

ESTUDO QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. (Fabaceae)

SANTOS, Thayana Linhares¹

AMARAL, Flavia Maria Mendonça do^{2*}

DUTRA, Richard Pereira³

FREITAS JUNIOR, Luciano Mamede⁴

CUNHA, Mayara Soares⁴

RIBEIRO, Maria Nilce de Sousa²

Resumo: *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. (Fabaceae), conhecida popularmente como anil bravo, é amplamente utilizada na prática popular em infecções, inflamações, úlceras, afecções nervosas e diarreias. Com o objetivo de avaliar os constituintes químicos e atividade antioxidante de *Tephrosia cinerea* (L.) Pers., folhas da espécie foram coletadas no Horto Medicinal “Berta Langes de Morretes” da Universidade Federal do Maranhão; em seguida, foram secas, moídas e submetidas à extração com etanol a 70% por percolação, empregando as relações de hidromódulo (droga/solvente) 1:8 e 1:12; seguido da determinação de rendimento, análise qualitativa e semiquantitativa de constituintes químicos, quantificação de compostos fenólicos e avaliação *in vitro* da atividade antioxidante. A avaliação química indicou presença de ácidos orgânicos, compostos fenólicos, cumarinas, taninos condensados, triterpenos, flavonas, flavonóis e xantonas nos extratos hidroalcoólicos de folhas de *Tephrosia cinerea*. Na análise quantitativa de polifenóis e flavonoides, os extratos obtidos por percolação na relação de hidromódulo de 1:12 apresentaram resultados mais expressivos que os obtidos em hidromódulo de 1:8. Os resultados da avaliação da atividade antioxidante indicam que o extrato hidroalcoólico das folhas de *Tephrosia cinerea* obtido por percolação na relação de hidromódulo de 1:8 na concentração de 15 µg/mL foi mais representativo (52,27%); observando, ainda, que as amostras nas relações de hidromódulo empregadas nesse estudo, apresentaram uma inibição de radicais livres concentração-dependente, com diferença significativa ($p \leq 0,05$) quando comparados aos extratos nas relações hidromódulo 1:8 e 1:12 nas concentrações 5, 10 e 15 µg/mL.

Descritores: *Tephrosia cinerea*; Análise Fitoquímica; Atividade Antiradical.

Abstract: *Chemical study and evaluation of antioxidant activity of extracts of Tephrosia cinerea* (L.) Pers. (Fabaceae).

Tephrosia cinerea (L.) Pers. (Fabaceae), known as anil brave, is widely used in popular practice in infections, inflammations, ulcers, nervous disorders and diarrhea. With the goal to evaluate the chemical constituents and the antioxidant activity of *Tephrosia cinerea* (L.) Pers., leaves of the species were collected in the Medicinal Garden “Berta Langes de Morretes” of Federal University of Maranhão; after this, it was dried, then were dried and subjected to extraction with 70% ethanol by percolation, using the relations of hydromodule (drug/solvent) 1:8 and 1:12; followed by the determination of income, qualitative and semiquantitative analysis of chemical constituents, quantification of phenolic compounds and *in vitro* evaluation of antioxidant activity. The chemical evaluation indicated the presence of organic acids, phenolic compounds, coumarins, tannins, triterpenes, flavones, flavonols and xanthenes in hydroalcoholic extracts of leaves of *Tephrosia cinerea*. In the quantitative analysis of flavonoids and polyphenols, the extracts obtained by percolation in the ratio of 1:12 hydromodule showed more significant results than those obtained in a 1:8 hydromodule. The results of the antioxidant activity evaluation indicate that the hydroalcoholic extract of *Tephrosia cinerea* leaves obtained by percolation in hydromodule ratio of 1:8 at a concentration of 15 µg/mL was the most representative (52.27%), noting also that samples in the relations of hydromodule employed in this study showed an inhibition of free radical concentration-dependent, with significant difference ($p \leq 0.05$) when the extracts in relations hydromodule 1:8 and 1:12 are compared on concentrations 5, 10 and 15 µg/mL.

Descriptors: *Tephrosia cinerea*; Phytochemical Analysis; Antiradical Activity.

INTRODUÇÃO

Como um processo natural de manutenção da vida, a respiração celular é responsável pela produção de energia, que se encontra associada à produção de radicais específicos de oxigênio (EROs)¹. Através de mecanismos fisiológicos, o

corpo humano regula a produção de radicais livres e também sua inativação através de antioxidantes endógenos, como a glutathiona peroxidase, catalase e superóxido dismutase^{1,2,3}.

No entanto, o aumento excessivo de EROs pode levar ao estresse oxidativo, decorrente do desequilíbrio entre formação e neutralização desses^{4,5,6}.

¹ Acadêmica do Curso de Medicina/CCBS/UFMA.

² Professora Doutora do Departamento de Farmácia/CCBS/UFMA.

³ Doutorando Programa RENORBIO/CCBS/UFMA.

⁴ Mestrando Programa de Ciências da Saúde/CCBS/UFMA.

Isso se dá tanto pela produção de radicais endógenos, gerados por processos como inflamação, estresse mental, exercícios físicos excessivos, isquemia, infecção, câncer e idade avançada, além dos radicais de origem exógena, resultantes da poluição do ar e da água, tabagismo, alcoolismo, metais pesados e de transição, solventes industriais e radiação⁴. Os danos decorrentes da alta concentração de EROs no organismo são relacionados, principalmente, a peroxidação dos lipídeos de membrana e agressão as proteínas dos tecidos e das membranas, as enzimas, carboidratos e DNA⁷, participando da patogênese de doenças como câncer, doenças cardiovasculares, aterosclerose, hipertensão, diabetes mellitus, doenças neurodegenerativas, artrite reumatóide entre outras^{1,4,8}.

Halliwell⁹ (1995) define antioxidante como qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada ao substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo. Além disso, os radicais formados a partir de antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante^{1,10}. Com base na observação da atividade antioxidante de substâncias provenientes da dieta o α -tocoferol (vitamina-E), β -caroteno (pro-vitamina-A), ácido ascórbico (vitamina-C) e compostos fenólicos onde se destacam os flavonoides e poliflavonoides^{1,3,9,11}, a busca de novas substâncias fitoquímicas com potencial antioxidante tem sido estimulada.

O gênero *Tephrosia*, família Fabaceae, possui cerca de 300 espécies que são largamente distribuídas pelo mundo, com destaque para as regiões tropicais e subtropicais¹². Estudos demonstram que espécies do gênero *Tephrosia* possuem amplo emprego popular com uso terapêutico em desordens inflamatórias^{13,14} e doenças que afetam os rins, fígado, baço, coração e sangue¹⁵. Atividades inseticida, pesticida, antihelmíntica, anticancerígena, antiúlcera e anti-*Leishmania* para espécies do gênero foram descritas^{16,17,18}.

Chinniah¹⁹ et al. (2009) demonstraram que frações apolares de *Tephrosia purpurea*

(Linn.) Pers. possui potencial terapêutico contra *Helicobacter pylori*. Compostos isolados de *Tephrosia pumila* (Lamk.) Persoon exibiram atividade antiprotozoária significativa contra *Trypanosoma brucei rhodensiense*, *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania donovani*²⁰ e extratos obtidos de raízes de *Tephrosia toxicaria* Pers. apresentaram atividade contra larvas de *Aedes aegypti*²¹.

A identificação de flavonoides em diferentes espécies do gênero *Tephrosia*^{22,33, 24, 25, 26} e atividade antioxidante atribuída a tais metabólitos^{1,3,27,28} surgem como estímulo para a investigação de constituintes químicos e avaliação da atividade antioxidante de *Tephrosia cinerea*, espécie de grande ocorrência na região e amplo emprego na prática popular, porém com poucos estudos de validação.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Folhas de *Tephrosia cinerea* foram obtidas por coleta manual no Horto Medicinal “Berta Langes de Morretes” da Universidade Federal do Maranhão, no bairro Bacanga, município de São Luís, estado do Maranhão, nos meses de setembro e outubro do ano de dois mil e dez, segundo as determinações estabelecidas na literatura especializada^{29,30,31,32}. A identificação botânica foi realizada no Herbário “Ático Seabra” da Universidade Federal do Maranhão, onde a exsiccata está depositada sob número 1256/SLS017213.

Preparação dos extratos vegetais

O material vegetal foi seco em estufa com circulação de ar, em temperatura limite máxima de 38°C. Após a secagem, as amostras foram trituradas em moinho de facas, submetidas à determinação da granulometria segundo as determinações da Farmacopéia Brasileira³³ (2010). Os extratos brutos hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* foram obtidos a partir de amostra de 25 g de folhas secas e fragmentadas, as quais foram submetidas à extração com emprego de etanol a 70%; pelo método a frio de percolação; empregando as relações de hidromódulo (droga/solvente) 1:8 e 1:12. Após período de 03 (três) dias, as soluções extrativas foram, em

separado, filtradas. Parte das soluções extrativas foi reservada para prospecção fitoquímica e o restante submetida a concentração sob pressão reduzida em rotaevaporador; acondicionadas em frascos apropriados e mantidas em refrigeração para posterior análises. Todos os extratos obtidos foram submetidos à determinação do rendimento^{31,33,34}.

Avaliação qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos

Os extratos hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* foram submetidos a métodos de avaliação qualitativos e semi-quantitativos dos constituintes químicos, sendo realizados testes para ácidos orgânicos, alcaloides, compostos fenólicos, saponinas, taninos condensados, taninos hidrolisáveis, esteroides, triterpenos antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, flavononóis, leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas^{31,35,36}.

Quantificação dos polifenólicos totais

A concentração dos polifenóis totais foi determinada utilizando reagente de Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio a 20%, usando espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 35, Perkin Elmer) a 760nm. Concentrações de ácido gálico (Merck) foram usadas como padrões^{37,38,39}.

Quantificação do teor de flavonoides totais

A concentração de flavonoides totais foi determinada utilizando o método colorimétrico com solução metanólica de cloreto de alumínio (AlCl₃), usando espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 35, Perkin Elmer) a 425 nm. Concentrações de quercetina (Merck) foram usadas como padrões^{37,38,39}.

Avaliação de atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pelo método fotolorimétrico *in vitro* do radical livre estável 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH)^{40,41}, com modificações. As amostras foram preparadas a partir da solução dos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* com concentração de 500 µg/mL. As diluições foram realizadas em concentrações de 1, 5, 10, 15 µg/mL. A cada diluição preparada foi adicionado 3,5 mL da solução de DPPH (40 µg/mL em metanol) a 0,5

mL de soluções dos extratos diluídos em metanol. O controle negativo foi preparado com 3,5 mL de DPPH e 0,5 mL de metanol. Como controle positivo foi utilizado solução padronizada de ácido ascórbico que possui alta capacidade antioxidante.

A solução de DPPH possui uma coloração roxa intensa e a ação antioxidante do extrato pode ser visualizada pela progressiva perda de coloração da solução, ao final do qual a mesma torna-se amarelada. Trinta minutos após a adição de DPPH às amostras, foi realizada a leitura em espectrofotômetro de UV-Vis em 517nm. O decréscimo nos valores de densidade ótica das amostras foi correlacionado ao controle e estabelecida a percentagem de descoloração do radical DPPH, expressa pela equação: %Inibição = [(Absorbância do controle - Absorbância da amostra) / Absorbância do controle] X 100.

Análise estatística

Os teores de compostos fenólicos foram expressos como média ± desvio padrão e analisados empregando teste t-Student não pareado, onde os valores de p<0,05 foram considerados significantes. Na atividade antioxidante os resultados também são expressos como média ± desvio padrão, com eficiência anti-radical estabelecida utilizando análise de regressão linear no intervalo de confiança de 95% (p<0,05). Os resultados são representados pelo valor da CE₅₀, concentração efetiva 50%, ou seja, concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH e avaliados empregando análise de variância (ANOVA) *one-way*, seguidos do teste de *Turkey*, onde os valores de p<0,05 foram considerados significantes. Todos os dados foram analisados pelo Programa *GraphPad Prism* versão 5.0.

RESULTADOS

Avaliação qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos nos extratos hidroalcoólicos de *Tephrosia cinerea*

Os resultados dos ensaios qualitativos e semi-quantitativos dos constituintes químicos nos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* encontram-se demonstrados na tabela 1.

Tabela 1- Avaliação qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos nos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. obtidos por percolação com diferentes relações de hidromódulo

Metabólitos Secundários	Extratos Hidroalcoólicos/ Relações de Hidromódulos *	
	1:8	1:12
ácidos orgânicos	++	++
alcaloides	-	-
compostos fenólicos	+++	+++
cumarinas	+++	+++
resinas	-	-
saponinas	-	-
taninos condensados	+++	+++
taninos hidrolisáveis	-	-
esteroides	-	-
triterpenos	+	++
antocianinas, antocianidinas	-	-
flavonas, flavonóis e xantonas	+++	+++
chalconas	-	-
flavononóis	-	-
leucoantocianidinas	-	-
catequinas	-	-
flavononas	-	-

Teor dos polifenóis e flavonoides dos extratos hidroalcoólicos de *Tephrosia cinerea*

Os extratos obtidos por percolação na relação de hidromódulo 1:12 apresentaram resultados mais expressivos nas concentrações de polifenóis e flavonoides, quando comparados aos extratos na relação hidromódulo 1:8, mostrando diferença significativa ($p < 0,001$) (tabela 2).

Tabela 2- Teste de avaliação quantitativa de compostos fenólicos nos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. obtidos por percolação com diferentes relações de hidromódulo.

Extratos Hidroalcoólicos/ Relações de Hidromódulos	Concentração (mg/mL)*	
	Polifenóis	Flavonoides
EBHTc 1:8	8,081 ± 0,955	4,9818 ± 0,102
EBHTc 1:12	10,574 ± 0,366	5,7849 ± 0,067

*Resultados expressos como média dos ensaios de avaliação quantitativa de compostos fenólicos realizados em triplicata nos extratos bruto hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* (EBHTc) obtidos por percolação com hidromódulo 1:8 (EBHTc 1:8) e percolação com hidromódulo 1:12 (EBHTc 1:12).

Atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de *Tephrosia cinerea*

Os resultados da avaliação da atividade antioxidante (figura 1) indicam que o extrato hidroalcoólico das folhas de *Tephrosia cinerea* obtido por percolação na relação de hidromódulo de 1:8 na concentração de 15 µg/mL foi o mais representativo dentre os extratos testados, com 52,27% de inibição. Observamos, ainda, que as amostras nas

relações de hidromódulo empregadas nesse estudo apresentaram uma inibição de radicais livres concentração-dependente, evidenciada diferença significativa ($p \leq 0,05$) quando se compara os extratos nas relações hidromódulo 1:8 e 1:12 nas concentrações 5, 10 e 15 µg/mL. Os valores médios de concentração das amostras que causam 50% de inibição do radical DPPH (CE_{50}) estão representados na tabela 3.

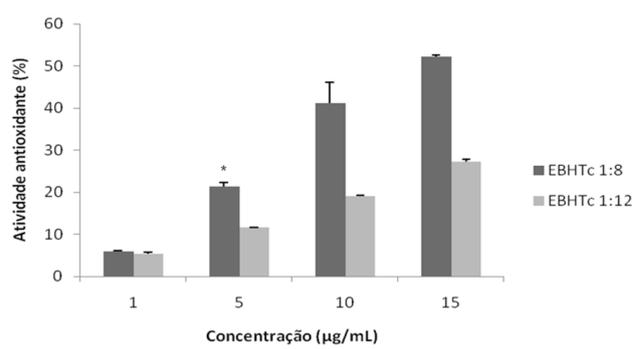


Figura 1- Atividade antioxidante (%) dos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. Obtidos por percolação com hidromódulo 1:8 (EBHTc 1:8) e 1:12 (EBHTc 1:12), nas concentrações de 1, 5, 10 e 15 µg/mL, avaliados pelo método fotocolorimétrico *in vitro* do radical livre 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Os ensaios foram feitos em triplicata. Os dados representam a média ± desvio padrão.

* $p \leq 0,05$ em relação ao EBHTc 1:12.

Tabela 3- Atividade antioxidante expressa em valor de CE_{50} nos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. obtidos por percolação com diferentes relações de hidromódulo.

Extratos Hidroalcoólicos/Relações de Hidromódulos	CE_{50} (µg/mL)
EBHTc 1:8	13,63
EBHTc 1:12	29,8

DISCUSSÃO

Análises químicas de extratos de *Tephrosia cinerea* têm identificado flavonoides: flemichapparina-B, isolonchocarpina, anidrolanceolatina-A, rutina⁴²; lanceolatina B e pongamol⁴³. A presença de flavonas e flavononóis^{44,45}; chalconas^{12,16,45,46,47}; rotenoides^{16,47} e flavonoides prenilados⁴⁵ em estudos desenvolvidos com *Tephrosia purpurea* tem sido demonstrada. Parmar⁴⁸ et al. (2010) confirmam presença de taninos, flavonoides, terpenos, antra-

quinonas e alcalóides em extratos de *T. purpurea*. Estes resultados são compatíveis aos obtidos neste estudo em espécie do mesmo gênero, comprovando-se a presença de substâncias como cumarinas, taninos condensados, triterpenos, flavonas, flavonóis, xantonas e compostos fenólicos em todos os extratos hidroalcoólicos avaliados; sendo constatado, ainda, a presença de ácidos orgânicos.

Na obtenção de soluções extrativas, vários fatores podem influenciar tais como a natureza e quantidade do solvente, estado de divisão da droga, agitação, tempo, temperatura, entre outros⁴⁹. Nesse estudo, ao avaliarmos a influência da relação de hidromódulo (relação droga:solvente) na extração de constituintes químicos de *Tephrosia cinerea*, foi constatado que, em maior relação de hidromódulo, houve uma maior extração de substâncias ativas, demonstrada pela maior concentração de polifenóis e flavonoides nos extratos com hidromódulo de 1:12 quando comparados a 1:8, com diferença significativa, o que pode ser justificado por maior quantitativo de solvente ofertado ao sistema extrativo, favorecendo os fenômenos da extração.

Em relação à quantificação de polifenóis e flavonoides, foi constatada menor quantidade de extração desses compostos dos extratos de *Tephrosia cinerea*, quando comparados com dados da literatura^{50,51,52,53}, que demonstram concentrações de compostos fenólicos de até 763 mg/g⁵¹. Variação qualitativa e/ou quantitativa de constituintes químicos pode ser relacionada a diversos fatores entre os quais a sazonalidade, índice pluviométrico, ritmo circadiano, temperatura, altitude, idade e desenvolvimento da espécie, radiação ultravioleta, nutrientes, poluição atmosférica e ação de patógenos⁵⁴.

Estudos têm evidenciado atividade antioxidante significativa em *Tephrosia purpurea*, *Tephrosia egregia* e *Tephrosia cinerea*^{43,55,56,57}. Arriaga⁴³ et al. (2007) demonstraram capacidade de captura de 40,97% de extratos de raízes de *Tephrosia cinerea*, em extratos na concentração de 1 mg/mL, o que ratifica a atividade antioxidante encontrada em nosso estudo.

No entanto, a observação de alta atividade antioxidante com baixas concentrações de compostos fenólicos e flavonoides levanta a hipótese de que outros constituintes químicos, não mensura-

dos nesse estudo, possam interferir positivamente na atividade antioxidante dos extratos estudados. Nesse sentido, estudo de Kähkönen⁵⁸ (1999) comprova forte atividade antioxidante em extratos de *Malus* sp (maçã) com baixa concentração de compostos fenólicos (<12,1 mg/g).

Em estudo de Mendez⁵⁹ et al. (2011) foi demonstrada redução nos teores de flavonoides totais do extrato seco quando comparado a solução extrativa, indicando que o processo de secagem do extrato pode influenciar na concentração de tais constituintes. Li⁶⁰ et al. (1991) comprovam que a quantificação dos flavonoides em espécies vegetais está sujeita a variação no seu conteúdo que pode ser devido à época da colheita, local de cultivo, parte da planta utilizada ou metodologia de análise empregada.

Logo, vale enfatizar que a síntese de metabólitos secundários é resultante da interação da planta com o ambiente, sofrendo influência de diversos fatores^{30,54,61,62,33,64}; podemos inferir que a variação de composição química quantitativa de flavonoides na amostra vegetal em estudo pode estar relacionada aos fatores extrínsecos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais. Tornando, assim, necessário continuidade dos estudos com *Tephrosia cinerea* (L.) Pers., especialmente com material vegetal coletado em diferentes períodos, locais, idade e estágio de desenvolvimento, visando contribuição efetiva nos estudos de padronização dos extratos em busca de novas alternativas terapêuticas.

CONCLUSÕES

Os estudos realizados com extratos hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* obtidos por procedimento extrativo de percolação, com variação da relação de hidromódulo (1:8 e 1:12), demonstraram que o extrato obtido na maior proporção de solvente apresentou maiores concentrações de polifenóis e flavonoides; no entanto, o extrato com relação de hidromódulo 1:8 mostrou atividade antioxidante mais intensa. Comprovando, assim, que hidromódulo representa variável que influencia na obtenção dos extratos da espécie em estudo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e à FAPEMA pelas bolsas concedidas e pelo fomento à pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39(1): 44-84.
2. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408(6809): 239-47.
3. Barreiros ALBS, David JM. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova* 2000; 29(1): 113-23.
4. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci* 2008; 4(2): 89-96.
5. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47-95.
6. Young I, Woodside J. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001; 54: 176-86.
7. Hussain SR, Cillar J, Cillard P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochem Lett* 1987; 26: 2489-91.
8. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90: 7915-22.
9. Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, Arouma OI. The Characterization of Antioxidants. *Food Chem Toxicol* 1995; 33(7):601-17.
10. Atoui AK, Mansouri A, Boskou G, Kefalas P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem* 2005; 89: 27-36.
11. Piette, PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Pro.* 200; 63:1035-42.
12. Sinha B, Natu AA, Nanavati DD. Prenylated flavonoids from *Tephrosia purpurea* seeds. *Phytochem Lett* 1982; 21:1468-70.
13. Santram L, Singh PR, Pal JA, Singhai AK. Wound healing potencial of *Tephrosia purpurea* (Linn.) Pers. in rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 108:204-10.
14. Shenoy S, Shwetha K, Prabhu K, Maradi R, Bairy KL, Shanbhag T. Evaluation of antiinflammatory activity of *Tephrosia purpurea* in rats. *Asian Pac J Trop Med* 2010; 3(3):193-5.
15. Despande SS, Shah GB, Parmar NS. Anti-ulcer activity of *Tephrosia purpurea* in rats. *Indian J Pharmacol* 2003; 35:168-72.
16. Chang LC, Chavez D, Song LL, Farnsworth NR, Pezzuto JM, Kinghorn D. Absolute configuration of novel bioactive flavonoids from *Tephrosia purpurea*. *Org let* 2000; 4:515-8.
17. Sharma P, Rastori S, Bahatnager S, Srivastava JK, Dube A, Guru PY, Kulshreshtha DH, Dhawan BN. Antileishmanial action of a plant *Tephrosia purpurea* against experimental visceral leishmaniasis. *Drug Development Res* 2003; 60: 285-93.
18. Bezerra JL, Costa GC, Lopes TC, Carvalho ICDS, Patricio FJ, Sousa SM, et al. Avaliação da atividade leishmanicida de extratos vegetais. *Braz J Pharmacogn* 2006; 16:631-7.
19. Chinniah A, Mohapatra S, Goswami S, Mahapatra A, Kar SK, Mallavadhani UV, et al. On the potencial of *Tephrosia purpurea* as anti-*Helicobacter pylori* agent. *J Ethnopharmacol* 2009;124:642-5.
20. Ganapaty S, Pannakal ST, Srilakshimi GVK, Lakshmi P, Waterman PG, Brun R. Pumilanol, an antiprotozoal isoflavonol from *Tephrosia pumila*. *Phytochem Lett* 2008; 1:175-8.

21. Vasconcelos JN, Lima JQ, Lemos TLG, Oliveira MCF, Almeida MMB, Andrade Neto M. Estudo químico e biológico de *Tephrosia toxicaria* Pers. Quim Nova 2009; 32(2):382-6.
22. Tarus PK, Machocho AK, Lang'at-Thoruwa CC, Chhabra SC. Flavonoids from *Tephrosia aequilata*. Phytochem Lett 2002; 60(4):375-9.
23. Reddy RV, Khalivulla SI, Reddy BA, Reddy MV, Gunasekar D, Deville A, Bodo B. Flavonoids from *Tephrosia calophylla*. Nat Prod Commun 2009; 4(1):59-62.
24. Niassy B, Lobstein A, Um BH, Anton R, Konéa MEK. Flavonoids from *Tephrosia deflexa* and *T. albifoliolis*. Biochem Syst Ecol 2005; 33(3):309-12.
25. Lakshmi P, Lakshminarayana K, Ganapaty S, Thomas S. Prenylated flavonoids from the roots of *Tephrosia tinctoria* Pers. Phcog Mag 2008; 4(15):159-61.
26. Calderón JS, Gómez-Garibay F, Céspedes CL. Isoprenylated flavonoids from *Tephrosia tuitoensis*. Biochem Syst Ecol 2001;29(7):763-4.
27. Miller AL. Antioxidant Flavonoids: Structure, Function and Clinical Usage. Alt Med Rev 1996; 1(2):103-11.
28. Costa DA, Chaves MH, Silva WCS, Costa CLS. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hil. et Naudin. Acta Amaz 2010; 40(1): 207-12.
29. Oliveira F, Akisue G, Akisue MK. Farmacognosia. São Paulo: Atheneu; 1991.
30. Von Hertwig IF. Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem e comercialização. 2ªed. São Paulo: Ícone; 1991.
31. Costa AF. Farmacognosia. 4ªed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994.
32. Botsaris SA. Fitoterapia chinesa e plantas brasileiras. São Paulo: Ícone, 1995.
33. Brasil. Farmacopeia Brasileira/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.
34. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ªed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/Editora da UFSC, 2004.
35. Matos FJA. Introdução a fitoquímica experimental. 2ªed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.
36. Falkenberg MB, Santos RI, Simões CMO. Introdução a fitoquímica experimental. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ªed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p.163-79.
37. Marcucci MC, Woisky RGR, Salatino A. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis. Mens Doc 1998; 46:3-8.
38. Chang LC, Chavez D, Song LL, Farnsworth NR, Pezzuto JM, Kinghorn D. Absolute configuration of novel bioactive flavonoids from *Tephrosia purpurea*. Org Lett 2000; 4:515-8.
39. Dutra RP, Nogueir, AMC, Marques RRO, Costa MCP, Ribeiro MNS. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) em municípios da Baixada Maranhense, Brasil. Braz J Pharmacogn 2008; 18(4):557-562.
40. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT Food Sci Technol 1995; 28(1):25-30.

41. Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, Dos Santos TC, Coube CS, et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother Res* 2001; 15(2):127-30.
42. Malcher GT, Arriaga AMC, Gomes TBM, Vasconcelos JN, Rodrigues FEA, Santiago GMP, et al. Estudo químico de *Tephrosia cinerea* Pers. (Fabaceae). 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química: 2007; Águas de Lindóia. Anais. São Paulo: Editora da Sociedade Brasileira de Química, 2007.
43. Arriaga AMC, Malcher GT, Oliveira MCF, Lima JQ, Gomes TBM, Lemos TLG, et al. Avaliação da atividade antioxidante de metabólitos secundários isolados de *Tephrosia cinerea*. 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química: 2007; Águas de Lindóia. Anais. São Paulo: Editora da Sociedade Brasileira de Química, 2007.
44. Gupta RK, Krishnamurti M, Parthasarathi J. Purpurin, a flavone from *Tephrosia purpurea* seeds. *Phytochem* 1980; 19:1264.
45. Pelter A, Ward RS, Rao EV, Ranga E, Raju N. 8-Substituted flavonoids and 3'-substituted 7-oxygenated chalcones from *Tephrosia purpurea*. *J Chem Soc* 1981; 1:2491-98.
46. Ventakata R, Raju N. Two flavonoids from *Tephrosia purpurea*. *Phytochem* 1984; 23(10):2339-42.
47. Saxena VK, Choubey A. A neoflavonoid glycoside from *Tephrosia purpurea* stem. *Fitoterapia* 1997; 68:359-60.
48. Parmar KA, Patel AN, Prajapati SN. Preliminary phytochemical screening and study of antiviral activity and antibacterial activity of *Tephrosia purpurea* flower. *Life Sci Leaf* 2010; 1:7-13.
49. Fonsêca SGC. Farmacotécnica de fitoterápicos. [citado 2012 jan 17]. Disponível: URL: http://www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/Farmacot_Fitoterapicos.PDF.
50. Andrade CA, Costa CK, Bora K, Miguel MD, Miguel OG, Kerber VA. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyrifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. *Braz J Pharmacogn* 2007; 17(2): 231-5.
51. Sousa CMM, Silva HR, Vieira Júnior GM, Ayres MCC, Costa MLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova* 2007; 30(2):351-5.
52. Ghafar MFA, Prasad KN, Weng KK, Ismail A. Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from Citrus species. *Afr J Biotechnol* 2010; 9(3):326-30.
53. Rahman A, Rahman M, Sheik MI, Rahman M, Shadli SM, Alam F. Free radical scavenging activity and phenolic content of *Cassia sophera* L. *Afr J Biotechnol* 2008; 7(10):1591-3.
54. Gobbo-Neto L, Lopes N. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim Nova* 2007; 30:374-381.
55. Santiago GMP, Arriaga AMC, Lima JQ, Mafelozzi J, Oliveira MCF, Lemos TLG, et al. Estudo químico e biológico de *Tephrosia egregia* Sandw (Fabaceae). 28^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química: 2005; Poço de Caldas. Anais. São Paulo: Editora da Sociedade Brasileira de Química, 2005.
56. Asuntha G, Prasannaraju Y, Sujatha D, Prasad K. Assessment of effect of ethanolic extract of *Tephrosia purpurea* (L.) Pers., Fabaceae, activity on lithium-pilocarpine induced Status epilepticus and oxidative stress in Wistar rats. *Braz J Pharmacogn* 2010; 20(5):767-72.

57. Nile SH, Khobragade CN. Phytochemical analysis, antioxidante and xantina oxidase inhibitory activity of *Tephrosia purpurea* Linn. root extracts. Indian J of Nat Prod Resour 2011; 2:52-8.
58. Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauhala JP, Pihlaja K, Kujala TS, et al. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. J Agric Food Chem 1999; 47(10):3954-62.
59. Mendez ASL, Simionato NO, Valduga AT, Reginatto FH. Caracterização de preparações extrativas obtidas de *Passiflora alata* Curtis. Rev Cienc Farm Basica Apl 2011; 32(1):105-11.
60. Li QM, Van Den Heuvel H, Delorenzo O, Corthout J, Pieters LA, Vlietinck AJ, Claeys M. Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*Passiflora incarnata*). J Chromatogr 1991; 562(1-2):435-46.
61. Ming LC. Coleta de plantas medicinais. In: Di Stasi LC. (org.). Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996. p.69-86.
62. Lapa AJ, Souccar C, Lima-Landman MTR, Lima TCM. Farmacologia e Toxicologia de produtos naturais. In: Simões COM, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ªed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p.247-62.
63. Sonaglio D, Ortega GG, Petrovick PR, Bassani VL. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: Simões COM, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ªed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p.289-326.
64. Reis MS, Mariot A, Sttenboock W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: Simões COM, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ªed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p.45-74.

***Autora para correspondência:**

Profª Dra Flávia M M do Amaral

Email: fmman@terra.com.br