São Paulo: Páginas & Letras Editora e Gráfica, 2004.
- EZCHROM ELITE SOFTWARE (version 3.3.2 SP1 Scientific Software. Inc.).
- FONTENELLE, GB, CG COSTA & RD MACHADO. **Bot. J. Linn. Soc.** 115: 111-33, 1994.

GONZÁLEZ-GARCÍA K.; GONZÁLEZ-LAVAUT J.A.; GONZÁLEZ-GUEVARA J.; PRIETO-GONZÁLEZ S.; Género *Erythroxylum*: Análisis de la Información Científica. **Lat Am J Pharm** 24: 284 – 288, 2005.

GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. M. B. **Em Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Simões, C. M. O., org. 3. ed., Porto Alegre: editora da UFRGS, 2001.

HALLIWELL, B. **Free Radical Biol. Med.**, 7, 645, 1989.

HAVSTEEN BH. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Farmacology & Therapeutics**, 96:67-202, 2002.

HUBER. L. S.; B. RODRIGUEZ. A. D.; I. RODRIGUES. M.; 2007, Otimização e validação de metodologia analítica para determinação de flavonóis e flavonas por CLAE em hortaliças. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 66(2): 142-151.

ICH guidelines: Q2 Validation of Analytical Procedures: Text And Methodology.; 2005.

ISAI, M. et al., Prevention of selenite-induced cataractogenesis by rutin in Wistar rats. **Mol Vis**, v. 15, p. 2570-2577, 2009.

KIRK, E.A.; SUTHERLAND, P.; WANG, S.A.; SHAIT, A. e LEBOEUF, R.C. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL-receptor-deficient Mice. **J. Nutr.** 128:954-954, 1998.

KNEKT P.; JARVINEN R.; REUNANEN A.; MAATELA J.; 1998. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. **Brit Med J**; 312: 478-81.

LEITE C. F.M; et al. Determination of rutin in *Erythroxylum suberosum* extract by liquid chromatography: applicability in standardization of herbs and stability studies. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas** 13 (2): 135 – 137, 2014.

LOPES, G.C, SANCHES, A.C.C., TOLEDO, C.E.M., ISLER, A.C. & MELLO, J.C.P. Determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 45(1): 135-143, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A.. **Plantas Mediciniais no Brasil**: Nativas e Exóticas. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda: Nova Odessa, Brasil, 2008.

LOULI V.; RAGOUSSIS N.; MAGOULAS. K. Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. **Bioresour., Technol.**, 92, 201-208, 2005.

MAGINA A.M.; GILIOLI A.; MORESCO H.H.; COLLA G.; PIZZOLATTI M.G.; BRIGHENTE M.C.I. Atividade antioxidante de três espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). **Lat. Am. J. Pharm.** 29 (3): 376-82, 2010.

MARÇO, P.H.; POPPI R.J.; SCARMÍNIO, I.S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quim. Nova**, 31(5): 1218-1223, 2008.

MARTÍNEZ-FLORES, S.; GONZÁLEZ GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutr. Hosp.**; v. 17, n. 6, p. 271-276, 2002.

MARTINS, D. H.N.; Avaliação da sazonalidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante de folhas de *Erythroxylum daphnites*, Mart. 2015. 102 f., il. **Dissertação** (Mestrado em Ciências da Saúde)-Universidade de Brasília, Brasília, p.24-25, 2015.

MEYER, A.L.; ABOIN S.J.; BACCHI, E. Antiulcer activity of *Sapindus saponaria* L. in the rat. **J. Ethnopharmacol.** 82, 41-43, 2002.

MI, Y. et al., Protective effect of quercetin on the reproductive toxicity of 4- nitrophenol in diesel exhaust particles on male embryonic chickens. **J Reprod Dev**, v. 56, n. 2, p. 195-199, 2010.

MOLNÁR-PERL I.; FÜZFAI Z.; Chromatographic, capillary electrochromatographic techniques in the analysis of flavonoids. **J. Chromatogr. A**, 1073, 201-227, 2005.

MURGU, M.; RODRIGUES, E. Dereplication of glycosides from *Sapindus saponaria* using liquid chromatography-mass spectrometry. **J. Braz. Chem. Soc.**, 17, 1281-1288, 2006.

NASCIMENTO CA, KATO L, DA SILVA CC, TANAKA CMA. Alkaloids from *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. **Z Naturforsch** 61b: 1443-1446, 2006.

NOGUEIRA, A. C. O.; SABINO, C. V. S.; **Revista Fitos** 7, 77, 2012.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; SÁNCHEZ MATA, D.; VILLAR, A.; **J. Ethnopharmacol.** 76, 201, 2001.

PEDRIALI, C. A., Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes. **Dissertação** (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PETERSON, J e DWYER J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, 18(12):1995-2018, 1998.

PINELO M., DEL Fabbro P.; MANZOCCO L., NUÑEZ M. J.; NICOLI M. C. Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* by-products. **Food Chem.**, 92, 109-117, 2005.

PLOWMAN T.C.; HENSOLD N.; Names, types and distribution of neotropical species of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae). **Brittonia** 56: 1 – 52, 2004.

RAHMAT, A.K. et al., Protective effects of rutin against potassium bromate induced nephrotoxicity in rats. **BMC Complement Altern Med**, v. 12, p. 204, 2012.

RASTRELLI, L.; DETOMMASI, N.; BERGER, I.; CACERES, A.; SARAVIA, A.; DE SIMONE, F.; **Phytochemistry**, 45, 64, 1997.

REBUGLIO J.; C. et al., Antioxidant and cytotoxic studies for kaempferol, quercetin and

isoquercitrin. *Eclat. Quím.* vol.36 nº 2 São Paulo, 2011.

REVILLA, J. **Plantas úteis da bacia amazônica.** v. 44, Rio de Janeiro: Inpa, 2002.

ROBBRECHT E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Bot Belg** 1: 1-271, 1988.

ROGERIO AP.; FONTANARI C.; BORDUCCHI E.; Keller AC, RUSSO M.; SOARES E.G.; ALBUQUERQUE D.A.; FACCIOLI L.H.; Anti-inflammatory effects of Lajoense pacari and ellagic acid in a murine model of asthma. **Eur J Pharmacol** 580: 262-270, 2007.

RUI-LI LIU et al.. **Hyperoside protects cortical neurons from oxygen-glucose deprivation-reperfusion induced injury via nitric oxide signal pathway.** Volume 1469, pages 164-173, 21 August, 2012.

SANTOS, S.C.; MELLO, J.C.P Taninos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento.** 5. ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS/UFSC, 2004.

SANTOS. B. C.; WILLIAMSOM G.. Methods in polyphenol analysis. **Royal Society of Chemistry**, Cambridge, 55-60 and 108-118, 2003.

SILVA, K. L.; CECHINEL-FILHO, V.; **Quim. Nova**, 25, 449, 2002.

SILVA, S.; et al. Identificação de glicósidos de flavonóis em subprodutos da vinificação por HPLC com diferentes detectores e hifenado com espectrometria de massa. **Ciência Téc.**; Vitiv.; 20 (1), 17-33, 2005.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H.. **Botânica sistemática:** guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil. 2. ed., São Paulo: Nova Odessa, 2008.

SUN, T. et al.. Microwave accelerated transglycosylation of rutin by cyclodextrin glucamatransferase from *Bacillus* sp. SK 13.002. **Int J Mol Sci**, v. 12, n. 6, p. 3786-3796, 2011.

TROVATO. A.; RANERI, E.; KOULADIS, M.; TZAKOU, O.; TAVIANO, M.F.; GALATI, E.M. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Hypericum empetrifolium* wild (*Guttiferae*). **II fármaco**, v.56, p.455-456, 2001.

VENCATO I, SILVA FM, OLIVEIRA CMA, KATO L, TANAKA CMA, SILVA CC, SABINO JR. Vallesiachotamine. **Acta Crystallogr E** 62: 429-430, 2004.

VON POSER GL, MENTZ LA. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (org) **Farmacognosia da planta ao medicamento.** 5.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, p.75-89, 2004.

WANG., G et al., Effects of quercetin nanoliposomes on C6 glioma cells through induction of type III programmed cell death. **Int J Nanomedicine.** v. 7, p, 271- 280, 2012.

ZAKARIA, Z. A.; LOO Y. W.; ABDUL RAHMAN, N. I.; ABDUL AYUB, A. H.;

SULAIMAN, M. R.; HANAN KUMAR, G.; **Med. Princ. Pract.**, 16, 443, 2007.

ZORZIN, F. M. Avaliação da atividade de inibição de alfa-amilase e padronização do extrato aquoso da folha de *Eugenia dysenterica*. 99 f., il. **Dissertação** (Mestrado em Ciências da Saúde)—Universidade de Brasília, Brasília, p. 15-16, 2014.

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O (Org.) et al. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. 5. ed. ver. ampl. Porto Alegre: Editora da UFRGS, Florianópolis: Editora da UFSC, cap. 23, 2003.