

**INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA E ANTIOXIDANTE DE PARTES
VEGETATIVAS AÉREAS DE *Piper amalago* L.**

**ANTIOXIDANT AND PHYTOCHEMICAL INVESTIGATION OF THE
AERIAL VEGETATIVE *Piper amalago* L.**

INVESTIGAÇÃO DE *Piper amalago* L.

Artigo Original

Greici T. Rovani¹,
Vera L. P. dos Santos²,
Obdúlio Gomes Miguel³,
Jane M. Budel⁴,
Ranieri Campos⁵.

RESUMO

A espécie *Piper amalago* L. pertence a família Piperaceae. Investigações etnofarmacológicas evidenciaram certas atividades biológicas para várias espécies do gênero *Piper* utilizadas no tratamento de diversas patologias com propriedades antioxidante, psicotrópicas, antiofídica e antimicrobiana. Em estudo foram evidenciados, a presença de amidas, sendo estas responsáveis pela atividade anti-inflamatória e antimicrobiana. O objetivo do trabalho foi investigar o perfil fitoquímico e avaliar a atividade antioxidante deste táxon.

Obteve-se o extrato bruto etanólico, onde se extraiu o material vegetal por soxhlet, e

¹Faculdades Integradas do Brasil (UNIBRASIL). Curitiba – PR.

1 Graduanda do Curso de Farmácia das Faculdades Integradas do Brasil – UNIBRASIL.

Rua: Cora Coralina, 62 sob-6. Santa Cândida.CEP:82720-100. Curitiba-PR. E-mail: greicio@hotmail.com

² Msc. em Morfologia - Área de Concentração: Biologia Celular - Universidade Federal do Paraná (UFPR).

³ Dr. em Química pela UFSC. Professor do Departamento de Farmácia da UFPR.

⁴ Dra. em Ciências Farmacêuticas pela UFPR. Professora do departamento de Farmácia da UEPG.

⁵ Msc. em Química pela FURB. Professor de Química da Unibrasil.

Cadernos da Escola de Saúde

concentrou-se em evaporador rotatório. Analisou-se por cromatografia Líquida de alta eficiência o extrato bruto etanólico. Avaliou-se a atividade antioxidante pelo método de Redução do Complexo Fosfomolibidênio e mediu-se espectrofotometricamente em 695 nm. Avaliou-se o potencial de Redução do Radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Elucidaram-se as estruturas através de ressonância magnética nuclear ¹H e de ¹³C. Os grupos de metabólitos detectados foram alcaloides, taninos condensados, flavonóis e triterpenos. A análise por cromatografia a líquido (HPLC) evidenciou a presença de metabólitos secundários vitexina e lupeol, que foram comparados às substâncias descritas em literatura, e confirmadas na elucidação estrutural por Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A espécie apresentou atividade antioxidante por redução do complexo Fosfomolibidênio e mostrou-se eficaz em 28,09µg/mL para reduzir em 50% da concentração inicial de DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazila). Pela análise fitoquímica foram isolados os compostos vitexina e lupeol e neste contexto sugere-se, potencial antioxidante à espécie *Piper amalago* L.

DESCRITORES: antioxidantes; Piperaceae; *Piper amalago* L; flavonoides.

ABSTRACT

The species L. *Piper amalago* belongs to the family Piperaceae. Ethnopharmacological investigations showed some biological activities in several species of the genus *Piper* used in the treatment of various diseases with antioxidant properties, psychotropic antiophidic and antimicrobial. In a study were evidenced, the presence of amides, which are responsible for anti-inflammatory activity and antimicrobial. The objective of this study was to investigate the phytochemical profile and evaluate the antioxidant activity of this taxon. Gave the crude ethanol extract, where the plant material is extracted by soxhlet, and concentrated on rotary evaporator. Analyzed by high performance Liquid chromatography The crude ethanol extract. We evaluated the antioxidant activity by the method of reduction of Complex Fosfomolibidênio and measured spectrophotometrically at 695 nm. We evaluated the potential reduction Radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhidrazila). Elucidated the structures by ¹H NMR and ¹³C. The groups of metabolites were detected alkaloids, tannins, flavonols and triterpenes. The analysis by liquid chromatography (HPLC) revealed the presence of secondary metabolites vitexin and lupeol, which were compared to materials described in the literature, and confirmed the structural elucidation by nuclear magnetic resonance (NMR). The species showed antioxidant activity by reducing complex and Fosfomolibidênio was effective in 28.09 mg / mL to reduce by 50% the initial concentration of DPPH (2,2-diphenyl-

Cadernos da Escola de Saúde

1 picrilhidrazila). By analyzing phytochemical compounds were isolated and vitexin lupeol and in this context it is suggested, antioxidant potential to the species *L. Piper amalago*

DESCRIPTORS: antioxidant; Piperaceae; *Piper amalago* L.; flavonoids.

INTRODUÇÃO

Piperaceae é uma família que possui cerca de 3000 espécies distribuídas em 10 gêneros, sendo na sua maioria representada pelos gêneros *Piper* e *Peperomia* ^(1,2). São distribuídas em todas as regiões tropicais e subtropicais do planeta e no Brasil ocorrem cinco gêneros e aproximadamente 500 representantes, especialmente na Floresta Atlântica ⁽³⁾. Apresentam estruturas secretoras no tecido parenquimático, com folhas simples, inteiras e alternas ⁽⁴⁾.

Dentre os metabólitos secundários relatados para esta família estão incluídos, polifenóis como chalconas, flavonas e flavononas, além de alcaloides, amidas, lignoides, terpenos e esteroides ⁽⁵⁾. Em virtude da presença destes grupos de metabólitos, estudos etnofarmacológicos relatam sua atividade anticancerígena, anti-hipertensiva, antioxidante, anti-lipêmica, ansiolítica, antidepressiva e anti-inflamatória ⁽⁶⁾.

Dentre as Piperaceae, destaca-se o gênero *Piper* que é caracterizado por pequenas árvores ou arbustos, com espigas opostas às folhas, e pela presença de nós foliares geniculados e folhas com base assimétrica ⁽³⁾. Inclui mais de 1000 espécies e algumas delas são cultivadas domesticamente como plantas ornamentais ^(5,6).

Foram relatados compostos tais como amidas, terpenos, antraquinonas, ácido benzóico e derivados, além de ligninas, neoligninas e alguns alcaloides ^(6,7).

Os óleos essenciais produzidos pelas variedades de espécies do gênero *Piper* são utilizados na indústria de inseticidas, condimentos e farmacêutica ⁽⁴⁾.

Investigações etnofarmacológicas evidenciaram atividade biológica para espécies do gênero *Piper* no tratamento de diversas patologias, com propriedade antioxidante, psicotrópica, antiofídica e antimicrobiana nas infecções urinárias, nas infecções do trato respiratório, nas aflições hemorroidais e para o tratamento de arritmias cardíacas ^(7,8,9,10).

Além do mencionado, em algumas espécies de *Piper* encontram-se alcaloides com propriedades biológicas antitumoral, analgésica, anti-inflamatória, antidepressiva, imunomoduladora e ansiolítica ⁽⁸⁾.

Dentro deste contexto, a espécie *Piper amalago* L, conhecida popularmente como Jaborandi, que é distribuída desde o México até o Brasil, vem sendo utilizada como

Cadernos da Escola de Saúde

analgésica. Em estudos prévios foram evidenciados a presença de amidas, que são responsáveis pela atividade anti-inflamatória e antimicrobiana ^(8,11).

De acordo com os trabalhos químicos, farmacológicos e dados etnofarmacológicos, observa-se que *P. amalago* possui potencial terapêutico não explorado. Desta forma, objetivou-se investigar o perfil fitoquímico e avaliar a atividade antioxidante deste táxon.

METODOLOGIA

Obtenção do material vegetal

Coletou-se *Piper amalago* L. na cidade de Curitiba no estado do Paraná no mês de Junho do ano 2012. Após, obteve-se a secagem ao ar livre e posteriormente comparou-se o material com exsicata existente no museu botânico de Curitiba, a qual foi identificada pelo número 71947. Realizaram-se os ensaios nas Faculdades Integradas do Brasil – UNIBRASIL e Universidade Federal do Paraná – UFPR.

Obtenção do extrato bruto

Submeteu-se o material vegetal (50g) à extração por soxhlet com etanol 92,6°GL, e concentrou-se em evaporador rotatório, obtendo-se o extrato etanólico bruto (EEB).

Análise sistemática dos principais grupos de metabólitos secundários

Realizou-se a análise segundo Simões (2004). Pesquisou-se alcaloides, leucoantocianidinas, glicosídeo flavônico, flavonóis, esteroides e triterpenos, glicosídeos antociânicos, glicosídeos saponícos, e taninos⁽¹²⁾.

Isolamento e identificação dos compostos

Através da técnica clássica em coluna cromatográfica, isolaram-se compostos químicos, e como fase estacionária sílica gel 60 Merck® 0,063 – 0,200mm, e fase móvel com misturas de hexano e metanol, com eluições em sistema gradiente de porções de 100mL incrementando 5% a cada porção.

Identificaram-se substâncias isoladas através de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear e Ultravioleta.

A elucidação estrutural dos compostos realizou-se através espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H e de ¹³C equipamento Bruker® em 200 Mhz no Laboratório de Fitoquímica da UFPR¹³.

Análise cromatográfica por cromatografia à líquido de alta eficiência (CLAE)

Para a análise cromatográfica por CLAE, pesou-se 5mg do extrato brutos e solubilizou-se em 1mL de metanol. Injetou-se 20µL da amostra em equipamento Merck®

Cadernos da Escola de Saúde

Elite Lachrom, software Chrom[®], bomba L-2130, ultravioleta detectores DAD L2450 Elite LaChrom, coluna de fase reversa C-18 Merck[®] dimensões (250mm x 4,6mm x 5µm), no Laboratório de Fitoquímica da UFPR, e monitorou-se nos comprimentos de onda de 200nm até 400nm.

O método baseou-se em análise de 45 minutos para o extrato bruto, e como sistema eluente inicial utilizou-se 95% de água acidificada e 5% de metanol, em um fluxo de 1mL/minuto, mantendo-se constante o fluxo por toda a corrida.

O sistema eluente envolveu gradiente de concentração, onde aos 32 minutos de análise cromatográfica estava-se com 5% de água acidificada e 95% de metanol. Esta condição manteve-se constante, até os 36 minutos da análise.

Aos 38 minutos de análise, levou-se a coluna a condição inicial de injeção, mantendo-se até os 36 minutos para a reestabilização desta condição de análise e subsequentes injeções.

Avaliação da Atividade Antioxidante pela Redução do Radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

Analisou-se o potencial de redução do radical DPPH das amostras espectrofotometricamente segundo Mensor et al (2001)¹⁴. Preparou-se cinco soluções etanólicas (amostra) em concentrações de 10 à 50 µg/mL, num volume de 2,5 mL em cada tubo. Em seguida preparou-se uma solução de DPPH etanólica na concentração de 3,5mg de DPPH/30mL de etanol. Em cada tubo das amostras adicionou-se 1mL da solução de DPPH, perfazendo um volume total de 3,5 mL.

Preparou-se e utilizou-se como branco 2,5mL de etanol e adicionou-se 1mL de DPPH (0,116mg/mL). E paralelamente preparou-se uma solução controle com 2,5 mL de ácido ascórbico (vit.C) e outra solução com 2,5mL de rutina e adicionou-se 1 mL de solução de DPPH em cada controle.

Após trinta minutos de reação realizaram-se as leituras em espectrofotômetro à 518nm. Por conseguinte calculou-se a concentração necessária para 50% do efeito antioxidante máximo⁽¹⁴⁾. Analisou-se a amostra em triplicata e expressou-se o resultado por regressão linear e calculou-se o valor de IC₅₀ comparando-o com o padrão vit.C (ácido ascórbico) e rutina.

Avaliação da Atividade Antioxidante pelo Modelo de Redução do Complexo do Fosfomolibidênio

Cadernos da Escola de Saúde

O complexo fosfomolibidênio forma-se pela reação da solução de Na_3PO_4 (28mL, 0,1mol/L) com solução de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (12mL, 0,03mol/L) e solução de H_2SO_4 (20mL, 3mol/L), em meio aquoso¹⁵.

Este complexo possui coloração amarela, e ao reduzir-se se torna verde, possibilitando a medida espectrofotométrica em 695nm¹⁵.

As amostras foram levadas à secura em banho-maria (40°C), e a partir do material seco bem como das substâncias isoladas, em seguida foram preparados tubos com 3mL de solução reagente do complexo fosfomolibidênio, e com concentrações das substâncias que foram analisadas e padrões variando de 180µg/mL à 210µg/mL.

Os tubos foram fechados e mantidos em banho-maria à 95°C por 90 min. Após resfriamento, realizou-se a leitura a 695nm, em um espectrofotômetro UV-Q798U Quimis® para obtenção das absorbâncias, usou-se 0,3mL de metanol com 3mL do reagente como branco⁽¹⁵⁾. Analisou-se a amostra em triplicata e expressou-se o resultado comparando a atividade antioxidante relativa entre a amostra (EEB) e a vitamina C numa concentração de 200µg/mL.

RESULTADOS

A amostra foi identificada e comparada à exsicata que está depositada no Museu Botânico Municipal de Curitiba. Foi coletada em 12/11/1981, em Cerro Azul, localidade do Ribeirão do Tigre. O nº de coleta 44375 e o número de identificação de registro no acervo é 71947.

Preparo do extrato.

A planta foi submetida à secagem ao ar livre. Foram pesados 50g do material vegetal finamente dividido, após foi elaborada sua extração por soxhlet utilizando como solvente etanol 92,6°GL, e posteriormente filtrado e concentrado em evaporador rotatório, concentrando assim o extrato etanólico bruto (EEB).

Análise sistemática dos principais grupos de metabólitos secundários.

Os principais metabólitos secundários presentes na amostra foram identificados através do estudo preliminar, servindo como guia para o isolamento de substâncias. Foram detectados os grupos de metabólitos descritos no quadro.

Tabela 1: Análise sistemática do extrato etanólico bruto (EEB)

GRUPOS DE METABÓLITOS	RESULTADO
Alcaloides	+++
Glicosídeos antociânicos	-
Taninos condensados	+++
Leucoantocianidinas	-
Triterpenos	++
Saponinas	-
Flavonóis	+++
Glicosídeos flavônicos	-
Triterpenos Taninos hidrolisáveis	-
Esteroides	-

Cadernos da Escola de Saúde

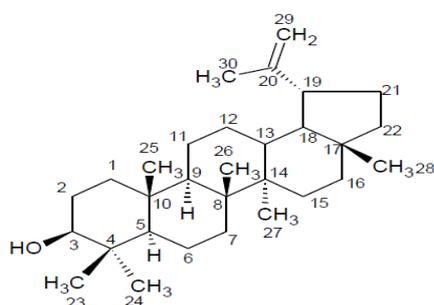
Comparando os dados encontrados em literaturas com os resultados positivos foi possível evidenciar, na sua maioria, a presença desses metabólitos na família Piperaceae⁽⁹⁾.

Isolamento e identificação dos compostos

Foi pesado 1g do material e solubilizado em 50 mL de etanol, que foi submetido à análise cromatográfica em coluna sobre sílica gel, com eluições em sistema gradiente com misturas de hexano e metanol em porções de 100mL, incrementando 5% a cada porção. Nesta separação foram isolados 2 substâncias químicas que apresentaram-se como sólidos, um amarelo e outro branco. Na porção 100% de hexano precipitou o sólido branco, na porção 80% de metanol 20% de hexano precipitou um sólido amarelo, que foram filtrados e caracterizados por ressonância magnética nuclear.

Na análise do sólido branco obtido por cromatografia foi realizado experimento de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e tratando-se de um triterpeno, pela dificuldade de se reconhecer os sinais optou-se pela comparação de seus dados com os já existentes na literatura e suspeitou-se do lupeol por questões de quimiotaxonomia uma vez que lupeol é um triterpeno comum ao gênero. Verificou-se, portanto que os espectros tratavam-se de uma impressão digital, sobrepostos e idênticos. O lupeol por sua vez, apresenta ação biológica anti-inflamatória e antitumoral¹⁶.

Figura 1: Estrutura química do lupeol.



Fonte: Hirota BCK, (2011)¹⁶.

O sólido amarelo foi submetido à RMN ¹³C e ¹H. O espectro de ¹H exibiu deslocamentos químicos na região de H ligado a C sp². Foi exibido singletos em δ6,28 e δ6,8 que incorporam para cada hidrogênio. Em δ13,18 observa o singlete, mais desprotegido, incorpora para um hidrogênio onde se pode relatar ser um hidrogênio de hidroxila em ligação de hidrogênio com o grupo cetona da posição 4. Já os dubletos em δ6,9 e δ8,04 incorporam em dois H cada, com J= 8,7Hz típico dos hidrogênios 3'/5' e 2'/6' de um anel aromático

Cadernos da Escola de Saúde

dissubstituído em *para*. A região de $\delta 4$ à $\delta 5$ é uma região característica de H de açúcar, o que confirma a presença de açúcar na região de $\delta 4,68$ ¹⁶.

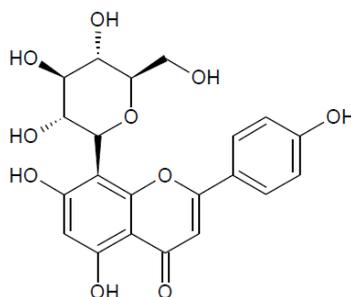
O espectro de RMN de ¹³C exibiu sinais para 19 carbonos, 6 carbonos em 60 à 80 ppm, e 13 carbonos típico da estrutura básica dos flavonoides contendo o anel C *p*-substituído entre 90 e 180ppm. Comparando-se os espectros de RMN com a literatura, propõe-se que a substância sólida amarela é vitexina¹⁶.

Tabela 2: Resultados RMN de ¹H sólido amarelo.

Análise Extrato Etanólico bruto	Literatura Peng (2008) ¹⁷	Posição
8,04 <i>d</i> (J=8,7 Hz)	8,01 <i>d</i> (J=8,7 Hz)	2'6'
6,9 <i>d</i> (J=8,7 Hz)	6,88 <i>d</i> (J=8,7 Hz)	3'5'
6,8 (<i>s</i>)	6,76 (<i>s</i>)	3
13,18 (<i>s</i>)	13,15 (<i>s</i>)	5
6,28 (<i>s</i>)	6,27 (<i>s</i>)	6
4,66 <i>d</i>	4,69 <i>d</i> (J=9,8 Hz)	1''

Nota: *s*=singleto; *d*=dublete.

Figura 2: Estrutura química da vitexina.



Fonte: Hirota BCK, (2011)¹⁶.

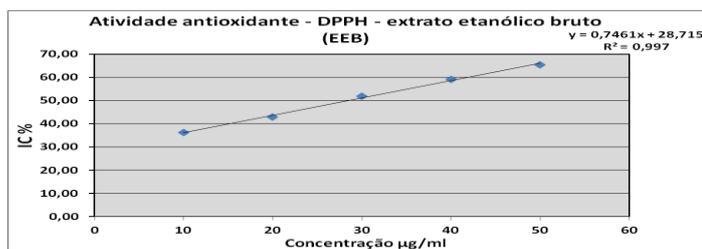
Análise cromatográfica por cromatografia à líquido de alta eficiência (CLAE).

Nesta análise foi obtida apenas uma única substância num tempo de retenção de 17,44 minutos e para identificação deste composto foi efetuado uma comparação dos perfis de absorção de radiação ultravioleta da substância analisada com um padrão de referência (vitexina) e segundo Mabry (1970), apresentam-se com dois lambdas máximos, um em 270 e outro em 335 nm¹⁸.

Avaliação da Atividade Antioxidante pela Redução do Radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila).

Cadernos da Escola de Saúde

Figura 3: Representação gráfica do extrato etanólico bruto – método DPPH.



Para analisar os resultados do ensaio realizado em triplicata utilizou-se a regressão linear, que permitiu calcular pela fórmula o valor do IC₅₀, ou seja, a concentração da amostra que reduz 50% da concentração inicial de DPPH e comparado com os padrões vitamina C (ácido ascórbico) e rutina.

Tabela 3: Resultados da avaliação da propriedade antioxidante pelo método DPPH

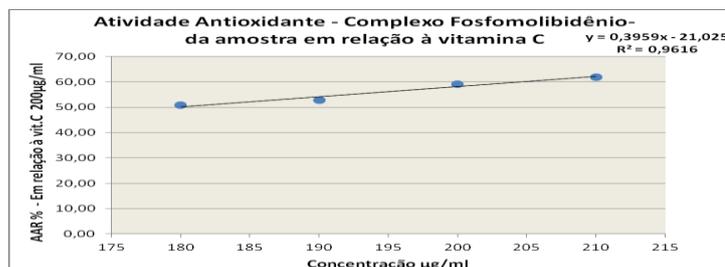
AMOSTRA	IC ₅₀ (µg/mL)	DESVIO PADRÃO
Vitamina C	4,28	0,03
Rutina	5,87	0,3
Extrato EB	28,09	0,48

Analisando os dados do IC₅₀, observa-se que o extrato etanólico bruto (EEB) de *Piper amalago* L. é menos ativo em comparação aos padrões analisados, necessitando de uma quantidade maior (28,09µg/mL) do EEB para reduzir 50% da concentração inicial do DPPH.

Avaliação da atividade antioxidante pelo Modelo de Redução do complexo Fosfomolibidênio

Foram preparados os tubos em triplicata nas seguintes concentrações 180, 190, 200, 210µg/mL do extrato bruto etanólico (amostra) e como controle positivo foi utilizado a vitamina C (ácido ascórbico) na concentração 200µg/mL.

Figura 4: Representação gráfica avaliação da atividade antioxidante – Complexo fosfomolibidênio



Cadernos da Escola de Saúde

Para avaliação da atividade antioxidante pelo modelo de redução do complexo fosfomolibidênio, comparou-se de forma direta a atividade antioxidante relativa do extrato etanólico bruto e o padrão vitamina C. e para isso foi utilizada a equação $AAR\% = (\text{Abs.amostra}/\text{Abs.Vit.C}) * 100$.

Em uma concentração de 180µg/mL da amostra foi obtido à atividade relativa de 50,84% da atividade da vitamina C em concentração de 200 µg/mL. Logo, considerando a atividade da vitamina C como referência, a amostra apresenta atividade antioxidante considerável.

CONCLUSÃO

A planta pesquisada foi *Piper amalago* L., as substâncias isoladas no extrato etanólico bruto (EEB) foram substâncias vitexina (amarela) e o lupeol (branca), em comparação com as literaturas, na análise sistemática foi caracterizado presença de alcaloides, taninos condensados, flavonóis e triterpenos. Foi avaliada a atividade antioxidante do EEB em comparação aos padrões vitamina C e rutina.

Portanto, acredita-se que a espécie possa ser objeto de estudo a fim de estender o conhecimento farmacológico e químico deste táxon.

REFERÊNCIAS

1. Joly, AB. Botânica introdução à taxonomia vegetal. São Paulo (SP): Nacional, 2002.
2. Silva MC, Guimarães EF. Piperaceae do parque nacional da serra da canastra, Minas Gerais, Brasil. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo 2009, 27(2): 235-245.
3. Souza, VC. Botânica sistemática. Nova Odessa (SP): Plantarum, 2005.
4. Souza LA, Albiero ALM, Almeida OJG, Lopes WAL, Mourão KSM, Moscheta IS. Estudo morfo-anatômico da folha e do caule de *Piper arboreum* Aubl. (Piperaceae). Latin American Journal of Pharmacy 2009; 28(1): 103-7.
5. Parmar VS, Jain SC, Bisht SK, Jain R, Taneja P, Tyagi OD, et al. Phitochemistry of the genus *Piper*. Phytochemistry 1997, 46(4): 591-673.
6. Giannetti AAM, Cotinguiba F, Regasini LO, Frigieri MC, Varanda EA, et al. Study of *Salmonella typhimurium* mutagenicity assay of (*E*)-piplartine by the Ames test. African Journal of Biotechnology. 2011 jun 15; 10(27): 5398-5401.
7. Regasini LO, Cotinguiba F, Passerini GD, Bolzani VS, Cicarelli RM, et al. Trypanocidal activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia 2009; 19(1B): 199-203.
8. Carrara VS, Serra LZ, Cardozo LF, Cunha EFJ, Santos ECT, et al. HPLC Analysis of supercritical carbon dioxide and compressed propane extracts from *Piper amalago* L. with antileishmanial activity. Molecules 2012, 17: 15-33.

Cadernos da Escola de Saúde

9. Regasini LO, Cotinguiba F, Morandim AA, Kato MJ, Scorzoni L, et al. Antimicrobial activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae) against opportunistic yeasts. *African Journal of Biotechnology* 2009 jun 17; 8(12): 2866-2870.
10. Facundo VA, Polli AR, Rodrigues RV, Militão JSLT, Stabelli RG, Cardoso CT. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. *Acta amazônica* 2008, 38(4): 743-748.
11. Novaes AS, Mota JS, Barros ME. Estudo bibliográfico sobre possível atividade antituberculosa de *Piper Amalago* (Piperaceae). *III Simpósio Brasil – Japão; 2010; Campo Grande (MS), Brasil*.
12. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis (RS/SC): Editora UFRGS/UFSC; 2004.
13. Kalegari M, Miguel MD, Dias JFG, Lordello ALL, Lima CP, Miyazaki CMS et al. Phytochemical constituents and preliminary toxicity evaluation of leaves from *Rourea induta* Planch. (Connaraceae). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2011 sep; 47(3).
14. Nunes XP, Mesquita RF, Silva DA, Lira DP, Costa VCO, Silva MVB, et al. Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de *Mimosa paraibana* Barneby (Mimosaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2008 dez; 18(supl.): 718-723.
15. Balestrin L, Dias JFG, Miguel OG, Dall’Stella DSG, Miguel MD. Contribuição ao estudo fitoquímico de *Dorstenia multififormis* Miquel (Moraceae) com abordagem em atividade antioxidante. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2008 abr/jun; 18(2): 230-235.
16. Hirota BCK. Estudo fitoquímico e das propriedades biológicas de *Jatropha multifida* L. (Euphorbiaceae). Curitiba (PR): Setor de ciências da saúde, Universidade Federal do Paraná; 2011.
17. Peng X, Zheng Z, Cheng KW, Shan F, Ren GX, Chen F, et al. Inhibitory effect of mung bean extract and its constituents vitexin and isovitexin on the formation of advanced glycation endproducts. *Food Chemistry* 2008 abr; 106: 475-481.
18. Mabry TJ; Markham KR; Thomas MB. *The Systematic Identification of Flavonoids*. Nova York (EUA): Springer-Verlag; 1970.