



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
CURSO DE QUÍMICA LICENCIATURA

GRACELENE DE SOUSA LIMA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DAS FOLHAS DE
Fridericia platyphylla E QUANTIFICAÇÃO DO MARCADOR QUÍMICO**

São Luís -MA

2018

GRACELENE DE SOUSA LIMA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DAS FOLHAS DE
Fridericia platyphylla E QUANTIFICAÇÃO DO MARCADOR QUÍMICO**

Monografia apresentada ao Curso Química
Licenciatura da Universidade Federal do
Maranhão, para obtenção do grau de
Licenciatura em Química.

Orientador (a): Prof. Dra. Cláudia Quintino da
Rocha.

São Luís- MA

2018

Lima, Gracelene de Sousa.

Avaliação do potencial antioxidante de extrato das folhas de *Fridericia platyphylla* e quantificação do marcador químico / Gracelene de Sousa Lima. - 2018. 45 f.

Orientador(a): Cláudia Quintino da Rocha.
Monografia (Graduação) - Curso de Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

1. Atividade Antioxidante. 2. *Fridericia platyphylla*. 3. Quantificação. 4. Rutina. I. Rocha, Cláudia Quintino da. II. Título.

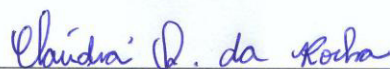
GRACELENE DE SOUSA LIMA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DAS FOLHAS DE
Fridericia platyphylla E QUANTIFICAÇÃO DO MARCADOR QUÍMICO

Aprovada em: 12/01/2018.

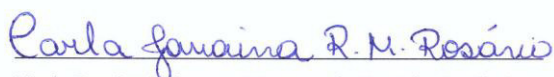
Esta monografia foi julgada adequada à obtenção de grau de Licenciatura em Química e aprovada em sua forma final pelo curso de Química Licenciatura da Universidade Federal do Maranhão

BANCA EXAMINADORA



(Cláudia Quintino da Rocha-Orientadora)

Departamento de Química - UFMA



(Carla Janaína Rebouças Marques do Rosário-Avaliadora)

Universidade Estadual do Maranhão



(Odair dos Santos Monteiro-Avaliador)

Departamento de Química – UFMA

Dedico a Deus, à minha família e a todos os amigos e irmãos em Cristo, que estiveram junto a mim nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, meu Pai, que me permitiu realizar este sonho, sustentando-me em cada dificuldade e fortalecendo-me para superá-las.

Aos meus pais (Antônio Pereira Lima e Antônia Maria de Sousa Lima), irmãos (Roberthy Antônio S. Lima, Ronaldo de S. Lima, Marcos Rogério de S. Lima e Allyson Araújo) pelo amor e apoio.

À minha orientadora Cláudia Quintino da Rocha, pela oportunidade, apoio e confiança, tempo e atenção dedicados na elaboração deste trabalho.

A esta universidade pelas portas abertas à minha formação e a todos os professores dos Departamentos de Química, Física, Matemática e Educação, que foram tão importantes na minha vida acadêmica.

Agradeço também aos amigos Wermerson e Matheus pelo apoio e grande ajuda nos ensaios de avaliação antioxidante.

Agradeço aos meus amigos Ana Paula Calvet, Renata Avelar, Renan Rayone, João Filho, Talita C. Raiol, Tayana Conde, pelos incentivos, companheirismo e paciência.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação!

RESUMO

A espécie investigada foi *Fridericia platyphylla* (Bignoniaceae), gênero do qual são relatadas várias atividades farmacológicas. Folhas foram secas em estufa. O pó obtido foi macerado com etanol 70% v/v, a mistura foi filtrada e concentrada em rotaevaporador. O extrato obtido foi submetido a *clean-up* em cartuchos Sep-Pak de fase reversa e analisado por HPLC-UV/Vis. O perfil cromatográfico mostrou que o extrato das folhas é rico em substâncias fenólicas, principalmente flavonoides. Após identificação do pico majoritário por HPLC-UV/Vis e MS, confirmou-se que este se tratava da rutina. Essa substância foi utilizada como marcador químico para padronização do extrato. A rutina, por ser uma substância muito conhecida pelo seu potencial em sequestrar radicais livres, realizou-se, neste trabalho, o teste da atividade antioxidante do extrato por meio do método DPPH. Os resultados mostraram que as folhas de *Fridericia platyphylla* apresentam um potencial antioxidante muito promissor com perfil de atividade dose resposta. O extrato apresentou em sua composição 33% de rutina, resultado obtido após dosagem através de curva de quantificação por HPLC-UV/Vis. A quantificação do marcador químico e a atividade antioxidante do extrato são subsídios para uma investigação química e biofarmacológica das folhas da espécie, além de ser um importante passo na padronização do extrato dessa espécie.

Palavras-chave: *Fridericia platyphylla*. Rutina. Quantificação. Atividade Antioxidante.

ABSTRACT

The investigated species was *Fridericia platyphylla*(*Bignoniaceae*), genus in which several pharmacological activities are reported. Leaves were dried in a greenhouse. The vegetable powder obtained was macerated with ethanol 70% v/v. The mixture was filtered and concentrated in a rotaevaporator. The obtained extract was subject to a clean-up in Sep-Pak cartridges of reverse phase and analyzed by HPLC-UV/Vis. The chromatographic profile showed that the leaves extract is rich in phenolic substances, mostly flavonoids. After identification of the major peak by HPLC-UV/Vis and MS, it was confirmed that it was rutin. This substance served as chemical marker for extract padronization. Because it is a substance well known by its antioxidant potential, it was performed, in this work, the test antioxidant activity by the DPPH method. The results showed that the *Fridericia platyphylla* leaves present a very promising with dose-response activity profile antioxidant potencia. The extract presented in its composition 33% of rutine, result obtained after dosing through quantification curve by HPLC-UV /Vis. The quantification of the chemical marker and the extract antioxidant activity are subsidize a chemical and biopharmacological investigation of the species leaves, besides being an important step in the padronization of these species extracts.

Keywords: *Fridericia platyphylla*. Rutin. Quantification. Antioxidant activity

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA%	Porcentagem de Atividade Antioxidante
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG	Cromatografia Gasosa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EC	Eletroforese Capilar
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EtOH	Etanol
FAB	Extrato bruto das Folhas de <i>Fridericia platyphylla</i>
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LDL	Low Density Lipoprotein
LEAF	Laboratório de Estudos Avançados em Fitomedicamentos
LDQ	Limite de detecção
LOQ	Limite de Quantificação
MeOH	Metanol
MS	Espectrômetro de Massa
OH•	Radical Hidroxila
O ₂ •-	Ânion Radical Superóxido
R ²	Coefficiente de Correlação
R-O-O•	Radical Peroxil
SPE	Extração em Fase Sólida
UV-Vis	Ultravioleta – Visível

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espécie <i>Fridericia platyphylla</i>	17
Figura 2 - Exsicata de <i>Fridericia platyphylla</i>	17
Figura 3 - Fotografias de flores (A) e frutos maduros (B) de <i>Fridericiaplatyphylla</i>	18
Figura 4 - Estrutura geral dos flavonoides	21
Figura 5 - Esqueleto básico dos flavonoides	21
Figura 6 - Principais características para a captura de radicais livres	23
Figura 7 - Anel do flavonoide entra em ressonância para a estabilização do radical livre.	24
Figura 8 - Atividade de quelação de metais	24
Figura 9 - Estrutura química da rutina.....	25
Figura 10 - Extrato bruto da <i>Fridericia platyphylla</i>	28
Figura 11 - Extração em Fase Sólida (SPE)	29
Figura 12 - Esquema representativo de procedimento de Extração em Fase Sólida.....	29
Figura 13 - Reação de redução de DPPH	30
Figura 14 - - Cromatograma do extrato bruto após extração em fase sólida obtido por HPLC-UV/Vis (254 nm).....	32
Figura 15 - Espectro de Massas obtido para o pico da rutina por LC-ESI-IT/MS	33
Figura 16 - Curva Analítica obtida pelo método de calibração externa a partir de injeções em triplicata de solução padrão de rutina	35
Figura 17 - Porcentagem de inibição do radical DPPH pelo antioxidante presente no extrato bruto após extração em fase sólida (FAB-SPE) nas formas de gráfico (A) e (B)	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Taxonomia da planta	15
Tabela 2 - Substâncias isoladas e atividades biofarmacológicas descritas da espécie <i>Fridericiplatyphylla</i>	16
Tabela 3 - Alguns exemplos dos representantes das subclasses de flavonoides	22
Tabela 4 - Avaliação da atividade antioxidante de FAB-SPE.....	31
Tabela 5 - Parâmetros de quantificação da rutina.....	34
Tabela 6 - Dados analíticos para a construção da curva de calibração da área da rutina	34

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
SUMÁRIO.....	xi
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	14
2.1 Geral	14
2.2 Específicos	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 Família <i>Bignoniaceae</i>	15
3.2 Gênero <i>Fridericia</i> (Sin. <i>Arrabidaea</i>)	15
3.3 <i>Fridericia platyphylla</i> (Sin. <i>Arrabidaea brachypoda</i>)	17
3.4 Extratos Vegetais	18
3.5 Metabólitos Secundários em Plantas	19
3.6 Antioxidantes	19
3.7 Flavonoides e atividade sequestrante de radicais livres.....	20
3.8 Rutina	25
3.9 Controle de Qualidade de Fitoterápicos.....	26
4. PARTE EXPERIMENTAL	28
4.1 Coleta do Material Vegetal	28
4.2 Métodos	28
4.2.1. Preparo Do Extrato	28
4.2.2. Preparo do Extrato para Análise por SPE e Quantificação por HPLC-UV/Vis.....	28
4.2.3. Avaliação da Atividade Antioxidante pelo Método DPPH•	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1.1. Cromatograma do Extrato após SPE obtido por HPLC-UV/Vis.	32
5.2 Desenvolvimento e aplicação do método para a quantificação da rutina	33
5.3 Avaliação da atividade antioxidante	35

6. CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS	38

1.INTRODUÇÃO

Atualmente, as plantas medicinais movem altos valores financeiros em todo o mundo e representam o tipo de tratamento mais acessível para cerca de 80% da população, principalmente entre os países em desenvolvimento. Entretanto, existe ainda uma falta de conhecimento sobre propriedades químicas, farmacológicas e toxicológicas a fim de assegurar a eficácia e a segurança das plantas medicinais (PIETRO et al., 2010).

Normas para padronizar drogas vegetais estão sendo desenvolvidas em todo o mundo, mas ainda não há consenso quanto à forma que estas normas devem ser adotadas. Estabilidade, padronização e controle de qualidade de fitoterápicos são viáveis, mas difícil de concretizar. Além disso, a regulamentação destas drogas não é uniforme entre os países. Existem variações nos métodos utilizados e há uma grande dificuldade dos países em alcançar um controle de qualidade ideal (MANCHIKANTI et al., 2010).

A qualidade das plantas medicinais depende de vários fatores, incluindo variações de espécies, clima, coleta, armazenamento e processamento. Conseqüentemente, a padronização e o controle de qualidade, dessas plantas medicinais, são importantes para garantir sua eficácia e o uso seguro das mesmas (SOUZA et al., 2010).

Dentre as várias plantas brasileiras, ainda não padronizadas, encontra-se *Fridericia platyphylla* (sin. *Arrabidaeabrachypoda*), cujo nome popular é cervejinha do campo, uma importante representante da família *Bignoniaceae* que vem mostrando um grande potencial químico farmacológico, devido à presença de uma variedade de substâncias fenólicas, dentre elas os flavonoides. Embora a *Fridericia platyphylla* seja muito usada na medicina tradicional brasileira, não há relatos de estudos de controle de qualidades de seus extratos, principalmente envolvendo quantificação de marcadores químicos.

No presente trabalho, o flavonoide selecionado como marcador do extrato das folhas de *Fridericia platyphylla* foi arutina, pertencente à subclasse dos flavonóis, com característica biofarmacológica expressiva em sequestrar radicais livres. Por ser uma substância reconhecida pelo seu potencial antioxidante, e somada à necessidade de novos agentes sequestrantes de radicais livres, realizou-se também a atividade antioxidante do extrato das folhas de *Fridericia platyphylla*.

2.OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar potencial antioxidante e quantificar marcador químico nos extratos de *Fridericia platyphylla*.

2.2Específicos

Avaliar o potencial antioxidante pelo método do DPPH.

Eliminar interferentes pelo método de Extração em Fase Sólida (SPE).

Quantificar o composto rutina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao detector ultravioleta no extrato hidroetanólico 70 % das folhas de *Fridericia platyphylla*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Família *Bignoniaceae*

A família *Bignoniaceae* é originalmente subdividida em oito tribos, ocorrendo três delas no Brasil (*Bignoniaceae*, *Crescentieae* e *Tecomeae*), as quais se diferenciam pelo hábito da planta e pela morfologia do fruto (BUREAU; SCHUMANN, 1897; GENTRY, 1980). O centro de dispersão da família como um todo é o Brasil (GENTRY, 1979 apud BARROSO, 1991), embora existam cinco regiões principais de dispersão: a América Central e parte oeste da América do Sul; região da Guiana; terras baixas da Amazônia; cerrados e caatingas do Brasil; litoral do Brasil. O centro de diversidade da família também está no Brasil, onde ocorrem 56 gêneros e cerca de 338 espécies, incluindo muitos táxons endêmicos. As espécies de *Bignoniaceae* são encontradas em diferentes tipos de ambientes, desde os cerrados abertos até as florestas úmidas e perenifólias, representando a principal família de lianas das matas brasileiras (GENTRY, 1980). Na Tabela 1, encontra-se descrito a taxonomia da planta.

Tabela 1 - Taxonomia da planta

Reino	<i>Plantae</i>
Superdivisão	<i>Spermatophyta</i>
Divisão	<i>Magnoliopsida</i>
Subclasse	<i>Asteridae</i>
Ordem	<i>Scrophulariales</i>
Família	<i>Bignoniaceae</i>
Gênero	<i>Fridericia</i>
Espécie	<i>Platyphylla</i>

Fonte: Rocha (2013)

3.2 Gênero *Arrabidaea*

O gênero *Arrabidaea* pertence à família *Bignoniaceae*, contém cerca de 70 espécies, distribuídas desde o México até a Argentina. Estudos fitoquímicos anteriores, conforme

Tabela 2, mostram que este gênero é uma fonte de C-glucosilxantonas, fenilpropanoides, flavonoides, antocianidinas, alantoinas e triterpenos (GONZALEZ et al., 2000; MARTIN et al., 2008; PAULETTI et al., 2006 e ROCHA et al., 2012).

Tabela 2 - Substâncias isoladas e atividades biofarmacológicas descritas da espécie *Arrabidaea*

ESPÉCIES DE <i>Arrabidaea</i>	PROPRIEDADES BIO-FARMACOLÓGICAS	SUBSTÂNCIAS ISOLADAS	REF.
<i>A. samydoides</i>	Atividade antioxidante, antitumoral inflamatória, atividade inibitória do crescimento de linhagens mutantes de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	lupeol, sitosterol, estigmasterol, crisina, 3 β ,16 α -diidroxi-olean-12-eno, eritrodíol, uvaol, Ácido ursólico, -(2'- <i>O-trans</i> -caffeoil)-C- β -D-glucopiranosil-1,3,6,7-tetrahidroxixantona, 2-(2'- <i>O-trans</i> -cinamoil)-C- β -D-glucopiranosil-1,3,6,7-tetrahidroxixantona, 2-(2'- <i>O-trans</i> -coumaroil)-C- β -D-glucopiranosil; 1,6,7-tetrahidroxixantona, 2-(2'- <i>O-benzoil</i>)-C- β -D-glucopiranosil-1,3,6,7-tetrahidroxixantona, emuraxantona.	BOLZANI; PAULETTI; YOOUNG, 2003
<i>A. triplinervia</i>	Atividade contra formastrípomastigota de <i>Tripanossomacruzi</i>	ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido pomólico, alpinetina, eritrodíol, aldeído acetato oleanólico	LEITE et al, 2006
<i>A. bilabiata</i>	Alta toxicidade	ácido monofluoracético, esteróides cardioativos	TOKARNIA et al, 2004
<i>A. brachypoda</i> (<i>Fridericia platyphylla</i>)	Atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e analgésica	3,4-diidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona, cirsilol, cirsimaritina, hispidulina, arrabidosídeo A, arrabidosídeo B, braquidinas	ALCERITO et al, 2002 GARCIA, 2008. ROCHA et al, 2017
<i>A. chica</i>	Anti-inflamatória, adstringente, combate a leucemia e cicatrizante.	6,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxi-flavona, 6,7,3'-trihidroxi-5,4'-dimetoxi-flavilium, 6,6,7,4'-trihidroxi-5-metoxi-flavilium, 6,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxi-favilium (Carajurin)	TAKEMURA et al, 1995 ZORN et al, 2001
<i>A. patellifera</i>	Antioxidante	Mangiferina, isomangiferina, 3'-O-hidroxi-benzoil-mangiferina, 3'-O- <i>trans</i> -coumaroil-mangiferina, 6'-O- <i>trans</i> -coumaroil-mangiferina, 3'-O- <i>trans</i> -cinnamoil-mangiferina, 3'-O- <i>trans</i> -caffeoil-mangiferina, 3'-O-benzoil-mangiferina	MARTIN et al, 2008

Fonte: Rocha (2013)

Na medicina tradicional, espécies deste gênero são utilizadas para diversos fins terapêuticos, tais como adstringentes, anti-inflamatórios, antimicrobianos e antitumorais (LEITE et al., 2006;. MARTIN et al., 2008, PAULETTI et al., 2003).Dentre essas espécies destaca-se *Fridericia platyphylla*.

3.3 *Fridericia platyphylla* (Sin. *Arrabidaeabrachypoda*)

A *Fridericia platyphylla* (Figura 1) é uma planta nativa do cerrado brasileiro e suas raízes são tradicionalmente usadas para o tratamento de pedras nos rins e dor nas articulações (artrite) (ROCHA et al., 2012). Na figura 2, vê-se em detalhes a exsiccata das folhas e na figura 3, as figuras representativas de suas flores e seu fruto.Recentemente em estudos realizados por Rocha e colaboradores (2012), o extratoetanólico das cascas das raízes de *Fridericia platyphylla* demonstrou atividade anti-inflamatória em modelos animais.

Figura1 - Espécie *Fridericiaplatyphylla*



Fonte: ROCHA, et al.(2012)

Figura2 - Exsiccata de *Fridericia platyphylla*



Fonte: GENTRY, A. (1991)

Figura3 - Fotografias de flores (A) e frutos maduros (B) de *Fridericiplatyphylla*



Fonte: ROCHA, et al. (2013)

3.4 Extratos Vegetais

Extratos são preparações concentradas de diversas consistências possíveis obtidas a partir de matérias-primas vegetais secas, que passaram ou não por tratamento prévio e preparados por processos envolvendo um solvente. Esta matéria-prima vegetal ativa pode ser utilizada como produto fitoterápico, que é um medicamento tecnicamente elaborado com finalidade profilática, curativa ou paliativa que precisa ter composição uniforme garantida, e para isso é necessário que estes sejam caracterizados por seus constituintes químicos ou sua atividade farmacológica (BRASIL, 1995).

Segundo Silva (2005), os extratos apresentam algumas limitações como: a falta de controle de qualidade, baixa estabilidade dos compostos orgânicos presentes nas soluções e o não monitoramento de possíveis substâncias tóxicas presentes nas plantas ou resultantes da decomposição dos produtos durante sua manipulação. Tais limitações fazem com que seja necessária a investigação mais aprofundada dos extratos de plantas, bem como o desenvolvimento de produtos com maior nível tecnológico, para que produtores e consumidores possam ter segurança na utilização de extratos brutos.

Para manter a qualidade em um fitoterápico, antes é necessário assegurar a coexistência de algumas substâncias, ou grupos químicos, presentes na espécie, visto que as substâncias responsáveis pela atividade biológica ainda são desconhecidas para muitas espécies de plantas medicinais. Uma das etapas primordiais para garantir segurança e eficácia de um extrato vegetal é a quantificação de metabólitos secundários (SCHIMIDT, 1984).

3.5 Metabólitos Secundários em Plantas

As plantas produzem uma grande e diversa variedade de componentes orgânicos, que são divididos em dois grupos: metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são compostos por uma série de processos envolvidos na manutenção fundamental da sobrevivência e do desenvolvimento das plantas como armazenamento de energia, enquanto o metabolismo secundário possui importante função para a sobrevivência e competição no ambiente. Os metabólitos secundários das plantas são compostos químicos não necessários para a sobrevivência imediata da célula, servindo como uma vantagem evolucionária para a sua sobrevivência e reprodução (VIZZOTTO et al., 2010)

O interesse por esses metabólitos extraídos de plantas se deve, principalmente, à capacidade de produção de compostos biologicamente ativos que podem servir de modelos para a síntese de novos fármacos e por possuírem propriedades terapêuticas utilizadas como tratamento alternativo no cuidado de saúde tradicional (GIBBONS, 2005).

Os três grupos de metabólitos secundários mais importantes nas plantas são os terpenos (formados a partir da justaposição de modo sucessivo de isopentenilpirofosfato, dando origem a todos os terpenos, como monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e tetraterpenos), compostos fenólicos (derivados dos carboidratos, são substâncias que possuem ao menos um anel aromático e pelo menos um hidrogênio que é substituído por um grupamento hidroxila) e os alcaloides (derivados dos aminoácidos, principais constituintes das proteínas, são compostos orgânicos com ao menos um átomo de nitrogênio em seu anel) (VIZZOTTO et al., 2010).

3.6 Antioxidantes

O termo antioxidante é comumente usado na literatura científica, mas pode ser definido de múltiplas maneiras de acordo com os métodos usados para medir a atividade antioxidante. Halliwell e Gutteridge propuseram uma definição de um antioxidante como "qualquer substância que atrasa, evita ou remove danos oxidativos a uma molécula alvo". O papel fisiológico dessas substâncias, como esta definição sugere, é evitar danos aos componentes celulares decorrentes de reações químicas envolvendo radicais livres. (PROCHÁZKOVÁ et al., 2011).

Os antioxidantes vegetais são de natureza muito variada, mas os compostos fenólicos têm sido apontados como responsáveis por maior capacidade antioxidante, sendo representados pelos flavonoides e isoflavonoides, taninos, lignanas, xantonas e outros. A ação antioxidante da maioria dessas substâncias naturais deve-se à presença, em seus extratos, de hidroxilas fenólicas e às suas propriedades de oxirredução, pois eles atuam como agentes redutores, doadores de hidrogênio. Além desses, vários outros compostos, com atividade antioxidante, têm sido isolados de diversas famílias de plantas (FONSECA et al., 2009, REBELO et al., 2009)

Para que uma substância seja considerada um bom antioxidante, é necessário que apresente algumas características essenciais como, por exemplo: ter a presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, em função de seu potencial de redução; capacidade de deslocamento do radical que seja de fácil absorção, caso seja adquirido de forma exógena.

As plantas produzem uma variedade de substâncias antioxidantes, dentre as quais se destacam os compostos fenólicos. A atividade antioxidante de compostos fenólicos, em especial os flavonoides, deve-se, principalmente, às suas propriedades redutoras e estrutura química; estas características desempenham um papel importante na neutralização, ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SOUSA et al., 2007).

3.7 Flavonoides e atividade sequestrante de radicais livres

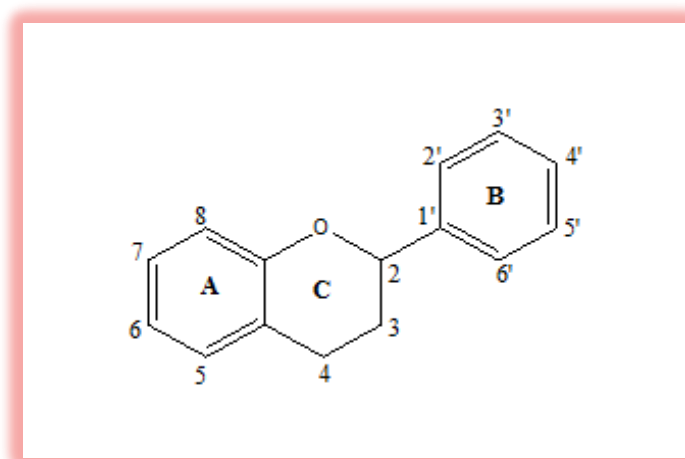
Os radicais livres são moléculas liberadas pelo metabolismo do corpo com elétrons altamente instáveis e reativos, cujos efeitos negativos são contrabalanceados por um sistema antioxidante do próprio organismo. Porém, um desequilíbrio pode causar estresse oxidativo, que por sua vez pode causar doenças degenerativas como envelhecimento, morte celular (SIES, 1993).

O organismo está suscetível a sofrer estresse oxidativo, proveniente, também do meio ambiente. Dentre as biomoléculas a serem atingidas, destacamos a pele que está propensa a sofrer danos causados pela radiação ultravioleta (UV). Uma constante exposição à radiação UV coloca em risco a integridade de estruturas oxidáveis que são críticas para homeostase celular. As EROs (espécies reativas de oxigênio), formadas sob essas condições, desempenham uma função importante em patologias cutâneas como, por exemplo, o câncer de pele (PFEIFER, 2012).

Vários efeitos biológicos sofridos pelo estresse oxidativo e gerados pela radiação UV podem ser inibidos por flavonoides.

Os flavonoides 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) e sua estrutura básica consiste em um núcleo fundamental, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6), sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica C) acoplado ao anel A (DI CARLO et al., 1999). Esta estrutura pode ser observada na figura 4.

Figura4 - Estrutura geral dos flavonoides

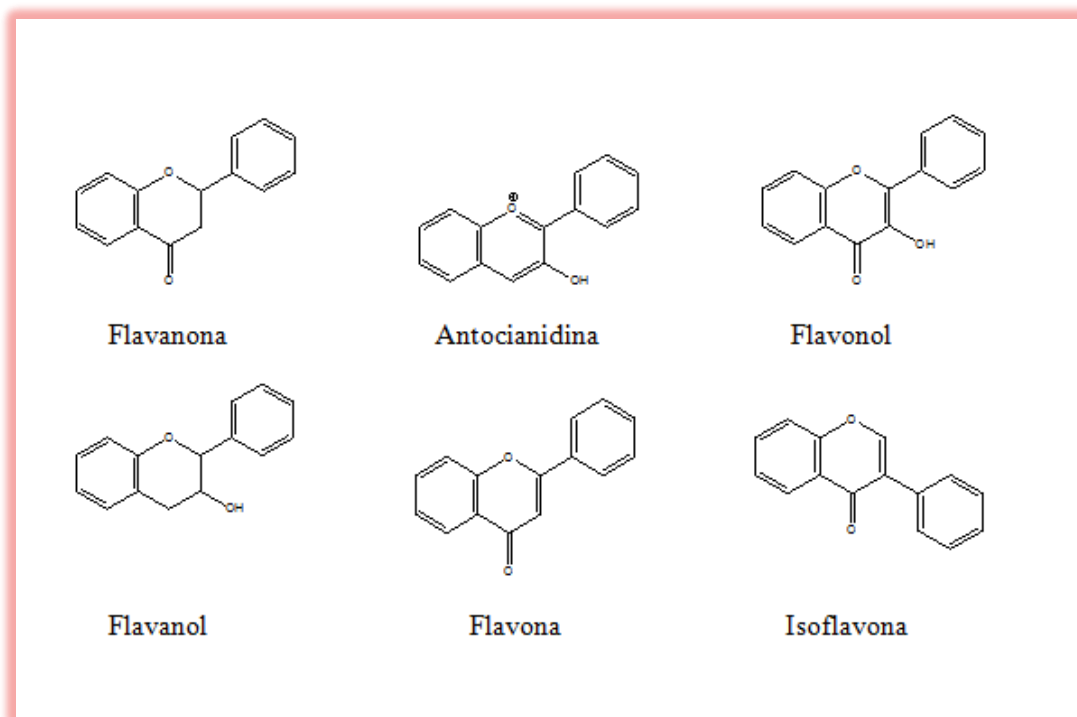


Fonte:RUSSO e SANCHEZ (2006)

As flavonas e os flavonóis, duas importantes subclasses dos flavonoides, são protetores químicos que absorvem luz em comprimentos de onda mais curtos que aqueles visíveis ao olho humano, protegendo as células vegetais dos danos causados pela fotoxidação (FERREIRA et al., 2008).

Flavonas e flavonóis são de origem biossintética muito próximas, diferem-se na substituição da hidroxila na posição C3 para o flavonol (Figura 5). Suas análises, sínteses e reações possuem, por isso, base teórica comum (ZUANAZZI ;MONTANHA, 2002).

Figura 5 - Esqueleto básico dos flavonoides



Fonte: Próprio autor

A capacidade antioxidante dos flavonoides é determinada por sua estrutura, particularmente por hidroxilas que podem doar elétrons e suportar como resultado a deslocalização em torno do sistema aromático. Outro determinante estrutural importante é a capacidade antioxidante de flavonóides atribuídas às hidroxilas em C4 e C3, que atuam no aumento do potencial antioxidante (LIENet al., 1999).

Os flavonoides são subdivididos nas principais classes: flavonas, flavonóis, chalconas, auronas, flavanonas, flavanas, antocianidinas, leucoantocianidinas, proantocianidinas, isoflavonas e neoflavonóides (BRAVO, 1998). Alguns exemplos dos representantes das subclasses de flavonoides encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 - Alguns exemplos dos representantes das subclasses de flavonoides

SUBCLASSES	COR	FLAVONOIDES REPRESENTATIVOS	FONTES ALIMENTARES
Antocianidina	Azul, Vermelho e Violeta	Cianidina	Frutas e Flores
Flavonol	Incolor e Amarelo	Catequinas, Epicatequinas, Procianidina	Maçãs, Chá, Cerveja, Sucos de uva e Vinho.

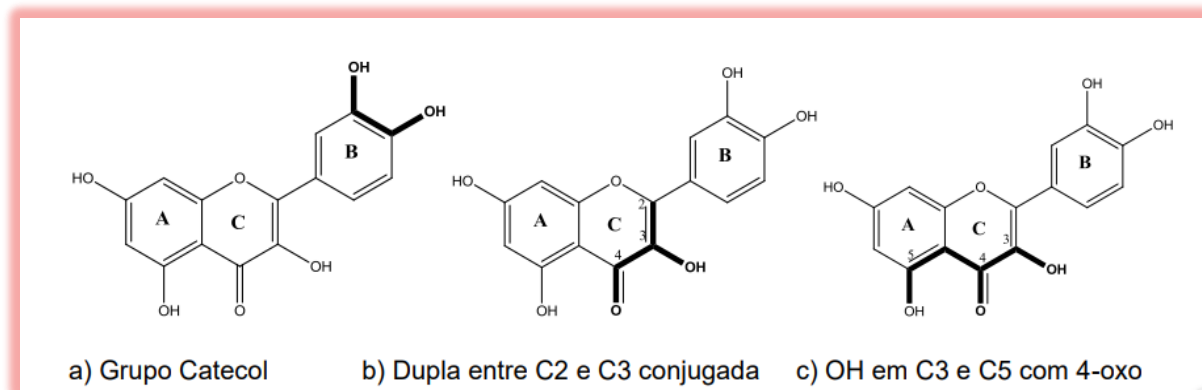
Flavona	Amarelo Claro	Apigenina, Luteolina	Cereais, Frutas, Flores, Vegetais.
Flavonol	Amarelo Claro	Miricetina, Quercetina e Rutina.	Cebolas, Maças, Chá, Tomates, Trigo Sarraceno
Isoflavona	Incolor	Genisteína, Diizeína	Legumes (Derivados da Soja)
Flavanona	Incolor e Amarelo	Hisperidina, Naringenina	Frutas Cítricas

Fonte: ACKER, et al. (1996)

Estes compostos têm propriedades químicas semelhantes aos fenóis simples, ficando relativamente solúveis em água, especialmente quando existe açúcar ligado à estrutura do flavonoide, em etanol, metanol e butanol, por serem compostos relativamente polares (VILA, 2006). O estado de oxidação do anel heterocíclico e a posição do anel B, ambos são importantes na classificação, conforme exemplificado na figura 6.

Em relação à sua estrutura química, as principais características para captura de radicais livres são a presença de um grupo catecol (Figura 6 “a”) no anel B que possui melhor propriedade de doar elétrons para estabilizar espécies radiculares, uma dupla ligação entre as posições 2 e 3, conjugada com o grupo 4-oxo (Figura 6 “b”) que é responsável pela deslocalização de elétrons e a presença de hidroxilas nos carbonos 3 e 5 juntamente com o grupo 4-oxo (Figura 6 “c”), conferindo potencial máximo na captura de radicais livres (EDENHARDER et al., 1997). Estas 3 características estruturais são apresentadas pela molécula da rutina.

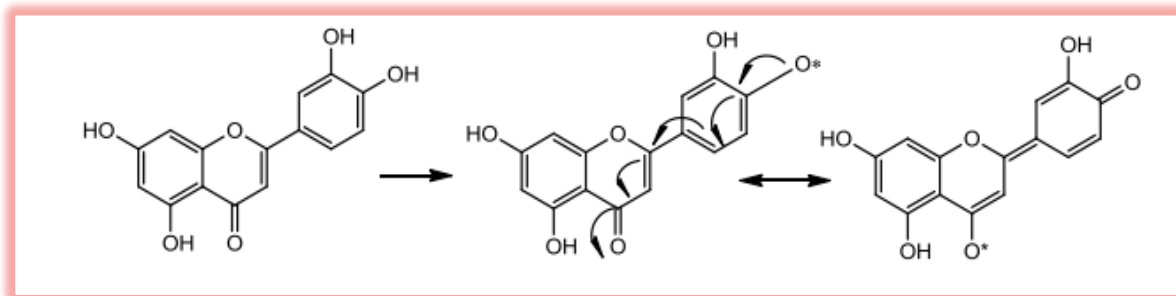
Figura6 - Principais características para a captura de radicais livres



Fonte: EDENHARDER, et al. (1997)

Os intermediários formados pela ação dos antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (Figura 7) (SOUSA et al., 2007).

Figura7 - Anel do flavonoide entra em ressonância para a estabilização do radical livre.

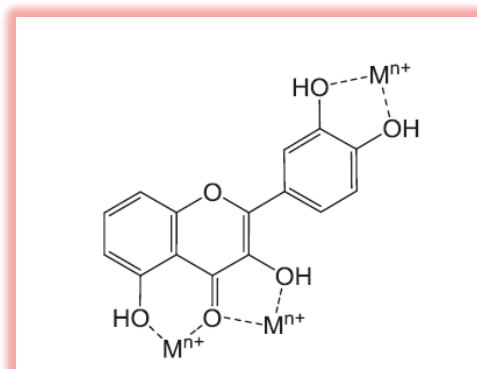


Fonte: (Adaptado de JOVANOVIC et al. 1994; HALLIWELL, et al. 1995).

Os flavonoides, além da propriedade sequestrante de radicais livres são capazes de quelar íons metálicos (Figura 8) (KANDASWAMI; MIDDLETON, 1994). Alguns, especificamente, são conhecidos por quelar ferro e cobre, removendo, assim, um fator causal para o desenvolvimento de radicais. Estudos mostraram que a quercetina (um flavonol) foi capaz de prevenir lesões oxidativas induzida na membrana dos eritrócitos (hemácias) por uma série de agentes oxidantes, por exemplo: a acroleína e fenil-hidrazina, que causa liberação de ferro em sua forma ativa, redox ativa. (FERRALI et al.,1997).

Pietta, (2000) propôs que os sítios de ligação para os metais traços na molécula de flavonoides é a porção de catecol no anel B, os grupos 3-hidroxilo e 4-oxo no anel heterocíclico C e os grupos 4-oxo e 5-hidroxilo entre os grupos C e A anéis

Figura8 - Atividade de quelação de metais

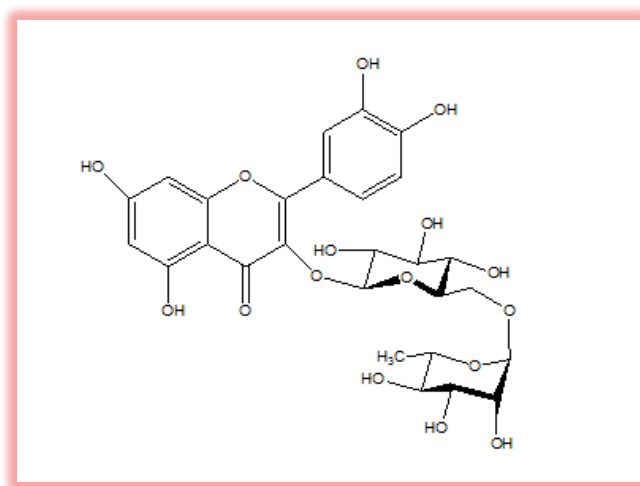


Fonte: PROCHÁZKOVÁ (2011)

3.8 Rutina

A rutina (Figura 9) é um tipo de flavonoide encontrado nas plantas e de grande interesse farmacológico para a saúde humana, já que muitas propriedades têm sido relatadas e atribuídas para a rutina, incluindo antialérgica, anti-inflamatória, antitumoral, antibacteriana, propriedades antiplaquetárias, antiespasmódica, antivirais, antiúlcera, antidiarreica, vasodilatadora, citoprotetora, anti-hipertensiva, antimutagênica e proteção contra o estresse nitrosativo e lesão hepatocelular (JANBAZ et al., 2002; CALABRÒ et al., 2005; YANG et al., 2008; DOMITROVIC et al., 2012; MAHMOUD, 2012).

Figura9 - Estrutura química da rutina



Fonte: Próprio Autor

Foi o primeiro flavonoide a ser descoberto, em 1930, isolado a partir de laranjas. Inicialmente, acreditava-se ser um composto pertencente ao grupo das vitaminas, sendo denominada durante algum tempo de vitamina P (MACHADO, 2006). As fontes alimentares mais comuns nas quais pode ser encontrada a rutina incluem as laranjas, as cebolas, a uva, o trigo sarraceno e o vinho tinto (OLTHOF et al., 2003).

A rutina é um flavonol que apresenta um dissacarídeo (raminose + glicose) ligados à posição 3 do anel pirano, como pode ser observado na (Figura 9) (PEDRIALI, 2005).

Várias atividades da rutina vêm sendo elucidadas como sua eficiência no tratamento da artrite por *Cândida albicans* e atividade anticandida (HAN, 2009), atividade anti-hiperlipidêmica (SANTOS et al., 1999), efeito anticonvulsivante em ratos (NASSIRI-

ASL, et al., 2008), supressão da imunidade celular (MIDDLETON et al., 2000), atividade anticarcinogênica (MACHADO, 2005), efeito anti-inflamatório (GUARDIA et al., 2001).

Existem outros estudos que mostram um efeito de resposta da rutina na inibição da peroxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e atividade antioxidante pela eliminação de espécies reativas de oxigênio, tais como radical hidroxila (OH•), ânion radical superóxido (O₂•-) e radical peróxido (R-O-O•) (CAILLET et al., 2007; JIANG et al., 2007; CALABRÒ et al., 2005). Oliveira, (2015) demonstrou que a rutina apresenta uma elevada capacidade antioxidante celular sendo importante na proteção ao estresse oxidativo induzido.

O flavonoide rutina é considerado um potente antioxidante e sua propriedade biológica tem sido extensivamente estudada. Estudos antioxidantes, que já foram realizados com a rutina, incluem: atividade antioxidante total, poder redutor, atividade quelante do ferro, sequestro do DPPH• e de peroxidação lipídica dentre outros (YANG et al., 2008; LUE et al., 2010). Devido ao seu grande potencial antioxidante à nível celular, o uso da rutina na terapêutica torna-se promissor para combater patologias.

3.9 Controle de Qualidade de Fitoterápicos

Uma das etapas principais na produção de fitoterápicos é uma rigorosa análise de controle de qualidade. Segundo a RE, 14/2010 da ANVISA, fitoterápico é o medicamento obtido empregando exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. Estes devem oferecer garantia de qualidade, ter efeitos terapêuticos comprovados, composição padronizada e segurança de uso para a população.

O desenvolvimento e validação de métodos analíticos aplicados ao controle de qualidade de drogas vegetais são fundamentais para que as especificações técnicas possam ser determinadas, permitindo a identificação e quantificação de fatores que possam influenciar na qualidade de matérias-primas e de produtos derivados das mesmas (SOUZA, et al., 2010).

Um dos parâmetros de padronização de um extrato vegetal inclui a identificação e quantificação de um marcador químico no perfil cromatográfico do extrato bruto. Por definição, marcador químico é uma substância ou grupo de substâncias químicas que esteja presente em maior quantidade em uma espécie vegetal de preferência responsável ou uma das responsáveis pela atividade farmacológica da planta, estável e passível de ser analisada por metodologias analíticas.

A determinação da constituição química da amostra e a quantificação do marcador podem ser feita por diferentes técnicas cromatográficas: cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa (CG) e eletroforese capilar (EC) (LIANG et al., 2004).

Segundo a RE 899/2003 da ANVISA, na validação de metodologia analítica, deve-se utilizar padrões de referência ou utilizar padrões de trabalho com o extrato da planta conforme preconizado. Não havendo padrões de referência para fitoterápicos ela prevê o uso de padrões de trabalho.

No caso da padronização por meio de uma substância marcadora, assume-se que esta deve estar presente numa quantidade apropriada e todos os demais componentes necessários estejam igualmente representados durante a análise; assegurando-se, com isto, uma atividade farmacológica uniforme (DAVID et al., 2004).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Coleta do Material Vegetal

Amostras de folhas *Fridericia platyphylla* foram coletadas no Brasil em abril de 2017, na fazenda Sant'Ana da Serra em João Pinheiro, Minas Gerais. A planta foi identificada no Herbário José Badine da Universidade Federal de Ouro Preto, pela botânica Dra. Maria Cristina Teixeira Braga Messias. Um voucher (n° 17.935) foi depositado no Herbário da Universidade Federal de Ouro Preto, em Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.

4.2 Métodos

4.2.1. Preparo do Extrato

Folhas (600g) de *Fridericia platyphylla* foram separadas e extraídas, sucessivamente, por maceração, à temperatura ambiente, com etanol:água (7:3) e intervalos de trocas de solventes de 48 horas, exaustivamente. O extrato hidroetanólico (70%v/v) bruto (Figura 10) foi obtido depois da filtração e evaporou-se até a secura no vácuo, à temperatura, aproximadamente de 40°C para produzir 10,34 g do extrato das folhas.

Figura 10 - Extrato bruto da *Fridericia platyphylla*



Fonte: Próprio autor

4.2.2. Preparo do Extrato para Análise por SPE e Quantificação por HPLC-UV/Vis

A preparação da amostra consistiu de uma etapa de *clean up* por extração de fase sólida-SPE (Figura 11), utilizando-se cartucho Phenomenex Strata C18 (50mg/3mL), previamente ativado com 2 mL de metanol e equilibrado com 2 mL de MeOH/ H₂O (1:1, v/v).

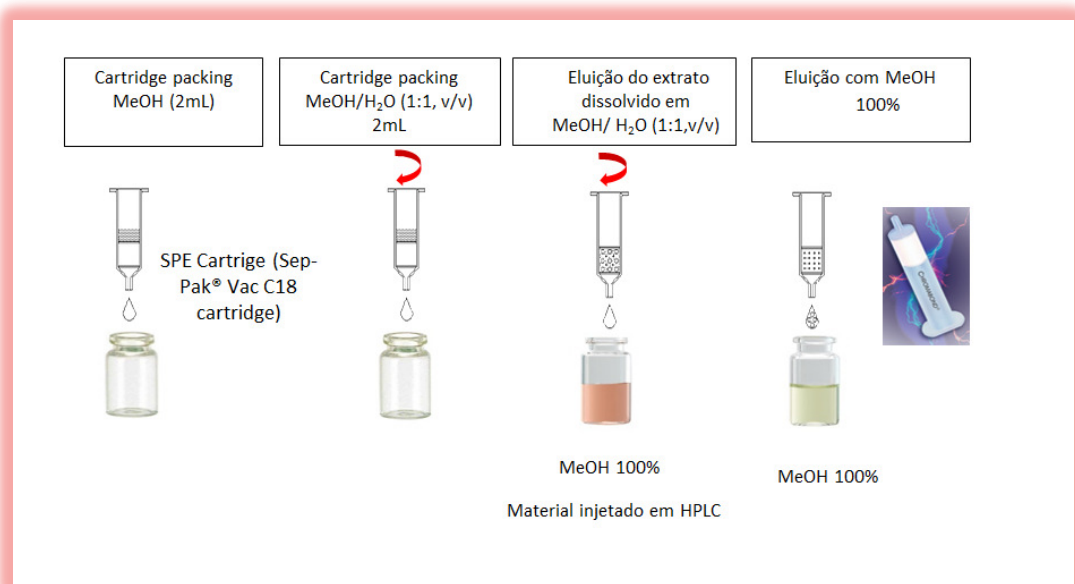
Figura11 - Extração em fase sólida (SPE)



Fonte: Próprio autor

Uma solução de 2 mL de extrato EtOH 70% em MeOH/H₂O (1:1, v/v), em concentração de 50 mg.mL⁻¹, foi eluída com a mesma fase móvel utilizada para equilíbrio do cartucho e coletada em frasco de 5 mL, tendo seu volume completado ao final da eluição. Ao final, a solução foi filtrada em um filtro Millex com tamanho de poro de 0,22 μm. Alíquotas de 10 μL desta solução foram injetadas no Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência. O extrato foi codificado como FAB-SPE (Extrato bruto de *Fridericia platyphylla* após extração em fase sólida).

Figura12 - Esquema representativo de procedimento de Extração em Fase Sólida



Fonte: Próprio autor

A fim de otimizar as condições cromatográficas para a quantificação da rutina, foram realizados experimentos com o extrato EtOH 70% em um sistema HPLC modelo Shimadzu (ShimadzuCorp., Quioto, Japão), constituído por um módulo de injeção de solvente

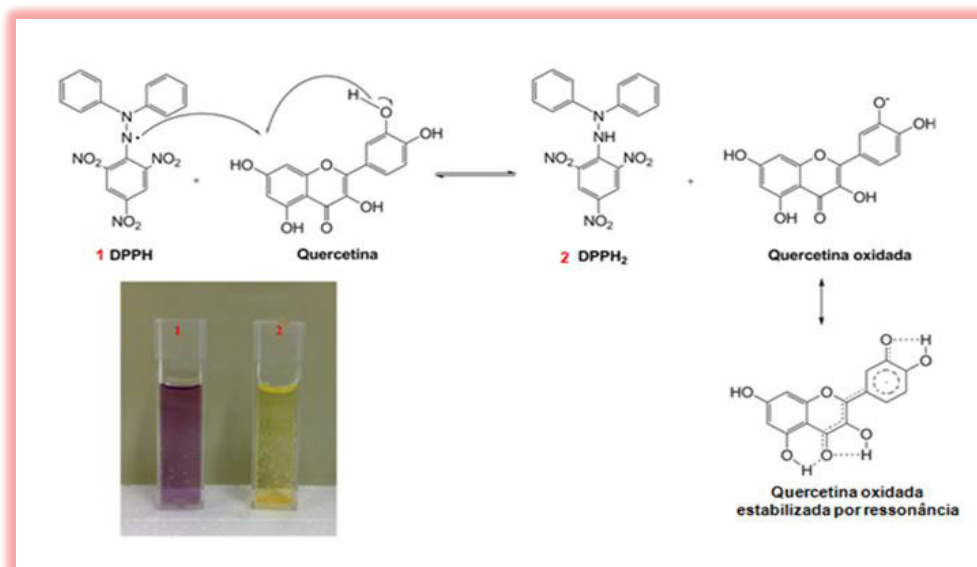
com uma bomba binária e detector UV-Vis(SPA-10A). A coluna utilizada foi uma Luna 5µm C18 100 A (150 µm x 4,6 µm). Os solventes de eluição utilizados foram A (Água + ácido fórmico a 0,02%) e B (metanol). As amostras foram eluídas de acordo com o seguinte gradiente: 5% a 100% de B em 50 min. O fluxo foi de 1 mL/min, a temperatura da coluna foi de 20°C. O volume de injeção da amostra foi de 10 µL. Os dados foram recolhidos e processados utilizando o *software* LC Solution (Shimadzu).

Várias condições foram testadas para que se obtivesse a melhor separação dos picos majoritários. A melhor delas consistiu em separação com coluna Phenomenex RP18 (15 cm x 4,6 mm x 5µm), e gradiente de fase móvel composta água:metanol contendo 0,02% de ácido fórmico e monitoramento em 254 nm. Nas condições empregadas, obteve-se separação de linha base para os principais componentes da amostra numa corrida de cerca de 50 minutos.

4.2.3. Avaliação da Atividade Antioxidante pelo Método DPPH•

A avaliação do potencial antioxidante foi realizada para o extrato bruto após SPE, utilizando o método de sequestro do radical DPPH. Este teste avalia a capacidade que uma substância tem de sequestrar o radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e está baseado na redução da solução de DPPH (cor violeta) quando ocorre a adição de substâncias que podem ceder uma espécie radicalar (hidrogênio radicalar), formando um complexo de coloração amarela (Figura13) (BRAND-WILLIANS *et al.*, 1995).

Figura13 - Reação de redução de DPPH



Fonte: Adaptado de JOVANOVIC *et al.* 1994; HALLIWELL, *et al.* 1995.

Resumidamente, dissolveu-se 2,4 mg de DPPH em 100 mL de metanol ao abrigo de luz. O extrato foi diluído em metanol em diferentes concentrações. Utilizaram-se volumes fixos de solução de DPPH (1900 µL) e de solução contendo a amostra (100 µL) em diferentes concentrações conforme mostrado na Tabela 4. As leituras foram realizadas à 515 nm. O padrão utilizado como comparação foi o ácido gálico. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM) usando o *GraphPadPrism Software Inc*, versão 5.00 (*GraphPad Software Inc.*, San Diego, CA, USA).

Tabela 4 - Avaliação da atividade antioxidante de FAB-SPE

Final amostra [µg/mL]	V. DPPH (µL) [24 µg/mL]	V. amostra (µL) [variáveis, µg/mL]
1,5	1900	100 [30]
3,0	1900	100 [60]
6,0	1900	100 [120]
12	1900	100 [240]
24	1900	100 [480]
48	1900	100 [960]

Fonte: Próprio autor

Os valores das absorbâncias foram convertidos para porcentagem de Atividade Antioxidante (AA%) usando a equação abaixo:

$$\% \text{ INIBIÇÃO} = \left[\frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Antioxidante}}}{A_{\text{DPPH}}} \right] \times 100$$

Sendo:

A_{DPPH} - Absorbância do *DPPH*

$A_{\text{Antioxidante}}$ - Absorbância do antioxidante (Rutina)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização

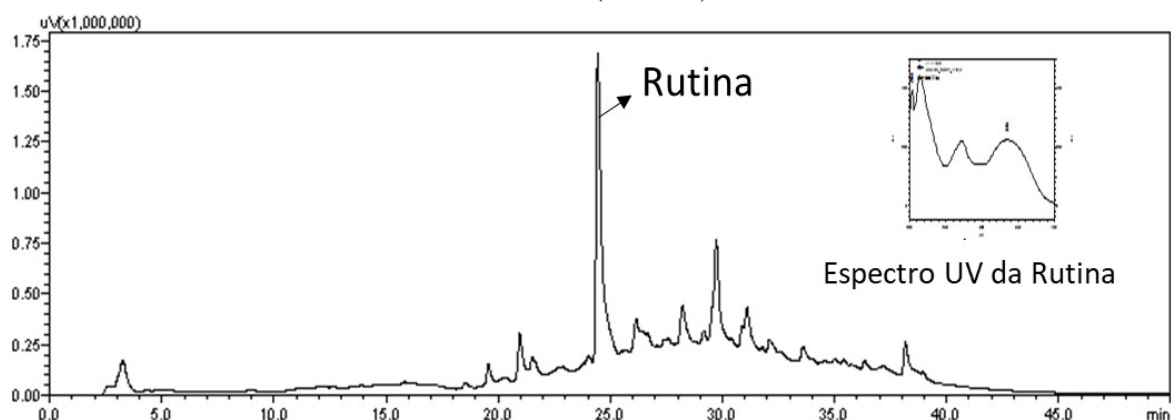
5.1.1. Cromatograma do Extrato após SPE obtido por HPLC-UV/Vis.

Os perfis cromatográficos são bastante utilizados no estudo de plantas, permitindo comparar e sugerir classes de compostos presentes em extratos utilizando detectores de arranjo de diodos, ultravioleta ou espectrometria de massas, por exemplo.

Na figura 14, apresenta-se o perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico 70% das folhas de *Fridericia platyphylla* que foram coletada na fazenda Sant'Ana da Serra em João Pinheiro, Minas Gerais, o resultado mostra a presença de compostos de alta e média polaridade, sendo rico em compostos fenólicos, principalmente em flavonoides.

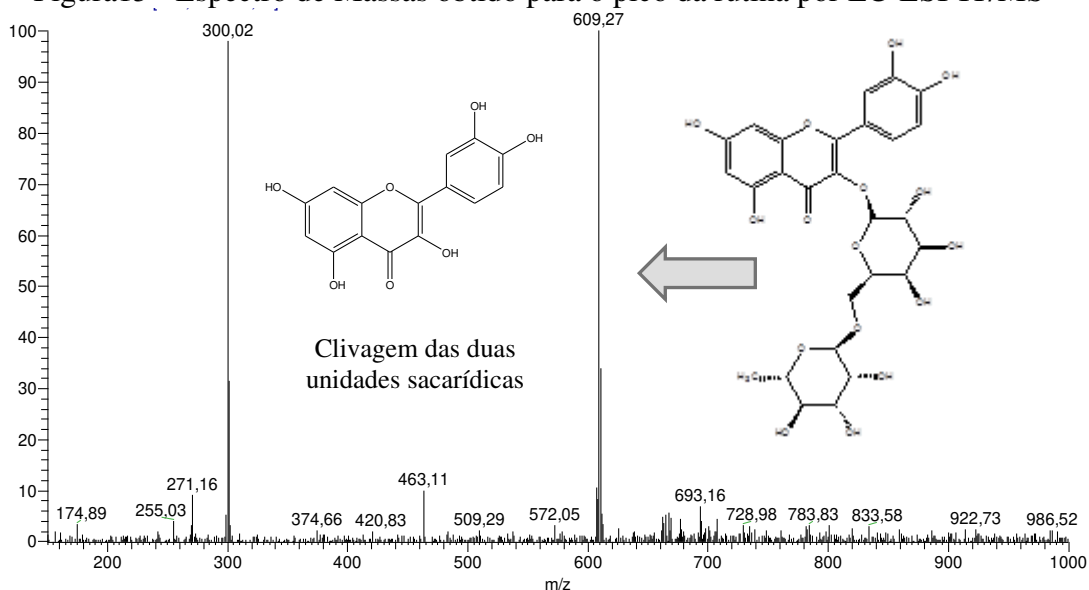
Observou-se no cromatograma vários picos, principalmente, derivados de compostos fenólicos e, em aproximadamente 25 minutos, a presença de um composto de área bem extensa. Este pico majoritário, presente no cromatograma, corresponde ao flavonol rutina, que foi confirmado por espectrometria de massas (Figura 15). Essa substância foi utilizada como marcador químico para padronização do extrato.

Figura 14 - Cromatograma do extrato bruto após extração em fase sólida obtido por HPLC-UV/Vis (254 nm)



Fonte: Próprio autor

Figura15 - Espectro de Massas obtido para o pico da rutina por LC-ESI-IT/MS



Fonte: Próprio autor

O espectro obtido na região do UV e os fragmentos de massa $[M-H]^- = 609; 463; 300$ confirmam que o pico do cromatograma do extrato no tempo de retenção 25 min se trata da rutina.

5.2 Desenvolvimento e aplicação do método para a quantificação da rutina

A determinação da concentração de rutina foi realizada diretamente no extrato etanólico 70% das folhas de *Fridericia platyphylla*. Desta maneira tentou-se chegar a resultados mais representativos com relação à real composição de metabólitos secundários e assim, evitar possíveis erros sistemáticos. A diluição do extrato foi feita em réplica única e as injeções em HPLC-UV/Vis em triplicata.

O limite de detecção (LOD) foi determinado como o sinal equivalente a 3,3 (vezes) o valor entre a razão do coeficiente linear (a) e pelo coeficiente angular (b) ($3,3 \times a/b$) obtidos pela equação da reta da curva analítica de calibração. O limite de quantificação (LOQ) foi dado como 10 vezes o valor desta razão. Usando esta relação, foi obtido para rutina LOD de $4,1 \times 10^{-2} \text{mgmL}^{-1}$ e LOQ de $12,5 \times 10^{-2} \text{mg/mL}$, como mostrado na Tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros de quantificação da rotina

Padrão	Rutina
Coefficiente Linear	1×10^7
Coefficiente Angular	8×10^6
Coefficiente de Correlação (R^2)	0,9939
LOD (mg mL^{-1})	$4,1 \times 10^{-2}$
LOQ (mg mL^{-1})	$12,5 \times 10^{-2}$

Fonte: Proprio Autor

Os parâmetros estatísticos que definiram as funções lineares para as curvas analíticas são mostrados na Tabela 6.

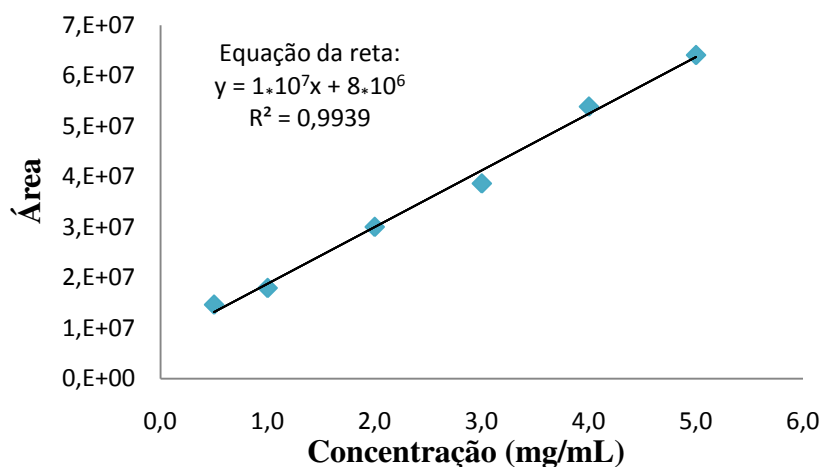
Tabela 6 - Dados analíticos para a construção da curva de calibração da área da rotina

Concentração (mg/mL)	Área média picos
0,5	14663549
1,0	17967412,67
2,0	30066883
3,0	38668742
4,0	53892011
5,0	64102347

Fonte: Próprio autor

A curva analítica (Figura 16) obtida apresentou boa linearidade no intervalo de concentração estudado e coeficientes de correlação (r^2) com valores superiores a 0,99, o que indica que há uma boa correlação entre as áreas e as concentrações estudadas.

Figura16 - Curva Analítica obtida pelo método de calibração externa a partir de injeções em triplicata de solução padrão de rutina



Fonte: Próprio autor

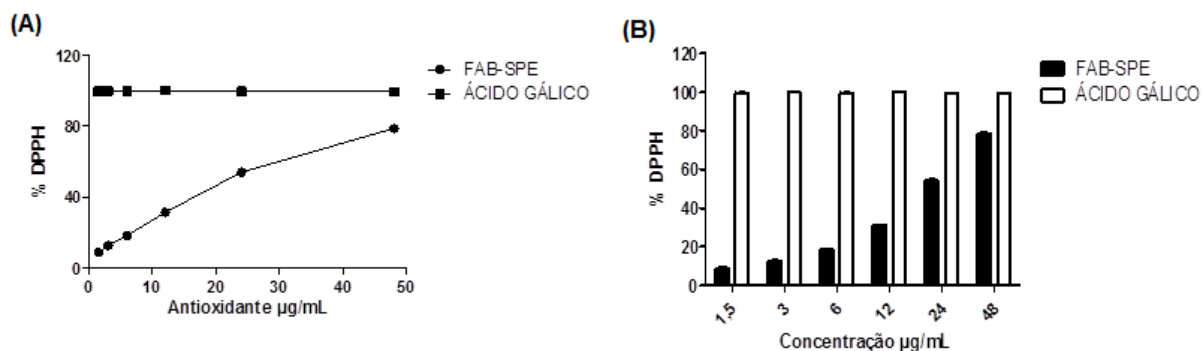
A concentração individual do pico cromatográfico foi estabelecida a partir da curva analítica obtida do padrão rutina. Com o auxílio de detector UV/Vis o pico cromatográfico encontrado no extrato teve seu espectro de UV e tempo de retenção comparados. A concentração de rutina no extrato das folhas de *Fridericia platyphylla* foi de 0,132 mg que corresponde 33 % no extrato.

Os flavonoides estão amplamente distribuídos no reino vegetal e possuem uma larga gama de propriedades fisiológicas e biológicas, incluindo antioxidante, anticâncer, anti-inflamatória e atividades antiviral. A rutina poderá ter uma participação efetiva na atividade sequestrante de radicais livres apresentada pelo extrato das folhas de *Fridericia platyphylla*.

5.3 Avaliação da atividade antioxidante

Este método se baseia na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre, o DPPH[•], que ao se reduzir perde sua coloração púrpura. Na Figura 17, estão expressos os resultados em percentagem de inibição de oxidação.

Figura17 - Porcentagem de inibição do radical DPPH pelo antioxidante presente no extrato bruto após extração em fase sólida (FAB-SPE) em forma de gráfico (A) e (B)



Fonte: Próprio autor

Os resultados mostram uma relação dose-resposta em que os valores indicam uma potente atividade antioxidante da amostra comparada ao padrão utilizado (ácido gálico), principalmente para maiores concentrações. A concentração eficiente capaz de reduzir 50% do DPPH foi de 23 µg/mL para o extrato, isto evidencia que o extrato de *Fridericia platyphylla* teve uma atividade antioxidante significativa que pode ser atribuída à presença da mistura de flavonoides no extrato vegetal, com a contribuição principal da rutina (marcador químico majoritário do extrato).

A literatura reporta que espécies do mesmo gênero como *Arrabidaea chica* apresenta a IC₅₀ de 13,51 µg/mL usando as mesmas concentrações de DPPH. Os valor de IC₅₀ menor para a *Arribidaea chica* pode ser explicado em razão de a espécie apresentar, em sua composição, flavonoides agliconas, principalmente antocianidinas, enquanto *Fridericia platyphylla* é composta principalmente por flavonoides glicosilados. Estudos anteriores comprovam que as agliconas dos flavonoides possuem melhor atividade antirradicalar do que seus glicosídeos (HAVSTEEN, 2002).

6. CONCLUSÃO

- Pelo método de extração em fase sólida, observou-se a sua eficiência no preparo de amostras, eliminando interferentes, principalmente clorofila. Deste modo, foi possível verificar uma boa resolução da rutina no cromatograma.
- A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, acoplada ao detector ultravioleta, foi um método eficiente na quantificação da rutina, pois o método apresentou boa linearidade, além de ser robusto e reprodutivo.
- As folhas da espécie *Fridericia platyphylla* são fontes promissoras para isolamento de flavonoides, principalmente rutina, pois esta apresentou boa atividade antioxidante, este resultado contribui para a produção de novos fármacos associados às ações terapêuticas da rutina.

REFERÊNCIAS

ACKER, S. A. B. E. V.; BERG, D. J. V. B.; TROMP, M. N. J. L.; GRIFFIOEN, D. H.; BENNEKOM, W. P. V.; VIJGH, W. J. F. V. D.; BAST, A., Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. **Free Radical Biology Medicine**, Orlando, v. 20, n. 3, p. 331-342, 1996.

ALCERITO, T.; BARBO, F. E.; NEGRI, G.; SANTOS, D. Y.A.C.; MEDA, C. I.; YOUNG M. C. M.; CHAVEZ, D.; BLATT, C. T.T. Foliar epicuticular wax of *Arrabidaeabrachypoda*: flavonoids and antifungal activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.30, n. 7, p. 677-683, July. 2002.

ANVISA. RE nº 899 de 29 de maio de 2003. **Dispõe sobre o guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Brasília: ANVISA, 2003. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RE_899_2003_COMP.pdf/ff6fdc6b-3ad1-4d0f-9af2-3625422e6f4bf>. Acesso em: 18 Setembro 2017

ANVISA. RE nº 14 de 31 de março de 2010. **Dispõe sobre o Registro de medicamentos fitoterápicos**. Brasília: ANVISA, 2010. Disponível em: <<http://www.crfma.org.br/site/arquivos/legislacao/resolucoesinstrucoesnormativasdaanvisa/RDC%2014%202010>>. Acesso em: 22 Novembro 2017.

BARROSO, G.M. **Sistemática das Angiospermas do Brasil**. Vol. 3, Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, Viçosa. P. 326, 1991.

BOLZANI, V. S.; PAULETTI, P. M.; YOUNG, M. C. M. Constituintes químicos de *Arrabidaeasamydoides*(*Bignoniaceae*). **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 641-643, out. 2003.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Portaria n. 6 de 31 de janeiro de 1995**. Diário Oficial da União de 31 de Janeiro de 1995.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutr Rev** v. 56, p. 317-33, 1998.

BUREAU, E.; SCHUMANN, K. *Bignoniaceae*. **Flora Brasiliensis**, v. 8, n. 2, p. 2-298, 1897.

CAILLET, S.; YU, H.; LESSARD, S.; LAMOUREUX, G.; AJDUKOVIC, D.; LACROIX, M. Fenton reaction applied for screening natural antioxidants. **Food Chem.**; v.100, n. 2, p. 542-52, 2007.

CALABRÒ, M. L.; TOMMASINI, S.; DONATO, P.; STANCANELLI, R. ; RANERI, D. ; CATANIA, S. et al. The rutin/ β -cyclodextrin interactions in fully aqueous solution: spectroscopic studies and biological assays. **J PharmBiomed Anal**, v. 36 n. 5, p. 1019-27, 2005.

DAVID, J.P.L.; NASCIMENTO, J.A.P.; DAVID, J.M. Produtos fitoterápicos: uma perspectiva de negócio para a indústria, um campo pouco explorado pelos farmacêuticos. **Infarma**, v.16, n. 9-10, p.71-76, 2004.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sci**, v.65 n.4, p. 337-53, 1999.

DOMITROVIC, R.; JAKOVAC, H.; VASILJEV MARCHESI, V.; VLADIMIRKNEZEVIC, S.; CVIJANOVIC, O.; TADIC, Z. et al. Differential hepatoprotective mechanisms of rutin and quercetin in CCl₄-intoxicated BALB/cN mice. **ActaPharmacol Sin**, v. 33, n. 10, p. 1260-70, 2012.

EDENHARDER, R.; RAUSCHER, R.; PLATT, K. L. The inhibition by flavonoids of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline metabolic activation to a mutagen: a structure-activity relationship study. **Mutat Res**, v. 379, p. 21-32, 1997.

FERRALI, M.; SIGNORINI, C.; CACIOTTI, B.; SUGHERINI, L.; CICCOLI, L.; GIACHETTI, D. et al. Protection against oxidative damage of erythrocyte membranes by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. **FEBS Lett**, v. 416, n. 2, p.123-129, 1997.

FERREIRA, M. M.; OLIVEIRA, A. H. C.; SANTOS, N. S. Flavonas e flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. *Revista Agro@mbienteOn-lin* v. 2, n. 2, p. 57-60, 2008.

GARCIA, F. **Estudo fitoquímico da fração AcOEt do extrato etanólico das folhas de *Arrabidaeabrachypoda*(DC) Bureau – Bignoniaceae e atividades antioxidante e inibitória da enzima mieloperoxidase das substâncias isoladas.** Universidade Estadual Paulista. Araraquara, p. 101. 2008.

GENTRY, A. H. Bignoniaceae of southern Central America: Distribution and ecological specificity. **Biotropica**, v. 8, n.2, p. 117-131, 1976.

GENTRY, A. H. **Bignoniaceae-Part I (Crescentieae and Tourretieae). Flora Neotropica. Monogr.** 25. The New York Botanical Garden, New York, p.130, 1980.

GENTRY, A. H. The distribution and evolution of climbing plants.. In: Putz, F. E. & Mooney, H. A. (eds.). **The biology of vines.** Cambridge University Press. Cambridge, p. 3-49, 1991.

GIBBONS, S. **Plants as a source of bacterial resistance modulators and anti-infective agents.** Phytochemistry reviews, v. 04, n. 1, p. 63–78, 2005.

GONZALEZ, B.; SUARES-ROCA, H.; BRAVO, A.; SALAS-AUVERT, R.; ÁVILA, D. Chemical composition and biological activity of extracts from Arrabidaea Bilabiata. **Pharmaceutical Biological**, v. 38, n. 5, p. 287-290, Oct. 2000.

GUARDIA, T.; ROTELLI, A. E.; JUAREZ, A. Q.; PELZER, L. E. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. **Effect of rutin, quercetin and hiperidin on adjuvant arthritis in rat.** Pharmacology, v. 56, p. 683-687, 2001.

HAN, Y. Rutin has therapeutic effect on septic arthritis caused by Candida albicans. **International Immunopharmacology**, v. 9, p. 207-211, 2009.

HALLIWELL, B., AESCHBACH, R., LÖLINGER, J., ARUOMA, O.I. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids **Pharmacol.&Therap**, v. 96, p. 67– 202, 2002.

JANBAZ, K.H.; SAEED, S.A.; GILANI, A.H. **Protective effect of rutin on paracetamol- and CCl4-induced hepatotoxicity in rodents.** Fitoterapia, v. 73, p. 557-63, 2002.

JIANG, P.; BURCZYNSKI, F.; CAMPBELL, C.; PIERCE, G.; AUSTRIA, J.A.; BRIGGS, C.J. Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species *Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum*, and *F. homotropicum* and their protective effects against lipid peroxidation. **Food Res Int**, v.40, n.3, p.356-64, 2007.

JOVANOVIC, S.V.; STEENKEN, S.; TOSIC, M.; MARJANOVIC, B.; SIMIC, M. G. Flavonoides como antioxidante. **Journal of the American Chemical Society**, v. 116, n. 11, p. 4846-4851, 1994.

KANDASWAMI, C.; MIDDLETON, E.JR. Free radical scavenging and antioxidant activity of plants flavonoids. **Adv. Exp. Med. Biol.**, New York, v. 366, p. 351-376, 1994.

LEITE, J. P. V.; OLIVEIRA, A. B.; LOMBARDI, J.A; FILHO, J.D.; CHIARI, E. Trypanocidal activity of triterpenes from *Arrabidaea triplinervia* and derivatives. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 11, p. 2307-2309, Nov. 2006.

LIANG, Y.; XIE, P.; CHAN, K. **Quality control of herbal medicines**. J Chromatogr B 812, p. 53-70, 2004.

LIEN, E.J.; REN, S.; BUI, H.H.; WANG, R. **Quantitative structure- activity relationship analysis of phenolic antioxidants**. Free Radic Biol Med; v. 26 p. 285-94, 1999.

LUE, B.M.; NIELSEN, N.S.; JACOBSEN, C.; HELLGREN, L.; GUO, Z.; XU, X. Antioxidant properties of modified rutin esters by DPPH, reducing power, iron chelation and human low density lipoprotein assays. **Food Chem**, v. 123, n. 2, p. 221- 30, 2010.

MACHADO, H. Atividade dos flavonóides rutina e naringina sobre o tumor ascítico de Erlich "in vivo". 2006. 125f. **Dissertação** (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2005.

MACHADO, H. Atividade dos flavonoides rutina e naringina sobre o tumor ascítico de Ehrlich "in vivo". 2006. 122 f. **Dissertação** (Magister Scientiae em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

MAHMOUD, A. M. Influence of rutin on biochemical alterations in hyperammonemia in rats. **Exp Toxicol Pathol**. v. 64. p. 783-789, 2012.

MARTIN, F.; HAY, A. E; CONDORETTY, V. R. Q.; CRESSEND, D.; REINST, M.; CARRUPT, P. A.; HOSTETTMANN, K. *Arrabidaea patellifera*. **Journal Natural Products**, v. 71, n. 11, p. 1887-1890, Oct. 2008.

MANCHIKANTI, P. et al. Herbal drugs: standards and regulation. **Fitoterapia**, v. 81, n. 6, p. 462-471, Sept. 2010

MIDDLETON, E. JR.; KANDASWAM, C.; THEOHARIDES, T. C., The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacological Reviews**, v. 53, p. 673-751, 2000.

NASSIRI- Asl M.; SHARIATI- Rad S.; ZANSOLTAN, F. Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats. **Progress in NeuroPsychopharmacology & Biological Psychiatry**, p. 989-993, 2008.

OLIVEIRA, G. L. S. Capacidade antioxidante celular da rutina frente ao dano oxidativo induzido em linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 3, 2015.

OLTHOF, M. R.; HOLLMAN, O. C. H.; BUIJMAN, M. N. C. P.; HOJAN, M. N. V. A.; KATAN, M. B. Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinosidase and black tea phenols are extensively metabolized in humans. **The American Society for Nutritional Sciences Journal**, v. 133, n. 6, jun. 2003.

PAULETTI, P. M.; YOUNG, M. C. M.; BOLZANI, V. S. Constituintes químicos de *Arrabidaea amygdoides* (Bignoniaceae). **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 641-643, 2003.

PAULETTI, P.; CASTRRO-GAMBOA, I.; SILVA, D.H.S.; JOVEM, M. C. M.; TOAZELLA, D. M.; EBERLIN, M. N.; BOLZANI, V. S. New antioxidant C-glucosylxanthones from the stems of *Arrabidaea amygdoides*. **Journal Natural Products**, v. 66, n. 10, p. 1384-1387, Sept. 2006.

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. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PETERSON, J; DWYER J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, v. 18, n.12, p. 1995-2018, 1998.

PFEIFER, G. P.; BESARATINIA, A. "UV wavelength-dependent DNA damage and human non-melanoma and melanoma skin cancer". **Photochem Photobiol Sci**, v.11, n.1, 2012.

PIETRO, R.C. L. R.; SOUZA-MOREIRA, T. M ; SALGADO, H.R. N. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacogn.** , vol.20, n.3, p.435-440, 2010.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **J Nat Prod**, v.63, n. 7, p. 1035–1042, 2000.

PROCHÁZKOVÁ, D.; BOUSOVÁ, I.; WILHELMOVÁ, N. Propriedades antioxidantes e prooxidantes dos flavonóides. **Fitoterapia**, v. 82, n. 4, p. 513-523, 2011.

REBELO, M. M.; SILVA, J. K. R.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Antioxidant capacity and biological activity of essential oil and methanol extract of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1, p. 230–235, 2009.

ROCHA, C. Q. da ; MESQUITA, M. P.; VILELA, F. C.; SILVA, M. J. D.; SANTOS, M. H ; SILVA, G. A. Anti-inflammatory properties of *Morus nigra* leaves. **PTR. Phytotherapy Research**, v. 24, p. 1496-1500, 2010.

ROCHA, C. Q, da; VILELA, F. C.; CAVALCANTE, G. P.; SANTA-CECÍLIA, F. V.; SANTOSE-SILVA, L.; DOS SANTOS, M. H.; GIUSTI-PAIVA, A.; Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau roots. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 396-401, 2012.

ROCHA, C.Q. da. **Extratos padronizados para o tratamento de doenças crônicas: *Arrabidaea spp.*** Universidade Estadual Paulista. Araraquara, p.103, 2013.

ROCHA, C.Q. da et al. Efeitos gastroprotetores do extrato de raiz hidroetanólico de *Arrabidaea brachypoda*: Evidências de citoproteção e isolamento de polifenóis glicosilados incomuns. **Fitoquímica**, v. 135, p. 93-105, Mar, 2017.

RUSSO, R. O.; SANCHEZ, S. M. Los flavonoides en la terapia cardiovascular. **Rev. costarric. cardiol** , v. 8, n.1, p. 13-18, 2006.

SANTOS, K. F. R.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; PINTO, A.S.; OLIVEIRA, M. G.A. Hypolipidaemic effects of naringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. **Pharmacol Res**; v. 40 p. 493-6. 1999.

SCHIMIDT, P. C. **Phytopharmaceutical Technology. Boca Raton**, 1984.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence: review. **Eur J Biochem**, v. 215, p. 213-219, 1993;

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JUNIOR, G. M.; AYRES, M.C. C.; DA COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, O. S.; AVALCANTE, L. C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.;

BRANDÃO, S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.351-355, 2007.

SOUZA, F.S.; MACIEL, C.C.S. Produtos fitoterápicos e a necessidade de um controle de qualidade microbiológico. **Veredas Favip**, v.3, n.2, 2010.

SILVA, M. B.; ROSA, M. B.; BRASILEIRO, B. G.; ALMEIDA, V.; SILVA, C. C. A. **Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas**. In: VENEZON, M.; PAULA JR., T. J.; PALLINI, A. (Eds.). Controle alternativo de pragas e doenças. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 221- 246, 2005.

TAKEMURA, O. S.; IINUMA, M.; TOSA, H.; MIGUEL, O.G. A flavone from leaves of *Arrabidaea chica* F. Cuprea. **Phytochemistry**, v. 38, n. 5 p. 1299-1300, Mar. 1995.

TORKARNIA, C. H.; BARBOSA, J. D.; DE OLIVEIRA, C. M. C.; BRITO, M. F.; DE OLIVEIRA, R. B.; BARBAS, L. A. L. Aspectos epidemiológicos e clínico patológicos comparados da intoxicação por *Arrabidaea bilabiata* (*Bignoniaceae*) em búfalos e bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 5, p. 74-79, maio 2004.

VILA F. C. Identificação dos flavonoides com atividade antioxidante da cana-de açúcar. (*Saccharum officinarum* L.), 2006. **Dissertação** (Mestrado em Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E.B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Documento: EmbrapaClimaTemperado, Pelotas, n.316, p.7-15. 2010.

YANG, J.; GUO, J.; YUAN, J. In vitro antioxidant properties of rutin. **LWT - Food Sci Technol**, v. 41, p.1060-6, 2008.

ZORN, B.; GARCIA-PIÑERES, A.J.; CASTRO, V.; MURILO, R.; MORA, G.; MERFORT, I. 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. **Phytochemistry**, v. 56, n. 8, p. 831-835, Apr. 2001.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J.A. Flavonoides. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gormann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. v.5.Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS, p.577-614, 2002.