



GUSTAVO OLIVEIRA EVERTON

**AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS ANTIOXIDANTE, ANTI-
INFLAMATÓRIO E ANTIARTRÍTICO DE EXTRATOS
HIDROALCOOLICOS E FRAÇÕES DE *Ixora coccinea* L.**

GUSTAVO OLIVEIRA EVERTON

**AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS ANTIOXIDANTE, ANTI-
INFLAMATÓRIO E ANTIARTRÍTICO DE EXTRATOS
HIDROALCOOLICOS E FRAÇÕES DE *Ixora coccinea* L.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Curso da Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do diploma de Graduação em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho

São Luís
2022

EVERTON, GUSTAVO OLIVEIRA.

AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS ANTIOXIDANTE, ANTIINFLAMATÓRIO
E ANTIARTRÍTICO DE EXTRATOS HIDROALCOOLICOS E FRAÇÕES DE
Ixora coccinea L / GUSTAVO OLIVEIRA EVERTON. - 2022.

93 f.

Orientador(a): VICTOR ELIAS MOUCHREK FILHO.

Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do
Maranhão, SÃO LUÍS, 2022.

1. Antioxidante. 2. Doenças. 3. Frações. 4. *Ixora*.
I. MOUCHREK FILHO, VICTOR ELIAS. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. VICTOR ELIAS MOUCHREK FILHO
Orientador – DETEQI/CCET/UFMA

Prof.^a Dr.^a MARIA DA GLÓRIA ALMEIDA BANDEIRA
DETEQI/CCET/UFMA

Prof.^a Dr.^a AUDIRENE AMORIM SANTANA
DEEQ/CCET/UFMA

29 de julho de 2022

DADOS CURRICULARES**GUSTAVO OLIVEIRA EVERTON**

NASCIMENTO 25/02/1997 – SÃO LUIS / MA

FILIAÇÃO Noraney Leal Oliveira
Raimundo Everton Neto

2018/2022 Curso de Graduação
Engenharia Química - Universidade Federal do Maranhão

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo e em primeiro lugar agradeço a Deus, razão de tudo e de todos nós.

Ao meu orientador, Prof. Victor Elias Mouchrek Filho, pelo incentivo, amizade, orientação e auxílio.

A minha avó/mãe Maria de Lourdes Leal Oliveira por tudo que sempre fez por mim até mesmo nos momentos mais difíceis da minha vida, por todo incentivo em não me deixar desistir mesmo quando era quase inevitável, por todo amor, carinho e por ser a minha pessoa favorita no mundo.

Aos professores que tanto admiro, em especial, neste trabalho a Prof. Maria da Gloria Almeida Bandeira e Prof. Audirene Amorim Santana por serem exemplos de compromisso, conhecimento, carisma e empatia. Um agradecimento especial a vocês por todo acolhimento dado em diferentes fases da minha trajetória acadêmica.

Um agradecimento especial aos meus queridos orientandos/amigos: Ana Patrícia Matos Pereira, Brendha Araújo de Sousa, Cassiano Vasques de Sousa, Maria Giullia Alves Carneiro Felizardo, Rodrigo de Aquino Almeida, Thaylanna Pinto de Lima, Beatriz Jardim e Marcelle pela confiança, compromisso, pelas boas risadas e por estarem abraçando a pesquisa na área de Óleos Essenciais com tanto amor e perseverança.

Um agradecimento especial aos meus amigos pessoais também por todo afeto, amizade, carinho, lealdade e ternura. Não vou citar nomes pra não esquecer de ninguém, mas incluí todos vocês sim.

Agradeço a Universidade Federal do Maranhão por todo recurso investido em pesquisa e ensino de forma direta e indireta que contribuíram para minha formação e desempenho em pesquisa.

EPÍGRAFE

“É tão claro agora. Eu queria poder dizer para aquela criança que ainda não vê. É tão claro agora, eu sei que vai doer, mas isso é necessário pra quem você vai ser.”

João Vitor Romania Balbino - Jão

EVERTON, G. O. **Avaliação dos potenciais antioxidante, anti-inflamatório e antiartrítico de extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L.** 2022. 76 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2022.

RESUMO

Doenças de origem inflamatória permanecem com outros um dos principais problemas de saúde, sendo de vital importância o estudo da espécie *Ixora coccinea* para tais fins, visto que suas propriedades nesse âmbito são pouco exploradas. Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar as propriedades antioxidante, anti-inflamatória e anti-artrítica de extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L. Os extratos hidroalcoólicos foram obtidos através do processo de maceração das flores de *Ixora coccinea*, coletadas na Universidade Federal do Maranhão, em solvente etanol extrator 70% v/v. As frações hexânicas (FHIC), acetato de etila (FAIC), clorofórmica (FCIC) e metanoica (FMIC) foram obtidas empregando-se partição líquido/líquido no método do funil de decantação. A caracterização química foi executada através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (CLAE/EM). A atividade antioxidante foi realizada pelos métodos de eliminação de radicais OH, ABTS e DPPH. A atividade anti-inflamatória seguiu a metodologia de desnaturação proteica induzida de albumina. A atividade antiartrítica FOI executada pelo ensaio de inibição de enzima ciclooxigenase em indução térmica de albumina sérica bovina. Quantificou-se CE₅₀ para classificação de potencial nos ensaios antioxidante, anti-inflamatório e antiartrítico. Através da CLAE/EM quantificou-se o catecol como componente majoritário na composição do extrato hidroalcoólico (59,50%), fração hexânica (57,86%) e clorofórmica (41,92%), assim como o ácido clorogênico na fração acetato de etila (48,95%) e metanoica (40,91%). No ensaio antioxidante, as CE₅₀ variaram entre 6,45 a 87,15 ppm, classificando todas as concentrações observadas como muito ativas. A fração FAIC demonstrou melhor atividade antioxidante. Para o ensaio anti-inflamatório, as CE₅₀ variaram entre 32,27 a 198,06 ppm. A fração FAIC demonstrou melhor atividade nesta ação. Para o ensaio antiartrítico, as CE₅₀ variaram entre 10,76 a 66,02 ppm. A fração FAIC demonstrou melhor atividade neste ensaio. Por fim, a caracterização química comprovou componentes bioativos na composição dos extratos hidroalcoólicos e frações, visto que as mesmas demonstraram excelente capacidade antioxidante, anti-inflamatória e antiartrítica, sendo destaque para a FAIC que demonstrou melhor desempenho em todos os métodos testados, sendo de vital importância para bioensaios seguintes na formulação de produtos derivados deste extrato.

Palavras-chave: Doenças; Frações; *Ixora*; Antioxidante.

EVERTON, G. O. **Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and anti-arthritic potentials of hydroalcoholic extracts and fractions of *Ixora coccinea* L.** 2022. 76 f. Graduate Work (Graduate in Chemical Engineering) – Curso de Engenharia do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2022.

ABSTRACT

Diseases of inflammatory origin remain with others one of the main problems of health, being of vital importance the study of *the species Ixora coccinea* for such purposes, since its properties in this area are little explored. Thus, this study aimed to evaluate the antioxidant, anti-inflammatory and anti-arthritic properties of hydroalcoholic extracts *Ixora coccinea* L. and fractions. Hydroalcoholic extracts were obtained through the maceration process of *Ixora coccinea* flowers, collected at the Federal University of Maranhao, in solvent ethanol extractor 70% v/v. The hexanic fractions (HFIC), ethyl acetate (EFIC), chloroform (CFIC) and methanol (MFIC) were obtained using liquid/liquid partition in the decanting funnel method. Chemical characterization was performed by High Efficiency Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (HPLC/MS). Antioxidant activity was performed by radical elimination methods OH, ABTS and DPPH. Anti-inflammatory activity followed albumin-induced protein denaturation methodology. The antiarthritic activity was performed by the cyclooxygenase enzyme inhibition assay in thermal induction of bovine serum albumin. EC₅₀ was quantified to classify potential in antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic assays. Through HPLC/MS, catechol was quantified as the major component in the composition of hydroalcoholic extract (59.50%), hexanic fraction (57.86%) and chloroform (41.92%), as well as chlorogenic acetate in the ethyl acetate fraction (48.95%) and methanolic (40.91%). In the antioxidant assay, the EC₅₀ ranged from 6.45 to 87.15 ppm, classifying all concentrations observed as very active. The EFIC fraction showed better antioxidant activity. For the anti-inflammatory assay, the EC₅₀ ranged from 32.27 to 198.06 ppm. The EFIC fraction showed better activity in this action. For the antiarthritic assay, the EC₅₀ ranged from 10.76 to 66.02 ppm. The EFIC fraction showed better activity in this trial. Finally, the chemical characterization proved bioactive components in the composition of hydroalcoholic extracts and fractions, since they demonstrated excellent antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic capacity, being highlighted partly for EFIC that demonstrated better performance in all methods tested, being of vital importance for following bioassays in the formulation of products derived from this extract.

Keywords: Diseases; Fractions; *Ixora*; Antioxidant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa do Brasil representado pelos biomas	4
Figura 2 - Ilustração simplificada do processo de maceração	9
Figura 3 – Rotaevaporador	10
Figura 4 - Ilustração representativa do processo de infusão.....	11
Figura 5 - Droga vegetal sob processo de digestão em banho-maria	11
Figura 6 - Ilustração representativa do processo de decocção.....	12
Figura 7 - Percolador de vidro.....	13
Figura 8 - Extrator de Soxhlet	14
Figura 9 - Aparelho de extração por microondas	15
Figura 10 - Extrator via ultrassom.....	16
Figura 11 - Funil de decantação para separação da fase orgânica e aquosa	18
Figura 12 - Esquema experimental simplificado de um processo de destilação fracionada	15
Figura 13 - Esquema experimental simplificado de um método de cristalização fracionada	16
Figura 14 - Representação das fases móvel e estacionária em uma cromatografia em coluna	18
Figura 15 - Método simplificado da técnica de Cromatografia Gasosa	19
Figura 16 - Esquema experimental simplificado do método CLAE/HPLC	20
Figura 17 - Bombardeamento de moléculas na técnica de Espectrometria de Massas	21
Figura 18 - Esquema simplificado UV-VIS	22
Figura 19 - Técnica de RMN simplificada	22
Figura 20 - Esquema simplificado do EI.....	23
Figura 21 - (a) <i>Ixora chinensis</i> , (b) <i>Ixora lutea</i> , (c) <i>Ixora parviflora</i>	24
Figura 22 - <i>Ixora coccinea</i> Linn.....	24
Figura 23 – Fitoquímicos identificados em <i>Ixora coccinea</i> (a) ácido ursólico, (b) lupeol, (c) ácido oleanólico, (d) rutina, (e) sitosterol, (f) leucocianadina.....	25
Figura 24 - Raízes de <i>Ixora coccinea</i>	26
Figura 25 - Folhas de <i>Ixora coccinea</i>	26
Figura 26 – (a) Kaemferol e (b) Quercetina	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fatores essenciais para escolha do solvente de extração ideal	8
Tabela 2: Fatores essenciais para escolha do método de extração ideal	8
Tabela 3: Solventes de extração por ordem crescente de polaridade	19
Tabela 4: Características, vantagens e desvantagens do uso de alguns solventes comuns para fracionamento	20

SUMÁRIO

FOLHA DE APROVAÇÃO.....	iv
DADOS CURRICULARES	v
AGRADECIMENTOS	vi
EPÍGRAFE	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
SUMÁRIO.....	xii
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Plantas Medicinais.....	4
3.2 Extração de plantas medicinais	7
3.3 Métodos comumente usados na extração de plantas medicinais.....	9
3.4 Métodos físicos.....	17
3.5 Técnicas cromatográficas	16
3.6 <i>Ixora coccinea</i>	23
3.7 Atividade anti-inflamatória	28
3.8 Atividade antioxidante	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Obtenção do material vegetal	33
4.2 Preparos dos extratos e fracionamento	33
4.3 Caracterização química dos extratos	33
4.4 Avaliação da atividade antioxidante por eliminação de radicais hidroxila (R-OH [•])....	34
4.5 Avaliação da atividade antioxidante por eliminação de radicais ABTS	34
4.6 Avaliação da atividade antioxidante por eliminação de radicais DPPH	34
4.7 Atividade anti-inflamatória total por desnaturação proteica de albumina.....	35
4.8 Atividade antiartrítica por degradação de albumina sérica bovina	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
ANEXO A – NORMAS DO PERIÓDICO CIENTÍFICO.....	68

1 INTRODUÇÃO

A oxidação é básica para muitos seres vivos para a criação de energia para alimentar processos biológicos. O papel dos radicais de oxigênio está diretamente relacionado a várias doenças como diabetes, câncer, doenças cardiovasculares, etc. Os antioxidantes que eliminam essas reativas espécies de oxigênio e radicais livres são vitais no início da prevenção/manutenção de inúmeras infecções causadas por pressão oxidativa (SURANA; AHER; PAL, 2013; JADHAV, 2020).

Geralmente, a capacidade antioxidante dos fenóis em extratos vegetais é eficaz em baixas concentrações e, em humanos, está associada à prevenção de doenças cardiovasculares e câncer (DUTHIE et al., 2000; LI et al., 2014; BAIMUS et al., 2016). Assim, estudos para a determinação da atividade antioxidante de diferentes espécies vegetais podem contribuir para estabelecer o valor dessas espécies como fonte de novos compostos antioxidantes (MILIAUSKAS et al., 2004; GOUTHAMCHANDRA et al., 2010).

Os polifenóis vegetais – compostos hidroxilados aromáticos, estão entre as moléculas mais potentes e terapeuticamente úteis, comumente encontradas em frutas, vegetais e ervas. Esses compostos representam o maior grupo de metabólitos secundários sintetizados por plantas superiores, talvez como resultado da estratégia antioxidante adaptada no processo evolutivo dos organismos (MUHAMMAD et al., 2020).

Como intensificação da resposta a essa problemática, temos a aplicação de extratos bioativos de plantas medicinais como objeto de vários estudos. Esses representam soluções baratas e ecológicas para solucionar os diversos danos ambientais e econômicos (CHINNAMUTHU et al., 2009). Na busca realizada no espectro de estudos divulgados, algumas espécies medicinais se apresentam com potenciais significativos, com destaque para *Ixora coccinea*, alvo deste estudo, em virtude de seus amplos potenciais biológicos, mas ainda pouco estudadas com relação às suas investigações de amplo espectro para atividades anti-inflamatórias e antiartríticas.

Nessa perspectiva, os resultados provenientes desta pesquisa poderão trazer contribuições importantes para prevenção e tratamento de doenças ligadas a respostas inflamatória como artrite, diabetes, doenças cardiovasculares, alergias, câncer, doenças autoimunes, síndromes metabólicas e doenças cardiovasculares, bem como a aplicação de um bioproduto com potencial de mercado, mais seguro, eficaz, livre de toxicidade e econômico. Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar os potenciais antioxidante, anti-inflamatório e antiartrítico de extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar os potenciais antioxidante, anti-inflamatório e antiartrítico de extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar quimicamente os extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L. por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (CLAE/EM);
- Quantificar a Concentração Eficiente 50% e 90% para ação antioxidante dos extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L. frente a radicais ABTS \cdot , DPPH \cdot e OH \cdot ;
- Obter quantitativamente a Concentração Eficiente 50% e 90% para ação anti-inflamatória dos extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L. por desnaturação proteica induzida de albumina;
- Determinar o potencial antiartrítico através da quantificação da Concentração Eficiente 50% e 90% para ação dos extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L. por inibição de enzima ciclooxigenase em indução térmica de albumina.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Plantas Medicinais

No Brasil, o número estimado de espécies vegetais descritas (terrestres e algas) varia de 50.542 a 60.042 (LEWINSOHN&PRADO, 2005). Essas são encontradas nos seis biomas diferentes, conforme a Figura 1: Amazônia (a floresta amazônica no Norte e Centro-Oeste do Brasil), Cerrado (a savana brasileira central), Mata Atlântica (a floresta tropical atlântica que vai do nível do mar até as terras altas do leste do Brasil), Caatinga (uma floresta espinhosa xerófila encontrada no nordeste do Brasil), Pampa (os campos no sul do Brasil) e Pantanal (campos periodicamente inundados pelos rios Paraná e Paraguai no centro-oeste do Brasil). Assim, o Brasil é uma das nações mais biodiversas do mundo (LEWINSOHN&PRADO, 2005; MELO et al., 2011; FORZA et al., 2012).

Figura 1 - Mapa do Brasil representado pelos biomas



Fonte: <https://www.educamaisbrasil.com.br/enem/biologia/biomas-brasileiros>

Desde a antiguidade, a humanidade tem feito uso de plantas no tratamento de diversas doenças, pois seus fatores de toxicidade parecem ter menores efeitos colaterais (ELBERRY et al., 2015). Muitas das drogas atualmente disponíveis foram derivadas direta ou indiretamente

de plantas medicinais. O interesse recente em terapias naturais e medicinas alternativas fez com que os pesquisadores prestassem atenção à medicina tradicional à base de plantas. Na última década, a atenção centrou-se na avaliação científica de medicamentos tradicionais de origem vegetal para o tratamento de diversas doenças (LEVY; SEEFF; LINDOR, 2004).

O potencial de plantas medicinais brasileiras já foi investigado. No entanto, devido à grande biodiversidade do país, as potencialidades terapêuticas da maioria das espécies permanecem desconhecidas (MESQUITA et al., 2009; OZI et al., 2011; FERREIRA et al., 2011; RIBEIRO et al., 2012). As plantas fornecem cuidados de saúde para até 80% da população mundial. A sua caracterização farmacológica e fitoquímica contribui tanto para o uso seguro de fitoterápicos quanto para a identificação de pistas para o desenvolvimento de medicamentos (SASLIS-LAGOUDAKIS et al., 2014).

Espécies vegetais com usos medicinais mais tradicionais são estudadas com métodos modernos com uma frequência significativamente maior. Estudos etnobotânicos, juntamente com a caracterização farmacológica e fitoquímica, são essenciais para o enriquecimento da base de conhecimento (SOUZA; WILLIAMSON; HAWKINS, 2018).

Desde que a Fitomedicina tem sido globalmente motivo de interesse em fonte primária de atenção à saúde (EVANS et al., 1998), incentiva-se sua utilização como fonte de diversidade química no desenvolvimento de medicamentos. Estruturas de moléculas derivadas de plantas são conhecidas por terem evoluído com diversas propriedades que as tornam adequadas como estruturas de liderança na descoberta de drogas (HUNG et al., 2012). As moléculas derivadas de plantas também foram reconhecidas por fornecer subestruturas ou andaimes específicos que as tornam comparáveis às drogas comerciais e seu potencial utilização em química combinatória (PATHANIA; RAMAKRISHNAN; BAGLER, 2015).

Tais propriedades excepcionais exibidas por moléculas derivadas de plantas permitem seu uso direto na descoberta de drogas, bem como alicerces para sintetizar repertório combinatório proficiente o suficiente para se ligar a uma ampla gama de alvos específicos de doenças. De fato, pode-se argumentar que as plantas com valores medicinais podem ter coevoluído com os humanos. Vários tratamentos de doenças tornaram-se agora dependentes de produtos naturais, principalmente diabetes (HUNG et al., 2012) e câncer (BASMADJIAN et al., 2014).

Além da enorme utilização de moléculas derivadas de plantas e seus derivados na descoberta de fármacos, ainda falta um repertório composto dessas moléculas naturais que possam ser utilizadas diretamente para a prospecção de identificação de novos leads. A acessibilidade dos dados e seu uso racional também têm sido destacados como importantes

desafios a serem superados para a facilitação do uso dos fitomedicamentos em todo o mundo (WHO, 2013).

Os atributos funcionais de qualquer planta são principalmente devido à presença de uma classe principal de metabólitos secundários, ácidos fenólicos e flavonoides, mas outros compostos orgânicos e inorgânicos como cumarinas e micronutrientes antioxidantes (Cu, Mn, Zn) também têm uma grande influência sobre a saúde (KUMAR et al., 2020; REPETTO & LLESUY, 2002). As etapas preliminares para utilizar fontes vegetais são a triagem e caracterização desses compostos bioativos (SASIDHARAN et al., 2011).

Muitas espécies de plantas foram relatadas como exercendo propriedades farmacológicas devido a seus fitoconstituintes, como glicosídeos, alcaloides, saponinas, esteróides, flavonoides, taninos e terpenóides (por exemplo, monoterpenos, diterpenos e sesquiterpenos). Atualmente, oitenta por cento da população mundial depende dos medicamentos tradicionais como fonte essencial de seus cuidados primários de saúde (DORMAN; DEANS, 2000; BATIHA et al., 2020). Extratos de plantas medicinais e seus constituintes também possuem várias atividades biológicas, incluindo atividades viricidas, bactericidas, fungicidas, anti-inflamatórias, analgésicas, sedativas, espasmolíticas e anestésicas locais, entre outras (BAKKALI et al., 2008; BATIHA et al., 2020).

As plantas medicinais fazem parte de centenas de milhares de plantas no mundo, que evoluíram ao longo de um longo período da história geológica. Componentes fisiologicamente ativos de plantas medicinais são principalmente metabólitos secundários de plantas, e sua distribuição no reino vegetal é geralmente regular, possuindo relação inerente entre genética, composição química e efeito curativo (HAO&XIAO, 2020). Elas têm sido uma boa fonte de novas moléculas farmacologicamente ativa, sendo uma alternativa potencial para controlar patógenos associados a doenças (RIOS&RECIO, 2005; BESHBIHY et al. 2020; BATIHA et al., 2020a; BATIHA et al., 2020b; BATIHA et al., 2020c).

Os fitomedicamentos continuam a desempenhar um papel central nos sistemas de gestão da saúde nos países em desenvolvimento. Nos EUA, a venda de fitoterápicos aumentou acentuadamente entre 1988 e 1997 (WHO, 2013). Na África, até 80% da população usa medicamentos tradicionais para ajudar a atender às suas necessidades de saúde. Uma revisão recente da Organização Mundial da Saúde estima que cerca de 80% da população mundial depende de medicamentos tradicionais (WHO, 2013).

As plantas contêm um grande número de compostos naturais com importantes propriedades farmacológicas, e seus extratos têm sido utilizados para o tratamento de diversas doenças desde a antiguidade. Essas moléculas naturais revolucionaram o sistema medicinal

através dos extratos obtidos de plantas medicinais (MISHRA; TIWARI, 2011; KOEHN; CARTER, 2005).

3.2 Extração de plantas medicinais

A extração de plantas medicinais é um processo de separação de materiais vegetais ativos ou metabólitos secundários, como alcaloides, flavonoides, terpenos, saponinas, esteroides e glicosídeos de material inerte ou inativo usando um solvente apropriado e procedimento de extração padrão. Materiais vegetais com alto teor de compostos fenólicos e flavonoides possuem propriedades antioxidantes e, portanto, são usados para tratar doenças relacionadas à idade, como doença de Alzheimer, parkinsonismo, ansiedade e depressão (SASIDHARAN et al., 2011; AZWANIDA, 2015).

A escolha de um método de extração apropriado depende da natureza do material vegetal, solvente usado, pH do solvente, temperatura e razão solvente para amostra. Também depende do uso pretendido dos produtos finais (DOUGHARI, 2012; AZWANIDA, 2015; INGLE et al., 2017).

O solvente usado para a extração de plantas medicinais também é conhecido como mênstruo. A escolha do solvente depende do tipo de planta, da parte da planta a ser extraída, da natureza dos compostos bioativos e da disponibilidade do solvente. Em geral, solventes polares, como água, metanol e etanol, são usados na extração de compostos polares, enquanto solventes apolares, como hexano e diclorometano, são usados na extração de compostos apolares (SASIDHARAN et al., 2011; PANDEY&TRIPATHI, 2014; ALTEMIMI et al., 2017). Muitos estudos relataram o impacto de diferentes solventes no conteúdo de metabólitos secundários e/ou sua atividade antioxidante (REBEY et al., 2012; KCHAOU et al., 2013; NGO et al., 2017).

Vários fatores apresentados na Tabela 1 devem ser levados em consideração ao escolher um solvente de extração (ELOFF, 1998; DAS; TIWARI; SHRIVASTAVA, 2010; PANDEY&TRIPATHI, 2014).

Tabela 1: Fatores essenciais para escolha do solvente de extração ideal

Fator	Característica
Seletividade	O solvente escolhido deve ser capaz de extrair o constituinte ativo e deixar o material inerte
Segurança	O solvente ideal de extração deve ser atóxico e não inflamável.
Custo	Deve ser o mais barato possível
Reatividade	O solvente de extração adequado não deve reagir com o extrato.
Recuperação	O solvente de extração deve ser rapidamente recuperado e separado do extrato
Viscosidade	Deve ser de baixa viscosidade para facilitar a penetração
Temperatura de ebulição	A temperatura de ebulição do solvente deve ser a mais baixa possível para evitar a degradação pelo calor

Fonte: Adaptado de Eloff (1998), Das; Tiwari; Shrivastava (2010), Pandey&Tripathi (2014).

A escolha de uma forma adequada de extração é muito importante, alguns itens a serem considerados são apresentados na Tabela 2, que em alguns casos depende do uso pretendido de um extrato (SASIDHARAN et al., 2011; AZWANIDA, 2015).

Tabela 2: Fatores essenciais para escolha do método de extração ideal

Fator	Característica
Estabilidade ao calor	O material vegetal estável ao calor é extraído usando extração Soxhlet ou extração assistida por micro-ondas, enquanto os materiais vegetais que não são estáveis ao calor são extraídos por maceração ou percolação
Natureza do solvente	Se o solvente de extração for água, a maceração é um método adequado, mas para percolação de solvente volátil e extração de Soxhlet são mais apropriados
Custo da droga	Drogas baratas são extraídas por maceração, enquanto drogas caras são preferencialmente extraídas por percolação
Duração da extração	A maceração é adequada para material vegetal que requer longa exposição ao mênstruo, enquanto técnicas como extração assistida por micro-ondas ou ultrassom são usadas por uma duração mais curta
Volume final necessário	Produtos de grande volume, como tinturas, são preparados por maceração, enquanto produtos concentrados são produzidos por percolação ou extração Soxhlet
Uso pretendido	Os extratos destinados ao consumo humano são geralmente preparados por maceração, enquanto os produtos destinados a testes experimentais são preparados por outros métodos além da maceração

Fonte: Adaptado de Sasidharan et al. (2011) e Azwanida (2015)

Além disso, as técnicas de extração têm efeito notável na recuperação de conteúdo fitoquímico. Existem diferentes técnicas laboratoriais para extração de materiais vegetais, que são principalmente categorizadas em métodos de extração convencionais (SULTANA et al., 2009, AZMIR et al., 2013, BELWAL et al., 2018). Esses métodos são utilizados na extração de plantas medicinais, como maceração, infusão, decocção, percolação, digestão e extração Soxhlet, extração superficial, assistida por ultrassom e extração assistida por micro-ondas (PANDEY&TRIPATHI, 2014; AZWANIDA, 2015; INGLE et al., 2017). Estes são descritos no tópico a seguir.

3.3 Métodos comumente usados na extração de plantas medicinais

Muitos procedimentos foram tecnicamente utilizados na extração de plantas medicinais. Alguns métodos mais novos ainda estão evoluindo, enquanto os existentes estão passando por modificações.

No método de maceração, ocorre o procedimento de extração no qual o material da droga em pó grosseiro, folhas ou casca do caule ou casca da raiz, é colocado dentro de um recipiente; o mênstruo é derramado no topo até cobrir completamente o material da droga (Figura 2). O recipiente é então fechado e mantido por pelo menos três dias (TIWARI et al., 2011; DOUGHARI, 2012; PANDEY&TRIPATHI, 2014).

Figura 2 - Ilustração simplificada do processo de maceração



Fonte: <https://cruda.com.br/blog/macerao-como-preparar-um-oleo-macerado>

O conteúdo é agitado periodicamente e, se colocado dentro do frasco, deve ser agitado de tempos em tempos para garantir a extração completa. No final da extração, a micela é separada do bagaço por filtração ou decantação. Subsequentemente, a micela é então separada do mênstruo por evaporação em estufa, rotaevaporador (Figura 3) ou em banho-maria. Este método é conveniente e muito adequado para material vegetal termolábil (MAJEKODUNMI et al.; AZWANIDA, 2015; INGLE et al., 2017).

Figura 3 – Rotaevaporador



Fonte: <https://www.splabor.com.br/blog/wp-content/uploads/2020/12/Evaporador-800x520.jpg>

No método de infusão, o processo de extração ocorre semelhante a maceração. O material da droga é moído em pó fino e, em seguida, colocado dentro de um recipiente limpo. O solvente de extração quente ou frio é então derramado sobre o material da droga (Figura 4), embebido e mantido por um curto período de tempo (PANDEY&TRIPATHI, 2014; MAJEKODUNMI et al.; AZWANIDA, 2015). Este método é adequado para a extração de constituintes bioativos que são facilmente solúveis. Além disso, é um método apropriado para preparação de extrato fresco antes do uso. A proporção de solvente para amostra é geralmente 4:1 ou 16:1 dependendo do uso pretendido (INGLE et al., 2017).

Figura 4 - Ilustração representativa do processo de infusão



Fonte: <https://embarquenaviagem.com/wp-content/uploads/2020/08/ch%C3%A1-1.jpg>

O processo de digestão, é uma extração que envolve o uso de calor moderado durante o processo de extração. O solvente de extração é despejado em um recipiente limpo seguido pelo material da droga em pó. A mistura é colocada em banho-maria (Figura 5) ou em estufa a uma temperatura de cerca de 50 °C (PANDEY&TRIPATHI, 2014; MAJEKODUNMI et al., 2015). Calor é aplicado durante todo o processo de extração para diminuir a viscosidade do solvente de extração e aumentar a remoção de metabólitos secundários. Este método é adequado para materiais vegetais que são facilmente solúveis (INGLE et al., 2017).

Figura 5 - Droga vegetal sob processo de digestão em banho-maria



Fonte: <https://www.splabor.com.br/blog/wp-content/uploads/2012/12/banhomariablog.jpg>

No método de decocção, a extração é contínua a quente usando um volume especificado de água como solvente (Figura 6). Um material vegetal seco, moído e em pó é

colocado em um recipiente limpo. A água é então derramada e agitada. O calor é então aplicado durante todo o processo para acelerar a extração (PANDEY&TRIPATHI, 2014; MAJEKODUNMI et al.; AZWANIDA, 2015).

Figura 6 - Ilustração representativa do processo de decocção



Fonte: <http://www.fai.com.br/portal/pibid/adm/atividades>

O processo é de curta duração, geralmente cerca de 15 minutos. A proporção de solvente para droga bruta é geralmente 4:1 ou 16:1. É usado para extração de material vegetal solúvel em água e estável ao calor (INGLE et al., 2017).

No método de percolação, o aparelho utilizado é chamado de percolador (Figura 7). É um recipiente de vidro em forma de cone estreito com abertura em ambas as extremidades. Um material vegetal seco, moído e em pó fino é umedecido com o solvente de extração em um recipiente limpo. Adiciona-se mais quantidade de solvente e a mistura é mantida por um período de 4h. Posteriormente, o conteúdo é então transferido para o coador com a extremidade inferior fechada e deixado em repouso por um período de 24h (PANDEY&TRIPATHI, 2014; AZWANIDA, 2015).

Figura 7 - Percolador de vidro

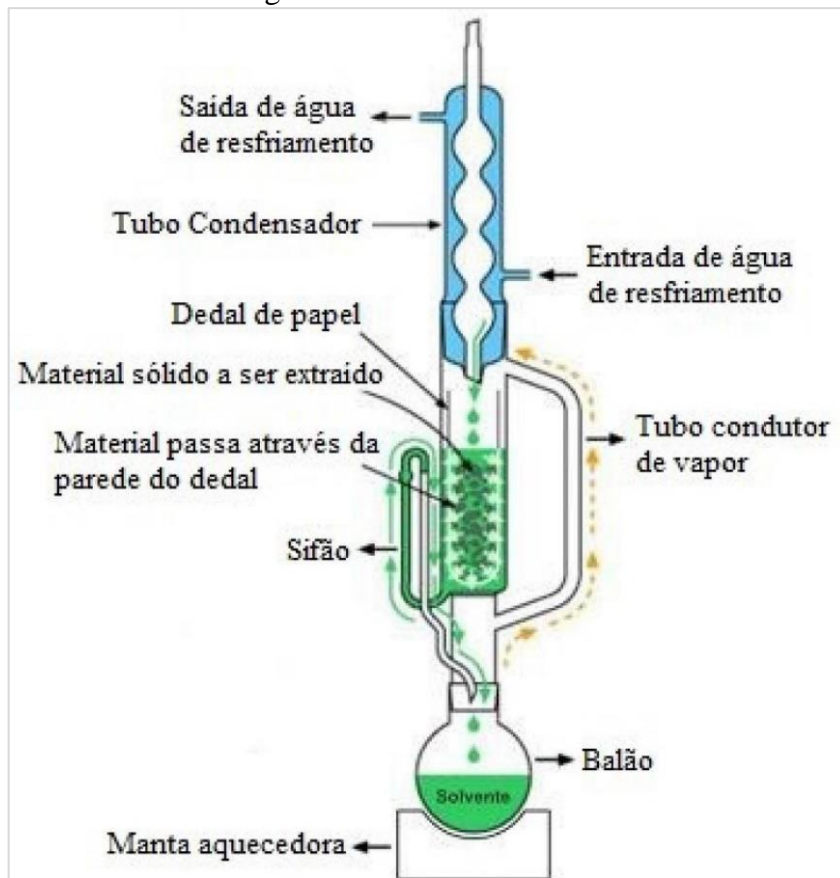


Fonte: <https://www.didaticasp.com.br/percolador-de-vidro-boro-2l-com-torneira-de-teflon>

O solvente de extração é então derramado a partir do topo até que o material da droga esteja completamente saturado. A parte inferior do coador é então aberta e o líquido deixado escorrer lentamente. Alguma quantidade de solvente é adicionada continuamente e a extração ocorre por força gravitacional, empurrando o solvente através do material no sentido do escoamento da droga para baixo. (MAJEKODUNMI et al., 2015). A adição de solvente deve parar quando o volume de solvente adicionado atinge 75% da quantidade pretendida de todas as preparações. O extrato é separado por filtração seguido de decantação. O sólido é então obtido e a quantidade final de solvente adicionada para obter o volume necessário (MAJEKODUNMI et al., 2015).

A extração por Soxhlet, também é conhecida como extração a quente contínua. O aparelho é chamado de extrator Soxhlet (Figura 8) feito de vidro. Consiste em um frasco de fundo redondo, câmara de extração, tubo de sifão e condensador na parte superior. Um material vegetal seco, moído e em pó fino é colocado dentro de um saco poroso (dedal) composto de um pano limpo ou papel de filtro forte e bem fechado (HARBORNE, 1998; HOSSAIN et al., 2014).

Figura 8 - Extrator de Soxhlet



Fonte: <https://www.scielo.br/j/rmat/a/J7Bb6s4t3dTfCTjZtw9TxPF/?lang=pt>

O solvente de extração é despejado no frasco inferior, seguido pelo dedal na câmara de extração. O solvente é então aquecido a partir do frasco inferior, evapora e passa pelo condensador onde se condensa e flui para a câmara de extração e extrai a droga entrando em contato. Consequentemente, quando o nível de solvente na câmara de extração atinge o topo do sifão, o solvente e o material vegetal extraído fluem de volta para o frasco (HARBORNE, 1998; HOSSAIN et al., 2014).

Todo o processo continua repetidamente até que a droga seja completamente extraída, momento em que o solvente que flui da câmara de extração não deixa nenhum resíduo para trás. Este método é adequado para material vegetal que é parcialmente solúvel no solvente escolhido e para materiais vegetais com impurezas insolúveis. No entanto, não é um método adequado para materiais vegetais termolábeis (HARBORNE, 1998; HOSSAIN et al., 2014).

Entre as vantagens estão a grande quantidade de droga que pode ser extraída com menor quantidade de solvente. Também é aplicável a materiais vegetais que são estáveis ao

calor. Nenhuma filtração é necessária e uma grande quantidade de calor pode ser aplicada (HARBORNE, 1998; HOSSAIN et al., 2014; MAJEKODUNMI et al., 2015). Entre as desvantagens está a agitação regular que não é possível e o método não é adequado para materiais termolábeis (HOSSAIN et al., 2014; MAJEKODUNMI et al., 2015).

A extração assistida por microondas (Figura 9) é um dos procedimentos avançados de extração na preparação de plantas medicinais. A técnica utiliza mecanismo de rotação dipolar e transferência iônica por deslocamento de íons carregados presentes no solvente e no material do fármaco. Este método é adequado para extração de flavonoides. Envolve a aplicação de radiação eletromagnética em frequências entre 300 MHz e 300 GHz e comprimento de onda entre 1cm e 1 m (ALTEMIMI et al., 2014; BHAN, 2017).

Figura 9 - Aparelho de extração por microondas



Fonte: <https://www.analiticaweb.com.br/p.php?tit=sistema-avancado-de-extracao-por-microondas&Bid=p5ed13840a227e>

As microondas aplicadas na frequência de 2.450 Hz rendem energia entre 600 e 700 W. A técnica utiliza radiação de micro-ondas para bombardear um objeto, que pode absorver energia eletromagnética e convertê-la em calor. Subsequentemente, o calor produzido facilita o movimento do solvente na matriz do fármaco (DOUGHARI, 2012; INGLE et al., 2017; ALTEMIMI et al., 2014; BHAN, 2017).

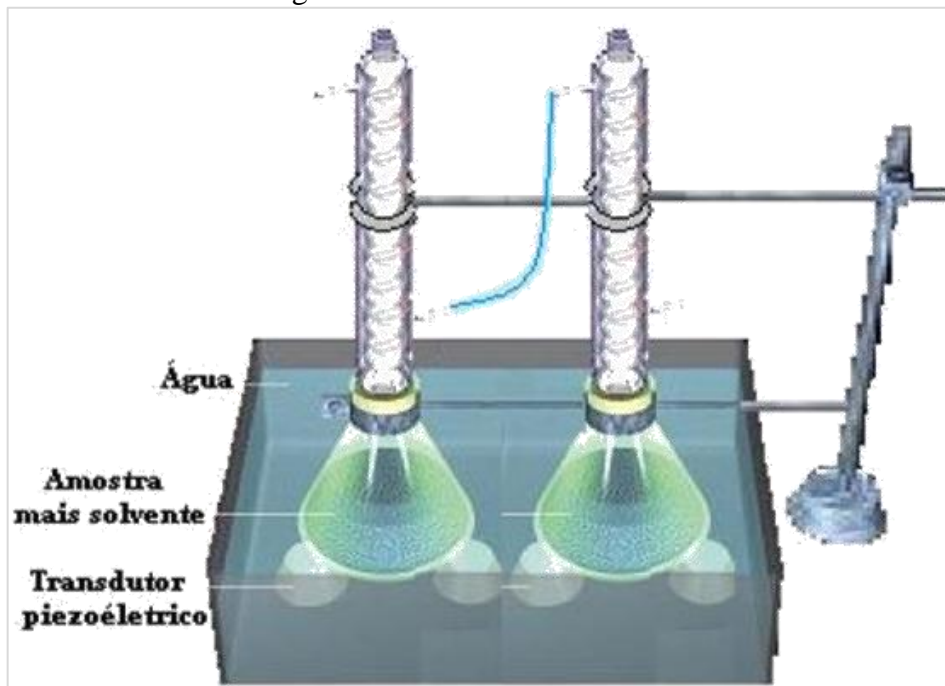
Quando o solvente polar é usado, ocorre a rotação do dipolo e a migração de íons, aumentando a penetração do solvente e auxiliando o processo de extração. No entanto, quando o solvente não polar é usado, a radiação de micro-ondas liberada produzirá apenas um pequeno

calor; portanto, este método não favorece o uso de solventes apolares (DOUGHARI, 2012; INGLE et al., 2017).

Entre as vantagens têm-se a minimização de solvente e tempo de extração, bem como aumento do resultado. Como desvantagens têm-se que o método é adequado apenas para compostos fenólicos e flavonoides. Compostos como taninos e antocianinas também podem ser degradados devido à alta temperatura envolvida (INGLE et al., 2017; ALTEMIMI et al., 2014).

Na extração assistida por ultrassom (Figura 10), o processo envolve a aplicação de energia sonora em uma frequência muito alta, superior a 20 KHz, para romper todas as células vegetais e aumentar a área de superfície da droga para a penetração do solvente. Consequentemente, metabólitos secundários serão liberados. Neste método, o material vegetal deve secar primeiro, moer em potência baixa e peneirar adequadamente. A amostra preparada é então misturada com um solvente apropriado de extração e embalada no extrator ultrassônico (PANDEY&TRIPATHI; ALTEMIMI et al., 2014; AZWANIDA, 2015).

Figura 10 - Extrator via ultrassom



Fonte: https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Esquema-do-ultrassom-utilizado-para-a-extracao-do-ML-de-esgoto-Fonte-Freitas_fig1_286643375

A alta energia sonora aplicada acelera o processo de extração reduzindo os requisitos de calor. Entre as vantagens tem-se que a extração assistida por ultrassom é aplicável a amostras pequenas; reduz o tempo de extração e a quantidade de solvente utilizado e maximiza o rendimento (ALTEMIMI et al., 2014). Como desvantagens, este método é difícil de ser

reproduzido; também, a alta quantidade de energia aplicada que podem degradar o fitoquímico produzindo radicais livres (AZWANIDA, 2015).

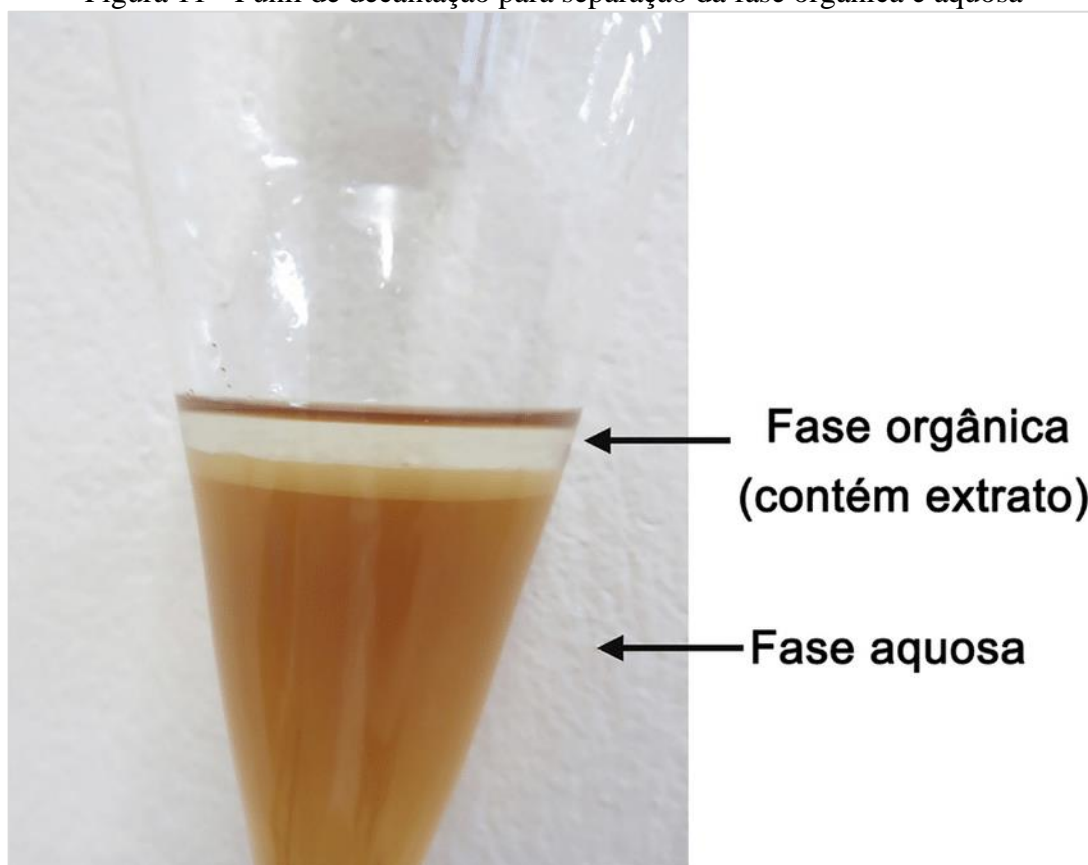
Em alguns casos gerais de extração, um solvente apenas não é suficiente para determinados objetivos, desse ponto em diante, tem-se o fracionamento. O fracionamento é um processo de separação de extratos vegetais em várias frações. Além disso, segrega as frações em porções compreendendo vários compostos. O processo continua até que o composto puro seja isolado. Quando vários solventes são necessários para o fracionamento, eles devem ser adicionados de acordo com a ordem crescente de polaridade. As técnicas de fracionamento são basicamente classificadas em método físico ou químico (RIMANDO et al., 2001; DOUGHARI, 2012; BANU&CATHRINE, 2015). Os métodos químicos são baseados no tipo de grupos funcionais possuídos por um composto na mistura dada. A separação ou purificação pode ser alcançada por reações químicas usando reagentes apropriados.

3.4 Métodos físicos

Os métodos físicos usados na separação de compostos de misturas incluem o método do funil de separação, técnicas cromatográficas, destilação fracionada, cristalização fracionada, liberação fracionada e sublimação.

O método do funil de separação (Figura 11) consiste quando quatro solventes diferentes são selecionados e o fracionamento começa por umedecimento ou dissolução completa do extrato bruto com água. Isto é, seguido por transferência para um funil de separação, agitado e posterior repouso para assentar. Além disso, o solvente menos polar é adicionado e agitado. O conteúdo pode assentar e o fundo do funil de separação é aberto para remover a camada aquosa. O conteúdo restante no funil de separação é despejado em um recipiente limpo para obter a primeira fração (RIMANDO et al., 2001; SMITH, 2013).

Figura 11 - Funil de decantação para separação da fase orgânica e aquosa



Fonte: https://www.researchgate.net/figure/Figura-3-Sistema-de-purificacao-usando-um-funil-de-separacao_fig4_308036598

Um volume igual de solvente é adicionado novamente, agitado e separado. A adição continua até após a adição e agitação, até que nenhuma quantidade razoável de extrato aparente se mover para a porção de solvente empregado (RIMANDO et al., 2001; SMITH, 2013). O ciclo semelhante é realizado para os solventes seguintes. A porção restante após o fracionamento é denominada como fração aquosa residual (RAF), pois o extrato bruto foi dissolvido pela primeira vez em água (SMITH, 2013).

Durante a extração líquido-líquido, a maneira convencional é selecionar dois solventes miscíveis, como água-diclorometano, água-éter e água-hexano. Em todas as combinações, a água está presente devido à sua alta polaridade e miscibilidade com solvente orgânico. O composto a ser extraído por extração líquido-líquido deve ser solúvel em solvente orgânico, mas não em água para facilitar a separação, pois é o solvente mais polar (SASIDHARAN et al., 2011; PANDEY&TRIPATHI; ALTEMIMI et al., 2014). Na Tabela 3 estão 11 solventes diferentes para extrações, dispostos de acordo com a ordem de polaridade crescente.

Tabela 3: Solventes de extração por ordem crescente de polaridade

Ordem	Solventes	Polaridade
1	n-Hexano	0.009
2	Éter de petróleo	0.117
3	Éter dietílico	0.117
4	Acetato de etila	0.228
5	Clorofórmio	0.259
6	Diclorometano	0.309
7	Acetona	0.355
8	n-Butanol	0.586
9	Etanol	0.654
10	Metanol	0.762
11	Água	1.000

Fonte: Adaptado de Sasidharan et al. (2011), Pandey&Tripathi, Altemimi et al. (2014).

Durante o fracionamento, o solvente selecionado é adicionado de acordo com a ordem de polaridade crescente, começando pelo n-hexano, o menos polar, para a água com a maior polaridade (DAS et al., 2010). Se um pesquisador deseja selecionar cinco solventes durante o fracionamento, o usual na prática é escolher dois solventes de baixa polaridade (n -hexano, clorofórmio), dois de média polaridade (diclorometano, n - butanol) e um de maior polaridade (água). O uso desses solventes tem vantagens e desvantagens e elas são apresentadas na Tabela 4.

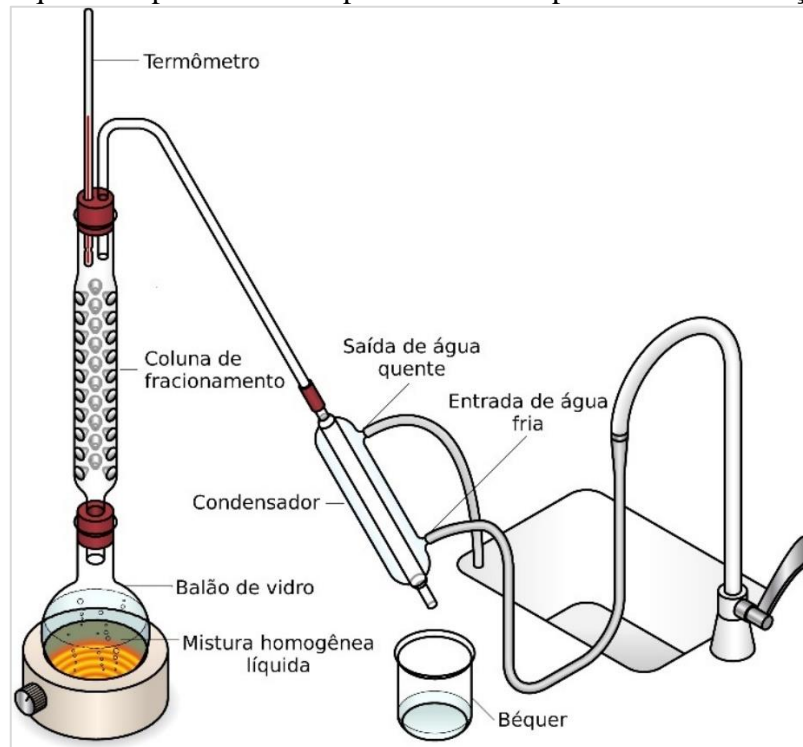
Tabela 4: Características, vantagens e desvantagens do uso de alguns solventes comuns para fracionamento

Solvente	Características	Vantagens	Desvantagens
Água (DAS et al., 2010)	É o solvente mais polar e é utilizado na extração de uma ampla gama de compostos polares.	Dissolve uma ampla gama de substâncias; é barato, não tóxico, não inflamável e altamente polar.	Promove o crescimento de bactérias e fungos; pode causar hidrólise; necessária grande quantidade de calor para concentrar o extrato.
Álcool (DAS et al., 2010)	É de natureza polar, miscível com água e pode extrair metabólitos secundários polares.	É autoconservante em concentração acima de 20%. Não é tóxico em baixa concentração e é necessária uma pequena quantidade de calor para concentrar o extrato.	Não dissolve gorduras, gomas e cera; são inflamáveis e voláteis.
Clorofórmio (COWAN, 1999; TIWARI et al., 2011; PANDEY&TRIPATHI, 2014)	É um solvente apolar e útil na extração de compostos como terpenóides, flavonoides, gorduras e óleos.	É incolor, tem um cheiro doce e é solúvel em álcoois. Também é bem absorvido e metabolizado no organismo.	Possui propriedade sedativa e cancerígena.
Éter (COWAN, 1999; TIWARI et al., 2011; PANDEY&TRIPATHI, 2014)	É um solvente apolar e é útil na extração de compostos como alcaloides, terpenóides, cumarinas e ácidos graxos.	É miscível com água, tem baixo ponto de ebulição e é insípido na natureza. Também é um composto muito estável e não reage com ácidos, bases e metais.	É altamente volátil e inflamável por natureza.
Líquido iônico (solvente verde) (BHAN, 2017)	Este é um solvente de extração único e é altamente polar e extremamente estável ao calor. Pode permanecer em estado líquido mesmo a 3.000 °C e utilizável onde a alta temperatura é aplicável. Possui extrema miscibilidade com água e outros solventes e é muito adequado na extração de compostos polares.	Possui excelente solvente que atrai e transmite micro-ondas e, portanto, é adequado para extração assistida por micro-ondas. Não é inflamável e é útil para extração líquido-líquido e altamente polar.	Não é ideal para preparação de tinturas.

Fonte: Autor (2022)

Na destilação fracionada (Figura 12), o processo de separação ou purificação de compostos de uma mistura é usado na separação de hidrocarbonetos como petróleo bruto, citral e eucaliptol. A purificação é alcançada com base nas diferenças em seus pontos de ebulição (DOUGHARI, 2012).

Figura 12 - Esquema experimental simplificado de um processo de destilação fracionada

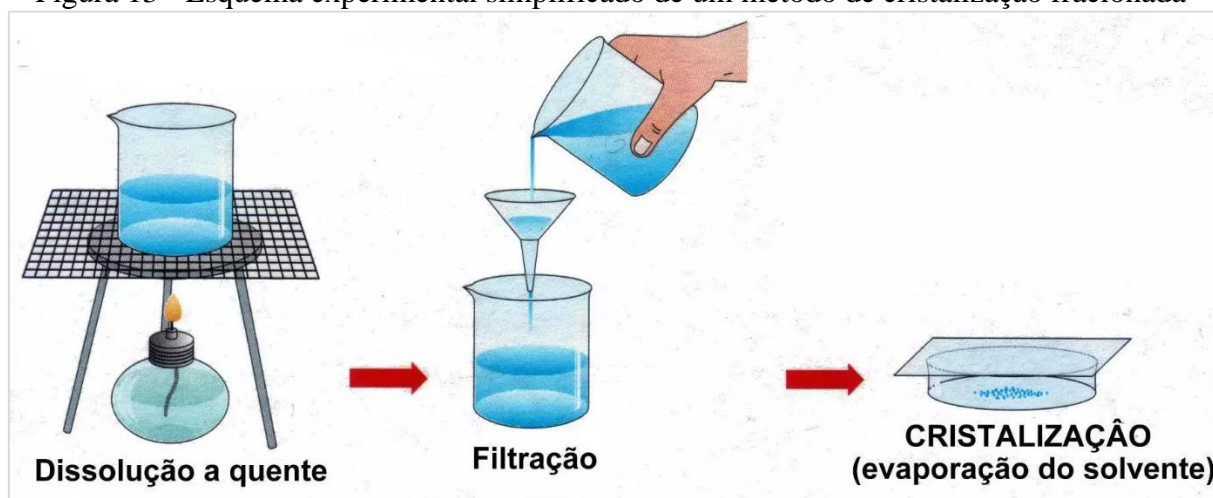


Fonte: <https://www.infoescola.com/quimica/destilacao-fracionada/>

O aparelho de destilação fracionada é construído de tal maneira que, quando o calor é aplicado, cada composto evapora e se separa em seu ponto de ebulição. Conseqüentemente, cada composto fracionado condensará e será coletado como uma entidade separada através de vários sifões ligados ao aparelho de destilação fracionada (DOUGHARI, 2012).

Na cristalização fracionada (Figura 13), um grande número de compostos que existem naturalmente em extratos de plantas é de natureza cristalina. A separação é conseguida através da formação de cristais durante a concentração de um extrato usando calor ou refrigeração. A liberação fracionada é um método adequado para separar compostos que podem facilmente formar precipitados da mistura. O precipitado é geralmente formado pela mudança dos compostos em sua forma de sal. A liberação fracionada é comumente aplicável na purificação de alcaloides (DOUGHARI, 2012).

Figura 13 - Esquema experimental simplificado de um método de cristalização fracionada



Fonte: <https://www.estudopratico.com.br/separacao-dos-tipos-de-misturas-homogeneas-e-heterogeneas/>

A sublimação é um método que envolve a mudança do estado sólido para o gasoso sem passar pelo estado líquido. Substâncias como cânfora e óleos voláteis quando aquecidos são separados e convertidos diretamente em gás (DOUGHARI, 2012).

Com a diversificação do fracionamento e purificação de amostras de extratos vegetais, faz-se necessária formas de separação, e estas são descritas principalmente pelas técnicas cromatográficas.

3.5 Técnicas cromatográficas

As técnicas cromatográficas são técnicas especiais usadas na separação de compostos de misturas com base em seu tamanho, forma e carga. O conceito de cromatografia envolve o uso de uma fase móvel, que é o solvente de extração, e de uma fase estacionária como sílica gel e sephadex misturados com um sulfato de cálcio como aglutinante (HEFTMANN, 2004).

O gel de sílica é usado para separar aminoácidos, açúcares, ácidos graxos, lipídios e alcaloides. Sephadex é aplicável no isolamento de proteínas e aminoácidos. O alumínio é útil na separação de vitaminas, carotenos, fenóis, esteroides e alcaloides. O pó de celulose é usado na separação de aminoácidos, corantes alimentares e alcaloides. A celite é aplicável na separação de cátions orgânicos e esteroides (BANU&CATHRINE, 2015).

Vários mecanismos são foram envolvidos na separação de compostos usando técnicas cromatográficas, a saber, adsorção, partição, afinidade, troca iônica ou exclusão de tamanho. As técnicas cromatográficas incluem PC, TLC, cromatografia em coluna (CC), cromatografia líquida (CL), cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (DOUGHARI, 2012; HEFTMANN, 2004; BANU&CATHRINE, 2015).

O mecanismo de separação envolvido na cromatografia de adsorção consiste em uma câmara de vidro e uma fase estacionária, que é um papel de filtro feito de celulose. O papel de filtro é pendurado na parte superior e suspenso na câmara de vidro (HEFTMANN, 2004).

Na PC, a mistura a ser separada é colocada no fundo do papel de filtro. Além disso, o solvente é então despejado no fundo do recipiente para servir como fase móvel. A fase móvel imediatamente começa a subir junto com o papel filtro; a separação é realizada pelo movimento ascendente da fase móvel via ação capilar. Os compostos que são solúveis vão se mover junto com o solvente e grudar no papel de filtro com base em sua solubilidade (DOUGHARI, 2012; HEFTMANN, 2004; BANU&CATHRINE, 2015).

A velocidade de separação depende do tipo de papel de filtro utilizado. O movimento do líquido e o processo de separação são mais rápidos quando se utiliza papel de filtro espesso, enquanto o papel de filtro poroso retarda todo o processo. A identificação de cada composto separado é feita pelo cálculo do fator de retardo, que é a razão entre a distância percorrida pelo composto e a distância percorrida pelo solvente (DOUGHARI, 2012; HEFTMANN, 2004; BANU&CATHRINE, 2015).

As vantagens desta técnica incluem simplicidade e custo-benefício, além de ser muito sensível a pequena quantidade de material. As desvantagens incluem o consumo de tempo de extração e a fragilidade do papel, que pode ser destruído por produtos químicos (DOUGHARI, 2012; HEFTMANN, 2004; BANU&CATHRINE, 2015).

A TLC é uma técnica que também envolve o uso do mecanismo de adsorção para separar um composto de uma mistura. A separação é baseada na interação entre os compostos em uma mistura e na fase estacionária. É aplicável na separação de compostos de baixo peso molecular (INGLE et al., 2017).

A fase estacionária geralmente é 100g de sílica gel dissolvida em água destilada para formar uma pasta. Enquanto isso, em alguns casos, o Sephadex é aplicável. A solução de gel de sílica é então vertida em uma placa de vidro com dimensão de 20 cm × 20 cm para produzir uma espessura de 1,5 mm. É então mantido por 1h a 105°C para solidificar (HEFTMANN, 2004; INGLE et al., 2017).

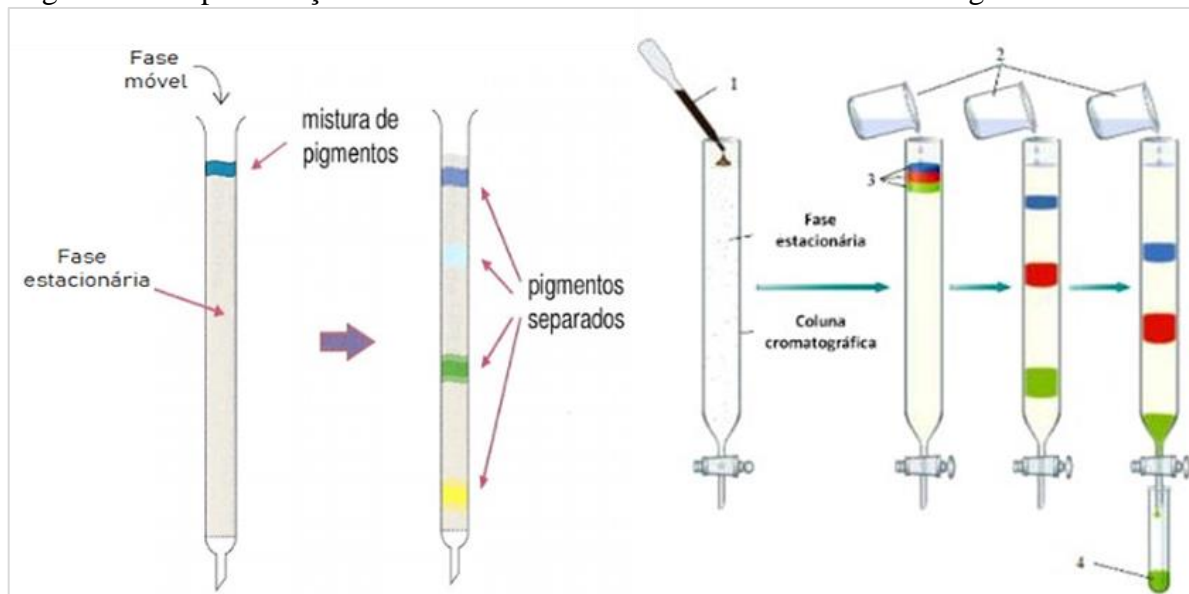
Em seguida, 10 mL de extrato é injetado na parte inferior da placa e espalhado. A placa é então cuidadosamente inserida na câmara de separação contendo a fase móvel e deixada em repouso por 30min. Os compostos contidos na mistura subirão para várias posições na placa com base em sua solubilidade. Cada composto separado é identificado pelo cálculo de seu fator de retardo, que é a razão da distância percorrida pelo composto e a distância percorrida pelo

solvente comparada com a de um composto conhecido (DOUGHARI, 2012; HEFTMANN, 2004; BANU&CATHRINE, 2015).

Os compostos manchados são descartados em diferentes posições usando espátula e finalmente re-extraídos usando vários solventes. As vantagens incluem menor consumo de tempo, produção de manchas claras e estabilidade ao ácido como solvente (INGLE et al., 2017).

A CC envolve o uso de vários mecanismos, como cromatografia de adsorção, peneira molecular e troca iônica para alcançar o resultado desejado. A coluna é composta por um tubo de vidro longo (5–50 mm de diâmetro, 5 cm–1 m de comprimento) com torneira e filtro de lã de vidro na parte inferior (Figura 14). Além disso, sílica gel, alumina, celulose ou Sephadex são usados como fase estacionária, enquanto a fase móvel é líquida (INGLE et al., 2017).

Figura 14 - Representação das fases móvel e estacionária em uma cromatografia em coluna



Fonte: <https://cienciaemacao.com.br/tipos-de-cromatografia/>

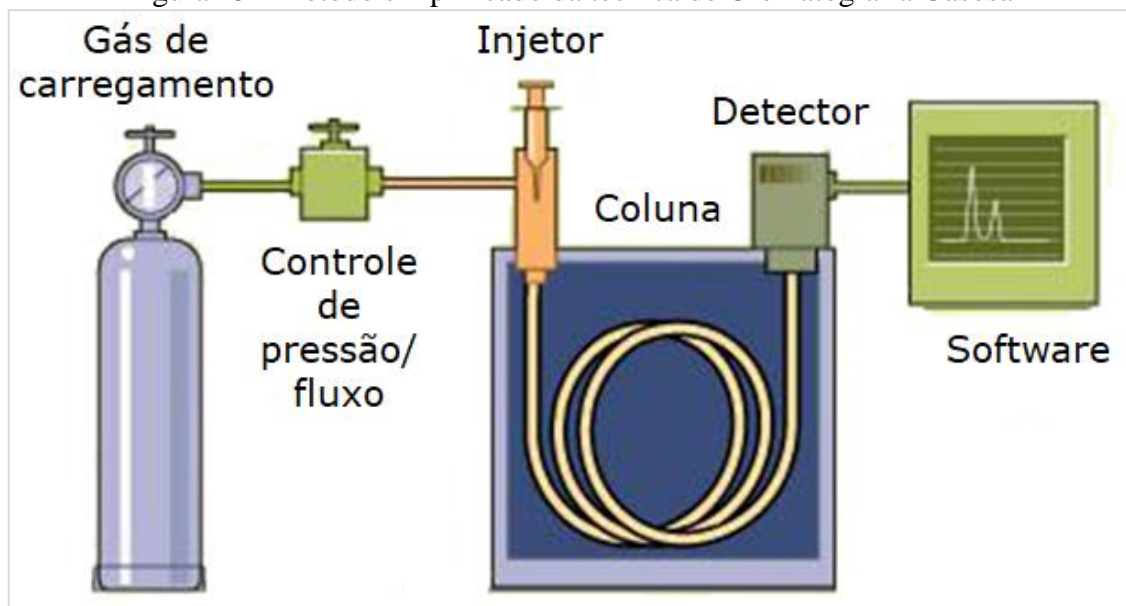
O processo começa com a embalagem de 30g de sílica gel (70/35) em uma coluna de vidro transparente (80cm de comprimento, 5cm de diâmetro) sem a introdução de bolhas de ar. Subsequentemente, o extrato a ser particionado é adicionado a partir do topo. Solvente menos polar (n-hexano) foi adicionado primeiro como uma fase móvel e deixado em repouso por 1 h em uma coluna fechada (INGLE et al., 2017).

O fundo da coluna se abre e várias frações de n -hexano são coletadas em intervalos de tempo. Além disso, adiciona-se outros solventes tais como clorofórmio, acetato de etilo, n -butanol e metanol. Frações desses solventes são coletadas individualmente em diferentes

intervalos de tempo e finalmente caracterizadas (DOUGHARI, 2012; HEFTMANN, 2004; BANU&CATHRINE, 2015).

Na CG (Figura 15), o mecanismo implicado é a partição. Dois solventes imiscíveis são usados: um na forma gasosa (fase móvel) e o outro na forma líquida adsorvido na superfície do sólido inerte para servir como fase estacionária (BANU&CATHRINE, 2015; INGLE et al., 2017).

Figura 15 - Método simplificado da técnica de Cromatografia Gasosa



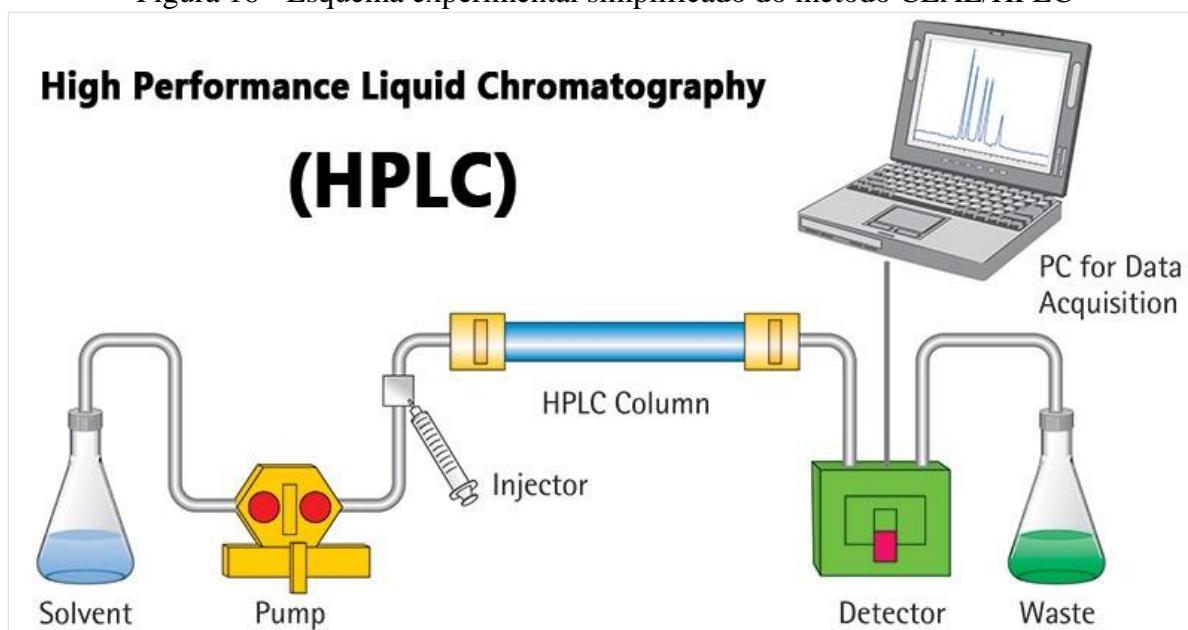
Fonte: <https://www.dctech.com.br/entendendo-um-sistema-de-cromatografia-gasosa-cg/>

Substâncias que são solúveis na fase gasosa deixam o líquido, passando para a fase gasosa e se separando. Da mesma forma, compostos que são solúveis apenas na forma líquida permanecerão na fase estacionária (INGLE et al., 2017).

O gás hélio inerte é usado como fase móvel, com vazão constante. O extrato bruto a ser analisado é primeiro diluído com metanol e injetado no sistema. As vantagens deste método incluem a capacidade de separar material vegetal contaminado com pesticidas voláteis, também utilizados em testes de controle de qualidade (HOSSAIN et al., 2014).

A HPLC (Figura 16) utiliza o mecanismo de adsorção para conseguir uma separação eficaz. É adequado para a partição de compostos orgânicos e inorgânicos. A fase móvel é um solvente adequado, enquanto a fase estacionária são partículas sólidas fortemente unidas. A separação é iniciada via interação dos compostos na mistura com a partícula sólida da fase estacionária (UJANG et al., 2013).

Figura 16 - Esquema experimental simplificado do método CLAE/HPLC



Fonte: <https://pt.linkedin.com/pulse/vantagens-e-limita%C3%A7%C3%B5es-da-t%C3%A9cnica-de-cromatografia-ferreira-costa>

O aparelho consiste em um reservatório de solvente, injetor de amostra, bomba de pressão, tubo HPLC e detector de diodo. O processo começa com a injeção da mistura a ser separada no fundo do HPLC. Além disso, um solvente adequado é despejado no reservatório de solvente. A torneira é agora aberta para permitir o movimento do solvente para baixo, que é então empurrado por uma bomba de pressão para se misturar com a amostra injetada. Por fim, a mistura passa para o detector de diodo, que separa os compostos, remove os resíduos e bombeia o conteúdo final para as unidades de processamento (UJANG et al., 2013).

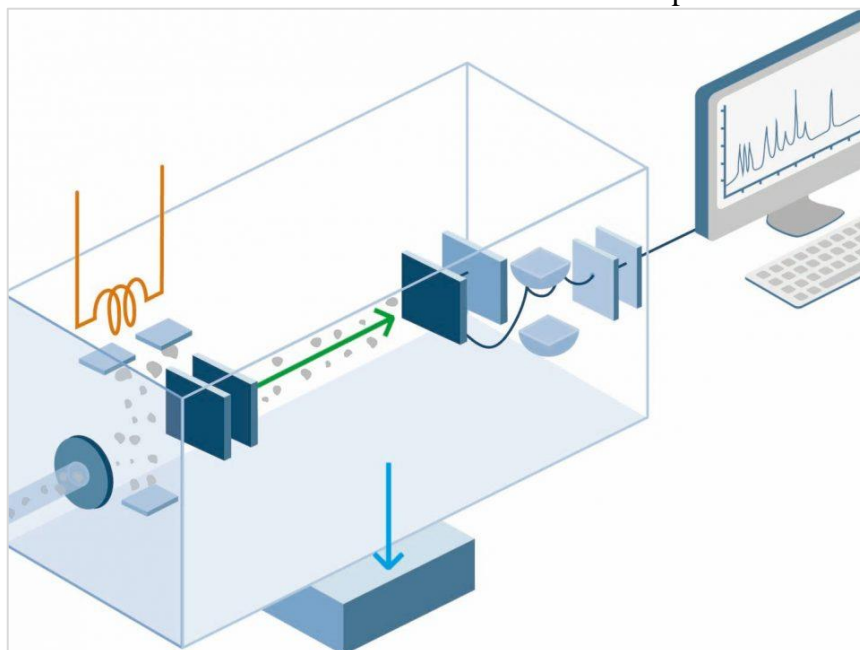
Vários métodos foram utilizados na identificação de compostos de extratos de plantas medicinais, compreendendo a detecção de grupo funcional, presença de múltiplas ligações e anéis, arranjo de hidrogênio e carbono, bem como elucidação estrutural completa. As técnicas utilizadas incluem espectroscopia de massa (EM), espectroscopia ultravioleta (UV), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) e espectroscopia de infravermelho (EI) (ALTEMIMI et al., 2017).

A EM é um método útil na identificação de compostos com base na estrutura química e peso molecular. O objetivo é sequenciar e identificar o composto desconhecido em uma mistura. As substâncias geralmente identificadas incluem oligonucleotídeos e peptídeos (BANU&CATHRINE, 2015).

O processo começa bombardeando uma molécula orgânica com um elétron e converte-o em íons carregados muito energéticos (Figura 17). O sinal foi detectado pela primeira vez

usando energia de ionização de elétrons de 70eV; também, os espectros de amostra são detectados e registrados como porcentagem de pico. Os compostos são identificados com base em sua massa molecular relativa e peso molecular. Isso pode ser alcançado traçando a massa dos íons fragmentados contra as cargas do íon individual (MVS&RAJAGOPAL, 2015).

Figura 17 - Bombardeamento de moléculas na técnica de Espectrometria de Massas

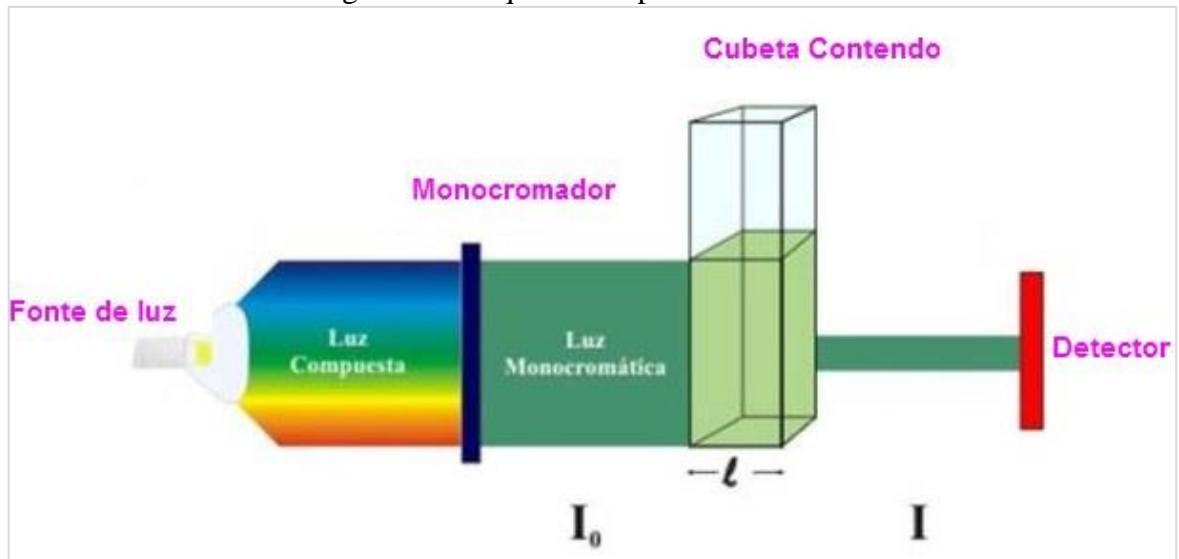


Fonte: <https://revistaanalytica.com.br/o-sistema-de-vacuo-na-espectrometria-de-massas/>

Notavelmente, EM fornece informações abundantes sobre moléculas orgânicas. Portanto, um dos procedimentos padrão no processamento de plantas medicinais é a combinação de EM/CLAE - MS/HPLC (MVS&RAJAGOPAL, 2015).

O UV (Figura 18) é um método adequado para análises qualitativas e quantitativas de compostos presentes no extrato da planta. Vários metabólitos secundários, como fenóis, antocianinas, taninos e corantes poliméricos podem ser detectados em certas frequências. O conteúdo fenólico total e outros metabólitos secundários podem ser estabelecidos usando esta técnica. Frequências específicas foram usadas para identificar flavonoides (320nm), compostos fenólicos (280nm), antocianinas (520nm) e ácidos fenólicos (360nm) (ALTEMIMI et al., 2017).

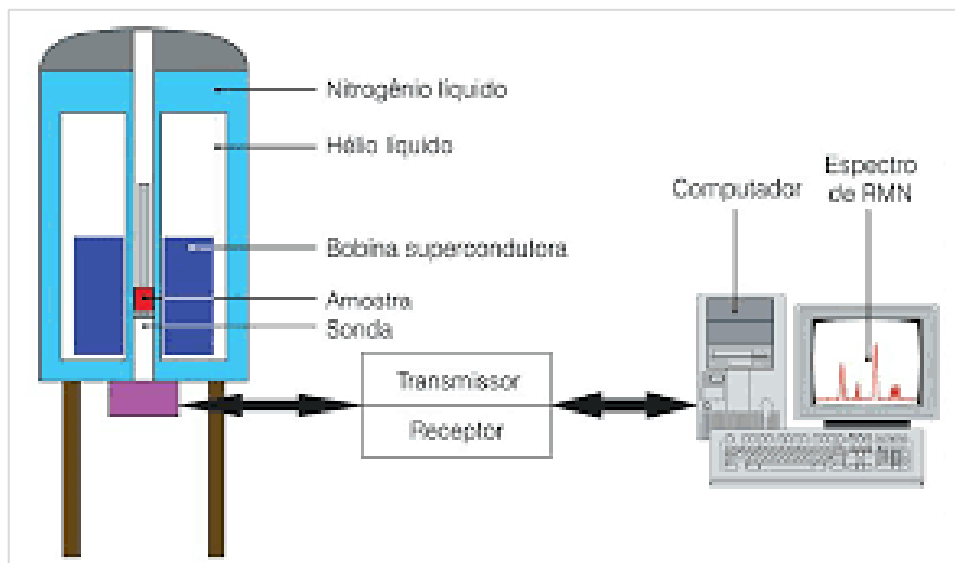
Figura 18 - Esquema simplificado UV-VIS



Fonte: <https://www.splabor.com.br/blog/espectrofotometro-2/espectrofotometro-auxiliando-as-pesquisas-em-amplos-campos-de-atuacao/>

A RMN (Figura 19) presta mais atenção às propriedades físicas da molécula bioativa, como número e disposição do átomo de carbono, presença de isótopos de carbono, átomo de hidrogênio e prótons. Também descreve como os átomos são organizados em uma molécula (MVS&RAJAGOPAL, 2015).

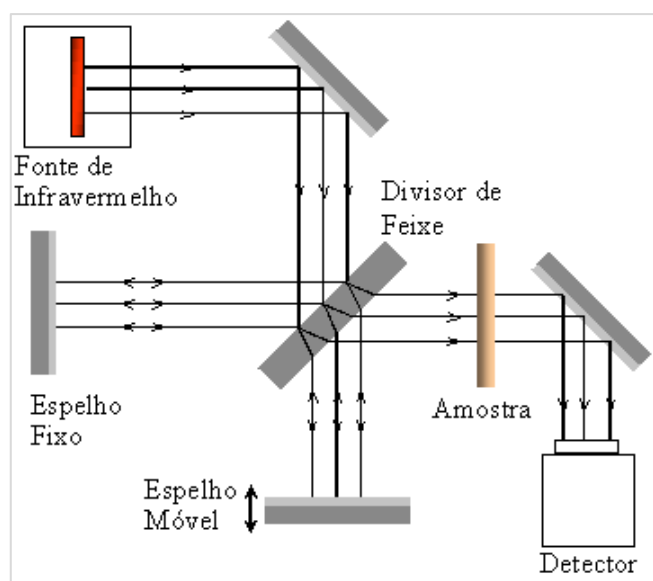
Figura 19 - Técnica de RMN simplificada



Fonte: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/99917/julisse.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

A EI (Figura 20) tenta avaliar grupos funcionais presentes em um composto. O conhecimento do grupo funcional auxilia na definição das propriedades físicas e químicas de um determinado composto. Além disso, ligações simples, duplas e múltiplas são identificadas por meio desse processo (ALTEMIMI et al., 2017).

Figura 20 - Esquema simplificado do EI



Fonte: <https://www.sorocaba.unesp.br/#!/pesquisa/laptec/linhas-de-pesquisa/caracterizacao-de-materiais/ftir/>

A técnica envolve a passagem de um composto orgânico através de radiação infravermelha, que é absorvida em determinadas frequências. As amostras líquidas são identificadas usando placas de cloreto de sódio, enquanto as amostras sólidas são determinadas usando brometo de potássio moído em conjunto e comprimido em um pellet fino. O resultado é registrado como um espectro que é a transmitância percentual. Por último, os espectros são analisados; os picos obtidos em determinado número de onda são comparados com referência padrão (MVS&RAJAGOPAL, 2015).

3.6 *Ixora coccinea*

Ixora é um gênero de plantas com flores da família Rubiaceae que consiste em árvores tropicais perenes que são nativas das regiões tropicais da Ásia (NEELAMEGAM, 2011) compreendendo cerca de 500 espécies diferentes com seu centro de diversidade na Ásia Tropical (VARIER, 2010). O gênero também cresce em climas subtropicais nos Estados Unidos, como a Flórida e é amplamente distribuído em Nigéria (OBUZOR et al., 2011; DONTA; KAMURTHY; MANTRIPRAGADA, 2015).

Embora este gênero seja composto por cerca de 500 espécies, apesar de sua potencialidade fitoconstituente, apenas algumas espécies como *Ixora chinensis* (Figura 21a), *Ixora lutea* (Figura 21b) e *Ixora parviflora* (Figura 21c) (AKTER et al., 2015) estão sendo cultivadas, estudadas e utilizadas (KHARAT et al., 2013).

Figura 21 - (a) *Ixora chinensis*, (b) *Ixora lutea*, (c) *Ixora parviflora*



Fonte: <https://www.mundoecologia.com.br/plantas/quanto-tempo-leva-para-ixora-crescer/>

A palavra “Ixora” foi derivada a partir de uma versão portuguesa de Iswari, que é o nome da Deusa “Parvati” à qual flores de *Ixora coccinea* são oferecidas, enquanto “coccinea” é uma palavra latina que significa cor escarlate (JOSHI, 2013). *Ixora coccinea* Linn (Figura 22), sinônimos de *Ixora grandiflora* Bot e *Ixora bandhuca* Roxbg é conhecida por diferentes nomes como a chama da floresta, gerânio da selva e Ixora vermelha, sendo esta espécie um arbusto perene encontrado em toda a Índia e Sri Lanka (BALIGA&KURIAN, 2012).

Figura 22 - *Ixora coccinea* Linn



Fonte: <https://www.cultivando.com.br/ixora-ixora-coccinea/>

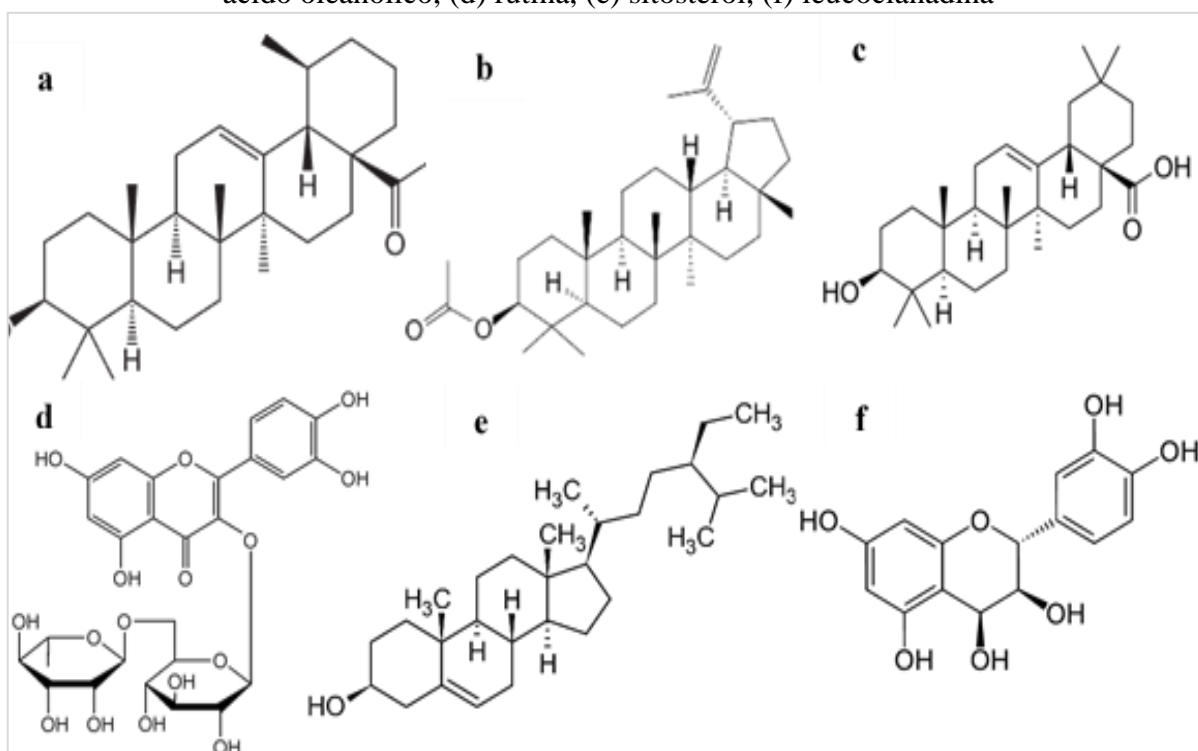
É um arbusto multiramificado, glabro, sempre verde, comumente 1-2 m de altura, mas capaz de atingir até 3,6 m em altura; carregando numerosas flores escarlates brilhantes que estão em corimbiformes densas e sensíveis cimeiras. As folhas são coriáceas, de 2 cm a 15 cm de comprimento, oblongo, séssil ou subséssil e obtuso (KHARAT et al., 2013), crescem em

cachos, encontradas entre abril e maio. Os frutos são carnosos do tamanho de ervilhas, sendo duas bagas com sementes desenvolvidas entre maio e junho (BACHHETI&PANDEY, 2011).

A planta é distribuída preferencialmente em solos ácidos e prospera em solos ácidos úmidos e bem drenados solo com tolerância à sombra (ELUMALAI et al., 2012). Possuindo ampla gama de efeitos biológicos e medicinais, incluindo hepatoprotetor (BALIGA&KURIAN, 2012; ELUMALAI et al., 2012), quimioprotetor (LATHA&PANIKKAR, 2001; LATHA et al., 2004; SUN&PENG, 2008); antimicrobiano (ANNAPURNA et al., 2003; SHARMA&SMITA, 2010); antioxidante, antinociceptivo (RATNASOORIYA et al., 2005), atividades antimitótica, anti-inflamatória, cardioprotetora, antiúlcera, anti-helmíntica, antiasmática, hipolipemiante e hipoglicemiante (VERSIANI et al., 2012).

Uma investigação fitoquímica de *Ixora coccinea* revelou importantes fitoquímicos como ácido ursólico (Figura 23a), lupeol (Figura 23b), ácido oleanólico (Figura 23c), rutina (Figura 23d), sitosterol (Figura 23e), leucocianadina(Figura 23f), antocianinas, proantocianidinas, quercetina e glicosídeos de kaempferol (NAGARAJ et al., 2011), muitos dos que possuem as atividades descritas no parágrafo anterior.

Figura 23 – Fitoquímicos identificados em *Ixora coccinea* (a) ácido ursólico, (b) lupeol, (c) ácido oleanólico, (d) rutina, (e) sitosterol, (f) leucocianadina



Fonte: PubChem (2022)

As raízes de *Ixora coccinea* (Figura 24) são usadas como antisséptico, adstringente, estomacal, sedativo e também no tratamento da disenteria, diarreia e gonorreia; anorexia, soluços, feridas, tosse, febre e úlceras crônicas (ARUNACHALAM et al., 2009).

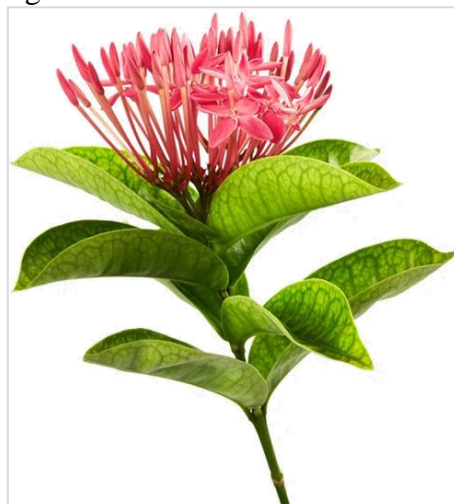
Figura 24 - Raízes de *Ixora coccinea*



Fonte: <https://www.youtube.com/watch?v=uTky8wEf5DM>

Na Península Indochinesa, a raiz processada em decocção é útil para clarear a urina e também como cataplasma; caules e folhas frescas são usados para eczema, entorses, furúnculos e contusões (JOSHI, 2013). As folhas (Figura 25) de *Ixora coccinea* também apresentam propriedades antimicrobianas (MUKESH&SMITA, 2010; BALA et al., 2011), antinociceptivas e anti-inflamatórias (BALIGA&KURIAN, 2012).

Figura 25 - Folhas de *Ixora coccinea*

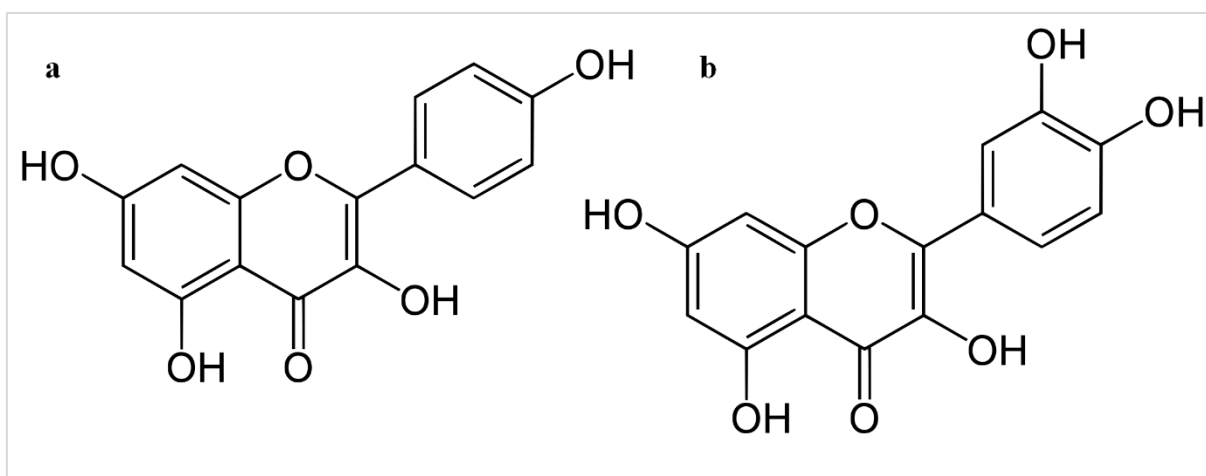


Fonte: <https://br.depositphotos.com/221060354/stock-photo-ixora-coccinea-flower-pink-ixora.html>

Ainda possuindo propriedades antioxidantes (SANKHADIP; SUSHOMASRI; PRANABESH, 2011), atividades anti-helmínticas (SURANA; AHER; PAL, 2011), antileishmania (NASKAR; BHATTACHARYA; BISWAS, 2013), antiasmática (MISSEBUKPO et al., 2011), antidiarreica (PRABHU; YASMEEN; AGASHIKAR, 2010; MANIYAR; BHIXAVATIMATH; AGASHIKAR, 2011), hepatoprotetora (SHYAMAL et al., 2010), citotóxica/antitumoral (SELVARAJ et al.; SARAVANAN&BOOPALAN, 2011), cardioprotetora (FIROZ et al., 2012), anti-úlceras (Arunachalam et al., 2009; PATIBANDLA; NAGARAJU; VINAY, 2014), neuroprotetora (HARISH; SRINATH, 2013), ansiolítica (SHANE; NASIYA; SRI, 2014) e capaz de atuar na cicatrização de feridas (AADESH et al., 2014).

As folhas de *Ixora coccinea* são produtoras de kaemferol (Figura 26a), flavonoides, quercetina (Figura 26b), antrocianidinas, ácidos ferúlicos e outros ácidos fenólicos (PRABHU; YASMEEN; AGASHIKAR, 2010).

Figura 26 – (a) Kaemferol e (b) Quercetina



Fonte: PubChem (2022)

As flores são usadas no tratamento de leucorreia, dismenorreia, hemoptise, disenteria e bronquite catarral (KHARE, 2007; BANERJEE et al., 2011; JOSHI, 2013). O extrato das flores contém flavonoides, triterpenoides e taninos. As flores são usadas topicamente para tratar sarna, feridas, úlceras crônicas e algum tipo de dermatite (SHARMA et al., 2010) e também tradicionalmente para aumentar a sexualidade e o reacender da paixão (SUNITHA; HEMALATHA; BHAGAVANRAJU, 2015).

Nesta parte da espécie são relatados compostos fitoquímicos como rutina, glicosídeo de leucocianidinas, cianidina-3-rutinosídeo e delfinidina monoglicosídeo (BALIGA&KURIAN,

2012; KHARAT et al., 2013), além de antocianinas (TONDON&SHARMA, 2013). Essas antocianinas têm chamado a atenção por seu potencial como fonte de corante natural (DESHPANDE&CHATURVEDI, 2011; DESHPANDE et al., 2010).

Apesar do desenvolvimento na área medicinal nos últimos anos, o tratamento de doenças ainda é um desafio. Doenças de origem inflamatória permanecem com outros um dos principais problemas de saúde (MARTÍNEZ-VÁZQUEZ et al., 2012), sendo de vital importância o estudo da espécie *Ixora coccinea* em tais propriedades pouco exploradas.

3.7 Atividade anti-inflamatória

A inflamação ou flogose é uma reação imunológica de tecidos vivos a lesões que levam ao acúmulo de sangue, fluidos e células. A inflamação é o resultado de uma reação imunológica do nosso corpo em resposta a alérgenos perigosos invasores (GHASEMIAN; OWLIA; OWLIA, 2016). Mesmo sendo uma defesa imunológica, a reação complexa inclui mediadores envolvidos na inflamação que podem induzir muitas doenças (SOSA et al., 2002). Alergias, câncer, doenças autoimunes, síndromes metabólicas e doenças cardiovasculares também estão associadas resposta inflamatória não tratada (GHASEMIAN; OWLIA; OWLIA, 2016).

As substâncias com potencial anti-inflamatório são usadas para atenuar o inchaço e dor de inflamação do tecido. Mas de forma prolongada, o uso de agentes anti-inflamatórios pode produzir toxicidade gastrointestinal, cardiovascular e outras toxicidades. Portanto, uma necessidade de drogas anti-inflamatórias com efeitos colaterais menos graves para uso em doenças inflamatórias crônicas (BOSE et al., 2020). Portanto, nos últimos tempos, há mais interesse em medicamentos tradicionais para o tratamento de várias doenças, mas não há ou há menos evidências científicas (MADHAVI et al., 2012).

Esses agentes infecciosos ou tecidos danificados estimulam a produção de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina e TNF- α que por sua vez regula o aumento da formação de a prostaglandina E2 (PGE2) e a prostaglandina atuam no hipotálamo para elevar a temperatura corporal (SULTANA; ANWAR; ASHRAF, 2015).

Esse aumento da temperatura no corpo, além da faixa fisiológica é chamada de piroxia ou febre. Vários estresses fisiológicos causados por exercício excessivo, infecção microbiana, aumento a secreção do hormônio tireoidiano e lesão do sistema nervoso central predispor piroxia em indivíduos saudáveis (BOSE et al., 2020). A atributos sensoriais e emocionais desagradáveis associados com dano tecidual real ou potencial é denominado como dor (BOSE et al., 2020).

Os nociceptores são os receptores sensoriais da dor, presentes em quase todos os tecidos do corpo e são os principais responsáveis para a condução do impulso nervoso para o sistema nervoso central sistema, mediante estimulação de substâncias químicas, físicas ou estímulos térmicos. Em resposta ao dano de qualquer tecido, vasos sanguíneos, neutrófilos, macrófagos e mastócitos liberam uma ampla variedade de mediadores, como histamina, prostaglandinas, bradicinina, leucotrienos, noradrenalina, citocinas e glutamato (YUNES et al., 2005; DAS; MANDAL, 2018).

Durante o curso da resposta inflamatória, grande quantidade de NO formado por óxido nítrico sintase (iNOS) em macrófagos ativados ultrapassam a quantidade fisiológica de NO, que geralmente são feitos por forma neuronal de NOS (nNOS) ou forma constitutiva de NOS (eNOS), estas são as macromoléculas NO nitrosilatos. Também provocam aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação, tecido e o dano endotelial leva a inflamação, vários estudos *in vivo* mostram que o edema induzido pela substância-P é mediado pela liberação de NO (GUZIK; KORBUT; ADAMEK-GUZIK, 2003)..

O processo inflamatório envolve a atividade de mediadores inflamatórios como como radical livre derivado de neutrófilos, reativo espécies de oxigênio (ROS), óxido nítrico (NO), prostaglandinas e citocinas (UDEGBUNAM et al., 2012). Em resposta à inflamação, dor e pirexia os medicamentos mais utilizados são os anti-inflamatórios não esteroidais, mas estes agentes levam a alguns problemas gastrointestinais e complicações cardiovasculares (SOSTRES et al., 2010).

Ao fim ocorre a lesão tecidual por macromoléculas prejudiciais, peroxidação de membranas lipídicas e danos a tecidos que desempenham papel importante na patogênese de muitas doenças inflamatórias. Então, os radicais livres são importantes mediadores que provocam ou sustentam processos inflamatórios e, conseqüentemente, a sua neutralização por antioxidantes e varredores de radicais podem atenuar a inflamação (CONFORTI et al., 2008).

Daí a busca por outras alternativas parece tão necessária e benéfica. Ervas ou plantas medicinais contêm vários desses componentes que possuem inúmeras atividades farmacológicas. Fenólicos e flavonóides são metabólitos secundários com várias atividades como antioxidante, antimutagênica e anti-inflamatório. Os flavonoides são capazes de inibir a expressão e ativação da iNOS e, portanto, pode ser usado adicionalmente durante a inflamação terapia (GUZIK; KORBUT; ADAMEK-GUZIK, 2003). Assim, o uso de substâncias anti-inflamatórias mostra-se útil para tratar terapêuticamente esta condição patológica (SOSA et al., 2002).

Ainda, a condição oxidativa das respostas inflamatórias apresentam uma gama de radicais livres, incluindo óxido nítrico, radical hidroxila, superóxidos e peroxinitritos em organismos seres vivos. Há uma série de evidências sobre o papel dos radicais livres no desenvolvimento de várias doenças, incluindo câncer, neurodegeneração e inflamação doenças (FERGUSON, 2010; HALLIWELL, 2006).

3.8 Atividade antioxidante

Condições desfavoráveis para as plantas, como temperatura extrema, seca, metais pesados, deficiências de nutrientes e alta salinidade, geram altas concentrações de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem causar estresse oxidativo. Para evitar isso, as células possuem um complexo sistema antioxidante com elementos enzimáticos e não enzimáticos. As moléculas do sistema não enzimático possuem diferentes mecanismos de ação, como inibição enzimática, quelatação de oligoelementos envolvidos na produção de radicais livres, captação e ativação de espécies reativas ou aumento da proteção por meio de outras defesas antioxidantes (BARUA et al., 2014).

Dentre essas moléculas, os compostos derivados do metabolismo secundário, especificamente os compostos fenólicos, desempenham um papel fundamental contra o estresse oxidativo (PANG et al., 2018). Esses compostos são conhecidos por atuar como antioxidantes não apenas por sua capacidade de doar hidrogênio ou elétrons, mas também porque são intermediários radicais estáveis. Os compostos fenólicos também têm efeitos protetores em humanos quando as plantas são consumidas como alimento (NICÍFOROVIĆ et al., 2010).

Os antioxidantes, portanto, ganharam importância para sua capacidade de reduzir essas doenças produz dos radicais livres. Nesse contexto, propriedades antioxidantes de várias plantas medicinais estão sendo investigadas em todo o mundo devido às preocupações toxicológicas associadas aos antioxidantes sintéticos (PESCHEL et al., 2006).

Nos sistemas vivos, os radicais livres são gerados como parte do processo metabólico normal do corpo, e as reações em cadeia de radicais livres são geralmente produzidas na cadeia respiratória mitocondrial, oxidases de função mista do fígado, através da atividade da xantina oxidase, poluentes atmosféricos e de metais de transição, catalisadores, drogas e xenobióticos. Além disso, a mobilização química das reservas de gordura sob várias condições, como lactação, exercício, febre, infecção e até mesmo jejum, pode resultar em aumento da atividade radical e danos (DOSS et al., 2018).

Antioxidantes sintéticos, por exemplo, hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT) são excepcionalmente viáveis e são utilizados para preparação industrial, por

mais que tenham reações colaterais e propriedades tóxicas que influenciar o bem-estar humano. A busca de agentes antioxidantes de plantas fontes naturais vêm ganhando muita consideração e compostos foram colocados em prova reconhecível para analisar antioxidantes alternativos e com menos efeitos colaterais (DHARMASIRI; RATNASOORIYA; THABREW, 2002).

A oxidação é básica para muitos seres vivos para a criação de energia para alimentar processos biológicos. O papel de radicais de oxigênio foi ligado em várias doenças como diabetes, câncer, doenças cardiovasculares, amadurecimento etc. Os antioxidantes que eliminam essas receptivas espécies de oxigênio e radicais livres são vitais no início da prevenção e a manutenção de inúmeras infecções causadas por pressão oxidativa (SURANA; AHER; PAL, 2013; JADHAV, 2020).

Espécies reativas de oxigênio (ERO), como superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila, são continuamente produzidas no corpo humano. Suas funções primárias envolvem sinalização química, desintoxicação, fornecimento de energia e função imunológica (MUHAMMAD et al., 2019).

No entanto, a maior concentração celular de EROS é potencialmente prejudicial para as moléculas biológicas e membranas. As EROs são reguladas por mecanismos de defesa endógenos, incluindo componentes enzimáticos (superóxido dismutase, catalase e peróxidos de gultahione) e não enzimáticos (glutationa, ácido ascórbico, proteínas ligantes de metais, uratos etc.). A falha no mecanismo de defesa, principalmente em condições de estresse, trauma e fisiopatologia, perturba o equilíbrio entre geração e neutralização de EROs, levando a danos celulares e toxicidade. Além disso, as EROs estão fortemente associadas ao diabetes, aterosclerose (MUHAMMAD et al., 2020).

Os antioxidantes reduzem os efeitos nocivos ao doar elétrons ou átomos de hidrogênio aos radicais livres, protegendo assim a integridade e a saúde celular. Esses compostos também podem reparar os danos causados pelas EROs. Os antioxidantes naturais vêm principalmente de plantas na forma de fenóis, flavonoides, ácidos ascórbicos, vitaminas e carotenoides. Esses compostos atuam como sequestradores de radicais livres, agentes redutores, complexantes de pró-oxidantes e supressores de oxigênio singlete (SHAH et al., 2017).

Geralmente, a capacidade antioxidante dos fenóis em extratos vegetais é eficaz em baixas concentrações e, em humanos, está associada à prevenção de doenças cardiovasculares e câncer (DUTHIE et al., 2000; LI et al., 2014; BAIMUS et al., 2016). Assim, estudos para a determinação da atividade antioxidante do extrato de diferentes espécies vegetais podem contribuir para estabelecer o valor dessas espécies como fonte de novos compostos antioxidantes (MILIAUSKAS et al., 2004; GOUTHAMCHANDRA et al., 2010).

Os polifenóis vegetais – compostos hidroxilados aromáticos, estão entre as moléculas mais potentes e terapeuticamente úteis, comumente encontradas em frutas, vegetais e ervas. Esses compostos representam o maior grupo de metabólitos secundários sintetizados por plantas superiores, talvez como resultado da estratégia antioxidante adaptada no processo evolutivo dos organismos (MUHAMMAD et al., 2020). Muitos desses compostos fenólicos são essenciais para a vida das plantas, pois fornecem defesa contra ataques microbianos e tornam seus galhos intragáveis para predadores herbívoros. Estas são as principais propriedades antioxidantes vegetais, contendo grupo(s) hidroxila, que são capazes de neutralizar EROs (KHALAF et al., 2008). Portanto, os polifenóis estão principalmente associados à atividade antioxidante das plantas (TAQVI et al., 2012).

Várias abordagens têm sido usadas para quantificar a atividade antioxidante de extratos vegetais e compostos isolados. Alguns métodos convencionais são baseados em qualquer princípio de eliminação de radicais, como ABTS: ácido 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ORAC: Capacidade de absorção de radicais de oxigênio ou potencial redutor, como FRAP: poder antioxidante redutor férrico), CAET: capacidade antioxidante equivalente Trolox e CAT: capacidade antioxidante total de extratos vegetais. Algumas outras técnicas, incluindo fluorescência, espectroscopia, quimioluminescência e eletroquímica também estão em prática (AHMED et al., 2012).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção do material vegetal

Foram obtidas flores de *Ixora coccinea* L., em janeiro de 2022, coletadas na Universidade Federal do Maranhão e identificadas pelo Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão. O material vegetal foi encaminhado ao Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA), onde foram selecionadas quanto aos aspectos físicos e visuais para posterior preparo dos extratos e fracionamentos.

4.2 Preparos dos extratos e fracionamento

Para o preparo do extrato hidroalcolico utilizou-se 100g do material vegetal, empregou-se o processo de maceração com solvente extrator etanol P.A 70% (v/v) seguindo a proporção 1:10. A solução obtida após 7 dias foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, após o processo o extrato foi liofilizado para posteriores análises (HARBORNE, 1998).

Para o fracionamento foi utilizada a técnica de partição líquido/líquido em funil de decantação, de acordo com a metodologia estabelecida por Queiroz et al. (2001). O extrato liofilizado foi submetido ao particionamento/fracionamento com solventes de polaridade crescente (hexano, acetato de etila, clorofórmio e metanol). O particionamento foi realizado de forma sequencial, onde 10g do extrato bruto seco foram colocados em funil de separação. Todos os solventes foram adicionados por etapa no volume de 200 mL ao sólido extrato bruto. Após a obtenção das frações, essas foram separadas por solvente por evaporador rotativo sob pressão reduzida, posteriormente liofilizadas. Todo particionamento resultou em 4 frações: as frações hexânicas (FHIC), acetato de etila (FAIC), clorofórmio (FCIC) e metanol (FMIC).

4.3 Caracterização química dos extratos

A caracterização química dos extratos e frações foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (CLAE-EM/HPLC-MS).

Amostras liofilizadas (0,5 g) foram extraídas em metanol (62%) e HCl 6 M conforme descrito por Qasim et al. (2019). Após a purga de nitrogênio, as amostras foram submetidas a refluxo por 2 h. Os extratos filtrados foram ajustados para 100 mL com metanol e refiltrados através de um filtro de membrana de 0,45 µm antes de injetar no sistema CLAE/HPLC (Shimadzu). A fase móvel contendo 1% de ácido acético e 70% de metanol foi usada com uma taxa de fluxo de 0,8 mL min⁻¹ (QASIM et al., 2017). O programa gradiente foi seguido

por Qasim et al. (2019). Os compostos fenólicos foram investigados comparando o tempo de retenção e espectros UV-Vis dos picos cromatográficos com os padrões de referência autênticos em 280 nm.

4.4 Avaliação da atividade antioxidante por eliminação de radicais hidroxila ($R-OH\cdot$)

A atividade antioxidante foi feita pelo método espectrofotométrico de eliminação de radicais hidroxila do ácido salicílico conforme os métodos descritos por Smirnoff&Cumbes (1989) e Sundarajan et al. (2016). Os extratos hidroalcoólicos em diferentes concentrações de 10-500 ppm foram dissolvidos em tampão fosfato salino (PBS). Foram adicionadas a essas concentrações 1 mL de ácido salicílico (9 mM), 1 mL de sulfato ferroso (9 mM) e 1 mL de peróxido de hidrogênio (9 mM). Utilizou-se ácido ascórbico como padrão positivo. A mistura reacional foi incubada durante 60 min a 37 °C em banho-maria; após a incubação, a absorbância das misturas foi medida a 510 nm em espectrofotômetro UV/VIS. A eliminação de radicais hidroxila foi expressa em percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE_{50}/IC_{50}) e 90% (CE_{90}/IC_{90}) capazes de inibir 50% e 90%, respectivamente, da eliminação foi expressa em ppm.

4.5 Avaliação da atividade antioxidante por eliminação de radicais ABTS

A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)], foi adaptada conforme a metodologia sugerida por RE et al. (1999). A partir das concentrações dos extratos e frações (5 a 150 ppm) preparou-se a mistura reacional com o cátion radical ABTS. Em ambiente escuro foi transferida uma alíquota de 30 μ L de cada concentração das amostras contendo 3,0 mL do cátion radical ABTS e homogeneizou em agitador de tubos e após 6 minutos realizou-se a leitura da absorbância da mistura reacional em espectrofotômetro em comprimento de 734 nm. As análises foram realizadas em triplicata. A eliminação de radicais ABTS foi expressa em percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE_{50}/IC_{50}) e 90% (CE_{90}/IC_{90}) capazes de inibir 50% e 90%, respectivamente, da eliminação foi expressa em ppm.

4.6 Avaliação da atividade antioxidante por eliminação de radicais DPPH

O método utilizado para determinar a capacidade antioxidante dos extratos e frações foi adaptado de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). 50 μ L dos extratos e frações foram misturados com 950 μ L de etanol, 2 mL de solução de radical DPPH, perfazendo 4 mL com etanol, com posterior homogeneização. A mistura foi deixada a reagir no escuro durante 30 minutos. A absorção de amostras (As) foi registrada em 517 nm em um espectrofotômetro UV-

Vis. A eliminação de radicais DPPH foi expressa em percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE_{50}/IC_{50}) e 90% (CE_{90}/IC_{90}) capazes de inibir 50% e 90%, respectivamente, da eliminação foi expressa em ppm.

4.7 Atividade anti-inflamatória total por desnaturação proteica de albumina

A atividade anti-inflamatória foi avaliada pelo método de desnaturação proteica de albumina por degradação térmica (PADMANABHAN&JANGLE, 2012). A mistura reacional (4000 μ L) consistiu em 2000 μ L de diferentes concentrações dos extratos hidroalcoólicos (100-500 ppm) diluídos em PBS e 2000 μ L de uma solução a 10% de albumina diluída em PBS e incubada a (37 ± 1) °C por 15 minutos. A desnaturação foi induzida mantendo a mistura de reação a 70°C em banho-maria por 10 minutos. Após o resfriamento, a absorbância foi medida em 660 nm em espectrofotômetro UV/VIS. A inibição da desnaturação proteica foi expressa em percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE_{50}/IC_{50}) capaz de inibir 50% da desnaturação foi expressa em ppm.

4.8 Atividade antiartrítica por degradação de albumina sérica bovina

A avaliação da atividade antiartrítica foi executada por degradação de albumina sérica bovina (HASAN et al., 2015). A mistura de reação (500 μ L) continha 450 μ L de albumina sérica bovina (5%) e 50 μ L de diferentes concentrações (10-100 ppm) dos extratos hidroalcoólicos diluídos em PBS. Todas as soluções foram ajustadas para pH 6,3 por HCl 1 N. As amostras foram incubadas em estufa a 37° C por 20 min e aquecidas a 57 °C por 3 min em banho-maria. Para os controles positivo e negativo, respectivamente, foram utilizados 50 μ L de água destilada e 500 μ L de albumina sérica bovina (5%). Em seguida, foi adicionado PBS (2500 μ L) as amostras e a absorbância das mesmas foram medidas a 660 nm em espectrofotômetro UV/VIS. A inibição da degradação de albumina sérica bovina foi expressa em percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE_{50}/IC_{50}) capaz de inibir 50% da desnaturação foi expressa em ppm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO A REVISTA CIÊNCIA E NATURA

CIÊNCIA^eNATURA



UFSM



QUALIS NOVO ÚNICO EXTRATO 2019-2021:

A3

ISSN:

2179-460X

- Os resultados deste estudo foram submetidos no formato de artigo original a revista Ciência e Natura em 2022.

Avaliação dos potenciais antioxidante, anti-inflamatório e antiartrítico de extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L.

Gustavo Oliveira Everton¹, Ana Patrícia Matos Pereira¹,
Maria Giullia Alves Carneiro Felizardo¹, Thaylanna Pinto de
Lima¹, Brendha Araújo de Sousa¹, Rodrigo de Aquino
Almeida¹, Cassiano Vasques de Sousa¹, Marcelle Adriane
Ataide Matos¹, Beatriz Jardim Rodrigues das Chagas¹
, Victor Elias Mouchrek Filho¹

¹ Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil

ABSTRACT

This study evaluates the antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic properties of hydroalcoholic extracts and fractions of *Ixora coccinea* L. Hydroalcoholic extracts were obtained by maceration process of *Ixora coccinea* flowers, and fractions by liquid/liquid partition. Chemical characterization was performed by High Efficiency Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (HPLC/MS). Evaluation tests of antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic activity were performed. The Effective Concentration -EC₅₀ was quantified to classify the potential of the chemical and biological activities evaluated. HPLC/MS quantified catechol as the major component of hydroalcoholic extract (59.50%). In the antioxidant assay, all EC₅₀ ranged from 6.45 to 87.15 ppm, classifying all concentrations observed as very active. For the anti-inflammatory assay, the EC₅₀ ranged from 32.27 to 198.06 ppm. For the antiarthritic assay, the EC₅₀ ranged from 10.76 to 66.02 ppm. Finally, the chemical characterization proved bioactive components in the composition of hydroalcoholic extracts and fractions, since they demonstrated excellent antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic capacity, being of vital importance for following bioassays in the formulation of products derived from this extract.

Keywords: Doenças; Frações; *Ixora*; Antioxidante.

RESUMO

Este estudo avaliou as propriedades antioxidante, anti-inflamatória e antiartrítica de extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L. Os extratos hidroalcoólicos foram obtidos por processo de maceração das flores de *Ixora coccinea*, e as frações por partição líquido/líquido. A caracterização química foi executada através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (CLAE/EM). Foram realizados ensaios de avaliação de atividade antioxidante, anti-inflamatória e a atividade antiartrítica. Quantificou-se a Concentração Efetiva - CE₅₀ para classificação do potencial das

atividades químicas e biológicas avaliadas. Através da CLAE/EM quantificou-se o catecol como componente majoritário do extrato hidroalcolico (59,50%). No ensaio antioxidante, todas CE_{50} variaram entre 6,45 a 87,15 ppm, classificando todas as concentrações observadas como muito ativas. Para o ensaio anti-inflamatório, as CE_{50} variaram entre 32,27 a 198,06 ppm. Para o ensaio antiartrítico, as CE_{50} variaram entre 10,76 a 66,02 ppm. Por fim, a caracterização química comprovou componentes bioativos na composição dos extratos hidroalcolicos e frações, visto que as mesmas demonstraram excelente capacidade antioxidante, anti-inflamatória e antiartrítica, sendo de vital importância para bioensaios seguintes na formulação de produtos derivados deste extrato.

Palavras-chave: Doenças; Frações; Ixora; Antioxidante.

1 INTRODUÇÃO

A oxidação é básica para muitos seres vivos para a criação de energia para alimentar processos biológicos. O papel dos radicais de oxigênio está diretamente relacionado a várias doenças como diabetes, câncer, doenças cardiovasculares, etc. Os antioxidantes que eliminam essas receptivas espécies de oxigênio e radicais livres são vitais no início da prevenção/manutenção de inúmeras infecções causadas por pressão oxidativa (SURANA; AHER; PAL, 2013; JADHAV, 2020).

Geralmente, a capacidade antioxidante dos fenóis em extratos vegetais é eficaz em baixas concentrações e, em humanos, está associada à prevenção de doenças cardiovasculares e câncer (DUTHIE et al., 2000; LI et al., 2014; BAIMUS et al., 2016). Assim, estudos para a determinação da atividade antioxidante de diferentes espécies vegetais podem contribuir para estabelecer o valor dessas espécies como fonte de novos compostos antioxidantes (MILIAUSKAS et al., 2004; GOUTHAMCHANDRA et al., 2010).

Os polifenóis vegetais – compostos hidroxilados aromáticos, estão entre as moléculas mais potentes e terapeuticamente úteis, comumente encontradas em frutas, vegetais e ervas. Esses compostos representam o maior grupo de metabólitos secundários sintetizados por plantas superiores, talvez como resultado da estratégia antioxidante adaptada no processo evolutivo dos organismos (MUHAMMAD et al., 2020).

Como intensificação da resposta a essa problemática, temos a aplicação de extratos bioativos de plantas medicinais como objeto de vários estudos. Esses representam soluções baratas e ecológicas para solucionar os diversos danos ambientais e econômicos (CHINNAMUTHU et al., 2009). Na busca realizada no espectro de estudos divulgados, algumas espécies medicinais se apresentam com potenciais significativos, com destaque para *Ixora coccinea*, alvo deste estudo, em virtude de seus amplos potenciais biológicos, mas ainda pouco estudadas com relação às suas investigações de amplo espectro para atividades anti-inflamatórias e antiartríticas.

Nessa perspectiva, os resultados provenientes desta pesquisa poderão trazer contribuições importantes para prevenção e tratamento de doenças ligadas a respostas inflamatória como artrite, diabetes, doenças cardiovasculares, alergias, câncer, doenças autoimunes, síndromes metabólicas e doenças cardiovasculares, bem como a aplicação de um bioproduto com potencial de mercado, mais seguro, eficaz, livre de toxicidade e econômico. Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar os potenciais antioxidante, anti-inflamatório e antiartrítico de extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material vegetal

Foram obtidas flores de *Ixora coccinea* L., em janeiro de 2022, coletadas na Universidade Federal do Maranhão e identificadas pelo Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão. O material vegetal foi encaminhado ao Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA), onde posteriormente preparados os extratos hidroalcoólicos e fracionamentos.

Preparos dos extratos e fracionamento

Para o preparo do extrato hidroalcolico utilizou-se 100g do material vegetal, empregou-se o processo de maceração com solvente extrato etanol P.A 70% (v/v) seguindo a proporção 1:10. A solução obtida após 7 dias foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, após o processo o extrato foi liofilizado para posteriores análises (HARBORNE, 1998).

Para o fracionamento foi utilizada a técnica de partição líquido/líquido em funil de decantação, de acordo com a metodologia estabelecida por Queiroz et al. (2001). O extrato liofilizado foi submetido ao particionamento/fracionamento com solventes de polaridade crescente (hexano, acetato de etila, clorofórmio e metanol). O particionamento foi realizado de forma sequencial, onde 10g do extrato bruto seco foram colocados em funil de separação. Todos os solventes foram adicionados por etapa no volume de 200 mL ao sólido extrato bruto. Após a obtenção das frações, essas foram separadas por solvente por evaporador rotativo sob pressão reduzida, posteriormente liofilizadas. Todo particionamento resultou em 4 frações: as frações hexânicas (FHIC), acetato de etila (FAIC), clorofórmio (FCIC) e metanol (FMIC).

Caracterização química dos extratos

A caracterização química dos extratos e frações foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (CLAE-EM/HPLC-MS).

Amostras liofilizadas (0,5 g) foram extraídas em metanol (62%) e HCl 6 M conforme descrito por Qasim et al. (2019). Após a purga de nitrogênio, as amostras foram submetidas a refluxo por 2 h. Os extratos filtrados foram ajustados para 100 mL com metanol e refiltrados através de um filtro de membrana de 0,45 μm antes de injetar no sistema CLAE/HPLC (Shimadzu). A fase móvel contendo 1% de ácido acético e 70% de metanol foi usada com uma taxa de fluxo de 0,8 mL min^{-1} (QASIM et al., 2017). O programa gradiente

foi seguido por Qasim et al. (2019). Os compostos fenólicos foram investigados comparando o tempo de retenção e espectros UV-Vis dos picos cromatográficos com os padrões de referência autênticos em 280 nm.

Atividade antioxidante por eliminação de radicais hidroxila (R-OH·)

A atividade antioxidante foi feita pelo método espectrofotométrico de eliminação de radicais hidroxila do ácido salicílico conforme os métodos descritos por Smirnoff&Cumbes (1989) e Sundarajan et al. (2016). Os extratos hidroalcoólicos em diferentes concentrações de 10-500 ppm foram dissolvidos em tampão fosfato salino (PBS). Foram adicionadas a essas concentrações 1 mL de ácido salicílico (9 mM), 1 mL de sulfato ferroso (9 mM) e 1 mL de peróxido de hidrogênio (9 mM). Utilizou-se ácido ascórbico como padrão positivo. A mistura reacional foi incubada durante 60 min a 37 °C em banho-maria; após a incubação, a absorbância das misturas foi medida a 510 nm em espectrofotômetro UV/VIS. A eliminação de radicais hidroxila foi expressa em percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE₅₀/IC₅₀) e 90% (CE₉₀/IC₉₀) capazes de inibir 50% e 90%, respectivamente, da eliminação foi expressa em ppm.

Atividade antioxidante por eliminação de radicais ABTS

A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)], foi adaptada conforme a metodologia sugerida por RE et al. (1999). A partir das concentrações dos extratos e frações (5 a 150 ppm) preparou-se a mistura reacional com o cátion radical ABTS. Em ambiente escuro foi transferida uma alíquota de 30 µL de cada concentração das amostras contendo 3,0 mL do cátion radical ABTS e homogeneizou em agitador de tubos e após 6 minutos realizou-se a leitura da absorbância da mistura reacional em espectrofotômetro em comprimento de 734 nm. As análises foram realizadas em triplicata. A eliminação de radicais ABTS foi expressa em

percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE₅₀/IC₅₀) e 90% (CE₉₀/IC₉₀) capazes de inibir 50% e 90%, respectivamente, da eliminação foi expressa em ppm.

Atividade antioxidante por eliminação de radicais DPPH

O método utilizado para determinar a capacidade antioxidante dos extratos e frações foi adaptado de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). 50 µL dos extratos e frações foram misturados com 950 µL de etanol, 2 mL de solução de radical DPPH, perfazendo 4 mL com etanol, com posterior homogeneização. A mistura foi deixada a reagir no escuro durante 30 minutos. A absorção de amostras (As) foi registrada em 517 nm em um espectrofotômetro UV-Vis. A eliminação de radicais DPPH foi expressa em percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE₅₀/IC₅₀) e 90% (CE₉₀/IC₉₀) capazes de inibir 50% e 90%, respectivamente, da eliminação foi expressa em ppm.

Atividade anti-inflamatória total por desnaturação proteica de albumina

A atividade anti-inflamatória foi avaliada pelo método de desnaturação proteica de albumina por degradação térmica (PADMANABHAN&JANGLE, 2012). A mistura reacional (4000 µL) consistiu em 2000 µL de diferentes concentrações dos extratos hidroalcoólicos (100-500 ppm) diluídos em PBS e 2000 µL de uma solução a 10% de albumina diluída em PBS e incubada a (37±1) °C por 15 minutos. A desnaturação foi induzida mantendo a mistura de reação a 70°C em banho-maria por 10 minutos. Após o resfriamento, a absorbância foi medida em 660 nm em espectrofotômetro UV/VIS. A inibição da desnaturação proteica foi expressa em percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE₅₀/IC₅₀) capaz de inibir 50% da desnaturação foi expressa em ppm.

Atividade antiartrítica por degradação de albumina sérica bovina

A avaliação da atividade antiartrítica foi executada por degradação de albumina sérica bovina (HASAN et al., 2015). A mistura de reação (500 µL) continha 450 µL de albumina sérica bovina (5%) e 50 µL de diferentes concentrações (10-100 ppm) dos extratos hidroalcoólicos diluídos em PBS. Todas as soluções foram ajustadas para pH 6,3 por HCl 1 N. As amostras foram incubadas em estufa a 37° C por 20 min e aquecidas a 57 °C por 3 min em banho-maria. Para os controles positivo e negativo, respectivamente, foram utilizados 50 µL de água destilada e 500 µL de albumina sérica bovina (5%). Em seguida, foi adicionado PBS (2500 µL) as amostras e a absorbância das mesmas foram medidas a 660 nm em espectrofotômetro UV/VIS. A inibição da degradação de albumina sérica bovina foi expressa em percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE₅₀/IC₅₀) capaz de inibir 50% da desnaturação foi expressa em ppm.

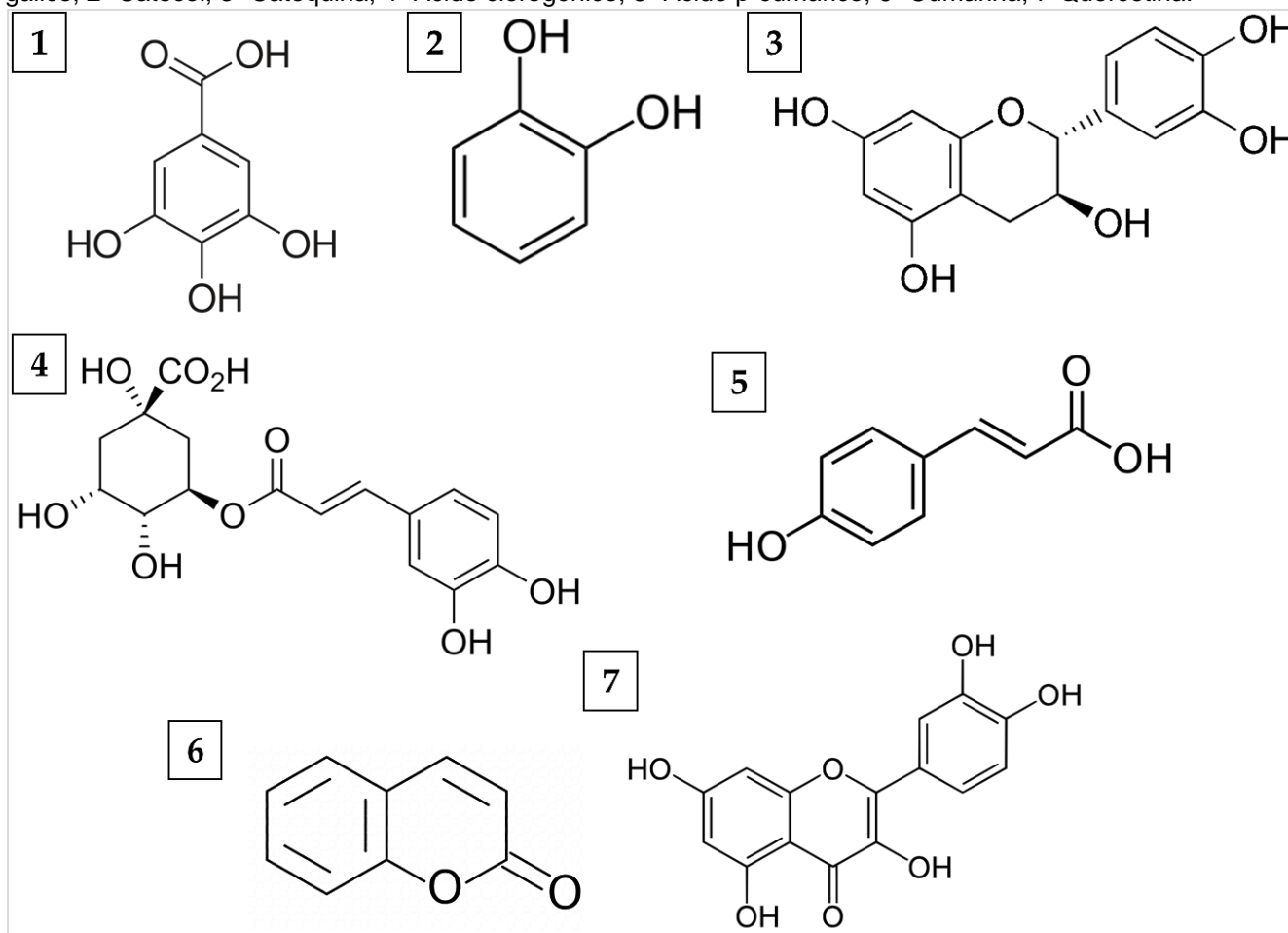
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização química do extrato hidroalcoólico e frações

A Figura apresenta as estruturas químicas dos compostos identificados na amostra de *I. coccinea* posteriormente descritos nomeadamente na Tabela 1.

Várias atividades biológicas e farmacêuticas dos compostos observados na Tabela foram relatadas na literatura. Compostos como catecol apresenta fortes efeitos antioxidantes, antiplaquetários, anti-inflamatórios antimicrobianos e neuroprotetores (KOCACALISKANA et al., 2006; ZHANG et al., 2014). O ácido clorogênico é um forte agente anticancerígeno, hepatoprotetor, antibacteriano e antiviral (NIGGEWEG et al., 2004). A quercetina é usada para tratar o endurecimento das artérias, diabetes, úlcera péptica, problemas cardiovasculares, infecções da próstata, catarata e asma (HIRPARA et al., 2009).

Figura 1 - Estruturas dos compostos químicos identificados no extrato hidroalcolóico de *Ixora coccinea*: 1 -Ácido gálico; 2- Catecol; 3- Catequina; 4- Ácido clorogênico; 5- Ácido p-cumárico; 6- Cumarina; 7-Quercetina.



Fonte: Autor (2022)

A Tabela 1 apresenta os compostos químicos identificados no extrato hidroalcolóico de *Ixora coccinea*.

Além disso, esses compostos e seus derivados podem proteger os nutrientes essenciais dos produtos alimentícios da oxidação e infecções microbianas e, portanto, são utilizados como aditivos em diferentes indústrias de alimentos (SANCHES-SILVA et al., 2014). Outros compostos fenólicos identificados, incluindo ácido gálico, catequina, cumarina e ácido p-cumárico, também são relatados como antioxidantes, antimicrobianos, antimaláricos, anti-inflamatórios, antitumorais, neuroprotetores, antifomadores de placa, hipotensores, antivirais, hipoglicêmicos e outras bioatividades (KASTURE et al., 2009).

Tabela 1 - Compostos químicos identificados no extrato hidroalcolóico de *Ixora coccinea*

Pico	Nome	tr (min)	MM	EBIC	FHIC	FAIC	FCIC	FMIC
1	Ácido gálico	11,84	170,12	0,34 ^a (1,28) ^b	-	-	0,47 ^a (1,84) ^b	0,11 ^a (5,68) ^b
2	Catecol	15,13	110,10	15,82 ^a (59,50) ^b	0,36 ^a (57,86) ^b	0,37 ^a (30,94) ^b	10,82 ^a (41,92) ^b	0,04 ^a (2,27) ^b
3	Catequina	23,22	290,26	3,27 ^a (12,30) ^b	-	-	7,04 ^a (27,29) ^b	0,02 ^a (1,14) ^b
4	Ácido clorogênico	27,05	354,31	6,40 ^a (24,09) ^b	0,24 ^a (38,13) ^b	0,59 ^a (48,95) ^b	5,13 ^a (19,87) ^b	0,76 ^a (40,91) ^b
5	Ácido p-cumárico	35,01	164,04	0,43 ^a (1,61) ^b	-	0,21 ^a (17,83) ^b	1,52 ^a (5,88) ^b	0,23 ^a (12,50) ^b
6	Cumarina	41,98	146,14	0,14 ^a (0,51) ^b	-	-	0,79 ^a (3,06) ^b	0,46 ^a (25,00) ^b
7	Quercetina	61,99	302,24	0,19 ^a (0,71) ^b	0,03 ^a (4,01) ^b	0,03 ^a (2,27) ^b	0,04 ^a (0,15) ^b	0,23 ^a (12,50) ^b

Nota: tr – tempo de retenção; MM- massa molecular; EBIC – extrato bruto *Ixora coccinea*; FHIC-fração hexano *Ixora coccinea*; FAIC- fração acetato de etila *Ixora coccinea*; FCIC- fração clorofórmio *Ixora coccinea*; FMIC-fração metanol *Ixora coccinea*; a- mg g⁻¹ equivalente de extrato; b-percentual de composição.

Efeito antioxidante

A Tabela 2 apresenta os valores de CE₅₀ e CE₉₀ para ação antioxidante de *Ixora coccinea* frente aos métodos de eliminação de radicais hidroxila (R-OH), ABTS e DPPH.

Tabela 2 - Capacidade antioxidante do extrato hidroalcoólico e frações frente aos métodos de eliminação de radicais hidroxila (R-OH), ABTS e DPPH

Espécie	ID	CE ₅₀ ppm	CE ₉₀ ppm	δ	χ ²	R ²
R-OH	EBIC	62,81	89,05	0,254	0,9916	0,9906
	FHIC	79,23	121,34	0,211	0,9911	0,9701
	FAIC	12,91	19,86	0,154	0,9978	0,9950
	FCIC	55,80	74,29	0,124	0,9912	0,9852
	FMIC	38,21	61,53	0,144	0,9947	0,9712
ABTS	EBIC	69,09	97,96	0,468	0,9921	0,9911
	FHIC	87,15	133,47	0,425	0,9916	0,9706
	FAIC	14,20	21,84	0,368	0,9983	0,9955
	FCIC	61,38	81,72	0,338	0,9917	0,9857
	FMIC	42,03	67,69	0,358	0,9952	0,9717
DPPH	EBIC	31,40	44,53	0,354	0,9920	0,9910
	FHIC	39,61	60,67	0,311	0,9915	0,9705
	FAIC	6,45	9,93	0,254	0,9982	0,9954
	FCIC	27,90	37,15	0,224	0,9916	0,9856
	FMIC	19,11	30,77	0,244	0,9951	0,9716

Nota: EBIC – extrato bruto *Ixora coccinea*; FHIC-fração hexano *Ixora coccinea*; FAIC- fração acetato de etila *Ixora coccinea*; FCIC- fração clorofórmio *Ixora coccinea*; FMIC-fração metanol *Ixora coccinea*

Conforme observado na Tabela 2, as CE₅₀ variaram entre 6,45 a 87,15 ppm, classificando todas as concentrações observadas como muito ativas, segundo o critério de Campos et al. (2003). A fração FAIC demonstrou melhor atividade antioxidante, visto que quanto menor a CE₅₀ melhor será seu potencial antioxidante, e a mesma apresenta os menores valores observados para os três métodos testados.

O potencial antioxidante das flores de *Ixora coccinea* é afirmado por Bose et al. (2013) e Haridass et al. (2012) ao relatarem forte eliminação de radicais livres e atividades de redução de energia, quando estes foram extraídos em metanol e acetato de etila, conforme também

observado neste estudo. Janarny et al. (2021) também relataram o potencial antioxidante com uma CE_{50} de 74,6 mg L⁻¹ por DPPH ao analisarem o extrato hidrometanoico das flores. Porém, ao compararmos o extrato bruto metanoico dos autores à fração metanoica obtida neste estudo, pode-se afirmar que os resultados apresentados para fração se demonstram superiores aos observados na literatura.

Torey et al. (2010) relataram atividade sequestradora de radicais DPPH de diferentes partes de *Ixora coccinea*, onde os extratos das flores mostraram atividade comparável ao antioxidante padrão BHT. De forma similar, Saha et al. (2008) relataram a CE_{50} do extrato metanoico de flores de *Ixora coccinea*, que se aproximou mais do ácido ascórbico em teste frente ao radical DPPH. Evidências crescentes mostram que o metanol e o acetato de etila são os solventes adequados para extrair o máximo de compostos antioxidantes (KHAN et al., 2012; QASIM et al., 2016).

Tal atividade dos polifenóis se deve à sua capacidade de doar hidrogênio ou elétron para as espécies reativas, que é governada pela presença de anéis fenil estruturais e grupos hidroxila. Portanto, os polifenóis protegem o corpo dos radicais livres prejudiciais, fornecem defesa contra patógenos e desintoxicam substâncias nocivas (GANESAN&XU, 2017; PALTINEAN et al., 2017).

Além disso, esses compostos demonstram múltiplas bioatividades, incluindo propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, antivirais, hepatoprotetoras, neuroprotetoras, cardioprotetoras e anticancerígenas. Da mesma forma, a presença de vários fenólicos bioativos e flavonoides de *Ixora coccinea* contribuem para o potencial antioxidante como relatado (BARROWCLOUGH, 2015).

No geral, o extrato etanoico contribui com uma atividade antioxidante significativamente maior, e o mesmo foi mostrado para estudos de toxicidade celular (SHREELAKSHMI et al., 2021). Tanto radicais livres quanto oxigênio ativo têm sido reconhecidos como responsáveis por doenças relacionadas ao patógeno em humanos (MOSKOVITZ et al., 2002), e

nutracêuticos eficazes são necessários para aliviar esse problema.

É interessante notar que os extratos exibiram a inibição de radicais livres de DPPH, o bom potencial de redução de energia, exibindo assim potencial antioxidante total e ainda mais eliminaram os radicais livres gerados pela oxidação do ABTS. Todos esses métodos são comprovados por estudos semelhantes (SINGH et al., 2012) correlacionando a importância do estudo antioxidante deste extrato.

Atividade anti-inflamatória

A Tabela 3 apresenta os valores de CE_{50} e CE_{90} para ação anti-inflamatória do extrato hidroalcolólico e frações obtidas.

Tabela 3 - Capacidade anti-inflamatória do extrato hidroalcolólico e frações

Espécie	ID	CE_{50} ppm	CE_{90} ppm	δ	χ^2	R^2
<i>Ixora coccinea</i>	EBIC	157,02	222,64	0,118	0,9891	0,9961
	FHIC	198,06	303,34	0,098	0,9886	0,9756
	FAIC	32,27	49,64	0,072	0,9953	0,9995
	FCIC	139,50	185,73	0,058	0,9887	0,9907
	FMIC	95,53	153,83	0,067	0,9922	0,9767

Nota: EBIC – extrato bruto *Ixora coccinea*; FHIC-fração hexano *Ixora coccinea*; FAIC- fração acetato de etila *Ixora coccinea*; FCIC- fração clorofórmio *Ixora coccinea*; FMIC-fração metanol *Ixora coccinea*

Conforme observado na Tabela 3, as CE_{50} variaram entre 32,27 a 198,06 ppm, classificando as concentrações abaixo de 130 ppm como muito ativas, segundo o critério de Jonville et al. (2011). A fração FAIC demonstrou melhor atividade anti-inflamatória, visto que quanto menor a CE_{50} melhor será seu potencial anti-inflamatório.

O potencial anti-inflamatório observado neste estudo foi confirmado no estudo de Bhattacharya et al. (2011) para o extrato metanoico das flores de *Ixora coccinea* nas doses de

200 e 400 mg kg⁻¹ de peso corporal reduziu significativamente a inflamação induzida por carragenina em ratos e mostrou atividade analgésica. O efeito mostrou redução dependente da dose no número de contorções em comparação com a droga controle, que foi altamente significativa. A porcentagem de proteção contra inflamação do extrato metanoico das flores a 400 e 200 mg kg⁻¹ foi de 80,14% e 68,26%, que estavam muito próximas da droga padrão (BHATTACHARYA et al., 2011).

O estudo de Nayak et al. (1999) também confirma o potencial, visto que o extrato alcoólico das flores de *Ixora coccinea* foi estudado quanto ao seu efeito na cicatrização de feridas, utilizando um modelo de ferida de espaço morto em ratos. Aumentos significativos no peso do tecido do granuloma, resistência à tração, hidroxiprolina e conteúdo de glicosaminoglicanos foram observados. As ações pró-cicatrizantes parecem ser devidas ao aumento da deposição de colágeno, bem como ao melhor alinhamento e maturação. A droga induziu efeito hipertrópico no timo, mas não teve efeito nas adrenais (NAYAK; UDUPA; UDUPA, 1999).

A análise de Western blot revelou que a aplicação tópica do extrato metanoico de *Ixora coccinea* estimula o fator de crescimento de fibroblastos e a produção de colágeno mediada por Smad no tecido da ferida (UPADHYAY et al., 2014). Efeitos do extrato em algumas das enzimas antioxidantes em feridas de espaço morto criadas em ratos mostraram que foram observados aumentos na resistência à tração da ferida e no nível de lisil oxidase, a enzima crucial para a maturação do colágeno, indicando uma ação pró-cicatrizante definitiva (NAYAK; UDUPA; UDUPA, 1999).

Estudos pré-clínicos usando extratos aquosos e metanoicos das folhas mostraram efeitos anti-inflamatórios no modelo de inflamação de pata de rato induzido por carragenina. A administração oral do extrato aquoso e metanólico (500, 1.000 e 1.500 mg kg⁻¹) causou uma diminuição da inflamação dependente da concentração (RATNASOORIYA et al., 2005; HANDUNNETTI et al., 2009). Adicionalmente, o lupeol, isolado da fração éter de petróleo do

extrato etanoico das folhas, também foi relatado como possuindo atividade anti-inflamatória no edema de pata induzido por carragenina em ratos (HANDUNNETTI et al., 2009).

Essa produção excessiva de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio gerados a partir de leucócitos inflamatórios ativados, especialmente sob condições de inflamação crônica, desempenham um papel importante em várias patogêneses. Alguns dos medicamentos anti-inflamatórios convencionalmente usados, particularmente os esteroides e inibidores de ciclooxigenase, são observados para possuir efeitos colaterais adversos, como irritação gastrointestinal, úlceras, hipertensão e anormalidades cardíacas (EVANS; HIRSCH; DUSHENKOV, 2006).

As atividades analgésicas e anti-inflamatórias exibidas pelo extrato podem ser devidas à presença de compostos polifenólicos como flavonóides e taninos (OSADEVE&OKOYE, 2003; KUPELI& YESILADA, 2007). Esses compostos polifenólicos também podem ser responsáveis pela atividade antioxidante (KÄHKÖNEN et al., 1999; AWIKA et al., 2003).

Efeito antiartrítico

A Tabela 4 apresenta os valores de CE₅₀ e CE₉₀ inéditos para ação antiartrítica do extrato hidroalcolólico e frações obtidas.

Tabela 4. Capacidade antiartrítica do extrato hidroalcolólico e frações

Espécie	ID	CE ₅₀ ppm	CE ₉₀ ppm	δ	χ^2	R ²
<i>Ixora coccinea</i>	EBIC	52,34	74,21	0,188	0,9881	0,9966
	FHIC	66,02	101,11	0,157	0,9676	0,9761
	FAIC	10,76	16,55	0,114	0,9925	0,9965
	FCIC	46,50	61,91	0,092	0,9827	0,9912
	FMIC	31,84	51,28	0,107	0,9687	0,9772

Nota: EBIC – extrato bruto *Ixora coccinea*; FHIC-fração hexano *Ixora coccinea*; FAIC- fração acetato de etila *Ixora coccinea*; FCIC- fração clorofórmio *Ixora coccinea*; FMIC-fração metanol *Ixora coccinea*

Conforme observado na Tabela 4, as CE_{50} variaram entre 10,76 a 66,02 ppm, classificando todas as concentrações como muito ativas, segundo o critério de Jonville et al. (2011). A fração FAIC demonstrou melhor atividade antiartrítica, visto que quanto menor a CE_{50} melhor será seu potencial anti-inflamatório.

Torna-se de vital importância enfatizar que os resultados apresentados para atividade antiartrítica para o extrato e frações são inéditos para a espécie analisada. Desta forma, os resultados apresentados foram comparados a outras espécies do mesmo gênero, comprovando ainda resultados promissores para esta espécie aqui apresentada.

Esta afirmação está baseada nos resultados observados por Alam et al. (2015), onde ao analisarem a inibição percentual máxima de desnaturação proteica da folha de *Ixora nigricans* e observaram uma taxa de 79,35% a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, porém relacionando este dado ao observado neste estudo, observa-se essa mesma taxa de inibição neste estudo, porém em concentrações até oito vezes menores. A partir deste resultado, pode-se afirmar que este extrato é capaz de controlar a produção de antígeno automático para inibir a desnaturação da proteína (ALAM et al., 2015).

Isto baseia-se no princípio de que a inflamação é o principal mecanismo de defesa fisiológica contra diferentes estímulos e a desnaturação de proteínas é a principal causa para o aparecimento de inflamações e doenças artríticas. A resposta inflamatória é decorrente da atividade celular causada pela ação de enzimas lisossômicas a um estímulo externo (KHADER et al., 2018).

Por esta razão, os agentes anti-inflamatórios também podem ser usados como tratamento a longo prazo da artrite reumatoide. Os agentes trombolíticos ativam o plasminogênio em plasmina, que limpa a malha de fibrina. Como resultado, o coágulo torna-se solúvel e o fluxo sanguíneo é normalizado (MOR et al., 2005).

À medida que as consequências da inflamação se espalham por uma ampla gama de ações, como asma e aterosclerose, abordagens terapêuticas multidirecionadas podem

aparecer prevalecendo sobre a terapia combinada ou apenas drogas de alvo único (HAJRA et al., 2010; CHOWDHURY et al., 2017). Além disso, as propriedades antioxidantes contendo agentes podem prevenir inflamação e trombótica, bem como ajudar a prevenir doenças cardiovasculares (ANSARI et al., 2017).

A artrite torna-se uma causa comum de incapacidade nos países desenvolvidos atualmente, que é atribuída à dor, movimento articular restrito e inflamação da membrana sinovial (SELLAM&BERENBAUM, 2010; LI et al., 2018). Desta forma, estudos como este tornam-se de vital importância como inovação e alternativas promissoras no tratamento de doenças de resposta inflamatória como a artrite.

4 CONCLUSÕES

Por fim, a caracterização química comprovou componentes bioativos na composição dos extratos hidroalcoólicos e frações, visto que as mesmas demonstraram excelente capacidade antioxidante, anti-inflamatória e antiartrítica, sendo destaque para a FAIC que demonstrou melhor desempenho em todos os métodos testados, sendo de vital importância para bioensaios seguintes na formulação de produtos derivados deste extrato.

REFERENCES

- ALAM, M. N. et al. Anti-arthritic and cytotoxic effects of methanolic extract of *Ixora nigricans* leaf. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 25, p. 719-723, 2015.
- ALLURI, N. et al. Evaluation of in vitro antioxidant, anti-inflammatory and thrombolytic activities of *Scilla hyacinthina*, an endangered medicinal plant. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 13, p. 84-8, 2015.
- ANSARI, P. et al. Anti-inflammatory, anti-diarrheal, thrombolytic and cytotoxic activities of an ornamental medicinal plant: *Persicaria orientalis*. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 28, n. 1, p. 51-58, 2017.
- BARROWCLOUGH, C. et al. The impact of cannabis use on clinical outcomes in recent onset psychosis. **Schizophrenia bulletin**, v. 41, n. 2, p. 382-390, 2015.

BOSE, S.; MAJI, S.; CHAKRABORTY, P. Quercitrin from *Ixora coccinea* leaves and its anti-oxidant activity. **J Pharma Sci Tech**, v. 2, n. 2, p. 72-74, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

CAMPOS, K. E. et al. Hypoglycaemic and antioxidant effects of onion, *Allium cepa*: dietary onion addition, antioxidant activity and hypoglycaemic effects on diabetic rats. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 54, n. 3, p. 241-246, 2003.

CHOWDHURY, N. S. et al. Cytotoxic naphthoquinone and azaanthraquinone derivatives from an endophytic *Fusarium solani*. **Journal of natural products**, v. 80, n. 4, p. 1173-1177, 2017.

DUTHIE, G. G.; DUTHIE, S. J.; KYLE, J. A. M. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. **Nutrition research reviews**, v. 13, n. 1, p. 79-106, 2000.

GANESAN, K.; XU, B. Polyphenol-rich dry common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their health benefits. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 11, p. 2331, 2017.

GOUTHAMCHANDRA, K.; MAHMOOD, R.; MANJUNATHA, H. Free radical scavenging, antioxidant enzymes and wound healing activities of leaves extracts from *Clerodendrum infortunatum* L. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 30, n. 1, p. 11-18, 2010.

HAJRA, S. et al. Antibacterial property of crude ethanolic extract of *Mikania micrantha*. **Asian J. Exp. Biol. Sci. Suppl**, v. 2010, p. 158-160, 2010.

HARBORNE, A. J. **Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis**. springer science & business media, 1998.

HARIDASS, S. et al. Relative antioxidant and cytotoxic activities of *Ixora coccinea* flower extracts. **J. Pharm. Res**, v. 5, p. 1403-1408, 2012.

HASAN, H. R.; ABDULSATTAR. A Influence of diabetes disease on concentration of total protein, albumin and globulins in saliva and serum: A comparative study. **Iraqi National of Chemistry**, v. 15, n. 1, 2015.

HIRPARA, K. V. et al. Quercetin and its derivatives: synthesis, pharmacological uses with special emphasis on anti-tumor properties and prodrug with enhanced bio-availability. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 9, n. 2, p. 138-161, 2009.

JADHAV, V. R. Antioxidant Activity of Leaf, Stem and Flower of *Ixora coccinea* Plants by Using Hydrogen Peroxide Scavenging Assays. **International Journal of Research and Review**, v. 7, n. 4, 2020.

JANARNY, G.; GUNATHILAKE, K. D. P. P.; RANAWEERA, K. K. D. S. Nutraceutical potential of dietary phytochemicals in edible flowers—A review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 4, p. e13642, 2021.

JONVILLE, M. C. et al. Antiplasmodial, anti-inflammatory and cytotoxic activities of various plant extracts from the Mascarene Archipelago. **Journal of ethnopharmacology**, v. 136, n. 3, p. 525-531, 2011.

KHADER, S. Z. A. et al. A comparative study on larvicidal potential of selected medicinal plants over green synthesized silver nano particles. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 1, p. 54-62, 2018.

KASTURE, V. S. et al. Antioxidant and antiparkinson activity of gallic acid derivatives. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 385-395, 2009.

LI, Y.; KAKKAR, R.; WANG, J. In vivo and in vitro approach to anti-arthritic and anti-inflammatory effect of crocetin by alteration of nuclear factor-E2-related factor 2/hem oxygenase (HO)-1 and NF- κ B expression. **Frontiers in Pharmacology**, p. 1341, 2018.

MOR, A.; ABRAMSON, S. B.; PILLINGER, M. H. The fibroblast-like synovial cell in rheumatoid arthritis: a key player in inflammation and joint destruction. **Clinical immunology**, v. 115, n. 2, p. 118-128, 2005.

MUHAMMAD, H. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of *Ixora coccinea* root and quantification of phenolic compounds using HPLC. **South African Journal of Botany**, v. 135, p. 71-79, 2020.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food chemistry**, v. 85, n. 2, p. 231-237, 2004.

MOSKOVITZ, J.; YIM, M. B.; CHOCK, P. Boon. Free radicals and disease. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 397, n. 2, p. 354-359, 2002.

NIGGEWEG, R.; MICHAEL, A. J.; M. C. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. **Nature biotechnology**, v. 22, n. 6, p. 746-754, 2004.

PADMANABHAN, P.; JANGLE, S. N. Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants. **International journal of basic and applied medical sciences**, v. 2, n. 1, p. 109-116, 2012.

QASIM, M. et al. Phytotoxic analysis of coastal medicinal plants and quantification of phenolic compounds using HPLC. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 153, n. 6, p. 767-774, 2019.

QASIM, M. et al. Effect of extraction solvents on polyphenols and antioxidant activity of medicinal halophytes. **Pak J Bot**, v. 48, n. 2, p. 621-627, 2016.

QUEIROZ, S. C. N; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.

PĂLTINEAN, R. et al. Evaluation of polyphenolic content, antioxidant and diuretic activities of six *Fumaria* species. **Molecules**, v. 22, n. 4, p. 639, 2017.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

SAHA, M. R. et al. In vitro free radical scavenging activity of *Ixora coccinea* L. ||| **Bangladesh Journal of**

Pharmacology|||, v. 3, n. 2, p. 90-96, 2008.

SANCHES-SILVA, A. et al. Trends in the use of natural antioxidants in active food packaging: A review. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 31, n. 3, p. 374-395, 2014.

SELLAM, J.; BERENBAUM, F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 6, n. 11, p. 625-635, 2010.

SHREELAKSHMI, S. V. et al. Fruits of *Ixora coccinea* are a rich source of phytoconstituents, bioactives, exhibit antioxidant activity and cytotoxicity against human prostate carcinoma cells and development of RTS beverage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 7, p. e15656, 2021.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q. J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, v. 28, n. 4, p. 1057-1060, 1989.

SUNDARARAJAN, B. et al. Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). **Microbial pathogenesis**, v. 125, p. 475-485, 2018.

SURANA, A. R.; AHER, A. N.; PAL, S. C. In vitro and in vivo antioxidant activity of *Ixora coccinea*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 41, p. 3071-3075, 2013.

TOREY, A. et al. Antioxidant activity and total phenolic content of methanol extracts of *Ixora coccinea*. **Pharmaceutical biology**, v. 48, n. 10, p. 1119-1123, 2010.

ZHANG, Y. et al. Simultaneous electrochemical determination of catechol and hydroquinone based on graphene-TiO₂ nanocomposite modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 204, p. 102-108, 2014.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A caracterização química dos extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L. foi possível por CLAE/EM, onde quantificou-se o catecol como componente majoritário na composição do extrato hidroalcoólico, fração hexânica e clorofórmica, assim como o ácido clorogênico na fração acetato de etila e metanoica.
- A Concentração Eficiente para ação antioxidante dos extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L. frente a radicais ABTS[•], DPPH[•] e OH permitiu classificar todas as concentrações observadas como muito ativas. A fração FAIC demonstrou melhor atividade antioxidante.
- A Concentração Eficiente para ação anti-inflamatória dos extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L. quantificou resultados promissores, sendo a fração FAIC demonstrando melhor atividade nesta ação.
- O potencial antiartrítico através da quantificação da Concentração Eficiente para ação dos extratos hidroalcoólicos e frações de *Ixora coccinea* L. foi promissora, sendo a fração FAIC demonstrou melhor atividade neste ensaio.
- Visto que as atividades químicas e biológicas testadas demonstraram excelente capacidade antioxidante, anti-inflamatória e antiartrítica, sendo destaque para a FAIC que demonstrou melhor desempenho em todos os métodos testados, é de vital importância sua continuação para bioensaios seguintes na formulação de produtos derivados deste extrato e suas frações.

REFERÊNCIAS

- AHMED, Safeer et al. A facile electrochemical analysis to determine antioxidant activity of flavonoids against DPPH radical. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 159, n. 5, p. F103, 2012.
- AKTER, Saleha et al. Comparative antimicrobial activities of different species of *Ixora*. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 3, n. 6, p. 103-105, 2015.
- ALTEMIMI, Ammar et al. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. **Plants**, v. 6, n. 4, p. 42, 2017.
- ANNAPURNA, J. et al. Antimicrobial activity of *Ixora coccinea* leaves. **Fitoterapia**, v. 74, n. 3, p. 291-293, 2003.
- ARUNACHALAM, G. et al. Phytochemical and anti-ulcer investigations of the fresh leaf extract of *Ixora coccinea* Linn (Rubiaceae) in albino rat model. **Int J Pharm Sci**, v. 1, n. 1, p. 26-31, 2009.
- AWIKA, Joseph M. et al. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 23, p. 6657-6662, 2003.
- AZMIR, Jannatul et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of food engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.
- AZWANIDA, N. N. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med. Aromat. Plants*, 4: 196 (03): 6 p. 2015.
- BABU, Patibandla Naresh; NAGARAJU, B.; VINAY KUMAR, I. Evaluation of antiulcer and In-vitro antioxidant activities of *Ixora coccinea* flowers and polyherbal extract in wistar albino rats. **International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 6, p. 239-344, 2014.
- BACHHETI, R. K. et al. Phytochemical analysis of aerial parts of *Ixora parviflora*. **Int J Chem Tech Res**, v. 3, n. 3, p. 1028-1032, 2011.
- BALA, Nripendra Nath et al. Comparative study of in vitro free radical scavenging activity of different leaf extracts of *Ixora coccinea* L. **IJBR**, v. 2, n. 1, p. 32-40, 2011.
- BALIGA, Manjeshwar Shrinath; KURIAN, Poruthukaran John. *Ixora coccinea* Linn.: Traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Chinese journal of integrative medicine**, v. 18, n. 1, p. 72-79, 2012.
- BALMUS, Ioana Miruna et al. The implications of oxidative stress and antioxidant therapies in inflammatory bowel disease: clinical aspects and animal models. **Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association**, v. 22, n. 1, p. 3, 2016.

BANERJEE, S. et al. Nitric Oxide Scavenging Activity Study of Ethanolic Extracts of from Two Different Areas of Kolkata. **Asian J Exp Biol Sci**, v. 2, p. 595-9, 2011.

BANU, K. Sahira; CATHRINE, LJIJoARiCS. General techniques involved in phytochemical analysis. **International Journal of Advanced Research in Chemical Science**, v. 2, n. 4, p. 25-32, 2015.

BARROWCLOUGH, R. A. The effect of berry consumption on cancer risk. **Journal of Nutritional Health and Food Engineering**, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2015.

BARUA, Chandana Choudhury et al. A comparative study of the in vitro antioxidant property of different extracts of *Acorus calamus* Linn. **J. Nat. Prod. Plant Resour**, v. 4, n. 1, p. 8-18, 2014.

BELWAL, Tarun et al. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 100, p. 82-102, 2018.

BHAN, M. Ionic liquids as green solvents in herbal extraction. **Int J Adv Res Dev**, v. 2, p. 10-2, 2017.

BAKKALI, Fadil et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BATIHA, Gaber El-Saber et al. Physostigmine: A plant alkaloid isolated from *Physostigma venenosum*: A review on pharmacokinetics, pharmacological and toxicological activities. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 10, n. 1-s, p. 187-190, 2020a.

BATIHA, Gaber El-Saber et al. Gas chromatography-mass spectrometry analysis, phytochemical screening and antiprotozoal effects of the methanolic *Viola tricolor* and acetonic *Laurus nobilis* extracts. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 20, n. 1, p. 1-14, 2020b.

BATIHA, Gaber EL-SABER et al. Safety and efficacy of hydroxyurea and eflornithine against most blood parasites *Babesia* and *Theileria*. **PLoS One**, v. 15, n. 2, p. e0228996, 2020c.

BHATTACHARYA, A. et al. Evaluation of antiinflammatory and analgesic activity of *Ixora coccinea* flower extract. **Asian Journal of Chemistry**, v. 23, n. 10, p. 4369, 2011.

BESHBISHY, Amany Magdy et al. Inhibitory effects of methanolic *Olea europaea* and acetonic *Acacia laeta* on growth of *Babesia* and *Theileria*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 12, n. 9, p. 425, 2019.

BETTAIEB REBEY, Iness et al. Effects of extraction solvents and provenances on phenolic contents and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 7, p. 2827-2836, 2012.

BOSE, Sankhadip et al. Comparative Evaluation of Anti-inflammatory, Antipyretic and Analgesic Properties of *Ixora coccinea* and *Mussaenda frondosa* (Rubiaceae) Leaves. **Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 3, 2020.

BOSE, Sankhadip; MAJI, Sushomasri; CHAKRABORTY, Pranabesh. Quercitrin from *Ixora coccinea* leaves and its anti-oxidant activity. **J Pharma Sci Tech**, v. 2, n. 2, p. 72-74, 2013.

BOSE, Sankhadip; MAJI, Sushomasri; CHAKRABORTY, Pranabesh. Comparative study of in vitro and in vivo antioxidant property of different *Ixora* species. **Journal of Advanced Pharmacy Education & Research**, v. 2, p. 90-103, 2011.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

CAMPOS, K. E. et al. Hypoglycaemic and antioxidant effects of onion, *Allium cepa*: dietary onion addition, antioxidant activity and hypoglycaemic effects on diabetic rats. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 54, n. 3, p. 241-246, 2003.

CONFORTI, Filomena et al. In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. **Journal of ethnopharmacology**, v. 116, n. 1, p. 144-151, 2008.

CORREIA, Roberta TP et al. Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. **Food Science and Technology International**, v. 18, n. 6, p. 539-547, 2012.

COWAN, Marjorie Murphy. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

DAS, Kuntal; TIWARI, R. K. S.; SHRIVASTAVA, D. K. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. **Journal of medicinal plants research**, v. 4, n. 2, p. 104-111, 2010.

DAS, Sayanna; MANDAL, Sudip Kumar. Current developments on anti-inflammatory natural medicines. **Neurodegener Dis**, v. 23, p. 24, 2018.

DESHPANDE, Anant et al. Flower extract of *Ixora coccinea* as a natural indicator in acid base titration. **J Pharm Res**, v. 3, n. 10, p. 2512-13, 2010.

DHARMASIRI, M. G.; RATNASOORIYA, W. D.; THABREW, M. I. Anti-inflammatory activity of decoctions of leaves and stems of *Anisomeles indica* at preflowering and flowering stages. **Pharmaceutical biology**, v. 40, n. 6, p. 433-439, 2002.

DONTHA, Sunitha; KAMURTHY, Hemalatha; MANTRIPRAGADA, Bhagavanraju. Phytochemical and pharmacological profile of *Ixora*: a review. **Int. J. Pharm. Sci. Res**, v. 6, p. 567-584, 2015.

DORMAN, HJ-Deans; DEANS, Stanley G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of applied microbiology**, v. 88, n. 2, p. 308-316, 2000.

DOUGHARI, J. H. A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health. 2012.

DOSS, D. Victor Arokia. In vitro free radical scavenging activity of hydroethanolic leaf extract of *Ixora macrothyrsa* (Tejism. and Binn.). **International Journal of Green Pharmacy (IJGP)**, v. 12, n. 04, 2018.

DUTHIE, Garry G.; DUTHIE, Susan J.; KYLE, Janet AM. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. **Nutrition research reviews**, v. 13, n. 1, p. 79-106, 2000.

GOUTHAMCHANDRA, K.; MAHMOOD, R.; MANJUNATHA, H. Free radical scavenging, antioxidant enzymes and wound healing activities of leaves extracts from *Clerodendrum infortunatum* L. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 30, n. 1, p. 11-18, 2010.

ELBERRY, Ahmed A. et al. Methanolic extract of *Marrubium vulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats. **International journal of diabetes mellitus**, v. 3, n. 1, p. 37-44, 2015.

ELOFF, J. N. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants?. **Journal of ethnopharmacology**, v. 60, n. 1, p. 1-8, 1998.

ELUMALAI, A. et al. Phytochemical and pharmacological profile Of *Ixora coccinea* Linn. **International Journal of Pharmacy & life sciences**, v. 3, n. 3, 2012.

EVANS, David A.; HIRSCH, Julie B.; DUSHENKOV, Slavik. Phenolics, inflammation and nutrigenomics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 15, p. 2503-2509, 2006.

EVANS, B. E. et al. Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecystokinin antagonists. **Journal of medicinal chemistry**, v. 31, n. 12, p. 2235-2246, 1988.

FERREIRA, Paulo Michel P. et al. Study of the antiproliferative potential of seed extracts from Northeastern Brazilian plants. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, n. 3, p. 1045-1058, 2011.

FORZZA, Rafaela C. et al. New Brazilian floristic list highlights conservation challenges. **BioScience**, v. 62, n. 1, p. 39-45, 2012.

GANESAN, Kumar; XU, Baojun. Polyphenol-rich dry common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their health benefits. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 11, p. 2331, 2017.

GHASEMIAN, Mona; OWLIA, Sina; OWLIA, Mohammad Bagher. Review of anti-inflammatory herbal medicines. **Advances in pharmacological sciences**, v. 2016, 2016.

GOUTHAMCHANDRA, K.; MAHMOOD, R.; MANJUNATHA, H. Free radical scavenging, antioxidant enzymes and wound healing activities of leaves extracts from *Clerodendrum infortunatum* L. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 30, n. 1, p. 11-18, 2010.

GUZIK, T.; KORBUT, R.; ADAMEK-GUZIK, T. Nitric oxide and superoxide in inflammation. **J physiol pharmacol**, v. 54, n. 4, p. 469-487, 2003.

HALLIWELL, Barry. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. **Journal of neurochemistry**, v. 97, n. 6, p. 1634-1658, 2006.

HANDUNNETTI, S. M. et al. Anti-inflammatory activity of *Ixora coccinea* methanolic leaf extract. **Pharmacognosy research**, v. 1, n. 2, 2009.

HAO, Da-cheng; XIAO, Pei-gen. Pharmaceutical resource discovery from traditional medicinal plants: Pharmacophylogeny and pharmacophylogenomics. **Chinese Herbal Medicines**, v. 12, n. 2, p. 104-117, 2020.

HARBORNE, A. J. **Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis**. springer science & business media, 1998.

HASAN, H. R.; ABDULSATTAR, A Influence of diabetes disease on concentration of total protein, albumin and globulins in saliva and serum: A comparative study. **Iraqi National of Chemistry**, v. 15, n. 1, 2015.

HARIDASS, Sumathy et al. Relative antioxidant and cytotoxic activities of *Ixora coccinea* flower extracts. **J. Pharm. Res**, v. 5, p. 1403-1408, 2012.

HARISH KUMAR, S.; SRINATH, R. Evaluation of Neuroprotective Activity of *Ixora coccinea* extract on experimentally induced Neurotoxicity in Albino Rats. 2013.

HEFTMANN, Erich (Ed.). **Chromatography: Fundamentals and applications of chromatography and related differential migration methods-Part B: Applications**. Elsevier, 2004.

HOSSAIN, Mohammad Amzad et al. Isolation, fractionation and identification of chemical constituents from the leaves crude extracts of *Mentha piperita* L grown in Sultanate of Oman. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 4, p. S368-S372, 2014.

HUNG, Hsin-Yi et al. Recent discovery of plant-derived anti-diabetic natural products. **Natural product reports**, v. 29, n. 5, p. 580-606, 2012.

INGLE, Krishnananda P. et al. Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, n. 1, p. 32-36, 2017.

JANARNY, G.; RANAWEERA, K. K. D. S.; GUNATHILAKE, K. D. P. P. Antioxidant activities of hydro-methanolic extracts of Sri Lankan edible flowers. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, p. 102081, 2021.

JOSHI, A. B. et al. *Ixora coccinea* Linn: phytochemical investigation. **International journal of research in pharmacy and chemistry**, v. 3, n. 3, p. 691-696, 2013.

KÄHKÖNEN, Marja P. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954-3962, 1999.

KCHAOU, Wissal et al. Effects of extraction solvents on phenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.). **Industrial crops and products**, v. 45, p. 262-269, 2013.

KHALAF, Nooman A. et al. Antioxidant activity of some common plants. **Turkish Journal of Biology**, v. 32, n. 1, p. 51-55, 2008.

KHAN, Haroon et al. Antimicrobial activities of rhizomes of *Polygonatum verticillatum*: attributed to its total flavonoidal and phenolic contents. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 25, n. 2, 2012.

KHARAT, A. R. et al. A review on phytochemical and pharmacological activity of genus *Ixora*. **International Journal of research in Pharmacy and Chemistry**, v. 3, n. 3, p. 628-635, 2013.

KHARE, C. P. *Indian Medicinal Plants-An Illustrated Dictionary*. 1st Indian Reprint Springer (India) Pvt. Ltd., **New Delhi, India**, v. 28, 2007.

KOEHN, Frank E.; CARTER, Guy T. The evolving role of natural products in drug discovery. **Nature reviews Drug discovery**, v. 4, n. 3, p. 206-220, 2005.

KUMAR, Sandopu Sravan et al. *Basella rubra* fruit juice betalains as a colorant in food model systems and shelf-life studies to determine their realistic usability. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 8, p. e14595, 2020.

KÜPELI, Esra; YESILADA, Erdem. Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. **Journal of ethnopharmacology**, v. 112, n. 3, p. 524-530, 2007.

LATHA, P. G.; PANIKKAR, K. R. Chemoprotective effect of *Ixora coccinea* L. flowers on cisplatin induced toxicity in mice. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 4, p. 364-366, 2001.

LATHA, P. G. et al. Modulatory effects of *Ixora coccinea* flower on Cyclophosphamidetoxicity in tumour bearing mice. **Ancient science of life**, v. 23, n. 4, p. 23, 2004.

LEVY, Cynthia; SEEFF, Leonard D.; LINDOR, Keith D. Use of herbal supplements for chronic liver disease. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 2, n. 11, p. 947-956, 2004.

LEWINSOHN, Thomas M.; PRADO, Paulo I. Quantas espécies há no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 36-42, 2005.

LI, An-Na et al. Resources and biological activities of natural polyphenols. **Nutrients**, v. 6, n. 12, p. 6020-6047, 2014.

MADHAVI, P. et al. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Citrullus lanatus* seed oil by in-vivo and in-vitro models. **International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences**, v. 2, n. 4, p. 104-108, 2012.

MAJEKODUNMI, Stephen Olaribigbe. Review of extraction of medicinal plants for pharmaceutical research. **Merit Res J Med**, v. 3, p. 521-527, 2015.

MANIYAR, Yasmeen; BHIXAVATIMATH, Prabhu; AGASHIKAR, N. V. Antidiarrheal activity of flowers of *Ixora Coccinea* Linn. in rats. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 1, n. 4, p. 287, 2010.

MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, M. et al. Antidepressant-like effects of an alkaloid extract of the aerial parts of *Annona cherimolia* in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 139, n. 1, p. 164-170, 2012.

MELO, Joabe Gomes et al. Medicinal plants used as antitumor agents in Brazil: an ethnobotanical approach. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2011, 2011.

MESQUITA, Mariana Laundry et al. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. **Journal of ethnopharmacology**, v. 123, n. 3, p. 439-445, 2009.

MISSEBUKPO, A. et al. Evaluation of anti-asthmatic activities of *Ixora coccinea* Linn (Rubiaceae). **Journal of pharmacology and toxicology**, v. 6, n. 6, p. 559-570, 2011.

MISHRA, Bhuwan B.; TIWARI, Vinod K. Natural products: an evolving role in future drug discovery. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4769-4807, 2011.

MOHAMMED, Shan P.; LATHEEF, Nasiya; SRI GANESHAN, P. Evaluation of Anxiolytic activity of *Ixora coccinea* Linn. ethanolic extract in Swiss Albino mice. **Clin. Exp. Pharmacol**, v. 4, n. 146, p. 1-3, 2014.

MOMIN, Firoz N. et al. Cardioprotective effect of methanolic extract of *Ixora coccinea* Linn. leaves on doxorubicin-induced cardiac toxicity in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 44, n. 2, p. 178, 2012.

MOSKOVITZ, Jakob; YIM, Moon Bin; CHOCK, P. Boon. Free radicals and disease. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 397, n. 2, p. 354-359, 2002.

MUHAMMAD, Haji et al. Antioxidant and antimicrobial activities of *Ixora coccinea* root and quantification of phenolic compounds using HPLC. **South African Journal of Botany**, v. 135, p. 71-79, 2020.

MUHAMMAD, Haji et al. Electrochemical determination of antioxidant activity and HPLC profiling of some dry fruits. **Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly**, v. 150, n. 7, p. 1195-1203, 2019.

MUKESH, C. S.; SMITA, S. Preliminary Phytochemical and antimicrobial investigations of the aqueous extract of *Ixora coccinea* L. and *Commelina benghalensis* L. on Gram-Positive and Gram-Negative Microorganisms. **Middle East J Sci Res**, v. 6, n. 5, p. 436-439, 2010.

MVS MK, Talluri VP; RAJAGOPAL, S. V. Purification and characterization of bioactive compound from the methanolic leaf extract of *Millingtonia hortensis* linn. **Int J Pharm Bio Sci**, v. 6, p. 348-58, 2015.

NAGARAJ, B. et al. Biosynthesis of gold nanoparticles of *Ixora coccinea* flower extract & their antimicrobial activities. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 2, n. 4, p. 557-565, 2011.

NASKAR, Madhuriya; BHATTACHARYA, Sanjib; BISWAS, Moulisha. Antileishmanial effect of *Ixora coccinea* leaf extracts on the in vitro growth of *Leishmania donovani* promastigotes. **Journal of Advanced Pharmacy Education & Research Oct-Dec**, v. 3, n. 4, 2013.

NAYAK, B. S.; UDUPA, A. L.; UDUPA, S. L. Effect of *Ixora coccinea* flowers on dead space wound healing in rats. **Fitoterapia**, v. 70, n. 3, p. 233-236, 1999.

NEELAMEGAM, R. Allelopathic effect of *Ixora coccinea* Linn. on seed germination and early seedling growth of paddy (*Oryza sativa* L.). **Journal of Phytology**, v. 3, n. 6, 2011.

NGO, Thanh Van et al. Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salacia chinensis* L. **Journal of Food Quality**, v. 2017, 2017.

OBUZOR, Gloria Ukalina et al. Chemical composition of essential oil of *ixora coccinea* flower from Port Harcourt, Nigeria. **International Journal of Academic Research**, v. 3, n. 2, p. 381-384, 2011.

OSADEBE, P. O.; OKOYE, F. B. C. Anti-inflammatory effects of crude methanolic extract and fractions of *Alchornea cordifolia* leaves. **Journal of ethnopharmacology**, v. 89, n. 1, p. 19-24, 2003.

OZI, Joana Mattos et al. In vitro cytotoxic effects of Brazilian plant extracts on squamous cell carcinoma of the oral cavity. **Brazilian oral research**, v. 25, n. 6, p. 519-525, 2011.

PADMANABHAN, P.; JANGLE, S. N. Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants. **International journal of basic and applied medical sciences**, v. 2, n. 1, p. 109-116, 2012.

PĂLTINEAN, Ramona et al. Evaluation of polyphenolic content, antioxidant and diuretic activities of six *Fumaria* species. **Molecules**, v. 22, n. 4, p. 639, 2017.

PANDEY, Amita; TRIPATHI, Shalini. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 5, 2014.

PATHANIA, Shivalika; RAMAKRISHNAN, Sai Mukund; BAGLER, Ganesh. Phytochemica: a platform to explore phytochemicals of medicinal plants. **Database**, v. 2015, 2015.

PESCHEL, Wieland et al. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 137-150, 2006.

QASIM, Muhammad et al. Phytotoxic analysis of coastal medicinal plants and quantification of phenolic compounds using HPLC. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 153, n. 6, p. 767-774, 2019.

QASIM, M. et al. Antioxidant properties, phenolic composition, bioactive compounds and nutritive value of medicinal halophytes commonly used as herbal teas. **South African Journal of Botany**, v. 110, p. 240-250, 2017.

QUEIROZ, S. C. N; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

RATNASOORIYA, W. D. et al. Anti-inflammatory Activity of the Aqueous Leaf Extract of *Ixora coccinea*. **Pharmaceutical biology**, v. 43, n. 2, p. 147-152, 2005.

REPETTO, M. G.; LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 35, n. 5, p. 523-534, 2002.

RIBEIRO, Sandra S. et al. Evaluation of the cytotoxic activity of some Brazilian medicinal plants. **Planta Medica**, v. 78, n. 14, p. 1601-1606, 2012.

RIMANDO, Agnes M. et al. Searching for rice allelochemicals: An example of bioassay-guided isolation. **Agronomy Journal**, v. 93, n. 1, p. 16-20, 2001.

RIOS, Jose-Luis; RECIO, Maria Carmen. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, p. 80-84, 2005.

RUPALI, Deshpande et al. Methanol extracts of anthocyanin pigment and their suitability on fibers. **Journal of Environmental Research and Development**, v. 5, n. 3, p. 648-651, 2011.

SAHA, Moni Rani et al. In vitro free radical scavenging activity of *Ixora coccinea* L. ||| **Bangladesh Journal of Pharmacology**|||, v. 3, n. 2, p. 90-96, 2008.

SARAVANAN, P.; BOOPALAN, E. Occurrence of camptothecin an anticancer drug from *Ixora coccinea* Linn. **International Journal of Applied Biology**, v. 2, n. 2, p. 30-34, 2011.

SASIDHARAN, Sreenivasan et al. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **African journal of traditional, complementary and alternative medicines**, v. 8, n. 1, 2011.

SASLIS-LAGOUDAKIS, C. Haris et al. The evolution of traditional knowledge: environment shapes medicinal plant use in Nepal. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1780, p. 20132768, 2014.

SELVARAJ, Nagaraj et al. Evaluation of wound healing and antimicrobial potentials of *Ixora coccinea* root extract. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, n. 12, p. 959-963, 2011.

SHAH, Muhammad Ajmal et al. Superoxide scavenging and antiglycation activity of rhinacanthins-rich extract obtained from the leaves of *Rhinacanthus nasutus*. **Pharmacognosy Magazine**, v. 13, n. 52, p. 652, 2017.

SHARMA, Mukesh Chandra et al. Preliminary phytochemical and antimicrobial investigations of the aqueous extract of *Ixora coccinea* Linn and *Commelina benghalensis* L. on gram-positive and gram-negative microorganisms. **Middle East Journal of Scientific Research**, v. 6, n. 5, p. 436-439, 2010.

SHREELAKSHMI, Saligrama Viswanath et al. Fruits of *Ixora coccinea* are a rich source of phytoconstituents, bioactives, exhibit antioxidant activity and cytotoxicity against human prostate carcinoma cells and development of RTS beverage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 7, p. e15656, 2021.

SHYAMAL, S. et al. Hepatoprotective effect of three herbal extracts on aflatoxin B1-intoxicated rat liver. **Singapore medical journal**, v. 51, n. 4, p. 326, 2010.

SMITH, Ivor (Ed.). **Chromatography**. Elsevier, 2013.

SINGH, D. R. et al. Estimation of phytochemicals and antioxidant activity of underutilized fruits of Andaman Islands (India). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 63, n. 4, p. 446-452, 2012.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q. J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, v. 28, n. 4, p. 1057-1060, 1989.

SOSA, Silvio et al. Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, n. 2, p. 211-215, 2002.

SOSTRES, Carlos et al. Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. **Best practice & research Clinical gastroenterology**, v. 24, n. 2, p. 121-132, 2010.

SOUZA, Estevão NF; WILLIAMSON, Elizabeth M.; HAWKINS, Julie A. Which plants used in ethnomedicine are characterized? Phylogenetic patterns in traditional use related to research effort. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 834, 2018.

SULTANA, Bushra; ANWAR, Farooq; ASHRAF, Muhammad. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. **Molecules**, v. 14, n. 6, p. 2167-2180, 2009.

SUNDARARAJAN, B. et al. Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). **Microbial pathogenesis**, v. 125, p. 475-485, 2018.

SUN, Hong-Xiang; PENG, Xiao-Ying. Protective effect of triterpenoid fractions from the rhizomes of *Astilbe chinensis* on cyclophosphamide-induced toxicity in tumor-bearing mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 119, n. 2, p. 312-317, 2008.

SURANA, A. R.; AHER, A. N.; PAL, S. C. In vitro and in vivo antioxidant activity of *Ixora coccinea*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 41, p. 3071-3075, 2013.

SURANA, A. R. et al. Evaluation of anthelmintic activity of *Ixora coccinea*. **Int. J. Pharm. Lif. Sci**, v. 6, p. 813-814, 2011.

TANDON, Neeraj; SHARMA, Madhu. Quality standards of Indian medicinal plants. **New Delhi. Indian Council of Medical Research**, v. 8, p. 161-3, 2010.

TAQVI, Syed Intasar Husain et al. Effects of whole flower and fractions of *Ixora coccinea* linn. on cardiovascular system: a preliminary report. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 34, n. 3, 2012.

TIWARI, Prashant et al. Phytochemical screening and extraction: a review. **Internationale pharmaceutica sciencia**, v. 1, n. 1, p. 98-106, 2011.

TOREY, Angeline et al. Antioxidant activity and total phenolic content of methanol extracts of *Ixora coccinea*. **Pharmaceutical biology**, v. 48, n. 10, p. 1119-1123, 2010.

UDEGBUNAM, Rita I. et al. Evaluation of anti-inflammatory activities of root extracts of *Stephania dinklagei* (Engl.) Diels. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 6, n. 11, p. 834-839, 2012.

UJANG, Zanariah Binti et al. Bioguided Fractionation and Purification of Natural Bioactives Obtained from *Alpinia conchigera* Water Extract with Melanin Inhibition Activity. 2013.

UPADHYAY, Aadesh et al. *Ixora coccinea* enhances cutaneous wound healing by upregulating the expression of collagen and basic fibroblast growth factor. **International Scholarly Research Notices**, v. 2014, 2014.

VARIER, P. S.; NAMBIAR, V. P. K.; RAMANKUTTY, C. Indian Medicinal Plants, A Compendium of 500 Species, vol. 4. **Pub. Orient Longman Ltd., Hyderabad, India**, p. 202-211, 1997.

VERSIANI, Muhammad Ali et al. Ixoroid: a new triterpenoid from the flowers of *Ixora coccinea*. **Natural product communications**, v. 7, n. 7, p. 1934578X1200700706, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **WHO traditional medicine strategy: 2014-2023**. World Health Organization, 2013.

YASMEEN, MANIYAR; PRABHU, BHIXAVATIMATH; AGASHIKAR, N. Evaluation of the antidiarrhoeal activity of the leaves of *Ixora coccinea* Linn. in rats. **Journal of clinical and diagnostic research**, v. 4, n. 5, p. 3298-3303, 2010.

YUNES, Rosendo A. et al. The use of natural products as sources of new analgesic drugs. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 30, p. 191-212, 2005.

ANEXO A – NORMAS DO PERIÓDICO CIENTÍFICO

Submissions

Make a new submission or view your pending submissions.

Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

The contribution is original and unpublished, and is not being evaluated by other journal.

If not, justify on “Editor’s Comments”.

The files for submission must comply with the "Template for new articles" located in Author Guidelines. LaTeX files must be prepared in LaTeX2e, which are also available in Author Guidelines.

The name of the authors must not appear anywhere in the file. Thus, authors should remove the name of the manuscript and the “Properties” function in Word. References and bibliographic citations must follow ABNT, NBR 6023 and NBR 10520 standards, according to the examples presented in the template.

The text follows the style standards and bibliographic requirements described in Author Guidelines, in the section About - Submissions - Author Guidelines.

The name of the authors must not appear anywhere in the file. Thus, authors should remove the name of the manuscript and the “Properties” function in Word.

References and bibliographic citations must follow ABNT, NBR 6023 and NBR 10520 standards, according to the examples presented in the template.

It is mandatory to include 3 possible Evaluators with **Full Name, E-mail, Institution and ORCID**.

Send as “Supplementary Document” in the Submission moment.

In Section of Mathematics will be accepted **ONLY** articles in **LaTeX** format with the PDF file.

DO NOT will be accepted articles in Microsoft Word format.

The authorship identification of the work **must be removed** from the **file** and from the **Word's “Properties”** option, providing this how the Journal's secrecy criteria, if

submitted to evaluation by pairs (Ex.: articles) according to the available instructions on Ensuring the Evaluation by Blind Pairs.

Add "HIGHLIGHTS" of the article (submitted as supplementary material), which are the main contributions of the article. Example: <https://www.elsevier.com/authors/journal-authors/highlights>;

We also require GRAPHICAL ABSTRACTS; A figure that represents or summarizes the article. Example: <https://www.elsevier.com/authors/journal-authors/graphical-abstract>

DEAR AUTHORS,

PLEASE, CHECK CAREFULLY BEFORE YOUR SUBMISSION:

- IF ALL AUTHORS "METADATA" (ORCID, LINK TO LATTES, SHORT BIOGRAPHY, AFFILIATION) WERE ADDED,
- THE CORRECT IDIOM YOUR SECTION,
- IF THE HIGHLIGHTS WERE ADDED,
- IF THE GRAPHIC ABSTRACTS WAS ADDED,
- IF THE REVIEWERS INDICATION WAS DONE,
- IF THE REFERENCES FORMAT ARE CORRECT(ABNT)
- IF THE RESOLUTION YOUR FIGURES (600 DPI) ARE SUITABLE
- IF THE STATEMENT BY THE ETHICS COMMITTEE (IF IT INVOLVES HUMANS) WAS ADDED;
- IF THE DECLARATION OF ORIGINALITY WAS ADDED.
- IF THE TEXT IS ORIGINAL. IF THE IDEA HAS ALREADY BEEN REGISTERED IN SUMMARY FORM, OR PUBLISHED IN CONGRESS ANNUALS, PLEASE INFORM THE EDITOR.

Author Guidelines

Since Ciência e Natura Journal has an interdisciplinary character, it is paramount that the authors, when submitting their works, do so in the proper section: **STC, MTM, PSC, CMT, BLG, MTR, GSC, EDC**.

Also, they must indicate the specific area on the "Comments to the Editor" section and mention the paper's title or the classification code according to the [CNPq table](#).

Authors should also specify: Original Article, Review Article or Issued Article. Articles that do not attend to the specifications will not be accepted.

Currently, this Journal accepts submissions in Microsoft Word and LaTeX format, according to the conditions for submissions mentioned below:

1. The Article must be in accord with :
 Template for new articles

1.2. When submitting a LaTeX format file²

- Page limit: 25;
- The Articles must be written in LaTeX2e, according to the model available at “Template CeN LaTeX”;
- The figures should preferably be in “.pdf” or “.eps” format;
- The references should be preferably prepared in BibTeX, using “cen.bst”;
- The Article must be submitted for evaluation **WITHOUT THE AUTHORS IDENTIFICATION**, in “.pdf” format, to make sure the “blind” evaluation by pairs;
- The original files must be in “.tex” format and should be sent along with the figures and “Supplementary Documents” files.

¹ *The Section of Mathematics DOES NOT accept articles in Microsoft Word format;*

² *DO NOT insert the Authors' Names in the body of the Article, either in the Microsoft Word version or in the LaTeX version.*

2. Examples of Quotations. Access here.

3. The Authors should sign and attach the “Declaration of Originality and Exclusivity” (text given in the item About - Submissions - Copyright Notice) as “Supplementary Document”. It must contain the following information about the Authors: **Full Name, E-mail Address and Signature**.

4. It is MANDATORY to include 3 possible Evaluators with Full Name and E-mail (Send as “Supplementary Document”).

In the absence of one of these Documents, the Submission will be automatically "REJECTED", which does not prevent the Authors from a new Submission.

5. All articles will be initially submitted to two Consultants *ad hoc*. The Authors will be asked, when necessary, to modify or to rewrite their texts as suggested by the Revisers and Editors. The Authors may also be asked for consultant names to opine about the article.

6. Prior to publication, the Authors will receive the Final Proof of the articles. At this moment, no modification will be allowed. Only typographical errors due to diagramation will be accepted. If the Final Proof cannot be sent for any reason, the Editorial Team will do this review.

7. The cases that do not follow any of the above will be solved by the *Ciencia e Natura's* Editorial Team.

8. *Researches that involve Human Beings* have to, mandatorily, make clear on the paper the compliance with the rules described on **CNS Resolutions 196/96** and **466/12** and the Consubstantiated Opinion of the Committee of Ethics in Research with Human Beings (CEP) indicating the approval number emitted by the Ethics Committee (CEP), properly recognized by the National Bioethics Commission of Brazil (CONEP) of the National Health Council (CNS).

This information must be attached as "Supplementary Document".

Biology-Botany

- **Only article written in ENGLISH**, and the Authors **should send a Statement** that the Article was revised by a specialist in English Grammar.

"Manuscripts with agronomic subjects are expected to contain a substantial amount of basic plant biology. Merely agricultural approaches will not be considered for publication."

Make a new submission to the Biology-Botany section.

Biology-Ecology

CeN-Ecology publishes papers on basic and applied ecology. Ecology, by definition, is the study of interactions between living organisms and the environment. The journal is focused on ecological questions, and tangent studies will not be considered. Studies on physiological responses of organisms to their abiotic environments, evolutionary ecology, population and communities structure and dynamics, intra- and interspecific interactions, ethology, landscape ecology, and ecosystems processes and services are common examples within the scope of CeN-Ecology. Studies that are not purely ecological, but that still retain a clean relationship with ecology can be considered (e.g. agroecology). In order to ensure an accurate process of peer review, the authors are encouraged to submit the study data along with their manuscript.

- **Only article written in ENGLISH**, and the Authors **should send a Statement** that the Article was revised by a specialist in English Grammar.

Make a new submission to the Biology-Ecology section.

Biology-Genetics

- **Only article written in ENGLISH**, and the Authors **should send a Statement** that the Article was revised by a specialist in English Grammar.

Make a new submission to the Biology-Genetics section.

Biology-Zoology

- **Only article written in ENGLISH**, and the Authors **should send a Statement** that the Article was revised by a specialist in English Grammar.

Make a new submission to the Biology-Zoology section.

Chemistry

This Section **will accept** works on the following areas:

- Environmental Chemistry;
- Medicinal Chemistry;
- Biological Chemistry;
- Material Chemistry;
- Catalysis;
- Natural Products;
- Chemistry of Surface and Colloids;
- Organic Chemistry.
- Physical-Chemistry;
- Analytical Chemistry;
- Inorganic Chemistry;

- **ONLY ACCEPTED ENGLISH MANUSCRIPTS**, and the Authors should send a Statement that the Article was revised for English grammar.

Make a new submission to the Chemistry section.

Education

This Section **will accept** Articles about Education regarding the following areas:

- Physics;
- Chemistry;
- Biology;
- Mathematics;
- Geosciences;
- Meteorology;
- Statistics;
- Geography;
- Sciences;

- **EXCLUSIVELY** will be accepted Works in **PORTUGUESE LANGUAGE**.

Make a new submission to the Education section.

Environment

Will be received articles in:

- Environmental Management;
- Environmental Education;
- Environmental Technology.

- **ONLY ACCEPTED ENGLISH MANUSCRIPTS**, and the Authors should send a Statement that the Article was revised for English grammar.

Make a new submission to the Environment section.

Geography

This Section **will accept** works on the areas of Physical Geography with emphasis on Exacts and Earth Sciences.

Make a new submission to the Geography section.

Mathematics

This Section **will accept** works on the following areas:

- Mathematics
- Applied Mathematics

The Mathematics Section *DO NOT ACCEPT* articles in *Microsoft Word* format, being accepted **only** articles in LaTeX format.

The article written in **ENGLISH**, the Authors **should send** a **Statement** that the Article was revised by a specialist in English Grammar.

Make a new submission to the Mathematics section.

Meteorology

This Section **will accept** Articles on the following areas:

- General Meteorology;
- Agrometeorology;
- Atmospheric Pollution;
- Environmental Studies focused on Exact and Earth Sciences.

- **ONLY ACCEPTED ENGLISH MANUSCRIPTS**, and the Authors should send a Statement that the Article was revised for English grammar.

Make a new submission to the Meteorology section.

Physics

- **ONLY ACCEPTED ENGLISH MANUSCRIPTS**, and the Authors should send a Statement that the Article was revised for English grammar.

Make a new submission to the Physics section.

Statistics

This Section will accept Scientific Articles about any area of the Probability and Statistics, mostly on Computational and Applied Statics.

Make a new submission to the Statistics section.

Copyright Notice

To access the DECLARATION AND TRANSFER OF COPYRIGHT AUTHOR'S DECLARATION AND COPYRIGHT LICENSE click [here](#).

Ethical Guidelines for Journal Publication

The **Ciência e Natura** journal is committed to ensuring ethics in publication and quality of articles.

Conformance to standards of ethical behavior is therefore expected of all parties involved: Authors, Editors, Reviewers, and the Publisher.

In particular,

Authors: Authors should present an objective discussion of the significance of research work as well as sufficient detail and references to permit others to replicate the experiments. Fraudulent or knowingly inaccurate statements constitute unethical behavior and are unacceptable. Review Articles should also be objective, comprehensive, and accurate accounts of the state of the art. The Authors should ensure that their work is entirely original works, and if the work and/or words of others have been used, this has been appropriately acknowledged. Plagiarism in all its forms constitutes unethical publishing behavior and is unacceptable. Submitting the same manuscript to more than one journal concurrently constitutes unethical publishing behavior and is unacceptable. Authors should not submit articles describing essentially the same research to more than one journal. The corresponding Author should ensure that there is a full consensus of all Co-authors in approving the final version of the paper and its submission for publication.

Editors: Editors should evaluate manuscripts exclusively on the basis of their academic merit. An Editor must not use unpublished information in the editor's own research without the express written consent of the Author. Editors should take reasonable responsive measures when ethical complaints have been presented concerning a submitted manuscript or published paper.

Reviewers: Any manuscripts received for review must be treated as confidential documents. Privileged information or ideas obtained through peer review must be kept confidential and not used for personal advantage. Reviewers should be conducted objectively, and observations should be formulated clearly with supporting arguments, so that Authors can use them for improving the paper. Any selected Reviewer who feels unqualified to review the research reported in a manuscript or knows that its prompt review will be impossible should notify the Editor and excuse himself from the review process. Reviewers should not consider manuscripts in which they have conflicts of interest resulting from competitive, collaborative, or other relationships or connections with any of the authors, companies, or institutions connected to the papers.

Privacy Statement

The Names and Addresses informed to this journal will be used **exclusively** for publication services and they will not be available for different finalities or to others.

Ethical Guidelines for Journal Publication

The **Ciência e Natura** journal is committed to ensuring ethics in publication and quality of articles.

Conformance to standards of ethical behavior is therefore expected of all parties involved: Authors, Editors, Reviewers, and the Publisher.

In particular,

Authors: Authors should present an objective discussion of the significance of research work as well as sufficient detail and references to permit others to replicate the experiments. Fraudulent or knowingly inaccurate statements constitute unethical behavior and are unacceptable. Review Articles should also be objective, comprehensive, and accurate accounts of the state of the art. The Authors should ensure that their work is entirely original works, and

if the work and/or words of others have been used, this has been appropriately acknowledged. Plagiarism in all its forms constitutes unethical publishing behavior and is unacceptable. Submitting the same manuscript to more than one journal concurrently constitutes unethical publishing behavior and is unacceptable. Authors should not submit articles describing essentially the same research to more than one journal. The corresponding Author should ensure that there is a full consensus of all Co-authors in approving the final version of the paper and its submission for publication.

Editors: Editors should evaluate manuscripts exclusively on the basis of their academic merit. An Editor must not use unpublished information in the editor's own research without the express written consent of the Author. Editors should take reasonable responsive measures when ethical complaints have been presented concerning a submitted manuscript or published paper.

Reviewers: Any manuscripts received for review must be treated as confidential documents. Privileged information or ideas obtained through peer review must be kept confidential and not used for personal advantage. Reviewers should be conducted objectively, and observations should be formulated clearly with supporting arguments, so that Authors can use them for improving the paper. Any selected Reviewer who feels unqualified to review the research reported in a manuscript or knows that its prompt review will be impossible should notify the Editor and excuse himself from the review process. Reviewers should not consider manuscripts in which they have conflicts of interest resulting from competitive, collaborative, or other relationships or connections with any of the authors, companies, or institutions connected to the papers.

Ciência e Natura

E-mail: cienciaenatura@ufsm.br

Universidade Federal de Santa Maria, Campus Sede

Editora Central de Periódicos da UFSM

Av. Roraima, nº 1000. Cidade Universitária. Bairro Camobi.

Prédio 30, Biblioteca Central, Sala 202/205, 2º Pavimento.

Santa Maria, RS. Brasil.

CEP: 97105-900

E-mail: centraldeperiodicos@ufsm.br

Sala Virtual de Atendimento: <https://meet.google.com/chp-xyxw-kfp> (das 8h30min às 12h)