

EXTRAÇÃO DE FLAVONOIDES ORIUNDO DA PLANTA PASSIFLORA ALATA

Ana Carolina Roberto

(Bacharel em Química pela FACP – Faculdade de Paulínia)

Glaucia Maria Ferreira Pinto

(Pós-Doutora em Engenharia Química, Doutora em Ciências, Mestre em Química Analítica e Graduada em Bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas pela Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Professora e Coordenadora de Curso na FACP - Faculdade de Paulínia glaucia.maría.fACP@gmail.com)

RESUMO: O gênero Passiflora é o mais importante da família Passifloraceae e suas espécies são conhecidas popularmente no Brasil como “Maracujás”. Sua utilização mais comum é a infusão das folhas do maracujá na forma de chá, para tratamento como calmante e suave indutor do sono. Além do uso terapêutico popular, é utilizado também pelas indústrias alimentícias para a fabricação de sucos, polpas e derivados. O presente trabalho teve como objetivo investigar os principais marcadores presentes na folha da Passiflora alata, que oferecem tratamento alternativos com medicamentos à base de planta, para ansiedade, nevralgia, ansiolíticos e outros.

PALAVRAS-CHAVE: *Passiflora alata*, maracujá, flavonoides.

Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá, e em vista disto é de suma importância o desenvolvimento de métodos analíticos e estudos de atividades antioxidantes e anti-inflamatório do fruto de maracujá, visando sua possível utilização como alimento funcional e produção de possíveis fármacos.

Apesar das espécies de maracujás serem bem distribuídas nas regiões do Brasil, há poucos estudos que as relacionem. Desta forma, o presente trabalho objetivou quantificar o teor de flavonoides em folha de maracujá contribuindo para o aumento das pesquisas.

O gênero Passiflora

De acordo com o Instituto de Tecnologia de Alimentos (1994) a palavra “maracujá” possui origem indígena, onde *maraú-ya* significa “fruto de sorver” ou “polpa que se toma de sorvo”. Abrangendo aproximadamente 400 espécies sendo que 150 a 200 são nativas do Brasil, o gênero *Passiflora* é considerado o mais importante da família *Passifloraceae*. (RAMOS, et al., 2007).

As espécies do gênero *Passiflora* são distribuídas em todo o globo terrestre, sendo mais desenvolvidas em áreas de regiões tropicais, além de se adaptarem em áreas de regiões subtropicais e temperadas pelo mundo (MELETI, 2000). No Brasil seu maior foco de desenvolvimento encontra-se no Centro-Oeste, onde 79 das espécies são encontradas (RUGGIERO, 1987).

Por essas espécies serem cultivadas pelos seus frutos comestíveis, principalmente em forma de sucos e refrescos, as de maior interesse e desenvolvimento comercial no país são: o maracujá-azedo ou amarelo (*Passiflora edulis Sims. f. flavicarpa Degener*) e maracujá-doce (*Passiflora alata Dryander*) (INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1994). São também conhecidas em nosso país, mas não na mesma escala: *Passiflora alata (Dryander) Curtis*, *Passiflora quadrangularis L.*, *Passiflora caerulea L.* e *Passiflora caurifolia L.* (FREITAS, 1985).

Por possuir substâncias biologicamente ativas, muitas plantas são utilizadas como fonte para a construção de modelos para sínteses de medicamentos, obtendo novos fármacos. Entretanto para a obtenção do fármaco, há dois aspectos importantes que distinguem os produtos naturais dos sintéticos: a diversidade molecular e a função biológica. Segundo Nodari (2000) a diversidade molecular dos produtos naturais é superior à dos processos de sínteses, apesar dos avanços tecnológicos. Por esse fato, os princípios ativos em plantas podem vir a se tornar fármacos em potencial para diferentes moléstias.

Por serem consideradas um fármaco em potencial para fonte de modelos químicos de síntese para novas moléculas, devem ser consideradas como um incentivo ao uso de recurso natural para atividade na forma de fitoterápico, conseguindo desenvolver novas moléculas, sendo um método eficiente e seguro. Portanto, algumas plantas com conhecido efeito farmacológico, assim como as espécies do gênero *Passiflora*, se destacam por possuírem propriedade sedativas, antiespasmódicas e ansiolíticas (NODARI, et al., 2000).

Passiflora alata

A *Passiflora alata* (Figura 1) possui folhas simples, glabras e sub-coriáceas de cor verde clara, suas lâminas são característica do tipo ovaladas ou oblongas, de 7,0 cm a 20,0 cm de comprimento e 4,0 cm a 15,0 de largura, sua base é arredondada, ápice acuminado e possui sua margem lisa. O pecíolo mede geralmente cerca de 2,0 cm a 7,0 cm de comprimento e é profundamente coniculado na parte superior, apresenta 1 a 2 pares de nectários extraflorais e é comum apresentarem gavinhas no pecíolo. Suas flores são vistosas hermafroditas, pentâmeras, actinomorfas, solitárias nas axilas das folhas, pergunadas com tamanho em média de 10 a 12 cm de diâmetro. Possuem sépalas e pétalas camosas, avermelhadas internamente. Corola bisseriada, sua série externa é longa, com filamentos listados de branco e roxo, série interna clara e dentiforme. O fruto é ovóide a periforme, com até 10 cm de comprimento e 6 cm de largura, ficando amarelo quando maduro (OLIVEIRA; AKISUE, 1998; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).



Figura 1: Foto *Passiflora alata*, mostrando a fruta e flor.

[\(Useful Tropical Plants, 2016\)](#)

A espécie *P. alata* é distribuída em várias regiões, por essa diversificação a espécie é conhecida por vários nomes, tais como: maracujá-doce, maracutango, maracujá-grande, maracujá-comprido, maracujá-mamão, maracujá-melão, maracujá-de-refresco ou, simplesmente, maracujá. Se diferem do gênero *Passiflora edulis* por esta apresentar folhas trilobada, com margem serrilhada, nervação palminérvea e também tricomas tectores na região da nervura principal. Pode ser confundida com *Passiflora macrocarpa* (maracujá-melão) mas é possível distinguir pela organização foliar e floral desta (FREITAS, 1985; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

A espécie *Passiflora* apresenta nutrientes foliares, compostos fenólicos em suas folhas, porém esses teores de nutrientes variam em função da idade ou da posição da folha amostrada. Os nutrientes provenientes, segundo Marschner (1995), são os nutrientes do floema, tais como N, o P e o K, tendendo a diminuir com a idade das folhas, apresentando menores teores nas folhas mais distante da região apical dos ramos. Porém, existem outros nutrientes pouco móveis, tais como o Ca, o B e o Mn, normalmente, havendo um efeito contrário, os teores aumentam com a idades das folhas e apresentam mais teores nas folhas mais distantes da região apical dos ramos.

Segundo Corrêa (1984) o uso desse gênero é a preparação de fármacos fitoterápicos, utilizando como sedativos no tratamento de nevralgias, insônias, histeria, epilepsia e ataques nervosos. O extrato do maracujá também pode ser usado como componente de flavorizante em bebidas alcoólicas e não alcoólicas e até em sobremesas. Possuindo sementes doces e acídulas, é apreciada para a fabricação de sucos e refrigerante.

Considerações químicas na planta

Estudos referentes as diversidades das espécies de *Passiflora*, evidenciam compostos químicos presentes, sendo os principais: os alcaloides e flavonoides. Porém, outras substâncias também são encontradas, como saponinas, glicosídos cianogênicos, esteroides, lignanas, ácidos graxos, maltol, aminoácidos e taninos (ALONSO, 1998; REGINATTO, 2000; REGINATTO, et al., 2001).

Desempenhando vários papéis na ecologia das plantas, os flavonoides apresentam: a proteção dos vegetais contra radiação solar ultravioleta e visível, proteção contra agentes patogênicos (vírus, fungos, insetos e bactérias), à atração de polinizadores, antioxidantes, controle de ação hormonal no vegetal, agentes alelopáticos e inibição de enzimas. Podem ser usados também como marcadores taxonômico, pois são abundantes em quase todo o reino vegetal (ZUANAZZI, 2001).

Além do seu papel na fisiologia das plantas, os flavonoides são importantes na dieta humana, por apresentarem atividades antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, antialérgica e vasodilatadora. (HOLLMAN; KATAN, 1996). Pelos flavonoides apresentarem atividade oxidantes, devido as suas propriedades, eles atuam como agentes redutores, doadores de hidrogênio, neutralizadores do oxigênio singlete e por quelar íons metálicos, protegendo assim os tecidos dos radicais livres e da peroxidação lipídica. Sendo assim, esta é

direcionada ao radical hidroxil (OH) e o ânion superóxido (O^{2-}), que se envolvidas na iniciação de peroxidação lipídica são altamente reativas. Além disso, os flavonoides têm propriedades estabilizadores de membranas, onde pode afetar alguns processos do metabolismo intermediário (ZHINSHEN, et al., 1999).

Nas plantas, os flavonoides apresentam variedade de formas estruturais, todas contendo 15 átomos de carbono em seu núcleo básico arranjados na distribuição C₆-C₃-C₆, isso significa que, são dois anéis aromáticos ligados por 3 carbonos unitários que podem ou não formar um terceiro anel, ligado a vários substituintes (Figura 2) (HAVSTEEN, 1983).

Os flavonoides são classificados em 10 classes de composto, conforme seu processo de formação: flavonóis, flavonas, glicoflavonas, antocianinas, proantocianidinas, fiflavonilas, chalconas, auronas, flavononas e isoflavonas (HARBORNE, et al., 1975).

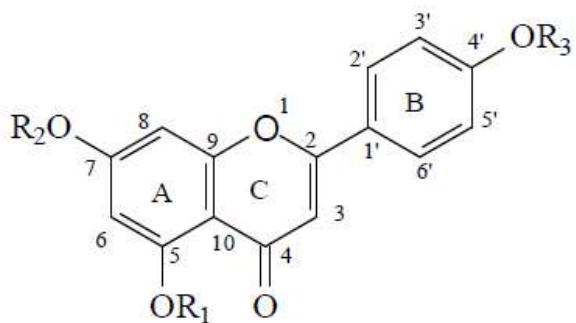


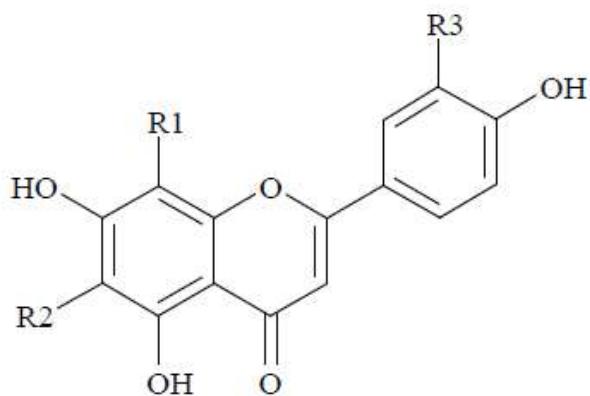
Figura 2. Estrutural geral dos flavonoides.

Os flavonoides de origem natural apresentam-se frequentemente oxigenados e com grande número de açúcares conjugados. Essa forma conjugada, conhecida como glicosídeo, é formada pela ligação de um ou mais açúcares ao grupo de hidroxilas por ligação hemiacetal, que pode ser facilmente interrompida por hidrólise ácida. Outra forma conjugada de açúcares é por meio de ligação de açúcar-genina entre carbonos C-1 (anomérico) do açúcar e um ou dois carbonos do anel A do flavonoide (C-glicosídeo). Quando o flavonoide é encontrado sem o açúcar, é chamado de aglicona ou genina, sendo denominado como forma livre (ZUANAZZI, 2001).

Os flavonoides encontrados no gênero *Passiflora* são do tipo C-glicosídeo, onde os açúcares estão ligados diretamente ao núcleo aromático pela ligação de carbono-carbono. Esses açúcares são encontrados apenas nas posições 6 e 8 do núcleo do flavonoide,

apresentando pouca diversificação, nos quais o principal é a glicose (HARBORNE, et al., 1975).

No gênero de *Passiflora alata* é relatada a ocorrência de vitexina, isovitexina, orientina, 2"-O-xilosil-vitexina, 2"-O-ramnosil-vitexina, 2"-O-ramnosil-orientina e isoorientina, cuja as estruturas estão apresentadas na Figura 3. (ULUBELEN, et al, 1982, DERMARDEROSIAN & BEUFLER, 2002).



	Composto	R ₁	R ₂	R ₃
(1)	vitexina	glicose	H	H
	isovitexina	H		
	orientina	glicose	H	OH
	2"-O-xilosil-vitexina	glicose(1→2)xilose	H	H
	2"-O-ramnosil-vitexina	glicose(1→2)ramnose	H	H
	2"-O-ramnosil-escoparia	glicose(1→2)ramnose	H	O-CH ₃
	2"-O-ramnosil-orientina	glicose(1→2)ramnose	H	OH
	isoorientina	H		glicose

Figura 3. Estrutura dos flavonoides descritos para *Passiflora alata*.

Oga et al. (1984) relata que encontrou os flavonoides orientina, isoorientina, vitexina, isovitexina e rutina através de CCD (cromatografia em camada delgada). Freitas (1985) realizou estudos dos flavonoides glicosídeo em vários espécie de Passiflora, sendo elas, *P. incarnata*, *P. edulis*, *P. alata* e *P. quadrangularis* e através de CCD verificou a presença de quatro flavonoides principais nestas espécies, como: vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina. Zucolotto (2005) relatou a presença de flavonoides C-glicosídeos no pericarpo, mesocarpo e na casca dos frutos maduros da espécie *Passiflora edulis*, realizada pela análise de CCD.

Dhawan et al. (2001) considera que os flavonoides é o maior grupo constituintes já pesquisado no gênero *Passiflora*.

Obtenção de Extratos

Os materiais utilizados para os estudos das análises experimentais são compostos pelas folhas da *Passiflora alata*.

1. Extração de *P. alata* (A)

Folhas secas (500 g) foram moídas e padronizadas pela passagem em um sistema composto por três tamises com aberturas de 1400 µm, 850 µm e 250 µm respectivamente. Na sequência utilizando a metodologia adaptada da Pharmacopeia Helvética VII (1987), 40% do material vegetal que passou através do tamis com abertura 250 µm, foi misturado ao pó que passou pelas aberturas anteriores. A droga foi umedecida com o líquido extrator (álcool de cereais 97°GL: duas partes de álcool para uma parte de água destilada, obtendo-se teor alcoólico de 64,7%), passadas através do tamis com abertura 1400 µm e deixada em repouso por duas horas. Utilizando um funil de separação, o material vegetal foi empacotado, colocando previamente um pequeno pedaço de algodão no funil com o objetivo de uma pré-filtragem e o solvente foi distribuído uniformemente sobre a planta moída e padronizada deixando um excesso de dois centímetros acima do nível da droga. Durante 12 horas o solvente ficou em contato com o material vegetal. Após, iniciou-se a percolação coletando-se 1 mL de extrato por minuto.

2. Extração de *P. Alata* (A₁)

Após elaborado o extrato hidroalcoólico de acordo com a metodologia adaptada da Pharmacopeia Helvética VII (1987) e armazenado em refrigerador a 8°C, por 3 dias, o precipitado (20g) foi diluído em 200 mL de metanol:água (2:1) e extraído três vezes em funil de separação, com porões de 100 mL com os solventes: hexano, diclorometano e acetato de etila. O líquido restante foi denominado fração aquosa que foi concentrado até secura. Em cada uma dessas extrações foi aguardado o tempo suficiente até obter a nítida visualização das linhas de separação das duas fases. As fases orgânicas de cada extração, foram reunidas e também concentradas até a secura em evaporador rotatório.

3. Extrato de *P. alata* (B)

Para obtenção dos extratos das folhas sob refluxo, foram utilizados 0,400 g da planta, seca e padronizadas. Colocada em balão de fundo redondo de 50 mL, acrescentado 25 mL de etanol 40% e aquecido em banho-maria, sob fluxo por 15 minutos. Após, a mistura foi filtrada por algodão para balão volumétrico de 50 mL. O resíduo da droga e o algodão foram lavados em balão de fundo redondo com 10 mL de etanol 40% e aquecido à fervura sob fluxo por 10 minutos.

Filtrado novamente a mistura por algodão, lavado o resíduo e o algodão e mais 10 mL de solvente em balão de 50 mL e aquecido em banho-maria sob fluxo por mais 10 minutos. Após o resfriamento em temperatura ambiente, o extrato foi filtrado para o balão volumétrico completando o volume com etanol 40%.

Na pesquisa foram investigados os metabólitos flavonoides: vitexina e rutina, presente em diferentes partes da planta *Passiflora alata*.

Para a investigação de flavonoides presentes na parte da folha do maracujá, os extratos foram realizados com fase móvel de combinação de Acetato de etila:Acetona:Ácido Acético:Água (6:2:1:1 v/v/v/v) (BIRK, et al., 2005).

A Figura 4 representa o contato da cromatoplaca já aplicadas com as amostras e padrão em contato com a fase móvel, em uma câmara fechada para que haja em todo seu espaço uma saturação de fase móvel.

Figura 4. Eluição da fase móvel na cromatoplaca

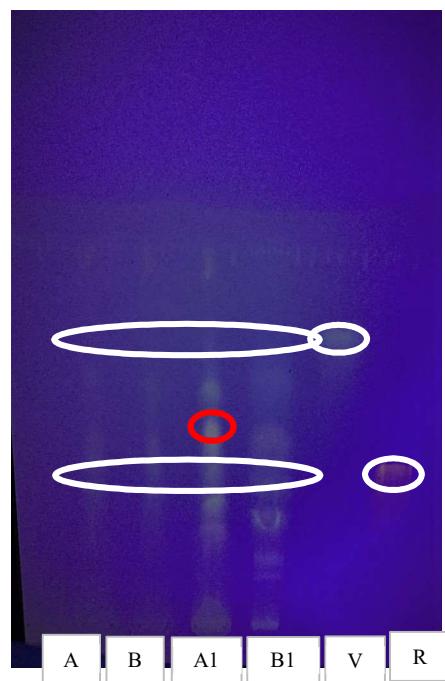
A detecção das manchas dos flavonoides nas chromatoplaca foi realizada mediante observação sob luz ultravioleta (365 nm) e após a nebulização do agente Cromogênico, reagente natural A – Difenilboriloxietilamina em 1% de metanol, a placa foi deixada em bancada (Figura 2) para a secagem a temperatura ambiente (WAGNER; BLADT, 1996).

Figura 5. Placa seca em temperatura ambiente com amostra.



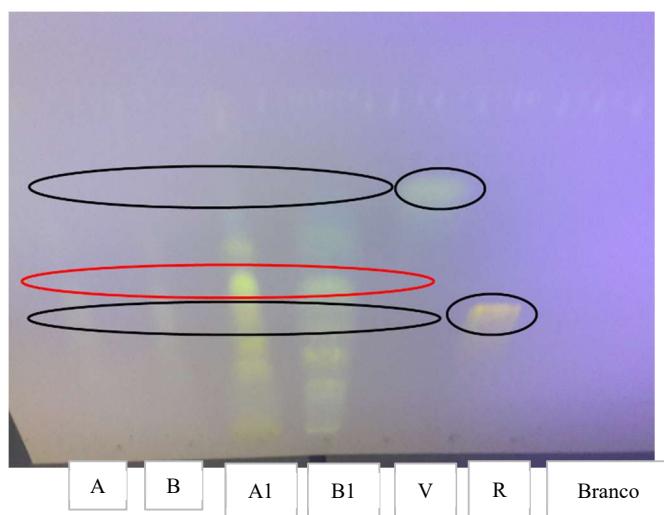
A análise cromatográfica por CCD de extrato de *Passiflora alata* obtidos, permitiu a observação de várias substâncias de flavonoides presentes, as estudadas nesta pesquisa foi observada nos resultados, vitexina e rutina. As Figuras 6 e 7 apresenta o perfil de flavonoides, considerando suas polaridades e colorações após a revelação.

Figura 6. Cromatografia em camada delgada dos extratos brutos da espécie *Passiflora alata*.



A:extrato A; B: extrato B; A1: extrato A seco; B1: extrato B seco.
FE: sílica; FM: Acetato de Etila:Acetona:Ácido Acético:Água (6:2:1:1, v/v/v/v);
Detecção: Reagente Natural / UV 365 nm.

Figura 7. Cromatografia em camada delgada dos extratos brutos da espécie *Passiflora alata*.



A:extrato A; B: extrato B; A1: extrato A seco; B1: extrato B seco.

FE: sílica; FM: Acetato de Etila:Acetona:Ácido Acético:Água (6:2:1:1, v/v/v/v);

Detecção: Reagente Natural / UV 365 nm.

Através do perfil cromatográfico obtido notamos que à presença de vitexina e rutina em nossas extrações. Esses flavonoides quantificados pela placa de CCD são pertencentes ao grupo de flavonas que possuem propriedades antioxidantes que são compostos capazes de retardar ou inibir a oxidação de lepídeos, ácidos nucléicos ou outras moléculas.

As colorações mais fortes apresentadas nas Figura 3 e 4 são dos extratos A₁ e B₁ que foram submetidas a secura, essa visualização é visa por apresentarem maiores teores de princípios ativos contidos na *Passiflora alata*.

Os teores de rutina e vitexina variam em função da posição ou idade das folhas, sendo maiores nas folhas mais jovens ou na região apical dos ramos.

Também é possível notar a presença de 2"-O-ramnosil-vitexina (círculo vermelho) no extrato aquoso das folhas, flavonoide C-glicosídeo já descrito para esta espécie (MADOGLIO, 2011; OGA et. al., 1984)

A observação da presença de 2"-O-ramnosil-vitexina na análise da pesquisa foi concluída pela tese de Doutorado de Geison Modesti Costa, no qual foi base de estudo nesta iniciação científica.

Conclusões

Com o resultado obtido fizemos comparações com os testes de cromatografia de camada delgada de vários autores mencionados na bibliografia deste trabalho. Assim, concluímos que os flavonoides C-glicosídeos estão presentes no extrato e são presentes também em várias espécies de *Passiflora*, tais como: *P. tripartita* var. *molíssima* e *P. bogotensis*.

Foi possível identificar a presença dos seguintes flavonoides nas folhas: rutina, vitexina, isorientina, isovitexina e 2"-O-ramnosídeo.

A fluorescência de cor azul presente na placa indicam a presença de ácidos carboxílicos fenólicos (por exemplo, o ácido caféico).

A técnica de CCD mostrou várias vantagens como: desenvolvimento rápido do método, facilidade de visualização pós-cromatografia, habilidade, técnica econômica, com baixo consumo de solventes e resíduos gerados, pontos importantes para a maior valorização e exploração desta técnica no desenvolvimento.

Entretanto há alguns ressaltos que devem ser avaliados, tais como: as amostras estavam mais diluídas do que o esperado, por isso a pouca visualização das cores presentes na cromatoplaca, também ressaltamos a importância da fotografia, pois não conseguimos aproveitar toda a coloração presente pessoalmente ao olhar a placa. Ao decorrer do projeto, houve várias pausas para analisar, verificar e procura de novo processo a ser aplicado nas extrações das amostras, novo método e novas obtenções de extratos e ajuda de grandes profissionais na área.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, J. R. Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas, Buenos Aires: ISIS, 1998.
- BIRK, C.D.; PROVENSI, G.; GOSMANN, G.; REGINATTO, F.H.; SCHENKEL, E.P.TLC Fingerprint of Flavonoids and Saponins from *Passiflora* Species. Journal of Liquid Chromatography and Related Technology, v. 28, p. 2285-2291, 2015.
- CERVI, A. C. 2006. O gênero *passiflora L.* (*Passifloraceae*) no Brasil espécies descritas após o ano de 1950.
- COSTA, GEISON M. Estudo químico de espécies brasileiras e colombianas do gênero *Passiflora*. Universidade de Santa Catarina, pós-graduação em farmácia. Florianópolis, 2013.
- CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. 5, pag. 108, 1984.
- DERMARDEROSIAN, A. & BEUTLER, J. A. The Review of Natural Products, 3. ed., St. Louis, Facts and Comparisons, pag. 547 – 550, 2002.
- Farmacopeia Brasileira, 5. ed., São Paulo: Organização Andrei, pag. 1111, 2010.
- FREITAS, P. C. D. Estudo farmacognóstico comparativos de espécies brasileiras do gênero *Passiflora L.* Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1985.
- HARBORNE, J. B.; MABRY, J. J.; MABRY, H. The flavonoids. London: Chapman and Hall, pag. 5-39, 1975.
- HAVSTEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. Biochemical Pharmacology, v. 32, n. 7, pag. 141-1148, 1983
- HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M.B. Dietary flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. Journal of Nutritional Biochemistry, 1996
- Instituto de tecnologia de alimentos. Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas: ITAL, pag. 267, 1994.
- MADOGLIO, F.A. Investigação fitoquímica das partes aéreas de *Passiflora alata Curtis*. Florianópolis, 2011.219p.
- MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2.ed. San Diego: Academic, 1995.
- MELETII, M. M. L. Propagação de frutíferas tropicais (coord.) – Guaíba Agropecuária, pag. 239, 2000.

- NODORI, R. O e GUERRA, M. P.. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In Farmacognosia: da planta ao medicamento. Eds Simões, C.M.O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., J.C.P.d., Mentz, L.A. e Petrovick, P.R. p 11-24. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC-Editora da Univerisade/UFRGS. 2000.
- OGA, S.; FREITAS, P. C.; SILVA, A. C. G.; HANADA, S. Pharmacological trials of crude extract of *Passiflora alata*. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 50, n. 4, pag. 303-306, 1984.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fundamentos de farmacobotânica. São Paulo: Atheneu, 1998.
- RAMOS, A. T.; CUNHA, M. A. L.; SABAA-SRUR, A. U. O.; Pires, V. C. F.; Cardoso, M. A. A.; Diniz, M. F. M.; Medeiros, C. C. M. Uso de *Passiflora edulis* f. *flivicarpa* na redução do colesterol, *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*. Out./Dez. 2007
- REGINATTO, F. R. Saponinas em *Passiflora alata* Dryander. Tese (Doutorado em Farmácia). In: faculdade de Farmácia: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.
- REGINATTO, F., KAUFFMAN, C.; SCHRIIPSEMA, J.; GUILLAUME, D.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Steroidal and triterpenoidal glucosides from *Passiflora alata*. *J. Braz. Chem. Soc.*, Campinas, v. 12, pag. 32-36, 2001.
- RUGGIERO, C. Cultura do maracujazeiro. Ribeirão Preto: Legis Summa, pag. 250, 1987.
- ULUBELEN, A.; OKSUZ, S.; MABRY, T. J.; DELLAMONICA, G. & CHOPIN, J. C-glycosylflavonoids from *Passiflora pittieri*, *P. alata*, *P. ambigua* and *Adenia manii*. *Journal of Natural Products*, v. 45, pag. 783, 1982.
- WAGNER, H., BLADT, S. Plant Drug Analysis: a thin layer chromatography atlas. 2º ed. Berlin: Springer, 1996.
- ZHINSHEN, J., MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Foos Chem*, v. 64, n. 1-2, pag. 555-559, 1999.
- ZUANAZZI, J. A. S. Flavonoídes. In: SIMÕES et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, pag. 499-526, 2001.
- ZUCOLOTTO, S. M. Estudo fitoquímico das folhas, frutos e raízes de *P. edulis* forma *flavicarpa* Degener. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em farmácia, Universidade de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- YU, D.; DEHEGREN, R.A. Evaluation of methods for measuring polyphenol in conifer foliage. *J. Chem. Ecology*, 2000.