



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
LABORATÓRIO DE SÍNTESE E APLICAÇÃO DE MATERIAIS

CRISTIANE LIMA MENEZES

**ESTUDO REDOX DO EXTRATO DA FASE ACETATO DE *Abarema*
cochliacarpos(Gomes) Barneby & J. W. Grimes (Fabaceae)**

São Cristóvão-SE

2016

CRISTIANE LIMA MENEZES

**ESTUDO REDOX DO EXTRATO DA FASE ACETATO DE *Abarema
cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes (Fabaceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal
de Sergipe – UFS, como requisito
parcial para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia, sob
orientação da Professora Dra.
Acácia Maria dos Santos Melo.

São Cristóvão-SE

2016

ESTUDO REDOX DO EXTRATO DA FASE ACETATO DE *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & J. W. Grimes (Fabaceae)

RESUMO

Abarema cochliacarpus, conhecida como barbatimão, é uma espécie brasileira com destaque na medicina popular. Sua entrecasca é utilizada na forma de chá ou de extrato ('garrafadas') produzido por maceração em vinho branco ou cachaça para cura e tratamento de gastrite, úlcera, feridas, inflamação e dores, entre outros usos. O estudo da atividade antioxidante em pH 7,4 do extrato da fase acetato de etila da *Abarema cochliacarpus* foi realizado pelas técnicas de voltametria cíclica (VC) e voltametria de pulso diferencial (VPD), as quais se mostraram excelentes sensores voltamétricos e importantes na análise do comportamento eletroquímico de compostos fenólicos (catequina), que são espécies eletroativas e estão envolvidas no processo antioxidante. Diante disso a planta se mostra bastante significativa para a indústria farmacêutica.

Palavras-chave: *Abarema*, redox, voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial.

ABSTRACT

Abarema cochliacarpus, known as barbatimão, is a Brazilian species with notable use in folk medicine. Its bark is used in the form of tea or extract ('potions') produced by maceration in white wine or rum for curing and treating gastritis, ulcers, wounds, inflammation and pain, among other uses. The study of antioxidant activity at pH 7.4 of the extract of the ethyl acetate phase of *Abarema cochliacarpus* was performed by cyclic voltammetry (VC) and differential pulse voltammetry (DPV), excellent voltammetric sensors and important to analyze the electrochemical behavior of phenolics compounds (catechin), which are electroactive species and are involved in the antioxidant process. Thus, the plant shows very significant potential for the pharmaceutical industry.

Keywords: *Abarema*, redox, cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas para fins medicinais é uma prática antiga, com registro desde épocas milenares¹. No Brasil, mesmo com o avanço da indústria farmacêutica, muitos habitantes (principalmente da área rural), ainda se utiliza das plantas, empregando-as para o alívio ou cura de algumas enfermidades².

A *Abarema cochliacarpus*, popularmente conhecida como ‘barbatimão’, é uma espécie vegetal endêmica do Brasil, pertencente à família Fabaceae, cuja área de ocorrência, bioma Mata Atlântica e Caatinga, tem sofrido constante modificação antrópica, capaz de colocar esta espécie na lista das plantas ameaçadas de extinção. Na medicina popular, principalmente nos estados de Alagoas, Bahia e Sergipe, sua entrecasca é utilizada sob a forma de chá e/ou “garrafadas” feitas com vinho branco ou cachaça para o tratamento e cura de leucorreias, gastrite, úlceras, feridas purulentas, dores, entre outros usos³⁻⁴. Quanto a sua composição química, contém catequinas (seus dímeros e trímeros), saponinas, taninos e proantocianidinas⁵. Pesquisas tem demonstrado ação antioxidante³, anti-inflamatória, anti-ulcerogênica⁵ e cicatrizante⁶.

Atualmente existe um grande interesse no estudo dos antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo. A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do nosso metabolismo e, assim, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica. Esses radicais livres cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio são denominados espécies reativas de oxigênio ou espécies reativas de nitrogênio, respectivamente⁷.

Na estrutura dos átomos e das moléculas, os elétrons associam-se normalmente em pares. Define-se como radicais livres as substâncias químicas que contêm um ou mais elétrons não pareados, ou seja, que apresentam um número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica⁸⁻⁹.

Entre os compostos antioxidantes presentes naturalmente nas plantas, destacam-se os tocoferóis, os compostos fenólicos e os taninos¹⁰. A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e a estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela

ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias¹¹.

As técnicas eletroquímicas se aplicam ao estudo de espécies eletroativas, entre as quais se incluem os compostos antioxidantes. No que diz respeito à atividade antioxidante se aplicam tanto a substâncias isoladas, quanto a extratos vegetais, fitoterápicos ou outros produtos compostos comumente empregados como antioxidantes¹².

As técnicas voltamétricas correlacionam potenciais de oxidação, intensidade de corrente e/ou outros parâmetros eletroquímicos com a capacidade antioxidante, e se mostram mais seletivas e sensíveis que demais métodos espectrométricos para a avaliação da atividade antioxidante, bem como mais reprodutíveis que as análises biológicas¹³. Entre as técnicas mais difundidas destacam-se a voltametria cíclica e de pulso diferencial¹⁴⁻¹⁵.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o comportamento redox em tampão pH 7,4 pelo método eletroquímico, através da voltametria cíclica (VC) e da voltametria de pulso diferencial (VPD) do extrato da fase acetato de etila e de constituintes fenólicos, catequina e quercetina, presentes na *Abarema cochliacarpus* e o inter-relacionar com as atividades medicinais presentes na planta.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do Material Vegetal

Entrecasca (5 kg) da espécie *A. cochliacarpus* (Gomes) Barneby & Grimes (Fabaceae), conhecida popularmente como barbatimão, foi coletada em 29 de setembro de 2009 no Povoado Caípe Velho, Município de São Cristóvão, Estado de Sergipe – Brasil.

Preparação e Fracionamento da fase acetato de etila

Para o preparo do extrato, as entrecasas foram secas em estufa a 37°C com renovação e circulação de ar durante cinco dias, até completa desidratação. Em seguida, foram reduzidas a pó utilizando-se um moinho de facas, e posteriormente, submetidas à extração em etanol a 90% durante cinco dias por maceração. Após este período, o

extrato foi filtrado e concentrado em rota evaporador sob pressão reduzida à temperatura de 50°C, obtendo-se (533,4 g: 10,66%) de extrato hidroalcoólico (extrato bruto) de “barbatimão”. Parcela desse extrato (400 g) foi diluído em uma solução de MeOH/H₂O (2:3) e submetido à extração líquido-líquido com hexano, clorofórmio e acetato de etila. Foram obtidas as seguintes fases: fase hexânica - FH (12,5 g: 0,25%), fase clorofórmica - FC (7,2 g: 0,14%), fase acetato de etila - FAE, fase desejada, (65,68 g: 1,31%) e a fase hidrometanólica - FHM (212,6 g: 4,25). O extrato obtido foi armazenado sob-refrigeração.

Teste de Solubilidade

Solvente (Água destilada)

Uma pequena porção do extrato foi triturada utilizando um almofariz e pistilo, posteriormente o pó foi transferido com o auxílio de uma espátula para um balão volumétrico de 10 mL. Ao pó foram adicionados 10 mL de água. O grau de solubilidade será utilizado no estudo eletroquímico.

Solventes (Álcool Etílico 95%)

Uma pequena porção do extrato foi triturada utilizando um almofariz e pistilo, posteriormente o pó foi transferido com o auxílio de uma espátula para um balão volumétrico de 10 mL. Ao pó foram adicionados 10 mL de Álcool Etílico 95%. Para posterior verificação da solubilidade do extrato em álcool. O grau de solubilidade será utilizado no estudo eletroquímico.

Tampão (pH 7.4)

Uma pequena porção do extrato foi triturada utilizando um almofariz e pistilo, posteriormente o pó foi transferido com o auxílio de uma espátula para um balão volumétrico de 10 mL. Ao pó foram adicionados 10 mL do tampão. Para posterior verificação da solubilidade do extrato em tampão pH 7,4. O grau de solubilidade será utilizado no estudo eletroquímico.

Estudo Eletroquímico

Os experimentos eletroquímicos para a caracterização eletroquímica foram realizados em solução. Para as medidas foi utilizada uma célula eletroquímica simples,

com capacidade para 10 mL de solução, construída em vidro Pirex sem separação entre compartimentos, com aberturas na parte superior para entradas do contra eletrodo (CE), um fio de platina, eletrodo de trabalho (WE) de carbono vítreo (BAS, diâmetro 3,0 mm), um capilar Luggin contendo o eletrodo de referência (REF) e entrada de nitrogênio, ar utilizado para eliminar o oxigênio presente na solução, o qual permite borbulhar o gás diretamente na solução, ou apenas introduzir sobre a superfície eletródica. O eletrodo de referência utilizado foi o eletrodo de prata cloreto de prata (Ag/AgCl), que consiste de um fio de platina em contato com o eletrólito. Todo o corpo do eletrodo é preenchido pelo eletrólito suporte neste caso o KCl e separado do corpo principal da célula por uma “chave” de vidro que permite o contato elétrico pela formação de uma fina película do eletrólito nas paredes da “chave”. As medidas foram realizadas com potenciostato, AutolabType II, e posteriormente foi feito as análises com Oringin 8.0.

Voltametria Cíclica

Para a determinação da atividade antioxidante por VC, foram realizados testes eletroquímicos no tampão pH 7,4 do extrato da fase acetato de etila da *Abarema cochliacarpus* como também de compostos fenóis (um padrão catequina, da marca MERCK e um quercetina). Nas análises foi utilizada uma concentração de $4,27 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ do extrato, da catequina e da quercetina onde, as medidas de voltametria cíclica foram realizadas na variação de potencial de -0,2V até 1,6V a uma velocidade de 50 mV/s^{-1} com amplitude de 20mV .

Voltametria de Pulso Diferencial

No uso da VPD para determinação da atividade antioxidante, as medidas foram realizadas semelhantes à VC.

Preparo da solução tampão

Para o preparo de 100 mL de solução tampão pH 7,4

Com o auxílio de um Becker pesou-se, em uma balança analítica com precisão de quatro casas decimais modelo Mettler Toledo 2, 8392 g de Fosfato de Sódio Bibásico Anidro, após a pesagem o reagente foi diluído com um pequeno volume de água ultra pura e em seguida houve a transferência para um balão de 100 mL. A seguir foi

adicionada água ultra pura ao balão até atingir o traço de aferição, logo após a solução de concentração $0,2 \text{ mol. L}^{-1}$ foi homogeneizada e reservada para que posteriormente fosse retirada uma alíquota de 30,5 mL. Em seguida com o auxílio de um Becker pesou-se, em uma balança analítica com precisão de quatro casas decimais modelo Mettler Toledo 2,3996 g de Fosfato de Sódio Monobásico Anidro, após a pesagem o reagente foi diluído com um pequeno volume de água ultra pura e em seguida houve a transferência para um balão de 100 mL. A seguir foi adicionada água ultra pura ao balão até atingir o traço de aferição, logo após a solução de concentração $0,2 \text{ mol. L}^{-1}$ foi homogeneizada e reservada para que posteriormente fosse retirada uma alíquota de 19,5 mL.

Em um balão de 100 mL foi adicionados uma alíquota de 30,5 mL da solução de Fosfato de Sódio Dibásico Anidro, preparada anteriormente, a esse mesmo balão foram adicionadas uma alíquota de 19,5 mL da solução de Fosfato de Sódio Monobásico Anidro também preparada anteriormente, em seguida foi adicionado água ultra pura ao balão até atingir o traço de aferição, logo após a solução foi homogeneizada. A verificação do pH da solução foi realizada utilizando o pHmetro digital modelo PG 1800.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade antioxidante do Extrato

A determinação da atividade antioxidante por voltametria cíclica apresenta-se como uma interessante forma de avaliação desta ação, apresenta como uma vantagem à reduzida quantidade de amostra a ser utilizada, quando se leva em consideração o baixo rendimento dos extratos obtidos das plantas¹⁶.

A figura 1 representa os resultados encontrados pela VC e pela VPD para o extrato da planta *Abarema cochliacarpus*, na fase acetato de etila. E as figuras 2 e 3 representam também os resultados pelas técnicas voltamétricas dos padrões catequina e quercetina. Com estas figuras foi possível comprovar a existência de compostos antioxidantes da planta. Silva et al.¹⁷ analisou extratos das cascas de *A. cochliacarpus* e o qual foram encontrados taninos, saponinas, triterpenos e catequinas.

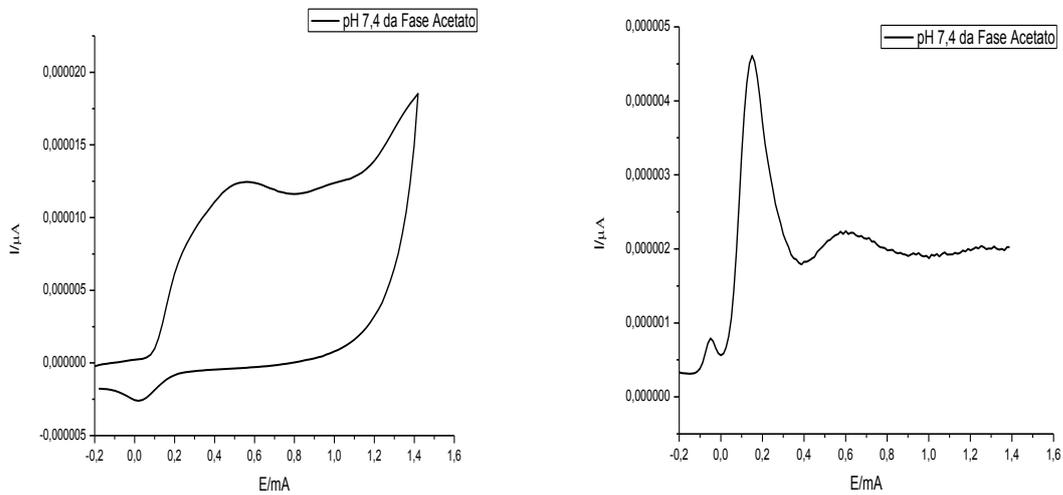


Figura 1: Voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial da **fase acetato de etila** em pH 7,4 e velocidade $50mV \cdot s^{-1}$ e amplitude 20m e com variação de potencial -0,5V a 1,6V.

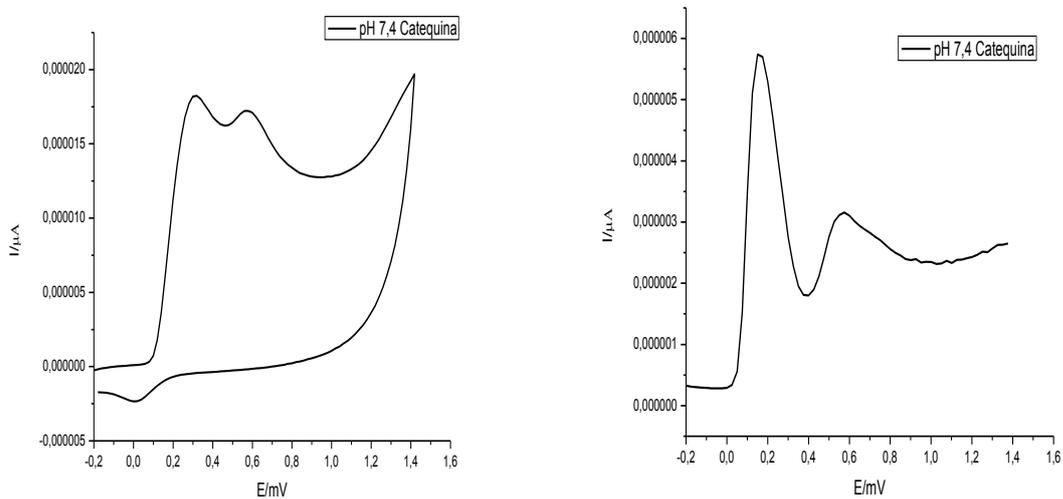


Figura 2: Voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial do **padrão catequina** em pH 7,4 e velocidade $50mV \cdot s^{-1}$ e amplitude 20m e com variação de potencial -0,5V a 1,6V.

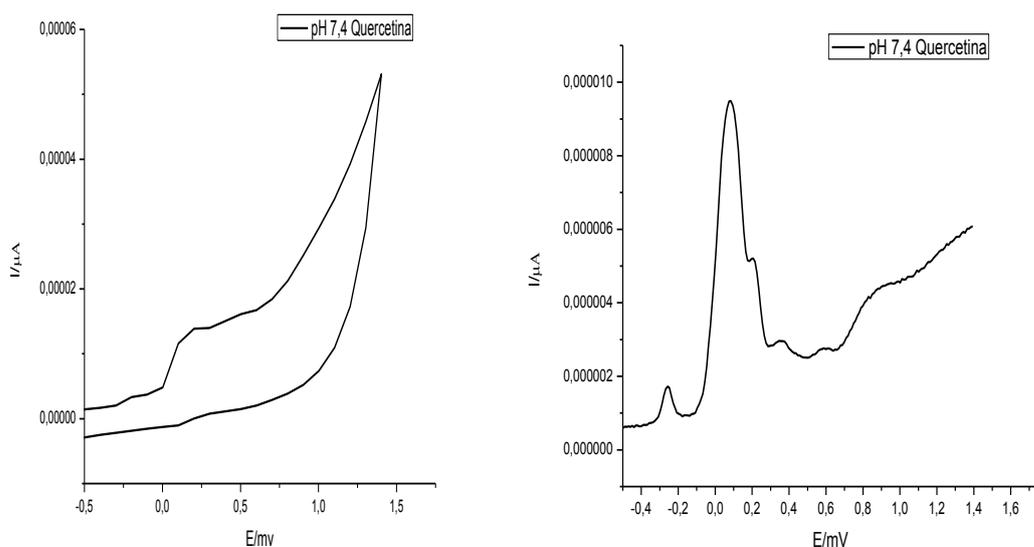


Figura 3: Voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial do **padrão quercetina**, em pH 7,4 e velocidade $50\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ e amplitude 20m e com variação de potencial -0,5V a 1,6V.

Ao observar os voltamogramas é perceptível a semelhança fenotípica e eletroquímica existente entre a fase acetato de etila e o padrão catequina, tanto para VC quanto para VPD e a discreta semelhança, de ambos, com a quercetina. É observado um pico alargado no extrato da fase acetato. Os diferentes metabólitos presentes podem ter influenciado nestes resultados¹⁸⁻¹⁹.

Em estudo realizado por Silva et al.²⁰, foi observado que em diferentes extratos de *A. cochliacarpus* identificou-se a presença de taninos, catequinas, saponinas e antroquinonas. Levando-se dessa maneira a evidenciar que a catequina por estar presente e em maior quantidade no extrato e por ser um composto fenólico, que se destaca entre os diferentes flavonoides, pelas suas propriedades antioxidantes é de tal forma a responsável pela atividade antioxidante na fase acetato.

Atividade antioxidante do extrato e do padrão catequina

A figura 4 demonstra os voltamogramas cíclicos plotados um no outro, pra observar que não tem muitas mudanças quanto ao potencial de pico anódico do extrato e da catequina.

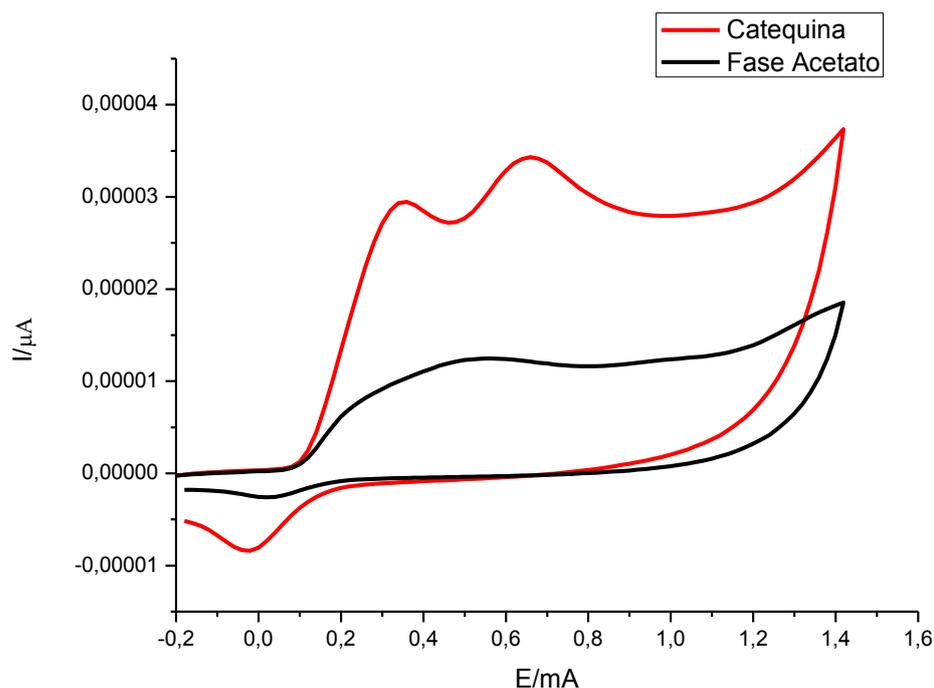


Figura 4: Voltamogramas cíclicos da fase acetato de etila e do padrão catequina em pH 7,4 em velocidade $50\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ e amplitude 20m e com variação de potencial -0,2V a 1,6V.

YAKOVLEVA et al.²¹, demonstra o comportamento eletroquímico característico de compostos fenólicos com pico de oxidação em torno de 400 e 600 mV. As técnicas voltamétricas correlacionam potenciais de oxidação, intensidade de corrente/ou outros parâmetros eletroquímicos com a capacidade antioxidante²².

Bianchetti et al.¹⁶, analisou extratos aquoso e etanólico de *E. anomala* e observou que ambos apresentam picos de oxidação na região de 400 mV, sendo que o extrato etanólico apresenta um maior valor de corrente, com isso, sugere-se que este apresenta maior quantidade de compostos fenólicos que o extrato aquoso. Utilizando-se desse embase para poder pontuar que no extrato da *A. cochliacarpus* a mistura de diferentes compostos ali presentes leva o valor de corrente para um nível inferior que ao observado no padrão (sem interferentes) utilizado.

Atribui-se à presença de compostos fenólicos, com destaque aos flavonoides, a atividade antioxidante dos componentes produzidos pelos vegetais²³. Levando-se a relacionar o comportamento antioxidante da planta, analisada, com a majoritária presença de flavonoides, principalmente, a catequina no enlace eletroativo da fase acetato do extrato.

Estudos realizados com os compostos fenólicos demonstram sua capacidade antioxidante, assim como, seu possível efeito na prevenção de diversas enfermidades cardiovasculares, cancerígenas e neurológicas²⁴⁻²⁵.

Diante disso, o uso de produtos naturais com potencial antioxidante vem fornecendo novas perspectivas para a prevenção de danos oxidativos mediados pelos radicais livres²⁶.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos foi possível comprovar a atividade antioxidante da planta *Abarema cochliacarpos*, por VC e VPD, técnicas simples e bons sensores voltamétricos. E os resultados levam a relacionar o comportamento antioxidante da planta com a presença de compostos flavonoides como, por exemplo, a catequina por apresentarem ação contra os agentes oxidantes.

Valendo ressaltar que o estudo do potencial terapêutico de plantas da flora local é importante para a manutenção das espécies e do ecossistema em que estas estão inseridas, assim como a possibilidade de encontrar princípios ativos para o tratamento de patologias, favorecendo a acessibilidade ao tratamento.

REFERÊNCIAS

1. Veiga-Júnior VF. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. Rev Bras Farmacogn. 2008; 18(2): 308-313.
2. Badke MR, Bodó MLD, Silva FM, Ressel LB. Plantas Mediciniais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. Esc Anna Nery. 2011; 15(1): 132-139.
3. DIAS, A. S.; LIMA, A. C. B.; SANTOS, A. L. M. L.; RABELO, T. K.; SERAFINI, M. R.; ANDRADE, C. R.; FERNANDES, X. A.; MOREIRA, J. C.

- F.; GELAIN, D. P.; ESTEVAM, C. S.; ARAUJO, B. S.; Redox properties of *Abarema cochliacarpus*(Gomes) Barneby & Grime (Fabaceae) stem bark ethanol extract and fractions, Natural Product Research, 2012.
4. SÁNCHEZ-FIDALGO, S.; DA SILVA, M. S.; CÁRDENO, A.; APARICIO-SOTO, M.; SALVADOR, M. J.; FRANLAND SAWAYA, A. C. H.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; ALARCÓN DE LA LASTRA, C. *Abarema cochliacarpus* reduces LPS-induced inflammatory response in murine peritoneal macrophages regulating ROS-MAPK signal pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 149, p. 140-147, 2013.
 5. DA SILVA, M. S.; ALMEIDA, A. C. A.; FARIA F. M.; LUIZ-FERREIRA, A.; SILVA, M. A.; VILEGAS, W.; PELLIZON, C. H.; BRITO, A. R. M. S. *Abarema cochliacarpus*: Gastroprotective and ulcer-healing activities. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 132, p. 134-142, 2010.
 6. OLIVEIRA, R. F.; ANTUNES, C. G. C.; SANTOS, G. K. M.; OLIVEIRA, C. S.; SILVA, P. R. C.; ROCHA, E. M.; FERNANDEZ, L. G.; TRINDADE, R. C. Use of *Abarema cochliacarpus*(Gomes) Barneby & J. W. Grimeson the skin burn treatment of wistar *Rattus norvegicus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 94, p. 302-306, 2013.
 7. BARREIROS, A.L.B. S; DAVID, J.M; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, 29, p.113-123, 2006.
 8. FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 46, p. 61-68, 1997.
 9. LEITE, H. P.; SARNI, R. S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, v. 18, p. 87-94, 2003.
 10. SANTOS-BUELGA, C. E.; SCALBERT, A. Proantocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Davis, v. 80, n. 7, p. 1094 - 1117, 2000.
 11. CHUN, S. S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*, 40:: 809-816, 2005.
 12. Nathasha S. REIS, Sílvia H.P. SERRANO, Ricardo MENEGHATTI & Eric de S. GIL. Métodos Eletroquímicos usados para Avaliação da Atividade Antioxidante de Produtos Naturais. *Lat. Am. J. Pharm.* 28(6): 949-53, 2009.
 13. Bara, M.T.F., S.H.P. Serrano, E.R. Asquieri, T.C.Lúcio & E.S. Gil (2008) *Lat. Am. J. Pharm.* 27:89-92.

14. Andreescu, S., D. Andreescu & O.A. Sadik(2003) *Electrochem. Commun.* 5: 6818.
15. Brett, A.M.O & M.E. Ghica (2003) *Electroanal.*15: 1745-50.
16. Bianchetti, P. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DE PLANTAS DA FAMÍLIA MYRTACEAE FRENTE AO MICRO-ORGANISMO *Escherichia coli*. (Dissertação de mestrado). Lajeado: Mestrado em Biotecnologia- UNIVATES; 2014. p.47.
17. Silva, N.C.B. Potencial Biotecnológico de plantas medicinais: estudo etnofarmacológico em uma comunidade quilombola da Chapada Diamantina - BA. 2006. Rio de Janeiro. 212p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal), PPBV, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.
18. Silva MD. Estudo Farmacobotânico de Três Espécies Mediciniais da Caatinga em Pernambuco-Recife. (Dissertação de mestrado). Pernambuco, Brasil: Programa de Pós-Graduação em Botânica–Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2008. p.17-60.
19. Araújo-Neto V, Bomfim RR, Oliveira VOB, Passos AMPR, Oliveira JPR, Lima CA, et al. Therapeutic benefits of *Sideroxylon obtusifolium* (Humb. ex Roem. & Schult.) T.D. Penn., Sapotaceae, in experimental models of pain and inflammation. *Rev Bras Farmacogn.* 2010.
20. Silva, N.C. B; Esquibel, N.A.; Alves, I.M.; Velozo, E.S.; Almeida, M.Z.; Santos, J.E.S.; Buzzi, F. de C.; Meira, A.V.E. Filho, V.C. Antinociceptive Effects of *Abarema cochliacarpus* (B.A. Gomes) Barneby & J.W. Grimes (Mimosaceae). *Rev. Bras. Farmacogn.* 19(1): 46-50, 2009.
21. YAKOVLEVA, K.E.; KURZEEV, S.A.; STEPANOVA, E.V.; FEDOROVA, T.V.; KUZNETSOV, B.A.; KOROLEVA, O.V. Characterization of plant phenolic compounds by cyclic voltammetry. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 43(6): 661-668 2007.
22. Bara, M.T.F., S.H.P. Serrano, E.R. Asquieri, T.C. Lúcio & E.S. Gil (2008) *Lat. Am. J. Pharm.* 27:89-92.
23. CANTERLE, L. P. Erva-mate e atividade antioxidante. 99f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2005.
24. HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, New York, v. 52, n. 6, p. 481- 504, 2000.
25. SÁNCHEZ-MORENO, C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science Technology International*, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.
26. MEENA, H.; PANDEY, K.H.; PANDEY, P.; ARYA, M.C.; AHMED, Z. Evaluation of antioxidant activity of two important memory enhancing

medicinal plants *Baccopa monnieri* and *Centella asiatica*. *Indian Journal of Pharmacology*, 44, p.114-117, 2012.