

CAMILA MACAÚBAS DA SILVA

ESTUDO FITOQUÍMICO COM FINS FARMACOLÓGICOS DE *Pavonia glazioviana*GÜRKE (MALVACEAE)

AREIA, PB

CAMILA MACAÚBAS DA SILVA

ESTUDO FITOQUÍMICO COM FINS FARMACOLÓGICOS DE *Pavonia glazioviana*GÜRKE (MALVACEAE)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Química da Universidade Federal da Paraíba como requisito parcial à obtenção do título Bacharel em Química

Orientador (a): Yanna Carolina Ferreira Teles

AREIA, PB

Catalogação na publicação

Seção de Catalogação e Classificação

S586e Silva, Camila Macaúbas da.

Estudo Fitoquímico com fins farmacológicos de Pavonia glazioviana GÜRKE (MALVACEAE) / Camila Macaúbas da Silva. - João Pessoa, 2018.

67f. : il.

Orientação: Yanna Carolina Ferreira Teles. Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

- 1. Pavonia glazioviana. 2. Malvaceae. 3. Fitoquímica.
- I. Teles, Yanna Carolina Ferreira. II. Título.

CAMILA MACAÚBAS DA SILVA

ESTUDO FITOQUÍMICO COM FINS FARMACOLÓGICOS DE Pavonia glazioviana GÜRKE (MALVACEAE)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Química da Universidade Federal da Paraíba como requisito parcial à obtenção do título Bacharel em Química

Aprovada em: 04/12/2018.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Yanna Carolina Ferreira Teles (Orientador)

Jana Carolin Formana Teles

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Elizabeth Almeida Lafayette (Examinador)

Universidade Federal da Paraíba(UFPB)

Dayre das Neves Moreina

Profa. Dra. Dayse das Neves Moreira (Examinador) Universidade Federal da Paraíba(UFPB)

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais e ao meu irmão, que mesmo de longe se fazem presentes, sempre me apoiando e dando forças para seguir pelo melhor caminho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, pelo dom da vida, por iluminar meu caminho e me capacitar para cada batalha da vida.

Aos meus pais, por todo o esforço, dedicação, conselhos, por acreditarem em mim e sempre me apoiar nas minhas decisões. Sem vocês a caminhada seria muita mais difícil, obrigada por todo sacrifício. Amo vocês.

Ao meu irmão e toda sua família, que se fizeram presentes mesmo que de longe, sempre me apoiando.

A minha prima Lalá e seu esposo, que me acolheram e sempre estiveram ao meu lado, quando eu não tinha meus pais para recorrer. Obrigada por abrir as portas da sua casa, por cada palavra amiga e por cada cuidado. A meus primos JonatanMaíron eRonny Carvalho, que sempre me ajudaram quando precisei e sempre estiveram ao meu lado.

A minha vozinha, Rita, moradora da cidade de Areia, que me adotou como sua neta, e me deu todo o suporte na minha chegada a cidade, juntamente com sua filha Edleide, e seu esposo Zezinho. Obrigada por me tratarem como um membro da família, que Deus sempre abençõe vocês.

Aos amigos que aqui fiz: Erica Kelly, Maysa Dayane, Gabryella Monteiro, Paulo Gomes, Ellen Shirmene, Jefferson Bonifácio, João Rafael Vieira, Thamyres Ribeiro, Bruna Alves, Ewerton Matias, Leandro dos Santos, que são mais do que amigos, e que se tornaram minha segunda família. Obrigada por cada conselho, cada palavra amiga, por enxugarem minhas lágrimas, me ajudarem quando precisei, epor sorriem junto comigo sempre. Obrigada por tornarem essa caminhada mais leve.

A todos os professores, e técnicos do Departamento de Química e Física (DQF), que colaboraram para minha formação, em especial a, Yanna Carolina Ferreira Teles, minha orientadora, que me apresentou a Química de Produtos Naturais, que sempre estava disposta a ensinar sobre essa área, e que me ajudou na realização deste trabalho; Maria Betânia Hermenegildo dos Santos e Dayse das Neves Moreira, que também foram minhas orientadoras em projetos ao longo do curso. Obrigada por toda a paciência que tiveram comigo, e por todos os ensinamentos.

A todo o pessoal do grupo de Produtos Naturais, que sempre estiveram dispostos a ajudar nas análises, e a todos os colegas de turma, e alguns moradores de Areia, que me acolheram e ajudaram de certa forma.

EPÍGRAFE

"Eu tentei 99 vezes e falhei, mas na centésima tentativa eu consegui. Nunca desista de seus objetivos mesmo que esses pareçam impossíveis, a próxima tentativa pode ser a vitoriosa."

Albert Einstein

RESUMO

Plantas medicinais são cultivadas a cerca de 5000 mil anos, na Índia, China e Egito. Análises fitoquímicas são realizadas a fim de determinar ou quantificar a presenca de metabólitos secundários vegetais. Essas substâncias, são capazes de interagir em sistemas biológicos e estudos buscam a sua aplicação como compostos antimicrobianos, anestésicos e antivirais. Os compostos fenólicos, formam diversas classes de metabólitos secundários, e demonstram diversos benefícios à saúde humana, evidenciam-se a redução na ocorrência de certos tipos de câncer e redução do colesterol sérico, devido sua atividade antioxidantes dos vegetais. Algumas espécies do gênero destacam-se com relatos de atividade terapêutica antifúngica e antibacteriana. A espécie alvo desse trabalho é a Pavonia glazioviana Gürke, conhecida como "malva-da-chapada" e "tampa-cabaça". Vislumbrando vasta aplicação dos produtos naturais da biodiversidade brasileira, o presente trabalho visa o estudo fitoquímico da espécie P.glazioviana, com vistas ao seu potencial farmacológico. A análise fitoquímica preliminar foi desenvolvida de acordo com os estudos de Matos (1997) através de reações características para os grupos de substâncias vegetais de interesse.O conteúdo de fenólicos totais da amostra foi determinado utilizando o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteau. Para avaliar a atividade antioxidante, foi utilizado o método sequestrador de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). O isolamento de constituinte químico foi através de coluna cromatográfica e identificação por RMN.O extrato etanólico da espécie vegetal P. glazioviana, apresentou resultado positivo para os seguintes grupos de metabólitos secundários: flavonoides, alcaloides, cumarinas, taninos, esteroides e triterpenos. Foram encontrados no extrato etanólico da espécieP. glazioviana 48,2 ± 1,7103mg de EAG/g de extrato etanólico. Na avaliação da atividade antioxidante a EC₅₀ encontrada foi de 6,36 mg/mL ± 0,02921. Os resultados apontam que a espécie é produtora de elevado teor de substâncias fenólicas e apresenta interessante atividade antioxidante. A atividade antioxidante pode indicar ação benéfica de proteção contra vários tipos de câncer e doenças crônicas associadas ao processo de oxidação de biomoléculas. Foi possível isolar e identificar o flavonoide 5,7-dihidroxi-3,8,4'-trimetoxiflavona, relatado pela primeira vez no gênero Pavonia, contribuindo com a quimiotaxonomia da famíla Malvaceae. Os resultados encontrados são de grande impotância para o estudo da referida espécie, como também para sua contribuição à saúde humana.

Palavras-chave: Pavonia glazioviana, Malvaceae, fitoquímica.

ABSTRACT

Medicinal plants are used since 5000 thousand years in India, China a Egypt.Phytochemical analyzes are performed in order to determine or quantify to presence of plant secondary metabolites. These substances are capable of interacting in biological systems and studies seek their application as antimicrobial, anesthetic and antiviral compounds. Phenolic compounds, form several classes of secondary metabolites, and demonstrate benefits to human health, evidencing the reduction of cancers and reduction of serum cholesterol, due to its antioxidant activity of vegetables. Some species of the *Pavonia* genus stand out with reports of antifungal and antibacterial activity. The focused specie of this work is the Pavonia glazioviana Gürke, known as "malva-da-chapada" and "capa- cabaça". The present work aims to perform the phytochemical study of P. glazioviana, considering its pharmacological potential. The preliminary phytochemical analysis was developed according to Matos (1997) through characteristic reactions for the plant metabolites. The total phenolic content of the sample was determined using the Folin-Ciocalteau spectrophotometric method. To evaluate the antioxidant activity, the method offree radical DPPH (2,2-diphenyl-1picrylhydrazyl) was used. The isolation and identification ofthe chemical constituent was carried out using cromatoghraphy followed by NMR. The ethanolic extract of P. glazioviana showed a positive result for the following secondary metabolites: flavonoids, alkaloids, coumarins, tannins, steroids and triterpenes. In the ethanolic extract of the studied species were found48.20 ± 1.713 mg of EAG / g of ethanolic extract. In the evaluation of the antioxidant activity the EC₅₀ found was 6.36 mg / mL \pm 0.02921. The results indicate that the species is a producer of high content of phenolic substances and presents interesting antioxidant activity. The antioxidant activity may indicate beneficial action against various types of cancer and chronic diseases associated with the oxidation process of biomolecules. It was possible to isolate and identify the flavonoid 5,7-dihydroxy-3,8,4'-trimethoxyflavone, reported for the first time in the genus Pavonia, contributing to the chemotaxonomy of the Malvaceae family. The results found are of great importance for the study of this species, as well as for its contribution to human health.

Keywords: *Pavonia glazioviana*, Malvaceae, phytochemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Distribuição mundial de espécies da família Malvaceae	21
Figura 2.Pavonia glazioviana.	23
Figura 3. Distribuição da P. glazioviana no nordeste do país	23
Figura 4. Fórmula estrutural da morfina.	25
Figura 5.Exemplo de terpenoide: taxol	26
Figura 6. Estrutura química do colesterol	27
Figura 7. Estrutura das saponinas.	28
Figura 8. Exemplos de compostos fenólicos.	29
Figura 9. β-1,2,3,4,6-pentagaliol-D-glicose	30
Figura 10. Modelo de estrutura de taninos condensados	30
Figura 11. Estruturas básicas de cumarinas e cromonas, respectivamente	31
Figura 12. Estrutura química das classificações de cumarinas	32
Figura 13. Estruturas de quinonas: 1,2-benzoquinona (o-benzoquinona)	e 1,4
benzoquinona (p-benzoquinona)	33
Figura 14. Núcleo fundamental dos flavonoides.	34
Figura 15. Estrutura química dos principais tipos de flavonoides	35
Figura 16. Curva de calibração do ácido gálico em μg/mL	45
Figura 17. Curva de calibração do DPPH	47
Figura 18. Potencial antioxidante do extrato etanólico de Pavonia glazioviana	48
Figura 19. Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Pg-1</i>	50
Figura 20. Primeira expansão do Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de	
Pg-1	50
Figura 21. Segunda expansão do Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de	
Pg-1	51
Figura 22. Espectro de RMN 13 C / ATP(δ , CDCl ₃ , 125 MHz) de Pg -1	52
Figura 23. 5,7-dihidroxi-3,8,4'-trimetoxiflavona	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação das quinonas quanto ao sistema aromático	3
Tabela 2. Valores de absorbâncias para sua respectiva concentração de ácido gálico, e triplicata	
Tabela 3. Valores de absorbâncias para sua respectiva concentração de DPPH, e triplicata	
Tabela 4. Resultados obtidos para a avaliação da atividade antioxidante do extra etanólico da <i>Pavonia glazioviana</i>	
Tabela 5. Comparação do $\delta_{He}\delta_{C}$ do Pg-1 com Mo-1	3

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PN - Produtos Naturais
ERO - Espécie Reativa de Oxigênio
P. glazioviana - Pavonia Glazioviana
DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila
C5 - 5 Carbonos
C10 - 10 Carbonos
C15 - 15 Carbonos
C20 - 20 Carbonos
C25 - 25 Carbonos
C30 - 30 Carbonos
C40 - 40 Carbonos
p - para
o - orto
ERN - Espécies Reatinas de Nitrogênio
Sisgen - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
EtOH - Etanol
H ₂ O - Água
HCl - Ácido clorídrico
AlCl ₃ - Cloreto de Alumínio
NaOH - Hidróxido de Sódio

FeCl₃ - Cloreto de Ferro

µg/mL - Microgramas por mililitros

μL - Microlitros

Na₂CO₃ - Carbonato de Sódio

UV-Vis - Ultravioleta Visível

nm - nanômetros

μM - micromolar

Abs - Absorbância

EC₅₀ - Concentração do extrato que reduz em 50%

CCDA - Cromatografia em Camada Delgada Analítica

RMN ¹H - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

R² - Coeficiente linearidade

EAG - Equivalente de Ácido Gálico

Abs₅₀ - Absorbância que reduz em 50%

APT - Attached Proton Test (Teste de Próton Anexado)

LISTA DE SÍMBOLOS

- δ Deslocamento Químico
- J- Constante de acoplamento

SUMÁRIO

20	OBJETIVOS	21
	2.1 Objetivo Geral:	21
	2.2 Objetivos Específicos:	21
3	REFERENCIAL TEÓRICO	22
	3.1 Família Malvaceae	22
	3.2 Gênero Pavonia e a espécie P. glazioviana	23
	3.3 Análise Fitoquímica	24
	3.4 Metabólitos Secundários	25
	3.4.1Alcaloides	26
	3.4.2 Esteroides e Terpenoides	27
	3.4.2.1 Saponinas	28
	3.4.3 Compostos Fenólicos	29
	3.4.3.1 Taninos	30
	3.4.3.2 Cumarinas	32
	3.4.3.3 Quinonas	33
	3.4.3.4 Flavonoides	34
	3.5 Atividade Antioxidante	36
	3.6 Cromatografia	37
4	METODOLOGIA	39
	4.1 Coleta do Material	39
	4.2 Preparação dos extratos	39
	4.3 Análise Fitoquímica	39
	4.3.1 Flavonoides	39
	4.3.2 Alcaloides	40
	4.3.3 Quinonas	40
	4.3.4 Cumarinas	41
	4.3.5 Esteroides e Triterpenos	41
	4.3.6 Saponinas	41
	4.3.7 Taninos	41
	4.4 Fenólicos Totais	42
	4.5 Atividade Antioxidante	42

4.5.1 Construção de uma curva com 5 concentrações de DPPH	43
4.5.2 Teste com extrato etanólicobruto de P. glazioviana	43
4.6 Isolamento dos constituintes químicos de P.glazioviana	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 Análise Fitoquímica	44
5.2 Quantificação de Fenólicos Totais	45
5.3 Atividade Antioxidante	48
5.3.1 Teste com extrato etanólico de Pavonia glazioviana	49
5.4Elucidação estrutural de Pg-1	51
6 CONCLUSÕES	56
ANEXO A - Espectro de RMN 1 H (δ , CDCl ₃ , 500 MHz) de Pg -1	64
ANEXO B - Expansão 1 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Pg-1</i>	65
ANEXO C - Expansão 2 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Pg-1</i>	66
ANEXO D - Espectro de RMN 13 C - ATP(δ , CDCl ₃ , 125 MHz) de Pg - I	67

1 INTRODUÇÃO

A Química de Produtos Naturais é uma das áreas mais antigas da Química, pois a natureza sempre ofereceu recursos para o homem. Há relatos de que as plantas medicinais são cultivadas a cerca de 5000 mil anos, na Índia, China e Egito (JAMSHIDI-KIA et al., 2018).Naquela época não existiam informações sobre as doenças e nem a finalidade das plantas e apenas com o uso foi possível descobrir as plantas com função medicinal.

Contudo, os produtos naturais não eram utilizados somente na medicina, como também na alimentação, controle de pragas e rituais religiosos (HIKAL *et al.*, 2017; JAMSHIDI-KIA *et al.*, 2018). Podemos citar como exemplos de produtos naturais amplamente conhecidos a morfina (*Papaver somniferum*), o ácido salicílico (*Salix alba*), a quinina (*Cinchona*) e o óleo de citronela (*Cymbopogon citratus*), utilizado como inseticida e repelente (TELES et al., 2014; COLPO et al., 2014).

A ampla aplicabilidade dos vegetais ocorre devido sua diversidade de moléculas produzidas pelo metabolismo celular e interação em sistemas biológicos. Os produtos naturais sempre tiveram papel importante no desenvolvimento de cosméticos, fármacos, fragrâncias e outros bioprodutos. Portanto, é fundamental a realização de pesquisas envolvendo a Química de Produtos Naturais, fitoquímica, atividade biológica, toxicologia, entre outros (BOLZANI, 2016).

Um levantamento de fármacos e medicamentos fitoterápicos aprovados no período entre 1981 e 2014 pelo *Food and Drug Administration* apresenta que 35% são fármacos sintéticos; 26% são derivados sintéticos de produtos naturais (PN); 14% são fármacos com estruturas que simulam PN; 13% são fármacos sintéticos baseados em PN (com estrutura que simula produtos naturais); 6% são PN com estrutura inalterada; 5% são fármacos sintéticos com grupo farmacofórico baseado em PN e 1% são medicamento fitoterápico (complexo) (NEWMAN; CRAGG, 2016). Estes dados demonstram a grande contribuição dos produtos de origem vegetal para o desenvolvimento de fármacos.

Nas últimas décadas tem se observado um grande avanço científico no estudo dos vegetais e seus metabólitos, com a identificação de várias substâncias importantes na alimentação e saúde.O interesse da população também se encontra cada vez mais elevado para a utilização de produtos à base de plantas com finalidade preventiva e

terapêutica (OLIVEIRA, I. M. A.; CERQUEIRA, F., 2016; SILVA; MIRANDA; CONCEIÇÃO, 2010).

A pesquisa fitoquímica tem por objetivo analisar a presença de constituintes químicos na espécie vegetal, podendo indicar os grupos de metabólitos secundários relevantes na mesma. Essas classes de substâncias são produzidas a partir do metabolismo secundário das plantas e muitas apresentam atividades biológicas importantes, tais como antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante, antiviral, antibacteriana, antifúngica, entre outras(SIMÕES et al., 2017).

Os compostos fenólicos, por exemplo, formam diversas classes de metabólitos secundários, como flavonoides, taninos, cumarinas, entre outros, substâncias amplamente distribuídas na natureza. São substâncias em que pelo menos um hidrogênio do anel aromático está substituído por hidroxila (SIMÕES et al., 2017). Esses compostos estão relacionados com a atividade antioxidante dos vegetais, que contribui para a saúde humana devido à capacidade de reduzir substratos, evitando assim a geração excessiva de radicais livres e seus subsequentes danos (VIEIRA et al., 2011).

Nos últimos anos, vários estudos farmacológicos indicaram que a ingestão de certos produtos vegetais está relacionada com a redução do risco de uma variedade de doenças, como câncer, AIDS e outros diretamente associados com processos oxidativos celulares. A redução de risco para estas doenças tem sido atribuída aos compostos que possuem atividade antioxidante (MURAD, 2013).

No organismo, a respiração celular e muitas reações oxidativas que ocorrem nas células, levam a formação de radicais livres. A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), como superóxido (O2•-) e radical hidroxila (OH•), integrante do metabolismo humano e quando sua produção é exagerada o organismo dispõe de sistema antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos para controlar e restabelecer o equilíbrio (COTINGUIBA et al, 2013). O desequilíbrio entre os sistemas antioxidantes e a produção de compostos oxidativos (radicais livres, ERO) pode causar o estresse oxidativo, evento este relacionado à patogenia de diversas doenças crônicas, inflamatórias e doenças cardiovasculares (SILVA et al., 2010; TELES et al., 2015).

Uma vez que os compostos fenólicos são substâncias redutoras, eles desenvolvem atividade antioxidante protetiva contra os efeitos prejudiciais dos radicais livres e EROs (SILVA et al., 2010).

A espécie alvo do trabalho é a *Pavonia glazioviana* GÜRKE, conhecida como "malva-da-chapada" e "tampa-cabaça". É encontrada na caatinga e utilizada como forrageira (MAZZOTTI et al., 2010). Pertence à família Malvaceae, que pode ser encontrada por todo o mundo, especialmente em regiões tropicais (BOVINI et al., 2001).

A família Malvaceae é bastante diversificada no que se trata de seus metabólitos, apresentando esteroides, terpenoides, alcaloides e diversas classes de substâncias fenólicas, a exemplo dos flavonoides (CHAVES, 2016). Algumas espécies do gênero *Pavonia*, destacam-se com relatos de atividade terapêutica, antifúngica e antibacteriana. Há relatos de que as folhas de *Pavonia dostinguenda*A.st.-Hill. et.Naudin possuem substâncias com atividades antitumoral, inseticida e analgésica (GARCIA, 2007; GUALBERTO, 2013).

Vislumbrando vasta aplicação dos produtos naturais da biodiversidade brasileira, o presente trabalho visa o estudo fitoquímico da espécie *P.glazioviana*, com vistas ao seu potencial farmacológico.

20BJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

• Realizar o estudofitoquímico da espécie *P. glazioviana* e determinar seu potencial antioxidante, visando futuras aplicações farmacológicas.

2.2 Objetivos Específicos:

- Realizar reações de detecção qualitativa de substâncias do metabolismo secundário vegetal;
- Isolar e quantificar substâncias de *P. glazioviana*;
- Caracterizar estrutura isolada;
- Determinar o teor de fenólicos totais no extrato de *P. glazioviana*;
- Avaliar a atividade antioxidante pelo o método sequestrador de radicais livres
 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila);
- Contribuir com a quimiotaxonomia da família Malvaceae.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Família Malvaceae

A família Malvaceae é constituída de 243 gêneros e apresentacerca de 4225 espécies (STEVENS, 2003), sendo no Brasil, constituída por 68 gêneros e 735 espécies, distribuídas por todas as regiões (MARTIN et al, 2011). Encontra-se em regiões tropicais, sendo possível de ser encontrada também em regiões temperadas, e sua dispersão se concentra em regiões do Hemisfério Sul (Figura 1) (ALMEIDA, 2016).

Entre os gêneros que a compõem os mais abundantes são, *Hibiscus* (300), *Pavonia* (250), *Sida* (200), *Abutilon*(100), *Notriche* (100), *Cristaria* (75) e *Gossypium* (40) e algumas das espécies mais conhecidas popularmente são o algodão e o cacau (GRINGS; BOLDRINI, 2011; GUALBERTO, 2013; ALMEIDA, 2016).

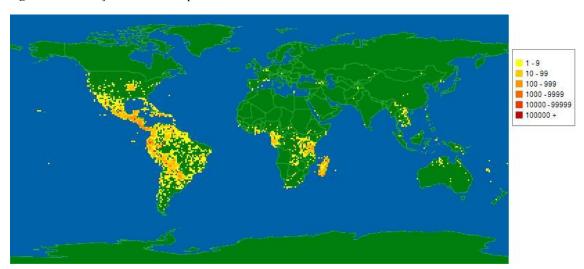


Figura 1. Distribuição mundial de espécies da família Malvaceae.

Fonte: Disponível em: http://www.tropicos.org/Name/42000104?tab=maps>.

Os indivíduos pertencentes a essa família apresentam-se como subarbustos, arbustos e árvores, de tamanhos pequeno ou médio. Suas folhas são simples ou compostas, palmadas, com margens inteiras ou serradas e disposição alterna e espiralada. Suas flores são hemafroditas ou unissexuadas, e chamam atenção devido a sua coloração (ALMEIDA, 2016).

Muitas espécies da família Malvaceae são largamente usadas na terapêutica, como anti-febris, diuréticos, antiinflamatórios e no tratamento de reumatismos, por

possuírem classes de substâncias biologicamente ativas, como, esteróides, terpenos, flavonoides e cumarinas (AHMED et al, 1990). A espécie *Hibiscusesculentus*, conhecida popularmente como quiabo, é utilizada na culinária e no tratamento de disturbios gástricos (ROLIM, 2015).

3.2 Gênero Pavonia e a espécie P. glazioviana

O gênero *Pavonia* é um dos maiores gêneros da família Malvaceae, possuindo 250 espécies no continente americano, entre árvores de pequeno porte, arbustos e herbáceas, distribuídas em regiões de clima temperado e tropical (GUALBERTO, 2013; GARCIA, 2007).

No Brasil foram encontradas cerca de 120 espécies, distribuídas nas regiões Nordeste e Sudeste, apresentando-se como ervas, arbustos e árvores de pequeno porte (LOPES, 2014; FERNANDES, 2013).

Para a maioria das espécies deste gênero são encontrados estudos botânicos e agronômicos, e as espécies que apresentam estudos biológicos, se destacam pelas várias atividades que possuem (LOPES, 2014). Como no caso, da *P. zeylanica* L. utilizada como vermífuga e purgativa (TIWARI; MINOCHA, 1980); a *P. distinguenda* utilizada como antibacteriana e para a cura de tumores de próstata (MARASCIULO et al, 2006); a *P. varians* utilizada na cura de infecções do aparelho digestivo (LEAL, 2008); a *P. zeylanica* apresentou atividade larvicida (VAHITHA et al, 2002); e a *P. odorata* apresentou ação antioxidante (SELVAN et al, 2012).

Substâncias já foram isoladas do gênero *Pavonia*, como por exemplo para *P. malacophylla* foram isoladas β-sitosterol, uma mistura de sitosterol-3-*O*-β-D-glicopiranosídeoe estigmasterol-3-*O*-β-D-glicopiranosídeo, isolada também para a espécie *P. cancellata*, uma mistura de triterpenos: α-amirina com β-amirina, 13²-hidroxi-feofitina A, 17³-etoxi-feoforbídeo A, 3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona (canferol), 3,5,7,3',4'-pentahidroxiflavona (quercetina) (CHAVES, 2016). Para *P. cancellata* foram isoladas, canferol 3-O-β-D-(6-βE-p-coumaroil) glicosídeo, 3,7-di-O-metilcanferol , estigmast-5-em-3 β-ol (β-sitosterol), estigmasterol (CASIMIRO-JÚNIOR et al., 2013).

A *P.glazioviana* (Figura 2) é facilmente identificada por ser um arbusto com folhas ovais e margem serreadas. É uma espécie endêmica da região Nordeste do Brasil, com domínio fitogeográfico na caatinga, conhecida nos estados do Piauí, Ceará e Pernambuco a Bahia (Figura 3) (ESTEVES, 1998).

Figura 2. Pavonia glazioviana.



Fonte: [CASTRO et al., 2014].

A espécie, também conhecida como "malva-da-chapada" e "tampa-cabaça", é utilizada como forrageira de animais domésticos e como recurso floral para abelhas(MAZZOTTIet al, 2010). Contudo, seu potencial terapêutico é desconhecido, com escassez de dados na literatura sobre estudos fitoquímicos e farmacológicos.

Figura 3. Distribuição da P. glazioviana no nordeste do país.



Fonte: Disponível em:http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB9140>.

3.3 Análise Fitoquímica

Nas últimas décadas tem-se observado um grande interesse em trabalhar com fitoterapia, sendo observado um aumento no estudo dos vegetais, devido às substâncias derivadas dessas espécies (OLIVEIRA, 2016).Os processos vitais de biossíntese são

responsáveis pela formação de muitas substâncias orgânicas no interior das células que formam diversos tecidos dos organismos animais e vegetais. São extraídas dos vegetais, várias substâncias, sendo a maior parte delas responsáveis pela aplicabilidade na alimentação e saúde, e isso tem sido um estímulo ao desenvolvimento do estudo de muitas plantas (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

A eficácia dessas substâncias está relacionada com sua atividade biológica, como por exemplo substâncias antitumorais obtidas de plantas, como os alcaloidesextraídos da espécie vegetal *Catharanthusroseus* G. Don (Apocynaceae), considerados indispensáveis para o tratamento de leucemia(MOTA et al., 2014).

A pesquisa fitoquímica tem por objetivos conhecer os constituintes químicos das espécies vegetais ou avaliar sua presença, podendo identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse. Se o interesse for restrito a uma classe específica de constituintes, a investigação deverá ser direcionada para o isolamento e a elucidação estrutural dos compostos (SIMÕES et al., 2017).

Classicamente, a caracterização dos principais grupos de substâncias vegetais de interesse tem sido realizada por reações químicas que resultem no desenvolvimento de coloração e/ou precipitação característica (SIMÕES et al., 2017).

3.4 Metabólitos Secundários

As plantas produzem uma larga e diversa ordem de compostos, que são divididos em metabólitos primários e secundários (SILVA et al., 2018). Os metabólitos primários estão relacionados com o metabolismo energético básico da planta e são produzidos por todos os organismos vivos, ou seja, são indispensáveis à existência das espécies. Proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos, são alguns exemplos de metabólitos primários. Já os metabólitos secundários têm sua biossíntese restrita a algumas espécies, cuja importância biológica não está relacionada com o metabolismo básico, ou seja, estão relacionados com as estratégias de defesa, perpetuação e sobrevivência da planta (SILVA, 2014; SIMÕES et al., 2017), como por exemplo, cumarinas, flavonoides, alcaloides, saponinas, quinonas, esteroides, terpenoides, entre outros.

Todas as plantas são capazes de produzir metabólitos secundários, porém esta característica prevalece em plantas selvagens, devido ao fato de desenvolverem mecanismos de adaptação para competir com outras plantas e garantir sua sobrevivência

(SOUZA FILHO; ALVES, 2002). Os metabólitos secundários são capazes de interagir em sistemas biológicos e estudos buscam a sua aplicação como compostos antimicrobianos, antidepressivos, anestésicos, relaxantes musculares, antivirais, entre outros (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

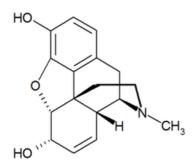
Os metabólitos secundários são geralmente, de baixo peso molecular, possuem atividade biológica e se apresentam em baixas concentrações em grupos restritosde plantas. Essas substâncias são importantes comercialmente nas áreas, farmacêutica, alimentar, perfumaria, agronômica, entre outras (PEREIRA; CARDOSO, 2012; SIMÕES et al., 2017).

3.4.1Alcaloides

Os alcaloides são compostos nitrogenados derivados de aminoácidos, obtidos de plantas, organismos animais, marinhos, fungos (SIMÕES et al., 2017).

Os alcaloides são famosos por se apresentarem como substâncias que possuem alta ação no sistema nervoso central, sendo utilizados como veneno, alucinógeno, sedativos, etc. A origem de seu estudo se deu a partir de 1806, com o isolamento da morfina (Figura 4), pelo farmacêutico Friedrich Sertürner (VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Figura 4. Fórmula estrutural da morfina.



Fonte: [própria].

Estima-se que esta classe abrange mais de 4000 compostos, que correspondem a cerca de 15% a 20% dos produtos naturais conhecidos, ocorrendo em maior quantidade nas angiospermas. Há relatos da aplicação de alcaloides como repelentes, na síntese de feromônios, em fármacos, no tratamento do mal de Alzheimer,gota, como anti-

hipertensivo, antimalárico, antitumorais, antitussígenos, antiviral, entre outros (MARQUES; LOPES, 2015; SIMÕES et al., 2017).

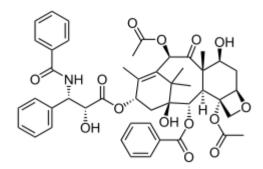
3.4.2 Esteroides e Terpenoides

Os terpenoides formam uma diversa família de produtos naturais, derivada de unidades isoprênicas (C5). A depender da quantidadede unidades isoprênicas unidas, os compostos terpênicos podem ser classificados como monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesterterpenos (C25), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) (QUEIROZ, 2009).

Um diterpeno muito conhecido, é o paclitaxel, descoberto em 1966, e isolado da casca de *Taxus brevifolia*. É comercializado como Taxol (Figura 5), utilizado para o tratamento de câncer de ovário, câncer de pulmão, e câncer avançado de mama(FERREIRA, 2013).

Existem cerca de 4000 triterpenoides conhecidos isolados de fontes naturais. Essas substâncias têm várias potencialidades medicinais, apresentando muitas propriedades biológicas, como, anti-inflamatória, antibacteriana, fungicida, antiviral, analgésica, cardiovascular e antitumoral (SANTOS, 2010).

Figura 5. Exemplo de terpenoide: taxol.



Fonte: [própria].

Os esteroides são triterpenoides modificados (DEWICK, 2002). Apresenta sete centros estereogênicos (C3, C8, C9, C10, C13, C14, C17), em seu núcleo esteroidal (QUEIROZ, 2009).Nos animais, o principal esteroideé o colesterol (Figura 6), um componente essencial da membrana citoplasmática das células, que facilita a digestão de gorduras (SANTOS, 2010).

Figura 6. Estrutura química do colesterol

Fonte: [própria].

As junção dos anéis A e B dos esteroides, podem ser *cis* ou *trans*, apresentando dois grupos: os grupos que se projetam por cima do plano do anel, chamados de β (sistema A-B *cis*); e os grupos que se projetam por baixo do plano do anel, chamados de α (sistema A-B *trans*) (SOLOMONS, 2006; SANTOS, 2010).

Alguns esteroidesapresentam potencial interesse biológico, possuindo atividade citotóxica contra algumas linhas celulares (linhas leucêmicas), atividade antiviral(no caso do HIV), participando em mecanismos de proteção antioxidante (SILVA, 2012).

3.4.2.1 Saponinas

As saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos, possuem uma parte com característica lipofílica (triterpenos ou esteroides) e outra parte hidrofílica (açúcares) (Figura 7) (SIMÕES et al., 2017).

Essas substâncias podem ser classificadas como, saponinas esteroidais e saponinas triterpenicas. As saponinas esteroidais, possuem 27 átomos de carbono em seu esqueleto, distribuídos em seis anéis. Já as saponinas triterpênicas podem ser definidas como glicosídeos que possuem uma aglicona triterpênica formada pela ciclização do (3S) – 2,3 epoxi- 2,3 – dihidroesqualeno ou, raramente, do próprio esqualeno (SIMÕES et al., 2017).

Figura 7. Estrutura das saponinas.

Fonte: [própria].

As saponinas apresentam atividade anti-inflamatória, antiviral, pode ser utilizada na redução de colesterol no sangue e tecidos, e no aumento da absorção de outros medicamentos (SIMÕES et al., 2017). As saponinas triterpênicas apresentam atividades antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatórias, analgésicas, antiulcerogênica e sedativas (DINIZ, 2006).

3.4.3 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza. Mais de 8000 compostos fenólicos já foram detectados em plantas, pois faz parte dos constituintes de uma variedade de vegetais, frutas e produtos industrializados. Podem ser pigmentos, que dão a aparência colorida aos vegetais ou apresentar funções de defesa das plantas contra agressões do ambiente tais como radiação ultravioleta, insetos, fungos e bactérias (VALADARES, 2017;SILVA, 2010).

Dentre seus benefícios à saúde humana evidenciam-se a redução na ocorrência de certos tipos de câncer, redução do colesterol sérico e estimulação do sistema imunológico, pois estão relacionados com a atividade antioxidantes dos vegetais, contribuindo para a saúde humana. (PEREIRA; CARDOSO, 2012; VIEIRA et al., 2011)

Os compostos fenólicos, forma diversas classes de metabólitos secundários, como flavonoides, taninos, cumarinas, entre outros. É uma classe de compostos que inclui uma grande variedade de estruturas, simples e complexas, que possui pelo menos um hidrogênio do anel aromático está substituído por hidroxila (Figura 8) (SIMÕES et al., 2017).

Figura 8. Exemplos de compostos fenólicos

Flavonoide - Quercetina

Polifenol - Resveratrol

Fonte: [adaptado de < https://www.edutec.unesp.br/publicador/>].

Apresentam em sua estrutura, grupos benzênicos característicos, tendo substituintes hidroxilas. Os ácidos fenólicos e outros polifenóis dos vegetais têm sido caracterizados como fitoquímicos e os alimentos que os contém são tidos como funcionais, pois apresentam ação farmacológica para o organismo, podendo atuar como antioxidante e antiinflamatório (DEL RÉ; JORGE, 2012).

3.4.3.1 Taninos

Os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água com massa molecular entre 500 e 3000 Dalton. Formam complexos insolúveis em água com alcaloides e proteínas. São classificados segundo estrutura química em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (SIMÕES et al., 2017).

Os taninos hidrolisáveis consistem de ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, onde os grupos hidroxila do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos(VARGAS, 2011). O composto β -1,2,3,4,6-pentagaliol-D-glicose (Figura 9) representa o padrão máximo de substituição alcançado, sendo considerado o precursor para taninos hidrolisáveis(SIMÕES et al., 2017).

Figura 9.β-1,2,3,4,6-pentagaliol-D-glicose.

Fonte: [própria].

Os taninos condensados(Figura 10) são oligômeros e polímeros formados pela policondensação de duas ou mais flavan-3-ol e flavan-3,4-diol. Podem ser divididos em dois tipos, com a presença ou ausência de hidroxila na posição C-5 do anel A(SIMÕES et al, 2007).

Figura 10. Modelo de estrutura de taninos condensados.

Fonte: [própria].

As plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional no tratamento de: diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios (ROSA, 2013). É proposto que possíveis mecanismos de ação no organismo, estejam associados com complexação com íons metálicos, como por exemplo, ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio;

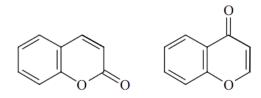
atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres ou a habilidade de complexar com macromoléculas, como proteínas e polissacarídeos (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

3.4.3.2 Cumarinas

As cumarinas são amplamente distribuídas nos vegetais, e encontradas em fungos e bactérias, sendo identificadas mais de 1300 cumarinas de fontes verdes (MESQUITA et al., 2013).

Estruturalmente, são lactonas do ácido *o*-hidróxi-cinâmico (2H-1-benzopiran-2-onas), sendo o representante mais simples a cumarina (1,2-benzopirona), e as cromonas (5H-1-benzopiran-5-onas), que são isômeros da cumarina (Figura 11)(SIMÕES et al., 2017).

Figura 11. Estruturas básicas de cumarinas e cromonas, respectivamente.



Fonte: [própria].

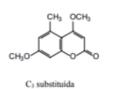
As cumarinas podem ser classificadas como: cumarinas simples (derivados da cumarina contendo radicais hidroxi, alcóxi, alquil bem como as formas glicosídicas); furanocumarinas (consistem de um anel furano, anel de 5 membros, condensados ao núcleo cumarínico); piranocumarinas (análogos as furanocumarinas, porém com anel pirano, 6 membros; cumarinas com substituintes no anel pirona (cumarinas com grupos substituintes na posição C₃ e C₄) e cumarinas miscelâneas (possui o átomo de oxigênio e o carbono ligado ao oxigênio por dupla ligação invertidos de posição) (Figura 12)(SOUZA, 2005).

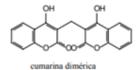
Figura 12. Estrutura química das classificações de cumarinas.

CUMARINAS SIMPLES

CUMARINAS COM SUBSTITUINTES NO ANEL PIRONA

CUMARINAS MISCELÂNEAS





Fonte: [adaptado de SOUZA, 2005].

Elas podem ser encontradas em todas as partes de uma planta, sendo encontrada em maiores quantidades nas frutas, seguido de raiz e caule (MOTA et al., 2014). Muitas cumarinas possuem odor característico.

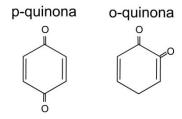
Algumas dessas substâncias possuem atividades imunosupressora, relaxante muscular, hipolipidêmica, hipotensora, vasodilatadora, espasmolítica e antitrombótica, e algumas são também utilizadas na prevenção de doenças causadas por radicais livres (SIMÕES et al., 2017).

3.4.3.3 Quinonas

As quinonas são compostos orgânicos considerados produtos da oxidação de fenóis (SIMÕES et al., 2017). Apresentam em sua estrutura, dois grupamentos carbonilas em um anel insaturado de seis átomos de carbono, situados nas posições "orto" (adjacentes) ou "para" (Figura 13), podendo ser classificadas como benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas e fenantraquinonas (Tabela 1) (SOUZA; LOPES; ANDRADE, 2016).

São geralmente substâncias cristalinas de cor amarela ou vermelha, podendo ter ocasionalmente, cores azul, verde ou até preta (SIMÕES et al., 2017).

Figura 13. Estruturas de quinonas: 1,2-benzoquinona (o-benzoquinona) e 1,4-benzoquinona (p-benzoquinona).



Fonte: [própria].

Tabela 1. Classificação das quinonas quanto ao sistema aromático.

Ξ	Grupo		Sistema aromático	Estruturas Básicas
1.	Benzoquinonas	\rightarrow	Anel benzênico	
2.	Naftoquinonas	\rightarrow	Anel naftalênico	
3.	Antraquinonas	\rightarrow	Anel antracênico	
4.	Fenantraquinonas	\rightarrow	Anel fenantrênico	

Fonte: [SOUZA ; LOPES ; ANDRADE, 2016].

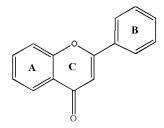
Estudos demonstram efeitos tóxicos e deletérios das quinonas para o organismo humano (indutor de várias doenças, como câncer de pulmão, asma e inflamação alérgica), podendo atuar como inibidora de enzimas importantes em sistemas celulares reparadores e causarem danos genético. Contudo, as quinonas apresentam interesses toxicológicos e farmacológicos consideráveis, atuando como microbicidas, anticancerígenos, antibacteriana e antifúngica (SOUZA; LOPES; ANDRADE, 2016).

3.4.3.4 Flavonoides

Os flavonoides constituem uma importante classe de polifenois. Uma substância fenólica ou polifenolica,possui um ou mais núcleos aromáticos contendo substituintes

hidroxilados e/ou seus derivados funcionais (ésteres, éteres, glicosídeos e outros). A maioria dos representantes dessa classe possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbono entre elas, formando um sistema C6- C3-C6 (Figura 14) (SIMÕES et al., 2017).

Figura 14. Núcleo fundamental dos flavonoides.

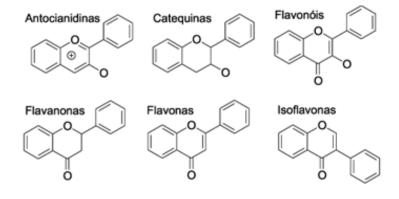


Fonte: [própria].

Foram identificadas mais de 8000 substâncias pertencentes a esse grupo, apresentando-se de diversas formas (Figura 15), como por exemplo, flavonois, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavonas e chalconas (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Suas cores variam do branco ao amarelo, sendo identificada em quase todo o reino vegetal, estando presente em abundância em angiospermas, pequena variabilidade em pteridófitas e briófitas e quase ausente em algas (SIMÕES et al., 2017).

As antocianinas apresentam importante papel na prevenção ou prolongam o aparecimento de doenças, devido a sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória (CARDOSO; LEITE; PELUZIO, 2011). Algumas isoflavonasapresentam efeito anticancerígeno, função antioxidante e antifúngica (SILVA.; PRATA; REZENDE, 2013).

Figura 15. Estrutura química dos principais tipos de flavonoides.



Fonte: [MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008].

Há um grande interesse econômico pelos flavonoides, por alguns apresentarem cor, podendo ser utilizados como pigmentos, e por possuírem importância farmacológica, atribuídas a propriedades como: antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante, antiviral, entre outros. Alguns medicamentos também são elaborados a partir de flavonoides, para o tratamento de doenças circulatórias e hipertensão. (SIMÕES et al., 2017).

Os flavonoides têm sido associados a resultados benéficos à saúde humana, por isso sua quantificação em espécies vegetais é tão importante. Alguns estudos epidemiológicos revelaram que seu consumo elevado ajuda a proteger contra doenças crônicas, como as cardiovasculares, e que têm ação antioxidantes, anti-inflamatóriae antitrombogênica (VALADARES, 2017).

3.5 Atividade Antioxidante

Os antioxidantes são substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis (COTINGUIBA et al., 2013), e podem ser classificados em antioxidantes primários ou secundários. Os antioxidantes primários são compostos capazes de inibir ou retardar a oxidação por inativação de radicais livres. Os antioxidantes secundários apresentam vários modos de ação: ligação de íons metálicos (alteração de valência); absorção de radiação UV, entre outros (MAISUTHISAKULet al, 2007; TELES et al, 2015).

Devido ao crescimento de doenças crônicas não transmissíveis, como diabetes mellitus e eventos cardiovasculares, muitas plantas e alimentos vem sendo estudados por possuírem atividadeantioxidante. Alguns exemplos de substâncias associadas a este tipo de atividade são, o ácido ascórbico (vitamina C), o β -caroteno, o α -tocoferol, o zinco e os flavonoides (ZIMMERMANN.; KIRSTEN, 2008).

O organismo possui um sistema de defesa antioxidante, que inibe a oxidação de substratos, diminuindo os danos causados às células pelos radicais livres(COTINGUIBA et al., 2013).

Os radicais livres vem sendo considerados como grandes causadores de várias doenças como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, disfunções cerebrais e diabetes mellitus do tipo I (COTINGUIBA et al., 2013). São moléculas orgânicas que possuem átomos que contém um ou mais elétrons não pareados, tornando-as moléculas altamente instáveis e reativas. A produção de radicais livres acontece naturalmente

durante ações catalíticas de enzimas, no metabolismo celular ou pela exposição à fatores exógenos, tais como radiações gama e ultravioleta, ozônio, tabagismo e aspectos nutricionais (NASCIMENTO et al., 2011).

No entanto, são formados outros produtos reativos no metabolismo celular, que não se encontram na forma de radicais livres, tais como, as espécies reativas de oxigênio (EROs), e as espécies reativas de nitrogênio (ERNs) (PINHO et al., 2010). As EROs e ERNs mais produzidas são, o hidroxilo (OH•), o superóxido (O2•-), hidroperóxido (HO2•), o óxido nítrico (NO•) e o dióxido de nitrogênio (NO2•)(TELES et al., 2015).

Por possuírem elétrons desemparelhados são moléculas altamente reativas e interagem produzindo diversos danos oxidativos, podendo levar a morte celular e quando a concentração dessas espécies ocorre em maior quantidade do que espécies antioxidantes, o sistema estará diante do estresse oxidativo (TELES et al., 2015), que está relacionado com diversos tipos de doença, como vários tipos de câncer, desordens inflamatórias e doenças cardiovasculares (VASCONCELOS, 2014). O excesso desses radicais pode ser combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou adquiridos de forma exógena, como alimentos que contém compostos bioativos que apresentam esta capacidade, tais como vitaminas C e E, os carotenóides, os flavonóides e os compostos fenólicos(NASCIMENTO et al, 2011).

3.6 Cromatografia

Muitas espécies vegetais apresentam expressivas atividades farmacológicas e biológicas, porém constituem matrizes muito complexas, sendo muito ricas em variados compostos. Para conhecimento da composição química dos extratos vegetais torna-se necessária aplicação de técnicas de separação de seus constituintes (SOARES et al., 2016).

A técnica utilizada por excelência, na separação dos constituintes dos produtos naturais é a cromatografia (MATOS, 2015). A cromatografia é um método físico-químico de separação, no qual os compostos de uma mistura são separados pela da velocidade com que são transportados através de uma fase estacionária, por um líquido ou gás, que constitui a fase móvel (KRULL, 2012). Os métodos cromatográficos são amplamente utilizados para procedimentos de análise e para purificação de substâncias.

A cromatografia pode ser classificada em: cromatografia de partição: separação baseada na partição entre dois solventes imiscíveis, um contido na fase móvel e outro na

estacionária; cromatografia de adsorção: a fase estacionária é utilizada para adsorver componentes da fase móvel (afinidade química); cromatografia de troca iônica: baseiase na troca de íons entre a fase móvel e resinas com grupo funcional da fase estacionária; cromatografia de exclusão (também chamada de filtração molecular): é baseada no tamanho das moléculas do soluto, onde componentes da fase móvel passam por um gel poroso. Os géis utilizados são derivados do dextrano, conhecido comercialmente como Sephadex (SOARESet al., 2016; CHIMIN, 2006).

A cromatografia em camada delgada, é uma técnica de adsorção líquido-sólido, em que a separação ocorre pela diferença de afinidade dos componentes de uma mistura pela fase estacionária. É utilizada para análise de extratos brutos para acompanhar o andamento de reações químicas, avaliar pureza e para fins preparativos(SILVA, 2010; GOULART, 2012).

A cromatografia líquida em coluna é uma técnica muito utilizada para separação ou isolamento de constituintes de extratos vegetais. Apresenta-se como uma técnica muito versátil, podendo ser utilizadas combinações variadas de fases móveis e estacionárias, sendo as fases estacionárias mais utilizadas sílica, alumina e Sephadex (SOARESet al., 2016; CHIMIN, 2006).

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta do Material

A espécie *P. glazioviana*, foi coletada na Serra Branca, município de Jeremoabo, Bahia. Posteriormente foi desidratada em estufa e herborizada no Herbário da Universidade do Estado da Bahia (HUNEB, Coleção Paulo Afonso). O referido material botânico foi identificado pela Prof^a Dr^a Adilva de Souza Conceição e uma exsicata do mesmo foi disposta no Herbário HUNEB, Coleção Paulo Afonso, sob o código 28709. A pesquisa foi registrada do Sistema de Acesso ao Patrimônio Genético sob Código Sisgen ADC0E00.

4.2 Preparação dos extratos

A amostra vegetal foi seca em estufa (72 h) e posteriormente foi triturada em moinho mecânico, obtendo-se 5400g do pó da planta. Em seguida, o mesmo, foi submetido à maceração com etanol por 72 horas. O processo extrativo foi repetido 3 vezes com a finalidade de obter-se um maior rendimento. Após isso, a solução obtida foi filtrada e concentrada em evaporado rotativo. O extrato obtido, foi solubilizado em uma solução de EtOH:H₂O (7:3) que foi submetida a partição líquido-líquido com hexano, clorofórmio, acetato de etila e n-butanol. As referidas soluções foram concentradas em evaporador rotativo resultando em 88,72g da fase hexânica; 45,8g da fase clorofórmica; 5,0g da fase acetato de etila e 17,0 g da fase n-butanólica.

4.3 Análise Fitoquímica

A análise fitoquímica preliminar foi desenvolvida de acordo com os estudos de Matos (1997) através de reações características para os grupos de substâncias vegetais de interesse.

4.3.1 Flavonoides

Foram feitas duas reações para caracterização de flavonoides, a reação de Shinoda e a reação com Cloreto de Alumínio.

• Reação de Shinoda:

Pesou-se 30 mg da amostra e solubilizou-se com aproximadamente 3 mL de etanol. Em seguida foi colocado cerca de 2mL do extrato alcoólico em um tubo de ensaio, adicionou-se 4 fragmentos de Magnésio metálico e 0,5 mL de HCl concentrado, observando-se o desenvolvimento de coloração avermelhada.

Resultado positivo → coloração rósea a vermelha.

• Reação com cloreto de alumínio:

Gotejou-se o extrato solubilizado em etanol a ser analisado em duas regiões diferentes de uma tira de papel de filtro. Em seguida colocou-se sobre uma das regiões uma gota de solução de AlCl₃ a 5% e comparou-se a fluorescência sob luz ultravioleta. Resultado positivo → intensificação de fluorescência com coloração verde- amarelado.

4.3.2 Alcaloides

Para caracterização de alcaloides foram realizadas reações de precipitação com os reagentes de Dragendorff(solução de iodeto de potássio e subnitrato de bismuto) e Mayer (solução de iodeto de potássio e cloreto de mercúrio).

• Reagente de Dragendorff:

Pesou-se 50 mg da amostra e solubilizou em etanol, em seguida foi adicionado 5 gotas de HCl concentrado à amostra e 10 gotas do reagente Dragendorff.

Resultado positivo → presença de precipitado alaranjado.

• Reagente de Mayer:

Pesou-se 50 mg da amostra e solubilizou em etanol, em seguida foi adicionado 5 gotas de HCl concentrado à amostra e 10 gotas do reagente Mayer.

Resultado positivo → *presença de precipitado branco.*

4.3.3 Quinonas

Realizou-se a reação de Bornträger. Pesou-se 10 mg da amostra, solubilizou em 0,5 mL de metanol e adicionou 1,5 mL de água destilada. Em seguida transferiu-se a solução para um tubo de ensaio e adicionou 5mL de clorofórmio. Agitou e foi deixado em repouso por 10 minutos. Com uma pipeta foi retirada a fase clorofórmica e transferida para outro tubo de ensaio. Neste, foi adicionado 1mL de solução de NaOH a 10%.

Resultado positivo → coloração rosa/púrpura na fase aquosa.

4.3.4 Cumarinas

Pesou-se 5 mg da amostra e solubilizou em 3 mL de metanol. Em seguida gotejou-se o extrato alcoólico em duas regiões diferentes de uma tira de papel de filtro. Sobre uma das regiões foiaplicadauma gota de solução de NaOH a 10% e comparou-se a fluorescência sob luz ultravioleta.

Resultado positivo → desenvolvimento de fluorescência verde-amarelada ou azulada.

4.3.5 Esteroides e Triterpenos

Realizou-se a reação de Liebermann-Burchard(anidrido acético - ácido sulfúrico concentrado). Pesou-se 5 mg da amostram e solubilizou em 2 mL de clorofórmio. Em seguida transferiu-se a parte solúvel em clorofórmio para um tubo de ensaio e foi adicionado 1 mL de anidrido acético e 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Resultado positivo → coloração verde azulada.

4.3.6 Saponinas

Pesou-se 5 mg da amostra e solubilizou em 2 mL de água destilada. Em seguida transferiu-se a parte solúvel em água para um tubo de ensaio com tampa. Agitou por 3 minutos. Deixou em repouso por 15 minutos.

Resultado positivo → formação de espuma persistente.

4.3.7 Taninos

Foram realizadas duas reações para caracterização de taninos:

• Reação de coloração:

Pesou-se10 mg da amostra e solubilizou em 1 mL de metanol. Em seguida foi adicionado 4mL de água destilada e 5 gotas de solução de FeCl₃ a 20%.

Resultado positivo → coloração azul para taninos hidrolisáveis e coloração verde para taninos condensados.

• Reação de precipitação de proteína:

Transferiu-se a 2mL da solução da amostra com metanol e água destilada para um tubo de ensaio. Em seguida foram adicionadas2 gotas de HCl concentrado e solução de proteína (albumina) a 2% gota a gota.

Resultado positivo → formação de precipitado ou turvação.

Na reação de coloração foi utilizado o cloreto férrico, que em solução, produz uma forte coloração azul para taninos hidrolisáveis, e coloração verde para taninos condensados. Porém esta reação não é específica para taninos, pois pode apresentar resultado positivo na presença de fenólicos em geral, então para confirmar a presença de taninos utilizou-se a reação de precipitação de proteínas(SIMÕES et al., 2007).

4.4 Fenólicos Totais

O conteúdo de fenólicos totais da amostra foi determinado utilizando a metodologia de Gulcin et al. (2004), determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteau, usando como padrão de referência o ácido gálico.

Para determinar o teor de fenólicos totais no extrato de *P. glazioviana*, foi construída uma curva de calibração com o padrão (ácido gálico), nas concentrações de 125; 62,5; 31,25; 15,125 e 7,5625 μg/mL.

Em um balão volumétrico de 10 mL foram adicionados: 100 μL da solução amostral (solução de ácido gálico ou solução do extrato vegetal), 50 μL do Reagente Folin-Ciocalteau, 6mL de água destilada, 2 mL de solução de Na₂CO₃ a 15% e aferiu-se o balão com água destilada. Aguardou-se durante 2 horas e a leitura foi realizada em espectrofotômetro FEMTO (UV-Vis) a 760 nm. As análises foram realizadas em triplicata.

Uma amostra brancofoi preparada, na qual havia apenas metanol e reagentes, com ausência de extrato vegetal ou de padrão.

Para quantificação de fenólicos totais preparou-se uma solução de 1000μg/mL do extrato bruto em metanol.

4.5 Atividade Antioxidante

Para avaliar a atividade antioxidante do extrato etanólico da *Pavoniaglazioviana*, foi utilizado o método sequestrador de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), descrito por Macielet al. (2016).

O DPPH é fotossensível, e por isso todo procedimento foi realizado em ambiente escuro.

4.5.1 Construção de uma curva com 5 concentrações de DPPH

Foram preparadas soluções de 60; 50; 30; 15; 7,5 µM, em triplicata. Aguardouse 30 minutos e as absorbâncias (Abs) foram lidas a 517 nm. Os valores médios foram usados para construir um gráfico e gerar a equação da reta I.

Para calcular a Abs que corresponde à redução de 50% (Abs₅₀) na concentração de DPPH dividiu-se o valor da absorbância na maior concentração (0,487) por 2, tendo como resultado o valor de 0,2435.

4.5.2 Teste com extrato etanólicobruto de P. glazioviana

Foram preparadas soluções de 8; 4; 2 mg/mL. Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,1 mL da solução, e 3,9 mL da solução de DPPH 60 µM, em triplicata para cada concentração. Aguardou-se 30 minutos e as absorbâncias (Abs) foram lidas a 517 nm. Os valores médios foram usados para construir um gráfico e gerar a equação da reta II.

Para calcular a EC_{50} substitui-se na equação da reta II, o valor 0,2435encontrando-se o valor de x, sendo esta a concentração de extrato que reduz em 50% a concentração de DPPH (EC_{50}).

4.6 Isolamento dos constituintes químicos de *P.glazioviana*

Uma amostra da fase clorofórmica (20 g) foi cromatografada em coluna Sephadex LH-20 eluída com metanol e clorofórmio (1:1). O procedimento resultou em 11 frações, analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) e agrupadas em duas amostras: Fr01-06 e Fr07-11. A fração Fr07-11(3,8 g) foi cromatografada novamente utilizando a mesma metodologia (Sephadex LH-20) fornecendo 27 frações, as quais foram analisadas por CCDA e agrupadas de acordo com o perfil de eluição. Destas frações as frações 24-27 foram consideradas puras e codificadas como Pg-1 (15 mg) submetida à análise espectroscópica de RMN ¹H e ¹³C para elucidação estrutural.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise Fitoquímica

Os resultados para análise fitoquímica para o extrato etanólico bruto da espécie *P. glazioviana* estão dispostos no Quadro 1.

Quadro 1. Análise fitoquímica para P. glazioviana

Análise Fitoquímica da Pavonia glazioviana		
Reações	Resultados	
Flavonoides/Shinoda	Positivo	
Flavonóides/AlCl ₃	Positivo	
Alcaloides/Dragendorff	Positivo	
Alcaloides/Mayer	Positivo	
Quinonas	Negativo	
Cumarinas	Positivo	
Esteroides/Terpenoides	Positivo	
Saponinas	Negativo	
Taninos/FeCl ₃	Positivo	
Taninos/Albumina	Positivo	

Fonte: [própria]

A espécie vegetal *Pavonia glazioviana*, apresentou os seguintes grupos de metabólitos secundários: flavonoides, alcaloides, cumarinas, esteroides e triterpenos e taninos. Os metabólitos apresentados estão de acordo com a literatura para o gênero *Pavonia*. Por exemplo, foram relatados flavonoides, cumarinas, taninos, esteroide e triterpenos na espécie *Pavonia cancellata* (DIAS et al., 2017); flavonoides, cumarinas, taninos, alcaloide, esteroides e triterpenos foram relatados para a espécie *Pavonia malacophylla*(Link&Otto) (LIMA et al., 2017). A partir de outras espécies, tais como *P. distinguenda*, já foram isolados e identificados triterpenoides, e de *P. varians* foram detectados alcaloides, taninos e saponinas (LEAL, 2008).

O teste para flavonóides, baseou-se na redução dos derivados flavonoídicos, de cor amarela, em antocianinos, de cor avermelhada. Essa redução em geral ocorre no anel C dos flavonóis e flavonas, formando o núcleo antociânico. E para a reação de cloreto de alumínio, o alumínio se liga aos oxigênios e cloros, ocorrendo intensificação de fluorescência pelo complexo Flavonóide-Al³+. O teste para alcalóides apresentou

resultado positivo. A maioria dessas substâncias precipitam de soluções neutras ou levemente ácidas, como os reagentes usados, ocorrendo precipitação nas duas reações realizadas. O teste para cumarinas apresentou resultado positivo, pois em meio básico o anel lactônico da cumarina se abre formando ácido cis-o-hidróxicinânimo, e com a luz ultravioleta, é produzida fluorescência de cor verde-amarelada ou azulada, produzida pelo ácido trans- hidroxicinâmico. O teste para esteroides/terpenoides consistiu no tratamento da amostra com anidrido acético em presença de ácido acético e algumas gotas de ácido sulfúrico, causando desidratação e oxidação do sistema de anéis do ciclopentanoperidrofenantreno, com a formação do ácido colesta-hexaenossulfônico, de colocação azul-esverdeada. Para terperoides, ocorre o desenvolvimento de cor avermelhada, ou púrpura. O teste para taninos apresentou resultado positivo, sendo detectados pela adição de cloreto férrico em solução etanólica, gerando coloração verde-azulada. Para a reação de proteínas os taninos formam complexo insolúvel em água com as proteínas, observando precipitação ou turvação (SIMÕES et al., 2017).

Os flavonoides, taninos e cumarinas encontrados na espécie vegetal, são classes de metabólitos secundários que constituem o grande grupo de compostos fenólicos. Estes estão relacionados com a atividade antioxidante dos vegetais, que contribui para a saúde humana devido à capacidade de atuar prevenindo a ocorrência de problemas de saúde, tais como câncer e inflamação, que estão relacionados em sua patogênese com a oxidação de biomoléculas(VIEIRA et al., 2011).

5.2 Quantificação de Fenólicos Totais

O Reagente de Folin-Ciocalteau consiste de mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotunguístico, na qual o molibdênio se encontra no estado de oxidação VI (cor amarela no complexo Na -2MoO₄.2H₂O). Porém, em presença de agentes redutores, com os compostos fenólicos, são formados os chamados complexos molibdêniotungstênio azuis, cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, pois apresenta absorbância máxima a 760nm (AGBOR et al., 2014).

Os valores médios das absorbâncias para as concentrações de 125; 62,5; 31,25; 15,125 e 7,5625 µg/mL do padrão ácido gálico, estão dispostos no Tabela 2.

A curva de calibração do padrão ácido gálico (Figura 16), obteve o valor do coeficiente de linearidade $R^2=0,\ 99628$, a equação da reta obtida foi : $y=0,\ 000993696x$ - 0,00218.

O teor de fenólicos totais foi calculado a partir daequação da reta. Foram encontrados no extrato etanólico da espécie *P. glazioviana* 48,20± 1,7103 mg de EAG/g de extrato etanólico (EAG - equivalentes de ácido gálico).

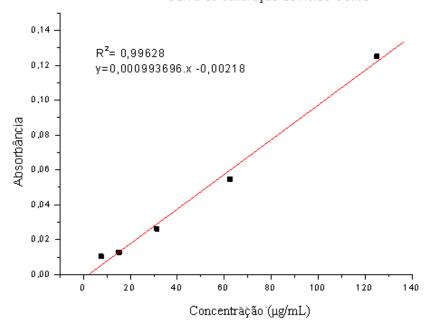
Tabela 2. Valores de absorbâncias para sua respectiva concentração de ácido gálico, em triplicata.

Concentração (μg/mL)	Absorbância	Absorbância média e desvio padrão
125	0,124	
125	0,130	$0,125\pm0,0041$
125	0,120	
62,5	0,056	
62,5	0,062	$0,0547 \pm 0,0066$
62,5	0,046	
31,25	0,024	
31,25	0,029	$0,0263 \pm 0,0020$
31,25	0,026	
15,125	0,011	
15,125	0,018	$0,0127\pm0,0038$
15,125	0,009	
7,5625	0,012	
7,5625	0,011	$0,0103 \pm 0,0017$
7,5625	0,008	

Fonte: [própria]

Figura 16. Curva de calibração do ácido gálico em µg/mL

Curva de calibração do Ácido Gálico



Fonte: [própria]

Foram encontradas quantidades elevadas de fenólicos totais, $48.2 \pm 1,7103$ mg de EAG/g de extrato etanólico (EAG - equivalentes de ácido gálico). O resultado obtido no presente estudo demonstra que *P. glazioviana* é mais rica em componentes fenólicos que várias espécies da família Malvaceae, várias delas utilizadas na medicina popular com ação anti-inflamatória(Oliveira et al., 2012). No extrato bruto de *Sidastrum micranthum*, por exemplo, foi detectado 39.37 ± 2.54 mg EAG/g de extrato etanólico; o extrato bruto de *Wissadula periplocifolia* apresentou 45.68 ± 0.58 mg EAG/g de extrato etanólico; o extrato bruto de *Sida rhombifolia* apresentou 38.22 ± 0.43 mg EAG/g de extrato etanólico.

Outro estudo realizado por Vieira et al. (2011) utilizando frutas tropicais conhecidas por serem ricas em compostos fenólicos mostraram os seguintes resultados: para a polpa da goiaba foi apresentado um teor no extrato aquoso de $104,76 \pm 4,39$ mg EAG/100g de polpa da fruta congelada; para a polpa de acerola demonstrou-se teor no extrato aquoso de $835,25 \pm 32,44$ mg EAG/100g de polpa da fruta congelada; para a polpa de caju foi apresentado um teor no extrato aquoso de $201,61 \pm 19,15$ mg EAG/100g de polpa da fruta congelada. Resultados obtidos por Ferreira; Rosso; Mercadante (2010) apresentaram $241,7 \pm 0,8$ mg EAG/100 g de fruto para a amorapreta. Quando comparados com os dados para P.glazioviana observa-se que a espécie é grande produtora de substâncias fenólicas.

Os compostos fenólicos são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante de vegetais, principalmente de frutos. Estas substâncias têm despertado muito interesse devido às suas propriedades biológicas, apresentando além de atividade antioxidante, ações anti-inflamatória, antimicrobiana, vasodilatadora e anticâncer. Os alimentos que são ricos em compostos fenólicos são conhecidos como alimentos funcionais e tem seu consumo recomendado devido às suas ações protetivas à saúde (HEIM et al., 2002; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

5.3 Atividade Antioxidante

O DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) é um radical livre que apresenta coloração violeta. Quando substâncias antioxidantes são adicionadas a solução de DPPH, agem como doador de átomo de hidrogênio, reduzindo o radical DPPH para DPPH-H (estável), alterando a cor da solução para amarelo claro (PIRES et al., 2017).

Os valores das absorbâncias para as concentrações de60; 50; 30; 15; $7,5~\mu M$, em triplicata, do DPPH, estão dispostos na Tabela 3.

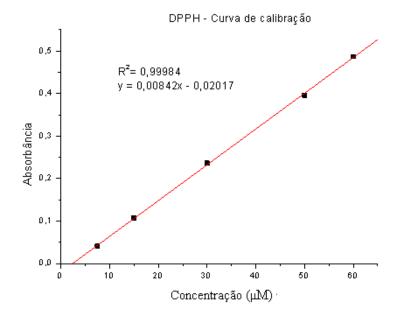
A curva de calibração (Figura 17), obteve o valor do coeficiente de linearidade $R^2 = 0$, 99984, a equação da reta I obtida foi : y = 0, 00842x - 0,02017.

Tabela 3. Valores de absorbâncias para sua respectiva concentração de DPPH, em triplicata.

Concentração (μM)	Absorbância	Média e desvio padrão
60	0,477	
60	0,491	$0,\!487 \pm 0,\!0077$
60	0,495	
50	0,402	
50	0,400	$0,396 \pm 0,0071$
50	0,386	
30	0,238	
30	0,235	$0,236 \pm 0,0012$
30	0,237	
15	0,108	
15	0,107	$0,107\pm0,0004$
15	0,108	
7,5	0,041	
7,5	0,042	0.041 ± 0.0004
7,5	0,042	

Fonte: [própria]

Figura 17. Curva de calibração do DPPH.



Para calcular a Abs que corresponde à redução de 50% (Abs₅₀) na concentração de DPPH dividiu-se o valor da absorbância na maior concentração (0,487) por 2, tendo como resultado o valor de 0,2435.

5.3.1 Teste com extrato etanólico de Pavonia glazioviana

Os valores das absorbâncias para asconcentrações de8; 4; 2 mg/mL, em triplicata, para o extrato etanólico da *Pavonia glazioviana*, estão dispostos no Tabela 4.

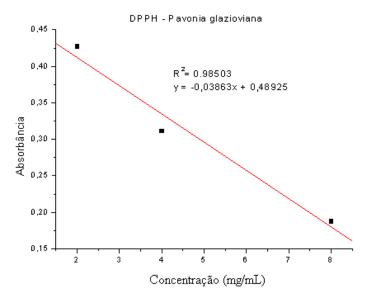
A curva de calibração para atividade antioxidante do extrato etanólico da P. glazioviana, obteve coeficiente de linearidade de R^2 = 0,98503e a equação da reta II gerada foi: y = -0.03863x + 0.48925 (Figura 18).

Tabela 4.Resultados obtidos para a avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico da Pavoniaglazioviana.

Concentração (mg/mL)	Absorbância	Média e desvio padrão
2.	0.422	

2	0,426	0,4276±0,005
2	0,435	
4	0,313	
4	0,285	$0,3113\pm0,020$
4	0,336	
8	0,184	
8	0,190	$0,188 \pm 0,002$
8	0,190	

Figura 18. Potencial antioxidante do extrato etanólico de Pavonia glazioviana.



Fonte: [própria]

Para calcular a EC_{50} substituiu-se na equação da reta II o valor 0,2435,encontrando-se o valor de x, sendo esta a concentração de extrato que reduz em 50% a contração de DPPH (EC_{50}). Para o extrato etanólico da *P. glazioviana* a EC_{50} encontrada foi de 6,36 \pm 0,02921mg/mL.

Estudos demonstram uma correlação direta entre extratos que apresentam altos teores de fenólicos e alta capacidade antioxidante. Para o extrato etanólico da *P. glazioviana* a EC₅₀ encontrada foi de 6,36 mg/mL ± 0,02921. Resultados obtidos por Oliveira et al. (2012), mostram os valores para extratos etanólicos brutos de outras espécies de Malvaceaes, utilizando o mesmo método. Para a espécies *Sidastrum micranthum* foi demonstrada uma EC₅₀de 125,73 mg/mL; para *Wissadula periplocifolia* foi obtido o valor de EC50 de 114,28 mg/mL e para *Sida rhombifolia* obteve-se o valor de 115,91 mg/mL. De acordo com os dados obtidos podemos observar que o extrato

etanólico de *P. glazioviana*, possui um potencial antioxidante maior quando comparada a outras espécies de Malvaceae conhecidas por possuírem ação anti-inflamatória e antioxidante.

Resultados obtidos por Vieira et al (2011), apresentam valores de EC50 para extratos aquosos de frutas tropicais, tais como, acerola, apresentando valor de 24,42 μ g/mL; cajá, apresentando valor de 535,53 μ g/mL; caju, apresentando valor de 154,95 μ g/mL e para goiaba, apresentando valor de 433,36 μ g/mL. Analisando os dados observa-se que apresenta maior capacidade antioxidante das frutas conhecidas por seu alto teor de vitamina C (CAIDANet al., 2014; LÓPEZ et al., 2014) .

5.4Elucidação estrutural de Pg-1

A substância Pg-1 foi isolada como pó amarelo. O espectro de RMN ¹H exibiu um conjunto de absorções para hidrogênios aromáticos entre deslocamento químico δ_H 6,41ppm a δ_H 8,12ppm. Este espectro também mostrou um singleto em deslocamento químico δ_H 12,42ppm típico de hidroxila formando ligação de hidrogênio intramolecular, característico do núcleo flavonoídico, sugerindo que Pg-1 trata-se de um flavonoide, uma vez estas substâncias são comuns em Malvaceae (SILVAet al., 2005). Foi possível observar dois dubletos intensos, em deslocamento químico δ_H 8,11ppm e 7,05ppm ambos integrando para 2H cada com uma constante de acoplamento (J) igual a 9,0 Hz, característico de acoplamento orto, demonstraram a presença de um sistema do tipo AA' BB' de aromático, permitindo assim sugerir para Pg-1 um esqueleto flavonoídico com anel B para substituído. A ausência de um singleto entre deslocamento químico δ_H 6,63ppm e 6,43ppm indica que a posição C-3 estaria substituída, somando-se a esses dados verificou-se a presença de três singletos (deslocamento químico δ_H, 3,87ppm, 3,90ppm e 3,99ppm,integrando para 3H cada), característicos de hidrogênio de metoxilas, sugerindo a presença de 3 metoxilas na moléculaque puderam ser localizadas posteriormente nas posições C-3, C-8 e C-4' (Figura 19, 20 e 21).

Figura 19.Espectro de RMN 1 H (δ , CDCl₃, 500 MHz) de Pg-1.

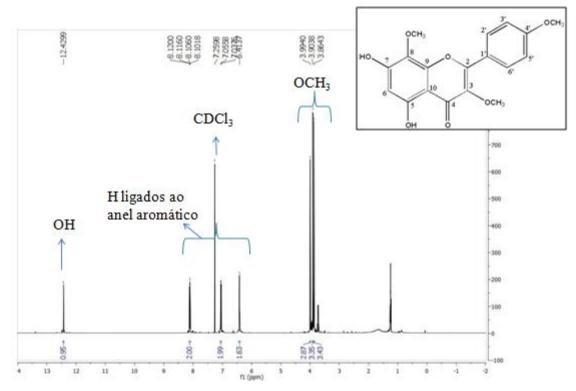
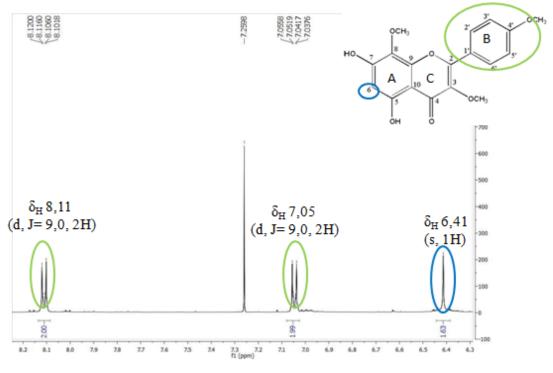


Figura 20. Expansão 1 do espectro de RMN 1 H (δ , CDCl₃, 500 MHz) de Pg-I.



Fonte: [própria].

Figura 21.Expansão 2 do espectro de RMN 1 H (δ , CDCl₃, 500 MHz) de Pg-1.

O espectro de RMN 13 C-APT mostrou sinais que indicam a presença de 18 átomos de carbono, confirmando a proposta da substâcia Pg-1 tratar-se de um flavonoide. Destacam-se sinais de alta intensidade para carbonos equivalentes em deslocamento química δ_C 130,2ppm e 114,38ppm característicos dos carbonos 2'/6' e 3'/5' do anel B *para*-substituídos de flavonoides. As absorções em deslocamento químico δ_C 55,61ppm, 60,34ppm e 62,10ppm típicas de metoxilas confirmaram a proposta do espectro de 1 H para a presença desses 3 substituintes. Destacamos ainda o sinal em 179,04 relativo à carbonila na posição 4, típica de flavonoides (Figura 22). Comparando-se os dados obtitidos com dados da literatura (SORHRABet al., 2004) (Tabela 5), pôde-se concluir que a substância isolada Pg-1 é o flavonoide 5,7-dihidroxi-3,8,4'-trimetoxiflavona (3,8,4'-trimetoxiherbacetina) (Figura 23) isolado pela primeira vez no gênero *Pavonia*.

Figura 22. Espectro de RMN 13 C - ATP(δ , CDCl₃, 125 MHz) de Pg-I.

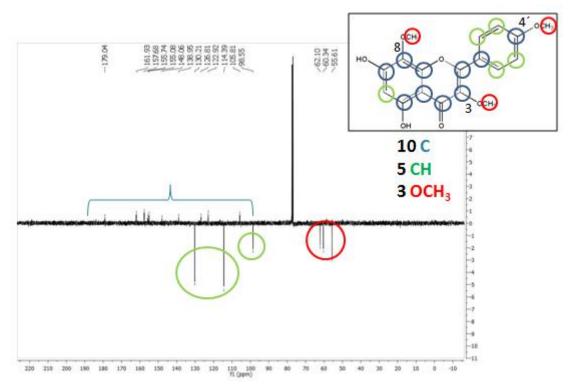


Figura 23. 5,7-dihidroxi-3,8,4'-trimetoxiflavona.

Fonte: [própria].

Tabela 5. Comparação do $\delta_{H\,e}\,\delta_{C}$ do Pg-1 com Mo-1.

	Pg-1		Mo-1	
	δ _н (ppm/Hz)	δ _C (ppm/Hz)	δ _H (ppm/Hz)	δ _C (ppm/Hz)
2	-	155,08	-	155,8
3	-	138,95	-	138,6
4	-	179,04	-	179,0
5	12,43 (s, 1H)	157,68	12,50 (s, 1H)	157,3
6	6,42 (s, 1H)	98,55	6,42 (s, 1H)	95,4
7	-	155,74	-	158,3
8	-	126,81	-	128,8
9	-	148,06	-	150,2
10	-	105,81	-	105,3
1'	-	122,92	-	123,0
2'/6'	8,11 (d, <i>J</i> =10 Hz, 2H)	130,21	8,17 (d, <i>J</i> =2,5 Hz, 2H)	130,2
3'/5'	7,05 (d, J=9 Hz, 2H)	114,39	7,05 (d, J=2,5 Hz, 2H)	114,2
4'	-	161,93	-	161,8
ОСН3-8	3,99 (s, 3H)	62,10	3,91 (s, 3H)	61,6
осн3-4'	3,90 (s, 3H)	55,61	3,90 (s, 3H)	55,4
ОСН3-3	3,86 (s, 3H)	60,34	3,87 (s, 3H)	60,11
ОСН3-7	-	-	3.95(s, 3H)	56,3

Fonte: [SORHRAB et al., 2004].

6 CONCLUSÕES

Com a realização do presente trabalho foi possível determinar os grupos de metabólitos secundários produzidos pela espécie *P. glazioviana*. Foi demonstrada a elevada concentração de substâncias fenólicas no extrato de *P. glazioviana*. Estas substâncias estão relacionadas com a capacidade antioxidante de produtos naturais. De fato, foi demonstrada interessante atividade antioxidante da espécie quando comparada com outras Malvaceaes já conhecidas por essa propriedade.Por meio de técnicas cromatográficas e espectroscópicas, foi possível isolar e identificar o flavonoide 5,7-dihidroxi-3,8,4'-trimetoxiflavona, relatado pela primeira vez no gênero *Pavonia*, contribuindo com a quimiotaxonomia da famíla Malvaceae.

REFERÊNCIAS

- AGBOR, G. A.; VINSON, J. A.; DONNELLY, P. E. Folin-Ciocalteau Reagent for Polyphenolic Assay. Int. J Food SciNutr Diet. v.3, n. 8, p.147-156, 2014.
- AHMED, Z.; KAZMI, S. N. H.;, WALIK. A Phytochemical investigation of Abutil on pakistanicum. **J Nat Prod**, v. 53, p. 1342-1344, 1990.
- ALMEIDA, S. Malvaceae, família. *Knoow, Enciclopédia Temática*. 2016. Disponível em < http://knoow.net/ciencterravida/biologia/malvaceae-familia/>. Acesso em 14 nov. 2018.
- BOLZANI, V.S.Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. Cienc. Cult., 68, 1, 04-05, 2016.
- BOVINI, M.G.; CARVALHO-OKANO, R. M.; VIEIRA, M. F. Malvaceae A. Juss.no ParqueEstadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 52, n. 81, p. 17-47, 2001.
- CAIDAN, R.; CAIRANG, L.; LIU, B.; SUO, Y. Amino acid, fattyacid, and mineral compositions of fruit, stem, leaf and root of Rubusamabilis from the Qinghai-TibetanPlateau. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.33, p.26-31, 2014.
- CARDOSO, L. M.; LEITE, J. P. V.; PELUZIO, M. C. G. Efeitos biológicos das antocianinas no processo aterosclerótico. **Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.**, v. 40, n.1, p.116-138, 2011.
- CASIMIRO-JÚNIOR, F., et al. Substâncias isoladas de *Pavonia cancellata* (L.) (MALVACEAE). In: 36° Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2013. Águas de Lindóia. **Anais eletrônicos**... Águas de Lindóia: ABQ, 2013. Disponível em:http://www.eventoexpress.com.br/cd-36rasbq/resumos/T0837-1.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2018.
- CASTRO, A. A. J. F., et al.Caracterização Florística e Estrutura da Comunidade Arbórea de Um Remanescente de Floresta Estacional, Municípios de Manoel Emídio e Alvorada do Gurguéia, Piauí, Brasil.*Programa de Biodiversidade do Trópico Ecotonal do Nordeste.* 2014.
- CHAVES, S. O. Estudo fitoquímico e antimicrobiano de duas espécies de Malvaceae: *Pavonia malacophylla*(Link & Otto) Garke e *Sida rhombifolia*L. 2016. 199f. Dissertação (Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) -Centro de Ciências da Saúde Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- CHIMIN, A. Isolamento e Purificação de complexos ativos. 2006. Disponível em:http://www.uepg.br/fitofar/dados/isolapurifcativo.pdf>. Acesso em 01 fev. 2018.
- COLPO, J.F.; JAHNKE, S.M.; FÜLLER, T. Potencial inseticida de óleos de origem vegetal sobre Grapholita molesta (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae). **Rev. Bras. Plantas Med.**, v.16, n.2, 2014.

- COTINGUIBA, G. G., et al. Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 15, n. 3, p.231-237, 2013.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.
- DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicações na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais. Botucatu**, v. 14, n.2, p. 389-399, 2012.
- DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2 Ed. John Wiley& Sons, Ltd., 2002.
- DIAS, W. S. et al. Metabólitos secundários e quantificação de fenólicos totais da espécie *Pavonia cancellata* (Malvaceae). In: III SINEQUI Simpósio Nordestino de Química, 3, 2017.Campina Grande PB. **Anais eletrônicos** ...Campina Grande: SINEQUI, 2017. Disponível em< http://www.abq.org.br/sinequi/2017/trabalhos/101/10572-24136.html>. Acesso em 08

jul. 2018.

- DINIZ, L. R. L. **Efeito das saponinas triterpênicas isoladas de raízes da** *Ampelozizyphusamazonicus* **DUCKE sobre a função renal**. 2006. 116f. Dissertação (Pós-graduação em Ciências Biológicas)- Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.
- ESTEVES, G. L. O gênero *Pavonia* Cav. (Malvaceae) na região Nordeste do Brasil. **Boletim do Instituto de Botanica**, v. 11, n. 2, 1998.
- FERNANDES, M. M. M. S. **Estudo fitoquímico pioneiro de** *Pavoniacancellata*(**L.**) **Malvaceae**.2013. 95f.Dissertação (Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Centro de Ciências da Saúde Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB.
- FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (Rubus spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, p. 664-674, 2010.
- FERREIRA, M. D. L. **Terpenos: potenciais agentes quimioterapêuticos obtidos de fontes naturais usados contra o câncer de pulmão**.2013. 36f. Monografia (Graduação) Universidade Federal Da Paraíba, João Pessoa-PB.
- GARCIA, C. M. Estudo fitoquímico e atividade biológica de *Pavoniadostinguenda* A.st.-Hill. et.Naudin e *Dorstenia brasiliensis* Lam. 2007. 218p. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.
- GOULART, D. S. Aplicações das técnicas de cromatografia no diagnóstico toxicológico. 2012.Dissertação (Doutorado) Universidade Federal de Goiás.

- GRINGS, M.; BOLDRINI, I. I. Sphaeralceabonariensis(Cav.) Griseb. (Malvaceae): nova ocorrência para o Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v.9, n.3, p.382-386, 2011.
- GUALBERTO, F. T. A. Estudos bibliográfico do gênero *Pavonia* e fitoquímico de *Pavonia malacophylla*(Link & Otto) Garke Malvaceae. 2013. 60f. Monografia (Graduação)- Universidade Federal da Paraíba.
- GULCIN, I. et al. Comparison of Antioxidant Activity of Alove (*Eugenia caryophylatathun*b) buds and lavender (*Lavandulastoechas* L.). **Food Chem**, v. 87, p. 393–400, 2004.
- HIKAL, W. M., et al. Botanical insecticide as simple extractives for pestcontrol. **Cogent Biology**, v. 3, p. 1-16, 2017.
- HEIM, K.E. et al. Flavonoidantioxidants: chemistry, metabolismandstructure-activityrelationships. **J. Nutr. Biochem.**, v.13, p.572-584, 2002.
- JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z; AMINI-KHOEI, H. Medicinal plants: Pasthistoryand future perspective. **Journal of Herbmed Pharmacology**,v.7, p.1-7, 2018.
- KRULL, I.; Analyticalchemeswtry, Ed. Intech, 2012.
- LEAL, R. S. Estudos etnofarmacológicos e fitoquímicos espécies medicinais *cleomespinosa*Jacq, *Panoviavarians*Moric e *Crotoncajuaçara*Benth.2018. Tese (Doutorado). Centro de Ciências Exatas e da Terra Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- LIMA, B.A.T. Análise fitoquímica e quantificação de fenólicos totais da *Pavoniamalacophylla* (Link&Otto) Garcke. In: III SINEQUI Simpósio Nordestino de Química, 3, 2017.Campina Grande PB. **Anais eletrônicos**...Campina Grande: SINEQUI, 2017. Disponível em:<
- http://www.abq.org.br/sinequi/2017/trabalhos/101/10566-24142.html>. Acesso em 07 jul. 2018.
- LISTA DE ESPÉCIES DA FLORA DO BRASIL. *Pavonia glazioviana* GÜRKE. Disponível em:
- http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB9140. Acesso em 15 nov. 2018.
- LOPES, L. G. Estudo químico de *Pavonia multiflora* A. St-Hil. (Malvaceae), planta endêmica do Espírito Santo.2014, 117f. Dissertação (Mestrado) Centro de Ciências Exatas. Universidade Federal do Espírito Santo.
- LÓPEZ, A.; JAVIER, G.A.; FENOLL, J.; HELLÍN, P.; FLORES, P. Chemical composition and antioxid ant capacity of lettuce: comparative study of regular-sized (Romaine) and baby-sized (Little Gemand Mini Romaine) types. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.33, p.39-48, 2014.

- MACIEL, J.K.S., et al. New alcamide and antioxidant activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl. (Cactaceae). **Molecules**, v. 21, p. 0011-0023, 2016.
- MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **FoodChemistry**, London, v. 100, p. 1409-1418, 2007.
- MARASCIULO, C.; CAVINATTO, S.; DALCOL, I. I.; MOREL, A. F. Análises de toxicidade aguda em camundongos e citotoxicidade frente a *Artemia salina* (TSA) de *Pavoniadistinguenda*ST. Hill e Naude. In : 29° Reunião da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia, 2006.
- MARQUES, J. P; LOPES, G. C.Alcaloides como agentes antitumorais: Considerações químicas e biológicas. **Revista UNINGÁ**, v.24, n.1, p.56-61, 2015.
- MARTIN, G. E, et al. SubmicroInverse-DetectionGradient NMR. A Powerful New Way ofconductingStructureElucidationStudiesWih< 0,05 MicromolSamples.**Journal of Natural Products**, v.61, n. 5, p. 555-559, 2011.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.
- MATOS, M. J. C. P. P. Novos métodos cromatográficos para análise e separação de novos produtos naturais antimicrobianos. 2015, 51f. Dissertação (Mestrado) Universidade Lusófona de Humanidades eTecnologias.
- MAZZOTTI, R. R. de M.; et al. Constituintes fenólicos de *Pavoniaglazioviana*Gürke: estudo fitoquímico pioneiro. In: X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia, Juazeiro Bahia, 2010. **Anais eletrônicos** ... Bahia, 2010. Disponível em: http://www.plamevasf.univasf.edu.br/arquivos_anais/qum621.pdf>. Acesso em 26 mar. 2017.
- MESQUITA, A. K. F., et al. Estudo prospectivo tecnológico e científico do potencial anti-*Schistosoma mansoni* da cumarina e do ácido *o*-hidroxicinâmico. **Cadernos de Prospecção**. Salvador, vol.6, n.3, p.386-397, 2013.
- MOTA, T. H. S., et al. Estudo farmacognóstico das folhas da Sterculia Striata St. Hil. Et. Naid., coletadas em Itapuranga-Go. **Revista Faculdade Montes Belos (FMB)**, v. 7, n° 1, p 34-68, 2014.
- MURAD, L. D. Efeitos dos ácidos cafeico e 5-cafeoilquínico sobre o crescimento e captação celular em células de adenocarcinoma de cólon humano.2013. 130 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

- NASCIMENTO, J. C., et al. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da Bauhiniavariegata L. *Rev. Bras. Farm.*, v.92, n. 4, p. 327-332, 2011.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. J. **Natural Products**, v. 79, p.629-661, 2016.
- OLIVEIRA, A.M.F., et al. Total phenolic content and antioxidant activity of some Malvaceae family species. **Antioxidants**, v. 1, p. 33-43, 2012.
- OLIVEIRA, I. M. A.; CERQUEIRA, F. **Fitoterapia: interações medicamentosas e toxicidadena Farmácia de Oficina**.2016. Dissertação de Mestrado Universidade Fernando Pessoa.
- PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, vol. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.
- PINHO, R. A.; ARAÚJO, M. C.; GHISI, G. L. M.; BENETTI, M. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. **Arq Bras Cardiol**, v.94, n.4,p. 549-555, 2010.
- PIRES, J., et al. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. **Instituto de Biociências**, Universidade de São Paulo, 2017.
- QUEIROZ, G. L. Análise de esteróides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de *Brunfelsi uniflora*. Relatório Departamento de Química. Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.
- ROLIM, Y. M. **Alcaloides e glicosídeo flavonoídico de** *Waltheriaviscosissima* **A. St. Hill Malvaceae**.2015. 85f. Dissertação (Mestrado). Centro de Ciências de Saúde Universidade Federal da Paraíba.
- ROSA, F. R. Atividade antioxidante de frutos do cerrado e identificação de compostos em Bactris setosa Mart., Palmae (TUCUM-DO-CERRADO). 2013. 146f.Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.
- SANTOS, R. A. F. **Avaliação das propriedades biológicas dos derivados sintéticos do β-sitosterol e triterpenos**. 2010. Dissertação- Programa de Pós Graduação em Química-Universidade Federal da Bahia. Bahia.
- SELVAN, V. T., et al. Cytotoxic and antitumor activies of *Pavonia aodorata* agains terlich's ascites carcinoma cellsbearingmice. **Pharmacology online**, n. 2, p. 453-477, 2007.
- SILVA, C. M. A. **Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco- uma inovação no controle de fitopatógenos**. 2014. 109f. Dissertação (Mestrado). Centro de Ciências Biológicas Universidade Federal de Pernambuco.

- SILVA, H. C. S.; PRATA, J. N.; REZENDE, L. M. S. Efeitos das Isoflavonas de Soja Sobre os Sintomas Climatérios. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v.15, n.3, p.239-44, 2013.
- SILVA, M. L. C., et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.
- SILVA, M. S., et al. Avaliação dos componentes químicos de *Indigofera suffruticosa*. In:Congrebio 2018, 8. **Anais eletrônicos**... Congresso Nacional de Biólogos. Congrebio 2018.

 Disponível em:http://congresso.rebibio.net/congrebio2018/trabalhos/pdf/congrebio2018-et-09-
- SILVA, N. L. A.; MIRANDA, A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas de cerrado, da área de proteção ambiental municipal de Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia plena**, v.6, n.2, 2010.

026.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2018.

- SILVA, S. M. S. Esteroides antitumorais: desenvolvimento e avaliação biológica de esteroides estrogénicos potencialmente úteis no tratamento do cancro da mama. 2012.128f. Dissertação (Mestre) Bioquímica.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017, p. 848.
- SOARES, N. P., et al. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer.** Goiânia, v.13 n.24; p. 991, 2016.
- SOHRAB, M.H., et al. Chemotaxonomic significance of polyoxygenated flavonoids from the leaves of *Micromelum minutum*. **Biochem. Syst. Ecol.**, v.32, p.829-831, 2004.
- SOLOMONS, T. W.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. 8 ed. Rio de Jameiro: LTC, p.416-426 e 115-116, 2006.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 260 p.
- SOUZA, E. T.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. Fontes, formação, reatividade e determinação de quinonas na atmosfera. **Química Nova**, vol. 39, n. 4, 486-495, 2016.
- SOUZA, S. M. Atividade antibacteriana de cumarinas naturais e derivados. 2005. 94f. Dissertação (Mestrado). Departamento de Microbiologia e Parasitologia-Universidade Federal de Santa Catarina.
- STEVENS, P. F. **Angiosperm phylogeny website**. 2003. Disponível em:http://www.mobot.org. Acesso em 20 nov. 2018.
- TELES, Y. C. F., et al. O papel do extresse oxidativo na síndrome metabólica. **J Health Sci Inst**. v. 33, n.1, p. 89-93, 2015.

TELES, Y.C.F., et al. Phytochemical investigation of Wissadula periplocifolia (L.) C. Presl and evaluation of its antibacterial activity. **Quím Nova**, v.37,n. 9, p.1491-1495, 2014.

TIWARU, K. P.; MINOCHA, P.K. Pavophylline, a new saponin from the stem of *Pavonia zeylanica*. **Phytochemistry**. v.19,n. 4, p.701-704, 1980.

TROPICOS.ORG. **Missouri Botanical Gardel**. Disponível em:< http://www.tropicos.org/Name/42000104?tab=maps>. Acesso em 15 nov. 2018.

UNESP. **Acervo do saber**. Disponível em :< https://www.edutec.unesp.br/publicador/>. Acesso em 25 nov. 2018.

VAHITA, R., et al. Larvicidal efficacy of *Pavonia zeylanica*L. and *Acacia ferruginea*D. C. against *Culexquinquefasciatus*Say. *Bioresource Technology*, v. 82, p. 203-204, 2002.

VALADARES, S. N. S. Composição química, toxicidade e atividade biológica de Vatairea macrocarpa (Benth.) Ducke (Leguminosae). 2017. 88f. Dissertação (Mestrado) — Universidade Estadual de Feira de Santana.

VARGAS, A. G. Influência da sazonalidade na composição química e nas atividades antioxidante e antimicrobiana das folhas de ora-pro-nobis (Pereskia aculeata Miller). 2011. 80f.Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

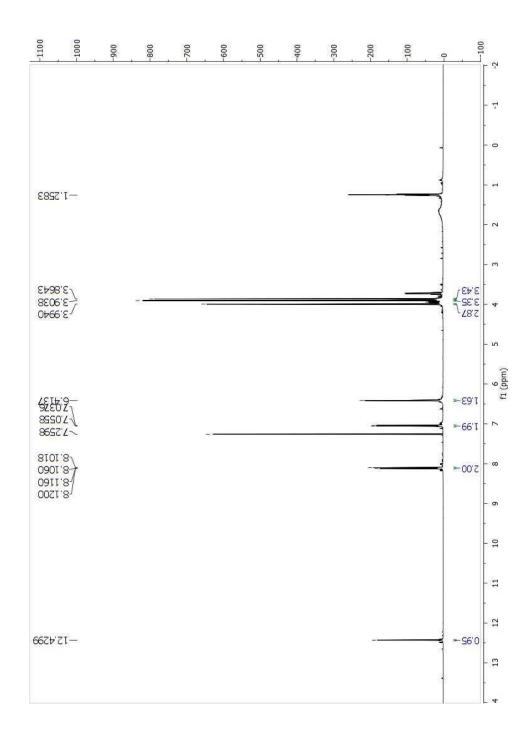
VASCONCELOS, T. B. Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo?. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 16, n. 3, p.213-219, 2014.

VIEIRA, L. M., et al. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de fruto tropicais. **Rev. Bras. Frutic**, Jaboticabal, v.33, n.3, p. 888-897, 2011.

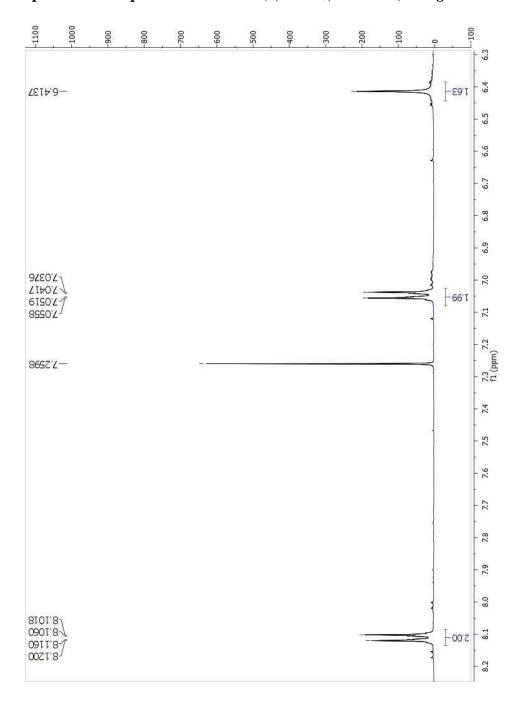
VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 16 p.

ZIMMERMANN, A. M.; KIRSTEN, V. R. Alimentos com função antioxidante em doenças crônicas: uma abordagem clínica. **Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde**, Santa Maria, v. 9, n. 1, p. 51-68, 2008.

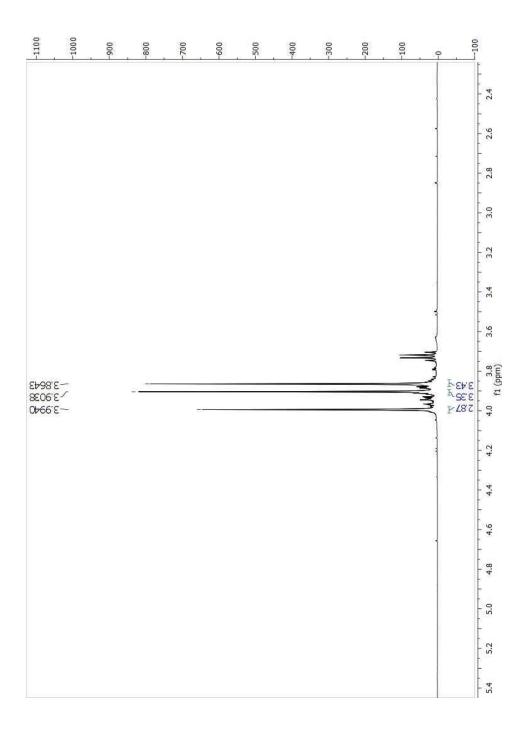
ANEXO A - Espectro de RMN 1 H (δ , CDCl $_3$, 500 MHz) de Pg-1



ANEXO B - Expansão 1 do espectro de RMN 1 H (δ , CDCl $_3$, 500 MHz) de Pg-1



ANEXO C - Expansão 2 do espectro de RMN 1 H (δ , CDCl $_3$, 500 MHz) de Pg-1



ANEXO D - Espectro de RMN $^{13}\mathrm{C}$ - ATP(δ , CDCl_3, 125 MHz) de Pg-1

