



**Universidade Federal de Ouro Preto**

**Escola de Farmácia**

**Departamento de Farmácia**



Ana Flávia Gomes da Cruz

Quantificação de componentes fenólicos em extrato etanólico de *Fridericia*  
*chica* com potencial efeito anti-arbovírus.

**Ouro Preto**

**2023**

Ana Flávia Gomes da Cruz

Quantificação de componentes fenólicos em extrato etanólico de *Fridericia  
chica* com potencial efeito anti-arbovírus.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
à Universidade Federal de Ouro Preto como  
parte das exigências necessárias para a  
obtenção do Grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Célio Brandão  
Coorientador: Jordano Augusto Carvalho  
Sousa

**Ouro Preto**

**2023**

## SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

C957q Cruz, Ana Flavia Gomes da.  
Quantificação de componentes fenólicos em extrato etanólico de  
Fridericia chica com potencial efeito anti-arbovírus. [manuscrito] / Ana  
Flavia Gomes da Cruz. - 2023.  
36 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Célio Brandão.  
Coorientador: Me. Jordano Augusto Carvalho Sousa.  
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola  
de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Plantas medicinais. 2. Flavonoides. 3. Fridericia chica. 4.  
Bignoniaceae. I. Brandão, Geraldo Célio. II. Sousa, Jordano Augusto  
Carvalho. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 633.88

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
REITORIA  
ESCOLA DE FARMACIA



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Ana Flávia Gomes da Cruz**

**Quantificação de componentes fenólicos em extrato etanólico de *Fridericia chica* com potencial efeito anti-arbovírus**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico

Aprovada em 09 de março de 2023

### Membros da banca

Dr. Geraldo Célio Brandão- Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto  
Me. Jordano Augusto Carvalho Sousa - Coorientador - Universidade Federal de Ouro Preto  
Dra. Adriana Cotta Cardoso Reis - Universidade Federal de Ouro Preto  
Dr. Gustavo Henrique Bianco de Souza - Universidade Federal de Ouro Preto

Geraldo Célio Brandão, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 23/03/2023.



Documento assinado eletronicamente por **Geraldo Celio Brandao, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 23/03/2023, às 09:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0496175** e o código CRC **ED6913C7**.

## Agradecimentos

À minha família, meu marido, minha mãe, meu pai, minha avó Rita e meu avô Adalberto por terem me apoiado durante esses 5 anos de curso e por sempre estarem por perto para me dar apoio incondicional.

Aos meus amigos de curso, Bruna, Carol, André, Rubiana, Ítala, Igor e Izabella por terem compartilhado comigo esses anos, foram várias experiências juntos e sem vocês seria difícil passar por todo esse processo da graduação.

À LATOX que foi uma das minhas melhores experiências na universidade, fundar essa liga ao lado da Bruna, Carol, André, Breno, Ítala, Marina, Izabella foi uma experiência única. Conseguimos fundar a LATOX e fazer com que se tornasse uma das melhores ligas da EFAR. A toda equipe do LQMB, que nesse um ano de laboratório conheci pessoas maravilhosas, que me auxiliaram nas atividades da iniciação científica. Em especial o Jordano e a Luana os quais foram essenciais na minha formação e nos meus primeiros passos no mundo da pesquisa.

Aos professores Geraldo Célio e Karina por terem dedicado o tempo de vocês para me auxiliar e transmitir seus ensinamentos. Os admiro por serem excelentes professores e seres humanos.

Ao professor Geraldo Célio agradeço especialmente por esses anos de orientação, foi extremamente importante poder ter sido sua aluna de iniciação científica, pois adquiri muitos conhecimentos ao seu lado. Seus ensinamentos me despertaram o interesse pela área da farmacognosia, onde pude aprender muito e transmitir um pouco do que aprendia na pesquisa aos meus colegas de curso. Obrigado!

## **Resumo**

*Frideria chica* é uma espécie de uso medicinal em países da América Latina, utilizada no tratamento de doenças inflamatórias e infecciosas. Os extratos desta espécie vegetal são caracterizados pela presença de flavonoides em destaque para antocianidinas. A *Fridericia chica* é uma espécie da família da Bignoniaceae que possui amplo aspecto farmacológico, dentre sua utilização como planta medicinal, podemos destacar seu alto potencial anti-inflamatório e antioxidante. Outros usos desta espécie são: no tratamento de anemia, hemorragia, inflamação, cólica intestinal, hepatite e afecções de pele. O presente trabalho, fez a quantificação de flavonoides totais de um extrato etanólico de folhas desta espécie que apresentou atividade antiviral em ensaios *in vitro*. Após análises quantitativas de flavonoides totais foi confirmado o alto teor desses constituintes na espécie com  $4,09 \pm 0,34$  mg/g de material vegetal seco. Dessa forma, sugere-se que o alto potencial farmacológico da espécie, se dá devido a presença de uma grande concentração de flavonoides em suas folhas.

**Palavras-chave:** *Fridericia chica*, flavonoides, atividade farmacológica, Bignoniaceae

## **Abstract**

*Frideria chica* is a species of medicinal use in Latin American countries, used in the treatment of inflammatory and infectious diseases. The extracts of this plant species are characterized by the presence of flavonoids highlighted for anthocyanidins. *Fridericia chica* is a species of the Bignoniaceae family that has a wide pharmacological aspect, among its use as a medicinal plant, we can highlight its high anti-inflammatory and antioxidant potential. Other uses of this species are: in the treatment of anaemia, bleeding, inflammation, intestinal colic, hepatitis and skin disorders. The present work quantified total flavonoids of an ethanolextract of leaves of this species that presented antiviral activity in in vitro assays. After quantitative analyses of total flavonoids, the high content of these constituents in the species was confirmed with  $4.09 \pm 0.34$  mg/g of dry plant material. Thus, it is suggested that the high pharmacological potential of the species occurs due to the presence of a large concentration of flavonoids in its leaves.

**Key-words:** *Fridericia chica*, flavonoids, pharmacological activity, Bignoniaceae

## Lista de Tabelas

**Tabela 1:** o rendimento do extrato etanólico obtido na percolação a frio com etanol 92,8°.....20

**Tabela 2:** concentrações ( $\mu\text{g EQ/mL}$ ) e medidas das absorvâncias utilizadas para a construção da curva de calibração.....20

**Tabela 3:** valores de absorvância, diluição e concentração de flavonoides totais ( $\mu\text{g EQ/mL}$ ) obtidos.....22



## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Estrutura da carajurina.....	8
<b>Figura 2:</b> Estrutura da carajurona.....	8
<b>Figura 3:</b> Estrutura básica dos flavonoides.....	10
<b>Figura 4:</b> Espécie <i>Fridericia chica</i> .....	12
<b>Figura 5:</b> Espectros UV (200–400 nm) de flavonoides 6-Hidroxiluteolina- <i>O</i> -(6" - <i>O</i> -feruloil)-glucopiranósido (Comp.1) e <i>O</i> -acetil-escutelareína- <i>O</i> - ramnosilgaloil 3,5-dimetil éter(Comp.2).....	13
<b>Figura 6:</b> Estruturas das substâncias 1 e 2 respectivamente.....	14
<b>Figura 7:</b> Espectro MS <sup>2</sup> da substância 2 e sua estrutura presente no extrato etanólico de folhas de <i>F. chica</i> .....	15
<b>Figura 8:</b> Espectro MS <sup>2</sup> do substância 1 e sua estrutura presente no extrato etanólico de folhas de <i>F. chica</i> .....	15
<b>Figura 9</b> Curvas dose-resposta para atividade antiviral do extrato etanólico das folhas de <i>Fridericia chica</i> contra os vírus Dengue (DENV-2), Zika (ZIKV), Mayaro (MAYV) e Chikungunya (CHIKV).....	23
<b>Figura 10:</b> Curva de calibração construída com concentrações de 6 a 20 µg EQ/mL a 420 nm.....	25
<b>Figura 11:</b> Espectro <sup>1</sup> H NMR de flavonoides presentes no extrato etanólico de folhas de <i>F. chica</i> ( <sup>1</sup> H NMR—400 Hz, <sup>13</sup> C NMR—100 Hz, DMSO-d <sub>6</sub> , δ) e estruturas das substâncias escutelareína e luteolina.....	29

## Lista de abreviaturas

<b>COX 2</b>	Ciclo-oxigenase-2
<b>COX</b>	Ciclo-oxigenase
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Fator Nuclear Kappa B
<b>MMP9</b>	Metaloprotease 9 da matriz
<b><math>\kappa</math>B</b>	Kappa B
<b>MAPK1</b>	Proteína quinase 1 ativada por mitógeno
<b>TPA</b>	Fator de necrose tumoral
<b>JAK</b>	Janus Quinase
<b>STAT3</b>	Transdutores de sinal e ativadores de transcrição 3
<b>I <math>\kappa</math>B</b>	Inibidor de $\kappa$ B
<b>BV2</b>	Células BV2
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>ROS</b>	Espécie reativa de oxigênio
<b>INOS</b>	Indutor da óxido nítrico sintase
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
<b>RENISUS</b>	Relatório de Plantas Medicinais de Interesse do SUS
<b>RENAME</b>	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>CCD</b>	Cromatografia em camada delgada
<b>CG</b>	Cromatografia gasosa
<b>MS<sup>2</sup></b>	Fragmentação de segunda ordem
<b>VACV WR</b>	<i>Vírus Vaccinia</i>
<b>DENV2</b>	Dengue vírus tipo 2
<b>MAYV</b>	Mayaro vírus
<b>ZIKV</b>	Zika vírus
<b>CHIKV</b>	Chikungunya vírus

## Sumário

1.INTRODUÇÃO.....	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1 FAMÍLIA BIGNONIACEAE .....	11
2.2 FLAVONOIDES .....	12
2.3 <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L. G. Lohmann.....	14
2.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA .....	15
2.5 PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS .....	18
2.6 CONTROLE DE QUALIDADE DE FITOTERÁPICOS .....	23
3. OBJETIVOS.....	24
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	24
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
5.1 MATERIAL VEGETAL .....	24
5.2 REAGENTES E PADRÃO DE REFERÊNCIA .....	24
5.3 PREPARO DOS EXTRATOS .....	24
5.4 EQUIPAMENTOS .....	24
5.5 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES NAS FOLHAS DE <i>F. chica</i> .....	25
5.6 CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO .....	25
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	26
7.CONCLUSÃO.....	30
8.REFERÊNCIAS .....	31
ANEXO .....	36

## 1.INTRODUÇÃO

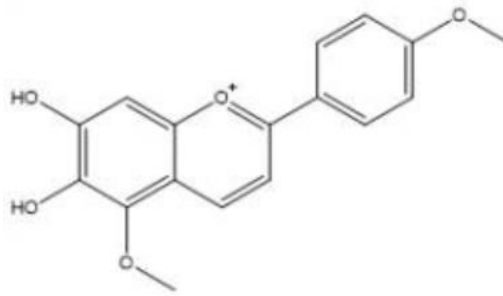
A *Fridericia chica* (Bonpl.) LG Lohmann é uma trepadeira que pertence a família Bignoniaceae, sendo encontrada em regiões tropicais, como o Brasil, mas também está distribuída em países como Guiana e Guiana Francesa. É uma planta popularmente utilizada para fins terapêuticos, como no tratamento de diarreia, infecções, anemia, dores intestinais e cicatrização de feridas cutâneas (CHAPMAN et al, 1927). É conhecida como fonte de flavonoides, principalmente 3-desoxiantocianidinas. Diversos fenólicos, antraquinonas, esteróides, triterpenos e saponinas também foram identificados nesta espécie ( DEVIA et al., 2002; LIMA et al., 2020).

A medicina natural é uma prática que ao longo dos anos vem se desenvolvendo cada vez mais, devido ao seu grande uso pela população mundial. Sabe-se que muitos fármacos que já estão no mercado possuem como princípio ativo algum composto natural ou até mesmo partes das próprias plantas (CORRÊA et al, 2008). Portanto, a relação entre natureza e saúde é de suma importância, principalmente no Brasil onde se encontra a Amazônia, que possui a maior diversidade de flora no mundo.

Efeitos biológicos e farmacológicos de diferentes extratos e frações da *Fridericia chica* têm sido relatados, principalmente no Brasil, e incluem hepatoproteção (extrato hidroetanólico), antimicrobiano (extrato diclorometano), cicatrizante (extrato etanólico), antiinflamatório (extrato aquoso), e propriedades antioxidantes (fração clorofórmio) ( OLIVEIRA et al., 2009; ARO et al., 2013b ; DOS SANTOS et al., 2013 ; MAFIOLETI et al., 2013 ). Extratos isolados de suas folhas têm sido usados para tratar diarreia, cólica intestinal, inflamação uterina, anemia, leucemia, feridas na pele, psoríase , impotência, úlceras e pioderma , conjuntivite e para desinfetar partes íntimas de mulheres ( BORRÁS, 2003 ; OLIVEIRA et al. , 2009 ; SIRAICHI et al., 2013 ).

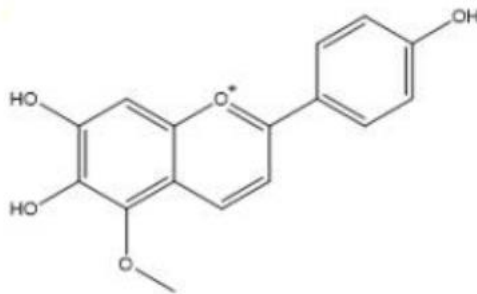
Chapman e colaboradores foram os pioneiros na detecção de flavonoides nas folhas da *Fridericia chica*, isolaram dois pigmentos 3-desoxiantocianidinas, carajurina e carajurona, cuja estrutura foi elucidada por Zorn e colaboradores e estão representadas na figura 1 e figura 2.

**FIGURA 1:** Estrutura da carajurina



FONTE: CRUZ et al, 2022.

**FIGURA 2:** Estrutura da carajurona



FONTE: CRUZ et al, 2022.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 FAMÍLIA BIGNONIACEAE

A família Bignoniaceae é dividida em oito tribos e dentre essas tribos podemos encontrar três delas no Brasil, sendo eles a Bignonieae, Crescentieae e a Tecomeae, sendo diferenciadas de acordo com a morfologia do seu fruto e pelo hábito da planta (BUREAU; SCHUMANN, 1987; GENTRY, 1980 apud SOUSA LIMA 2018).

Segundo Gentry, a família Bignoniaceae é a de maior relevância nos trópicos das Américas, dessa forma, compreende uma boa fonte de estudo para compreender de forma mais ampla sobre a diversidade das plantas tropicais.

A maior parte das espécies da família Bignoniaceae se encontram no continente Africano e no Brasil, pois são regiões tropicais e subtropicais no qual essa família se adapta. No entanto, não existe somente um habitat onde as espécies dessa família crescem, estão amplamente distribuídas na região amazônica, mas também podemos encontrar no Cerrado, Mata Atlântica, bem como toda a região sul do Brasil (PAULETTI et al, 2003).

## 2.2 FLAVONOIDES

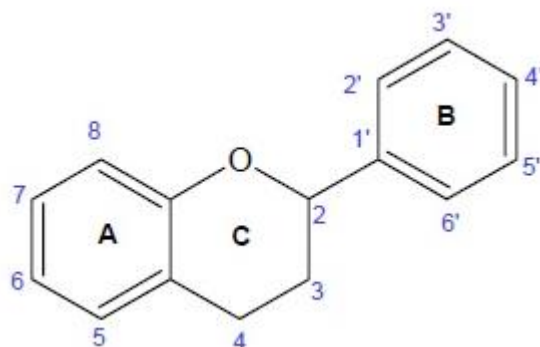
Os flavonoides, biossintetizados a partir da via dos fenilpropanoides, constituem uma importante classe de polifenóis presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários de vegetais. Uma substância fenólica ou polifenólica é aquela que possui um ou mais núcleos aromáticos contendo substituintes hidroxilados e/ou seus derivados funcionais ésteres, éteres, glicosídeos e outros (SIMÕES et al., 2017).

Os flavonoides são substâncias do metabolismo secundário dos vegetais e possuem importante ação farmacológica, pois podem atuar na prevenção de doenças degenerativas. Após anos de estudos, foram encontradas diversas atividades biológicas relacionadas aos flavonoides e dentre essas atividades podemos dar ênfase nos efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, ação vasodilatadora, ação contra a evolução de tumores entre outros (PETERSON et al, 1998).

A distribuição dos flavonoides vai depender principalmente do tipo de família, gênero e da espécie, por exemplo, os flavonoides encontrados nas folhas podem apresentar diferenças estruturais daqueles presentes nas flores, nos galhos, raízes e frutos. Assim, em uma mesma planta um único flavonoide pode ser encontrado em diferentes quantidades dependendo do órgão vegetal (MICHEL et al., 2008).

A estrutura básica de um flavonoide consiste em um núcleo fundamental, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6), sendo dois anéis fenólicos substituídos e um pirano acoplado ao anel. Esta estrutura pode ser observada na figura 3

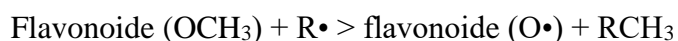
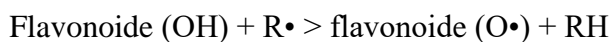
**FIGURA 3** – Estrutura básica dos flavonoides



FONTE: NOGUEIRA 2017

Quimicamente, os flavonoides e isoflavonoides são doadores de elétrons. Eles apresentam estruturas químicas conjugadas em anel B, ricas em grupos hidroxilas, que tem potenciais ações antioxidantes por reagirem e inativarem ânions superóxido, oxigênio singlete, radicais peróxido de lipídios e/ou estabilizando radicais livres envolvidos no processo oxidativo através da hidrogenação ou complexação com espécies oxidantes (BIRT et al, 2001).

Pode-se observar a ação antioxidante dos flavonoides ao analisarmos as equações abaixo:



As diferenças na atividade antioxidante de flavonoides por polihidroxilação ou polimetoxilação ocorrem, provavelmente, devido a diferenças nas configurações estruturais dos radicais livres. Após a doação de radicais H e metila pelos flavonoides esses radicais livres perdem sua reatividade, dessa forma não são capazes de atacar biomoléculas do organismo (BIRT et al, 2001).

Além de sua atividade antioxidante, os flavonoides podem ser eficazes anti-inflamatórios, e isso ocorre devido ao bloqueio aos processos biosintéticos dos eicosanóides. O mecanismo no qual os flavonoides bloqueiam as enzimas ciclooxigenase e lipoxigenase vem sendo intensamente pesquisado. Flavonoides como a quercetina e a apigenina têm demonstrado possuir ação anti-inflamatória por causar a inibição da COX2 e de óxido nítrico sintase (MUTOH et al., 2000). Segundo Friesenecker, Tsai, Intagliatta,

(1995), flavonoides, como a quercetina e a luteolina, podem reduzir a ativação do sistema complemento, diminuindo a adesão de células inflamatórias ao endotélio, resultando em uma redução da resposta inflamatória.

### **2.3 *Fridericia chica* (Bonpl.) L. G. Lohmann**

A *Fridericia chica* é conhecida popularmente no Brasil como pariri, carajiru, carajunu, cajuru, piranga, paripari, oajuru-piranga, oajuru, guarajuru, guarajuru-piranga, cuica, cipó-pau, cipó-cruz, coá-piranga, chica, china, entre outros (PAULETTI 2003; LOHMANN 2015; CÔRREA 1984). A *F.chica* foi descrita pela primeira vez como *Arrabidaea chica* da divisão Mannoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Asteridae, ordem Scrophulariales, família Bignoniaceae e gênero Arrabidaea, porém houveram algumas mudanças taxonômicas incluindo várias espécies do gênero *Arrabidaea* no gênero *Fridericia* (LOHMANN, 2015).

A *Fridericia chica* é uma espécie encontrada em locais de clima mais quente, pertence a família *Bignoniaceae* e suas folhas são empregadas popularmente no tratamento de cólica intestinal, diarreia com sangramento, anemia, inflamação uterina e de feridas cutâneas como cicatrizante. Na medicina tradicional são usadas também no tratamento de enfermidades da pele como psoríase, impingem, úlceras e piodermites. Segundo relatos, algumas tribos indígenas faziam uso do infuso das folhas no tratamento da conjuntivite aguda e sob a forma de cataplasma contra o ataque de insetos. *F. chica* é utilizada na Amazônia como anti-inflamatória, adstringente e na desinfecção das partes íntimas da mulher (CHAPMAN et. al, 1927; CORRÊA, 1984; OLIVEIRA et al., 2009; KALIL FILHO et al., 2000).

A espécie apresenta-se como uma liana lenhosa, arbustiva ou arbórea e também trepadeira (JOLY, 1993). Possui folhas compostas, bi ou trifolioladas, penaticompostas do tipo imparipenadas, de folíolos glabros, oblongo-lanceolados, com glândulas esparsas e com fitotaxia tipo oposta dística, como pode-se observar na figura 4. Sua cutícula é estriada e os estômatos são anisocíticos. As flores são campanuladas róseo-lilacinas dispostas em panículas terminais, medindo entre 18 e 20 cm de comprimento. O fruto tem o aspecto de uma cápsula linear, alongada, aguda em ambos os lados, glabra e castanho-ferrugínea, com uma nervura média saliente nas valvas e sementes ovóides



(ALBUQUERQUE, 1980; CORRÊA, 1984; VÁZQUEZ-YANES & SEGOVIA, 1993; VIEIRA & SILVA, 2002). A fixação ao substrato é feita através de folhas modificadas denominadas gavinhas, consideradas órgãos de suporte do vegetal (CORRÊA, 1984). O caule apresenta estruturação reticulada de parênquima e esclerênquima junto aos tecidos condutores e aos cristais prismáticos na medula (VIEIRA & SILVA, 2002).

**FIGURA 4** – Folhas da *Fridericia chica*



FONTE: MEDEIROS 2011

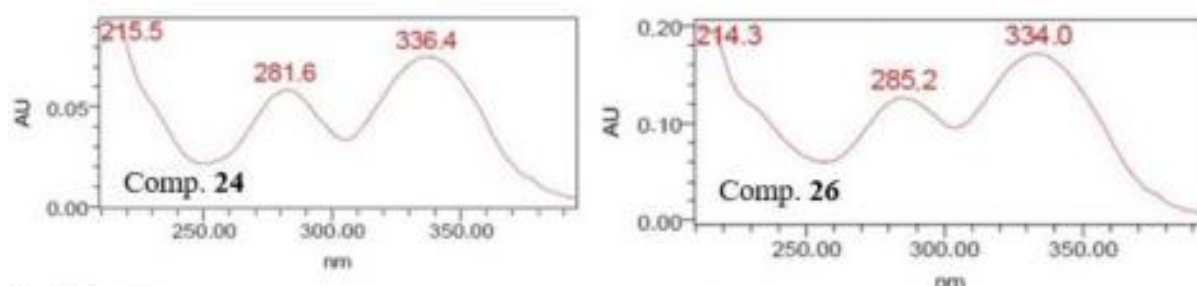
## 2.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Os flavonoides são os metabólitos secundários mais abundantes na *Fridericia chica*, dentre eles podemos destacar as antocianinas que estão presentes nesta planta na forma de 3-desoxiantocianinas. A presença dessas substâncias na planta exerce o papel de auxiliar no crescimento e desenvolvimento, proteção UV, dispersão de sementes e promove a polinização, além de ser um mecanismo de defesa (BUER CS et al, 2010). A cor avermelhada do chá dessa planta é devido a presença de 3-desoxiantocianinas, onde podemos destacar as duas principais substâncias, carajurina e carujurona, mas também existem outras substâncias em menor quantidade como 3'-hidroxi-carajurona, 3'-hidroxi-carajurina, 6,7,3',4'-tetra-hidroxi-5-metoxiflavílio e 6,7,4'-trihidroxi-5-metoxiflavílio (DEVIA B et al, 2002).

Foram detectados 39 flavonoides na espécie da *Fridericia chica*, cuja sua forma molecular e estrutura química foram propostas. Dos flavonoides identificados na planta, 37 tinham massas molares e dados espectrais compatíveis com substâncias já conhecidas.

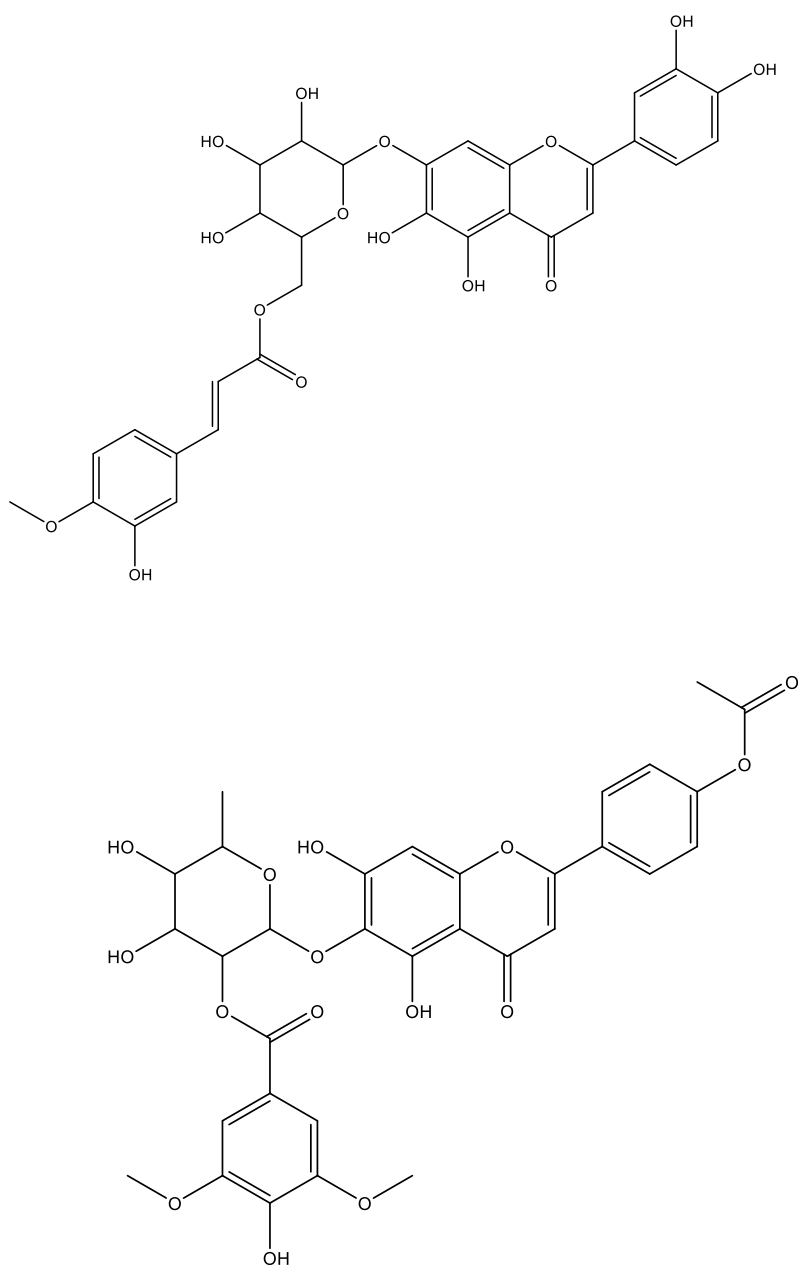
Vicenina II, apigenina e luteolina também foram isoladas desta espécie e alguns flavonoides que foram isolados foram relatados pela primeira vez na *Fridericia chica* como 6-Hidroxiluteolina-*O*-(6'' - *O* - feruloil)-glucopiranosídeo (1) e *O* -acetil-escutelareína- *O* - ramnosilgaloil 3,5-dimetil éter (2). As substâncias 1 e 2 são possivelmente substâncias novas cujo o espectro UV pode ser observado na figura 5, e as estruturas das substâncias estão representadas na figura 6. Dados obtidos neste trabalho sugerem que eles são derivados de luteolina e escutelarina. Nas figuras 7 e 8 pode-se observar o espectro MS<sup>2</sup> das substâncias 1 e 2. (CRUZ et al, 2022).

**FIGURA 5** - Espectros UV (200–400 nm) de flavonoides 6-Hidroxiluteolina- *O* -(6'' - *O* - feruloil)-glucopiranosídeo (**Comp.1**) e *O* -acetil-escutelareína- *O* - ramnosilgaloil 3,5-dimetil éter (**Comp.2**).



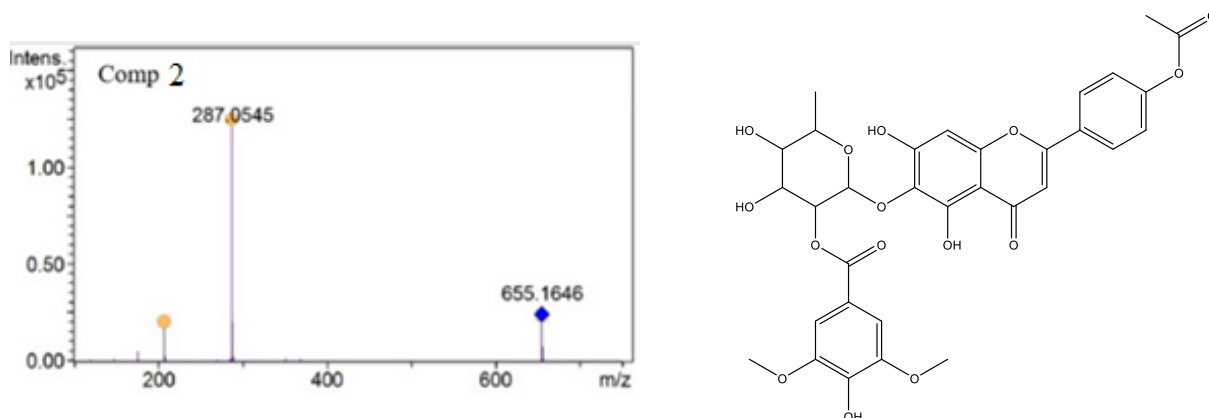
FONTE: CRUZ et al, 2022

**FIGURA 6** – Estruturas das substâncias 1 e 2 respectivamente



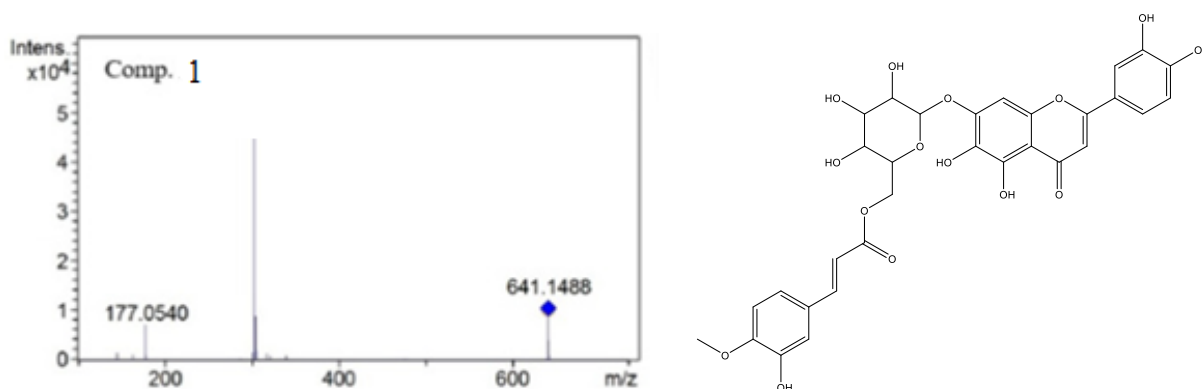
FONTE: CRUZ et al, 2022

**FIGURA 7** - Espectro MS<sup>2</sup> substância 2 e sua estrutura presente no extrato etanólico de folhas de *F. chica*.



FONTE: CRUZ et al, 2022.

**FIGURA 8** – Espectro MS<sup>2</sup> substância 1 e sua estrutura presente no extrato etanólico de folhas de *F. chica*.



FONTE: CRUZ et al, 2022.

## 2.5 PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS

A ocorrência expressiva de flavonoides nas folhas de *Fridericia chica* explica em grande medida a ampla gama de ações terapêuticas atribuídas a esta espécie. Inúmeras revisões de literatura sobre flavonoides reportam suas atividades farmacológicas, tais

como anti-inflamatória, antimicrobiana, antihipertensiva, analgésica, antiviral entre outros (CHAGAS, 2016).

O uso de plantas como medicamento ocorre em muitas sociedades tradicionais (CHAGAS, 2016). Portanto, é importante estimular estudos científicos que comprovem o conhecimento popular existente sobre as plantas e sua eficácia no tratamento de doenças (FEIJÓ et al, 2012). Nesse sentido, vários estudos têm sido realizados com diferentes extratos das folhas de *F. chica* a fim de comprovar a eficácia da planta para os fins terapêuticos para os quais é utilizada popularmente.

- **Atividade anti-inflamatória**

A participação da inflamação na fisiopatologia de múltiplas doenças estimula o constante desenvolvimento de anti-inflamatórios, sendo a natureza uma importante fonte de plantas com potencial terapêutico a ser explorado (PLACHA et al, 2021; TASNEEM et al, 2019). Plantas como a *Aloe vera* têm demonstrado eficácia no controle da resposta inflamatória e são consideradas pelo sistema público de saúde brasileiro como uma opção de tratamento (RENAME, 2014). Os flavonoides, uma classe de metabólitos secundários pertencentes ao grupo dos compostos fenólicos, são agentes anti-inflamatórios e podem atuar bloqueando a cascata do ácido araquidônico através da inibição das vias COX e lipoxigenase (CHI YS et al, 2001; JANG DS et al, 2002). A espécie *Fridericia chica* é utilizada na medicina tradicional como agente anti-inflamatório, o que foi confirmado em diversos estudos com diferentes extratos preparados a partir das folhas desta planta (OLIVEIRA et al, 2009; ZORN et al, 2001; MICHEL et al, 2015).

Após alguns estudos realizados com os extratos das folhas da *Fridericia chica*, observou-se que as 3-desoxiantocianidinas identificadas na espécie são as principais responsáveis pela sua atividade anti-inflamatória (BATALHA et al, 2022). Em 2001, Zorn e colaboradores demonstraram que tanto o extrato lipofílico das folhas de *Fridericia chica* (200 mg/mL) quanto um de seus componentes isolados (carajurina) na concentração de 500 µM tiveram a capacidade de inibir completamente o fator nuclear kappa B (NF-κB), que é responsável pela transcrição de genes que codificam diversos mediadores pró-inflamatórios e que participa da patogênese de doenças como a esclerose múltipla.

Outros estudos realizados com as folhas da *Fridericia chica* foram realizados a fim de comprovar sua atividade anti-inflamatória, como a da angiogênese inflamatória

(MICHEL et al, 2015). Os derivados da flavona escutelareína, que foram identificados no extrato hidroetanólico desta espécie, foram associados à redução de parâmetros ligados à resposta inflamatória no modelo de mucosite intestinal (TAKENAKA et al, 2020).

Os extratos de folhas de *F. chica* consistem em uma grande variedade de compostos flavonoides, como flavonas e flavonóis. Em relação a essa classe, o que a literatura relata sobre seus potenciais biológicos é extensa, com um total de 14 flavonoides de extratos de folhas de *F. chica* demonstrando suprimir a inflamação por meio de diferentes vias de sinalização celular. Um exemplo é a luteolina, uma flavona que demonstrou interagir com vários alvos inflamatórios, como a metaloprotease 9 da matriz (MMP9) e a proteína quinase 1 ativada por mitógeno (MAPK1) (HUANG et al, 2020). Crisoeriol, outra flavona, melhora o edema de orelha induzido por TPA em camundongos, e sua inibição das vias JAK2/STAT3 e I $\kappa$ B NF- $\kappa$ B está envolvida nos efeitos anti-inflamatórios (WU et al, 2020). A hispidulina, uma flavona encontrada em várias plantas, entre elas em *F. chica*, foi avaliada por Yu e colaboradores em relação à proteção contra a neuroinflamação usando a linhagem celular imortalizada da microglia murina BV2 (células BV2). Demonstrou-se que a hispidulina inibe a produção de NO e ROS, que suprimem a expressão das enzimas relacionadas à inflamação iNOS e COX-2 de maneira dose-dependente (MURAKAMI et al, 2007).

- **Atividade antioxidante**

Os antioxidantes são compostos capazes de retardar, prevenir ou remover danos causados pelo desequilíbrio redox e, assim, regular o desenvolvimento do estresse oxidativo (HALLIWELL, 2015). O grande número de efeitos adversos observados com o uso de antioxidantes sintéticos tem impulsionado a busca por outras alternativas, entre elas substâncias isoladas de produtos naturais (AUGUSTYNIAK et al, 2010; ARULSELVAN et al, 2016; KRISHNAIAH et al, 2011). Os principais antioxidantes presentes nas plantas são os compostos fenólicos, que representam uma família de metabólitos secundários com a propriedade de interromper reações em cadeia causadas por radicais livres, doando átomos de hidrogênio ou elétrons (DURAZZO et al, 2019; MARK et al, 2019; CALEJA et al, 2017). A este grande grupo de compostos pertencem vários dos flavonoides, que estão presentes em plantas medicinais como a espécie *F. chica* (BATALHA et al, 2022).

O potencial antioxidante da *F. chica* já foi avaliado em diversos estudos. Em 2012, Do Amaral e colaboradores identificaram a presença de compostos fenólicos em um extrato etanólico das folhas dessa planta. A propriedade anti-inflamatória das 3-desoxiantocianidinas, que são pigmentos fenólicos com capacidade de estabilizar os radicais livres por meio da doação de radicais de hidrogênio, foi proposta por Zorn et al. em 2001. Porém, a capacidade antioxidante desses flavonoides foi identificada bem mais tarde, por Do Amaral et al. em 2012, e posteriormente confirmado por Dos Santos et al. em 2013. Outro achado importante, sugere a capacidade do extrato aquoso das folhas de *F. chica* em induzir a translocação nuclear de DAF-16 de maneira proeminente, sugerindo assim o potencial desse extrato na regulação do estresse oxidativo (BATALHA et al, 2022).

Como já mencionado, os flavonoides são compostos fenólicos que apresentam grande potencial antioxidante. Entre eles estão as flavonas, cuja capacidade antioxidante está relacionada à presença de grupos hidroxila livres em seus anéis A e B (DURAZZO et al, 2019). Luteolina, uma das flavonas mais abundantes, foi identificada por Do Amaral et al. (2012), que avaliaram a atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas de *F. chica* na presença do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) usando *Gingko biloba* como controle positivo e demonstraram que a capacidade antioxidante do extrato de *F. chica* é superior. Este efeito antioxidante foi atribuído principalmente às flavonas luteolina e apigenina. Em 2015, Gemelli et al. confirmaram a presença de luteolina no extrato aquoso das folhas de *F. chica* e demonstraram seu potencial antioxidante por ensaio de dano ao DNA em células CHO (células de ovário de hamster) (DO AMARAL et al, 2012).

As folhas de *Fridericia chica* possuem alto teor de flavonas junto com a presença de apigenina, com alta atividade antioxidante (FIDELIS et al, 2018), conforme evidenciado por Siraichi et al. em 2013, confirmando o que já havia sido proposto por Do Amaral et al. em 2012. Outra flavona importante identificada no extrato das folhas de *F. chica* é a escutelarina e escutelareína, que estão presentes em outras plantas medicinais como *Scutellaria barbata* e *S. lateriflora*. A escutelarina é uma forma glicoronídica da escutelareína, o que significa que, embora ambas as moléculas apresentem atividade antioxidante, a forma aglicona (escutelareína) tem uma atividade mais forte (LIU et al, 2018).

Em 2009, o Ministério da Saúde do Brasil publicou uma lista de 71 espécies que fazem parte do Relatório de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS); *F. chica* está entre eles devido à grande quantidade de evidências científicas que apontam para seus diferentes efeitos biológicos. Um dos efeitos biológicos mais importantes desta espécie é o efeito antioxidante, que pode contribuir para o controle e prevenção de doenças degenerativas, conforme já mencionado. Incentivo ao desenvolvimento de pesquisas relacionadas à *F. chica* é fundamental para sua inclusão na lista de fitoterápicos prescritos nos serviços de saúde brasileiros, por meio da qual já estão disponíveis doze fitoterápicos que fazem parte da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME).

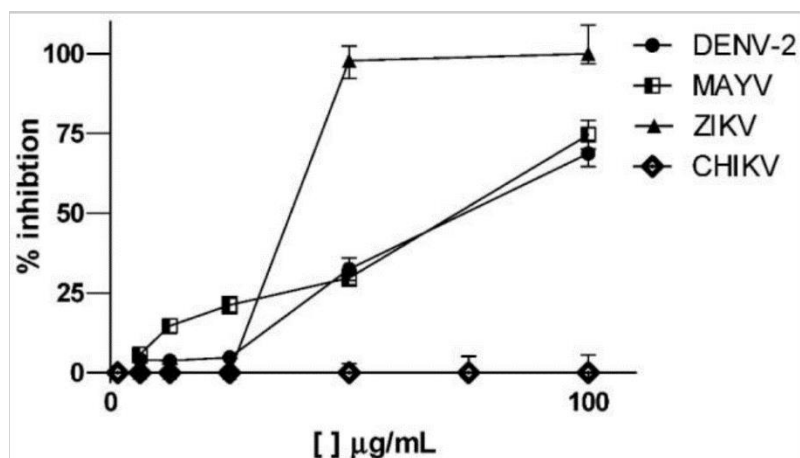
- **Efeito citotóxico e atividade antiviral**

A atividade antiviral desta espécie foi relatada pela primeira vez por Brandão e colaboradores, onde o extrato desta espécie inibiu a replicação do vírus *Vaccinia* (VACV WR). O mesmo estudo relatou as atividades antivirais dos extratos etanólicos de outras oito espécies desta família. Os melhores resultados para as atividades antivirais foram obtidos para os extratos de folhas da espécie *Arrabidaea ternatum* (EC<sub>50</sub> de 8,1 mg/mL), *Arrabidaea samyroides* (EC<sub>50</sub> de 37,1 mg/mL) e *Disctella elongata* (EC<sub>50</sub> de 4,6 mg/mL) contra VACV WR (CRUZ et al., 2022).

O efeito citotóxico do extrato etanólico foi avaliado em culturas celulares Vero, LLC-MK2 e MRC-5. O extrato apresentou baixa citotoxicidade, com CC<sub>50</sub> valores  $\geq$  296,7  $\mu$ g/mL. Estudos anteriores já relataram baixa toxicidade para extratos desta espécie. O extrato mostrou atividade antiviral contra DENV 2, MAYV e ZIKV, com CE<sub>50</sub> valores variando de 30,1 a 40,9  $\mu$ g/mL (Figura 9). O melhor resultado foi obtido contra o MAYV, com um CE<sub>50</sub> de 30,1  $\mu$ g/mL e um IS de >13,3. A atividade antiviral desta espécie contra o vírus Herpes simplex tipo 1 e o vírus *Vaccinia* já foi relatada anteriormente (BRANDÃO et al., 2010)



**FIGURA 9** - Curvas dose-resposta para atividade antiviral do extrato etanólico das folhas de *Fridericia chica* contra os vírus Dengue (DENV-2), Zika (ZIKV), Mayaro (MAYV) e Chikungunya (CHIKV).



FONTE: CRUZ et al., 2022

## 2.6 CONTROLE DE QUALIDADE DE FITOTERÁPICOS

Uma etapa crucial na produção de um medicamento fitoterápico é uma análise minuciosa de controle de qualidade. De acordo com a RE 14/2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o medicamento fitoterápico é aquele que faz o uso exclusivamente de matérias-primas ativas vegetais. Portanto, esses medicamentos devem conter garantia de sua qualidade, efeitos terapêuticos comprovados, composição padronizada e segurança de uso para a população.

O emprego de técnicas cromatográficas e analíticas que permitam a separação e o isolamento de substâncias de um extrativo vegetal mostra-se necessário tanto para o conhecimento da composição química, do princípio ativo e/ou da substância tóxica de uma planta, como também para a determinação de uma substância, ou grupo de substâncias, que sirva como marcadora daquela espécie, para controle qualitativo e quantitativo da droga, propiciando a padronização do material vegetal e produtos relacionados (Drasara & Moravcova, 2004; Famei et al., 2006; Liu et al., 2007). A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) pode promover rapidez, alta sensibilidade e seletividade e é uma técnica bastante utilizada para o controle de qualidade de medicamento fitoterápicos. A CLAE pode proporcionar a identificação da presença de marcadores e de outros compostos, oferecendo uma caracterização completa da planta ou do produto analisado além de permitir a distinção entre espécies próximas. Além da

CLAE pode-se utilizar também a cromatografia em camada delgada (CCD) e a cromatografia gasosa (CG) (DRAŠAR & MORAVCOVA, 2004; LIU et al., 2007).

### **3. OBJETIVOS**

Quantificação de flavonoides totais em extrato etanólico de *Fridericia chica* com potencial efeito anti-arbovírus.

### **4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinação de flavonoides por CLAE/ UV

Análise do extrato por RMN <sup>1</sup> H e HSQC

### **5. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **5.1 MATERIAL VEGETAL**

A *F. chica* foi coletada em Caratinga, Minas Gerais, Brasil. A espécie foi identificada pelo Dr. J. A. Lombardi, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, Brasil. Um exemplar do comprovante está depositado no BHCB/UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, sob o número 23859.

#### **5.2 REAGENTES E PADRÃO DE REFERÊNCIA**

Os solventes utilizados na quantificação dos flavonoides nas folhas de *F. chica* foram todos de grau analítico: acetona p.a (Proquímios), etanol 92,8° (Ciclo Farma) metanol p.a (Isofar), Piridina 99,0% (CRQ), ácido acético glacial p.a (Proquímios), ácido clorídrico p.a (Vetec), cloreto de alumínio hexahidratado 99,5% (Riedel-de Haën), hexametilenotetramina 99,3 % (Êxodo científica). Como padrão para flavonoides foi utilizada quercetina (Merck), com grau de pureza de 99,5%.

#### **5.3 PREPARO DOS EXTRATOS**

As folhas foram secas em estufa ventilada, a 40°C. Após a secagem, foi feita a moagem e acondicionamento do pó em frascos de vidro. Os extratos foram extraídos do pó com etanol 96°C. As soluções orgânicas foram concentradas por destilação em evaporador rotatório.

#### **5.4 EQUIPAMENTOS**

Foram empregados nas análises espectrofotômetro UV-M51 (Bel), cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm (Sigma), manta aquecedora (WEA), e triturador

industrial (Manesco & Ranieri). Em todos os parâmetros foram utilizadas balanças e vidrarias analíticas.

### **5.5 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES NAS FOLHAS DE *F. chica***

Para determinação dos flavonoides totais nas folhas de *F. chica* utilizou-se a metodologia descrita na monografia de *Calendula officinalis* da Farmacopéia Brasileira 6ª edição e a metodologia adaptada por Sobrinho e colaboradores, 2008. Foram pesados 20,0 g das folhas pulverizadas que foram percoladas exaustivamente com etanol 92,8°. O extrato etanólico foi concentrado por destilação do solvente em evaporador rotatório, sob pressão reduzida a 50°C. O extrato foi transferido para frasco previamente pesado e submetido à secagem em estufa a 50°C para completa remoção do solvente. O extrato foi pesado e o rendimento extrativo foi calculado.

Para a hidrólise dos flavonoides foram pesados 100 mg do extrato das folhas de *F. chica* que foram transferidos para um balão de fundo redondo 50 mL. Foram acrescentados 1 mL de solução aquosa de metenamina 0,5% (p/v), 20 mL de acetona e 2 mL de ácido clorídrico concentrado, que foram aquecidos em manta aquecedora sob refluxo durante 30 minutos. A mistura foi filtrada para um balão volumétrico de 50 mL e o resíduo foi lavado com 20 mL de acetona e o volume do balão foi completado com acetona. A análise foi realizada em triplicata.

Em seguida, foi pipetado 1 mL do extrato de cada triplicata para balões volumétricos de 25 mL, onde foram adicionadas alíquotas de 0,6 mL de ácido acético glacial, 10 mL de solução metanólica de piridina 20% e 2,5 mL de solução de AlCl<sub>3</sub> em metanol 50 g/L, os volumes dos balões foram completados com água destilada. As triplicatas foram mantidas sob abrigo da luz e em temperatura ambiente por um período de 30 minutos e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 420 nm, em cubeta de quartzo com 10 mm de caminho óptico.

### **5.6 CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO**

Foram preparadas soluções com seis concentrações (6,0; 8,0; 10,0; 12,0; 16,0; e 20,0 µg/mL), a partir da solução padrão de quercetina a 0,5mg/mL. Aliquotas desta solução (0,6 mL; 0,8mL; 1,0 mL; 1,2 mL; 1,6 mL e 2,0 mL) foram transferidas para

balões de 50 mL em triplicata. A cada balão foram adicionados 1,2 mL de ácido acético glacial, 20,0 mL de solução metanólica de piridina a 20% e 5,0 mL da solução de cloreto de alumínio hexahidratado em metanol 50 g/L e o volume dos balões completado

com água destilada, obtendo-se concentrações finais de 6 a 20 µg/mL. Os balões permaneceram por 30 minutos à temperatura ambiente sob abrigo da luz. As leituras das soluções padrão foram realizadas em espectrofotômetro a 420 nm, foi utilizada água destilada como solução-branco.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rendimento da extração

**Tabela 1:** O rendimento do extrato etanólico obtido na percolação a frio com etanol 92,8°

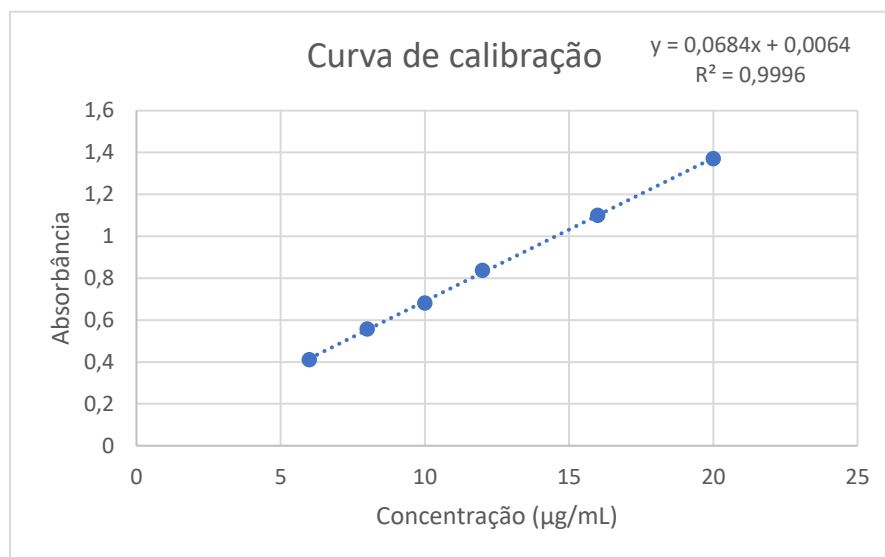
Material vegetal	Massa (g)	Extrato(g)	Rendimento(%)
<i>Fridericia chica</i>	20,0	1,012	5,06

Para determinação dos flavonoides totais nas folhas de *F. chica* foi construída uma curva de calibração com concentrações conhecidas de quercetina. Os valores das absorbâncias obtidos para cada concentração estão apresentados na tabela 2.

**Tabela 2:** Concentrações (µg EQ/mL) e medidas das absorbâncias utilizadas para a construção da curva de calibração.

Concentração (µg EQ/mL)	Absorbância (420 nm)
6,0	0,412
8,0	0,558
10,0	0,681
12,0	0,873
16,0	1,100
20,0	1,371

**FIGURA 10** – Curva de calibração construída com concentrações de 6 a 20 µg EQ/mL a 420 nm.



FONTE: imagem do autor

O coeficiente de determinação obtido para a curva de calibração  $R^2$  foi de 0,9996, sugerindo que a curva de calibração pode ser utilizada com segurança para a determinação de flavonoides totais nas amostras. A equação de correlação foi  $Y=0,0684x + 0,0064$ .

Os valores das absorbâncias das concentrações de flavonoides totais das triplicatas dos extratos das folhas de *F. chica* estão apresentados na tabela 3. Os cálculos foram realizados utilizando a equação resultante da curva de calibração com o padrão de quercetina e os resultados foram expressos em µg equivalentes de quercetina por mililitro µg EQ/mL.

**Tabela 3** : Valores de absorbância, diluição e concentração de flavonoides totais (µg EQ/mL) obtidos.

Amostra	Absorbância (420 nm)	Concentração de flavonoides totais (µg EQ/mL)	Diluição	Concentração final de flavonoides totais (µg EQ/mL)
A1	0,490	7,07	1:25	176,75
A2	0,420	6,05	1:25	151,25
A3	0,437	6,29	1:25	157,25
Média	0,449	6,47	1:25	161,75 ± 13,33

A média dos resultados obtidos para a concentração de flavonoides totais na solução do extrato das folhas de *F. chica* foi de  $161,75 \pm 13,33 \mu\text{g EQ/mL}$ .

### **Cálculos da concentração média de flavonoides totais presentes nas folhas de *F. chica***

**20,0g** de material vegetal = **1,012g** de extrato

**1,976 g** de material vegetal = **0,100 g** de extrato

**1,000 g** de material vegetal = **0,0506g** de extrato

**1 mL** de extrato hidrolisado = **161,75  $\pm$  13,33  $\mu\text{g}$**

**50 mL** de extrato hidrolisado = **8,0875 mg** de flavonoides (correspondente a **100 mg** de extrato ou **1,976 g** de material vegetal)

**1,000 g** de material vegetal (correspondente a **50,6 mg** de extrato) = **4,09  $\pm$  0,34 mg/g** de flavonoides equivalentes à quercetina nas folhas de *F. chica*.

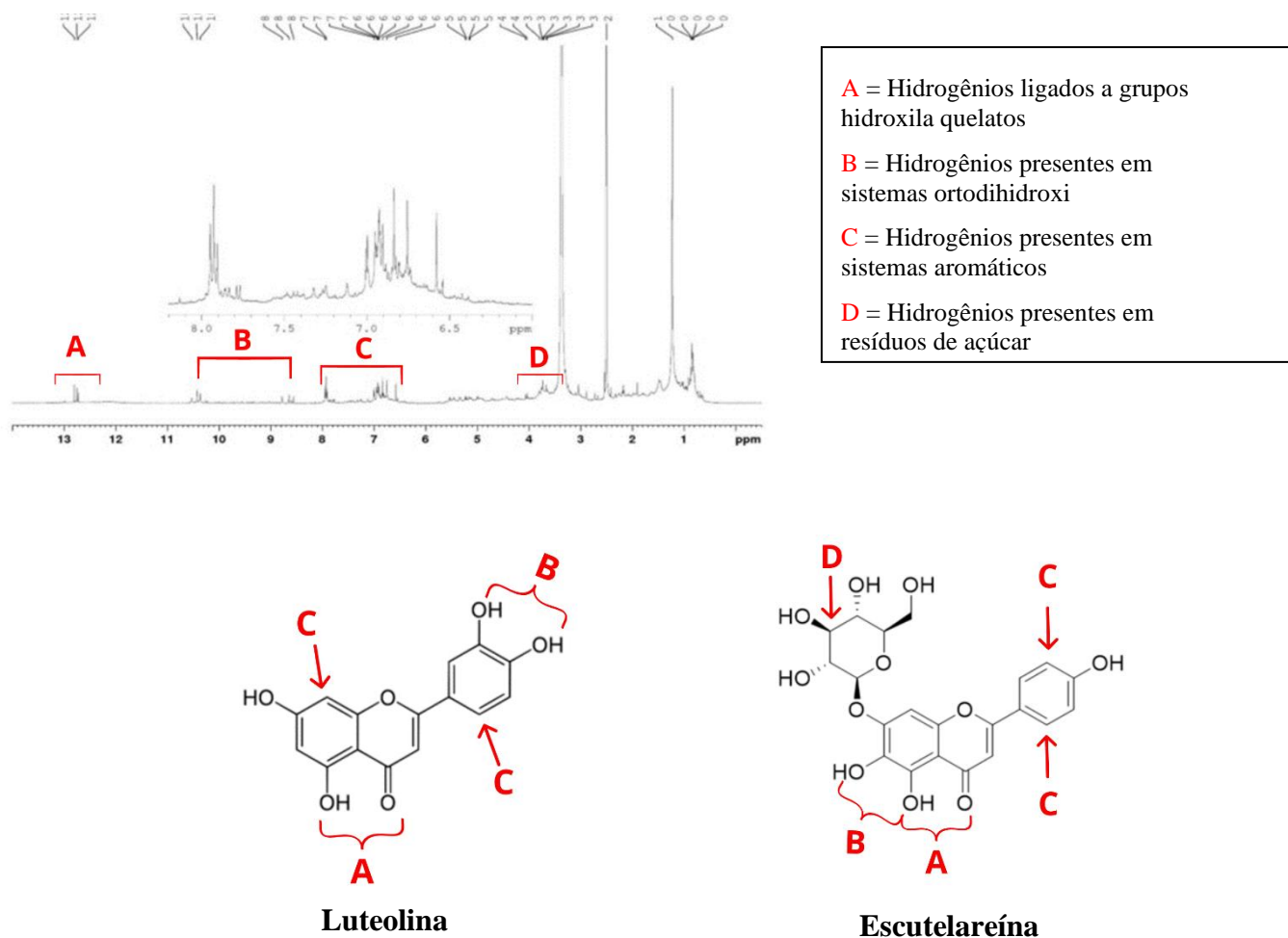
Os flavonoides são compostos polifenólicos comumente encontrados em extratos dessa espécie. Dados da literatura sugerem que esses compostos são responsáveis pelas atividades biológicas descritas para extratos dessa espécie vegetal (CRUZ et al, 2022). A quantificação dos flavonoides totais foi realizada por espectrometria UV. Nessas análises, o  $\text{AlCl}_3$  foi utilizado como agente para promover o deslocamento batocrômico. O cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonoides presentes na amostra, promovendo um aumento na absorção de UV. Nas amostras deste estudo, a concentração média de flavonoides totais presentes nas folhas de *F. chica* foi de **4,09  $\pm$  0,34 mg/g** de material vegetal seco.

### **Caracterização por RMN**

Foram realizadas análises por RMN ( $^1\text{H}$  e HSQC) (Figura 10). No espectro  $^1\text{H}$ , foram observados sinais de deslocamento químico ( $\delta$ ) entre 12,7 e 13,0 ppm, atribuídos a hidrogênios ligados a grupos hidroxila quelatos, comuns em flavonoides oxigenados na posição 5. Sinais ( $\delta$ ) entre 8,5 e 10,5 ppm foram atribuídos a hidrogênios presentes em ortodihidroxi sistemas que estão presentes em flavonóides semelhantes à luteolina e semelhantes à escutelareína. Sinais ( $\delta$ ) entre 6,5 e 7,8 ppm também podem ser observados

neste espectro, os quais foram atribuídos a hidrogênios presentes em sistemas aromáticos. Na parte inferior do espectro (3,5 a 4,0 ppm), foram observados sinais ( $\delta$ ) compatíveis com hidrogênios presentes em resíduos de açúcar.

**FIGURA 11** – Espectro  $^1\text{H}$  NMR de flavonoides presentes no extrato etanólico de folhas de *F. chica* ( $^1\text{H}$  NMR—400 Hz,  $^{13}\text{C}$  NMR—100 Hz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ) e estruturas das substâncias escutelareína e luteolina.



FONTE: imagem do autor

No experimento HSQC, foi possível determinar, por meio de acoplamento heteronuclear ( $^1J_{\text{CH}}$ ), a presença de carbonos hidrogenados em 129,0 ppm e 115,0 ppm, compatíveis com um sistema aromático para-dissubstituído (típico sistema AA'BB') presente em apigenina tipo e flavonoides semelhantes à escutelareína. Além disso, foi possível observar sinais ( $\delta$ ) de carbono hidrogenado em aproximadamente 94,0 ppm, que

são comuns em flavonas C-8 não substituídas. Além disso, foram observados sinais ( $\delta$ ) em aproximadamente 101,0 ppm, que podem ser atribuídos a carbonos anoméricos presentes em resíduos de açúcar, e em 104,0 ppm, relacionados a carbonos não oxigenados na posição 3 das flavonas.

## **7.CONCLUSÃO**

As folhas de *F. chica* são ricas em flavonoides com  $4,09 \pm 0,34$  mg/g de material vegetal seco, dessa forma, pode sugerir que esta classe de produto natural contribua para a ação farmacológica da espécie. Dados da literatura já evidenciaram o uso da *Fridericia chica* como antimicrobiana, anti-inflamatória, anti-hipertensiva, anti-tumoral, anti-parasitária, entre outros. Portanto, essa espécie pertencente a família das Bignoniaceae pode ser considerada uma planta com potencial farmacológico, sendo uma possível candidata ao desenvolvimento de fármacos fitoterápicos.



## 8.REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, JM de. **Plantas tóxicas: no jardim e no campo**. Belém: FCAP. Serviço de Documentação e Informação, 1980.

ARO, A. A, *et al.* Arrabidaea chica extract improves gait recovery and changes collagen content during healing of the Achilles tendon. **Injury**, v. 44, n. 7, p. 884-892, 2013.

ARULSELVAN, P, *et al.* Role of antioxidants and natural products in inflammation. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016.

ATANASOV, A.G, *et al.* Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnology advances**, v. 33, n. 8, p. 1582-1614, 2015.

AUGUSTYNIAK, A, *et al.* Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. **Free radical research**, v. 44, n. 10, p. 1216-1262, 2010.

BATALHA, A.D.S.J, *et al.* Therapeutic Potential of Leaves from Fridericia chica (Bonpl.) LG Lohmann: Botanical Aspects, Phytochemical and Biological, Anti-Inflammatory, Antioxidant and Healing Action. **Biomolecules**, v. 12, n. 9, p. 1208, 2022.

BIRT, D.F; HENDRICH, S; WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacology & therapeutics**, v. 90, n. 2-3, p. 157-177, 2001.

BORRÁS, M.R.L. Plantas da Amazônia: medicinais ou mágicas?: plantas comercializadas no Mercado Municipal Adolpho Lisboa. **Valer Editora**, 2003.

BRANDÃO, G.C, *et al.* Antiviral activities of plants occurring in the state of Minas Gerais, Brazil: Part 2. Screening Bignoniaceae species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 742-750, 2010.

BUER, C.S.; IMIN, N; DJORDJEVIC, M.A. Flavonoids: new roles for old molecules. **Journal of integrative plant biology**, v. 52, n. 1, p. 98-111, 2010.

BUREAU, S. **Bignoniaceae.Flora Brasiliensis**, v.8, n.2, p.2-298, 1987.

CALEJA, C, *et al.* Phenolic compounds as nutraceuticals or functional food ingredients. **Current pharmaceutical design**, v. 23, n. 19, p. 2787-2806, 2017.

CHAGAS, M.S.S, *et al.* **Potencial terapêutico da espécie vegetal Arrabidaea chica** Verlot. 2016. 80f. Monografia (Especialização) - Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2016.

CHAPMAN, E; PERKIN, A.G; ROBINSON, R. CCCCII.—The colouring matters of carajura. **Journal of the Chemical Society** (Resumed), p. 3015-3041, 1927.

CHI, Y.S, *et al.* Effects of naturally occurring prenylated flavonoids on enzymes metabolizing arachidonic acid: cyclooxygenases and lipoxygenases. **Biochemical pharmacology**, v. 62, n. 9, p. 1185-1191, 2001.

CORRÊA, C; SCHEFFER, M.C. As plantas medicinais, aromáticas e condimentares e a agricultura familiar. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 376-376, 2014.

CORRÊA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas: HL. **Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal**, 1984.

CORRÊA, M.F.P; MELO, G.O; COSTA, S.S. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da Asma. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 785-797, 2008.

DA CRUZ, A.F.G, *et al.* High-Resolution Mass Spectrometry Identification and Characterization of Flavonoids from *Fridericia chica* Leaves Extract with Anti-Arbovirus Activity. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 6043, 2022.

DEGÁSPARI, C.H; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão acadêmica**, v. 5, n. 1, 2004.

DEVIA, B, *et al.* New 3-deoxyanthocyanidins from leaves of *Arrabidaea chica*. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 13, n. 2, p. 114-120, 2002.

DO AMARAL, A.L; DOS SANTOS, J.M; DE SOUZA BARBOSA, G.V. Denominação de cultivares de cana-de-açúcar como suporte à documentação e utilização do germoplasma conservado. **Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros**. Documentos, v. 196, p. 1-31, 2015.

DOS SANTOS, V.C, *et al.* Evaluation of the mutagenicity and genotoxicity of *Arrabidaea chica* Verlot (Bignoneaceae), an Amazon plant with medicinal properties. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 76, n. 6, p. 381-390, 2013.

DRAŠAR, P; MORAVCOVA, J. Recent advances in analysis of Chinese medical plants and traditional medicines. **Journal of Chromatography B**, v. 812, n. 1-2, p. 3-21, 2004.

DURAZZO, A, *et al.* Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 9, p. 2221-2243, 2019.

Farmacopeia Brasileira, volume 2 / **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa**, 2010. 904p., 2v/il.

FEIJÓ, A. M, *et al.* Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 50-56, 2012.

FIDELIS, Q, *et al.* Chemical and Biological insights of *Ouratea hexasperma* (A. St.-Hil.) Baill.: A source of bioactive compounds with multifunctional properties. **Natural product research**, v. 33, n. 10, p. 1500-1503, 2019.

FRIESENECKER, B, *et al.* Cellular basis of inflammation, edema and the activity of Daflon 500 mg. **International Journal of Microcirculation**, v. 15, n. Suppl. 1, p. 17-21, 1995.

GRISEBACH, H. Plant flavonoids in biology and medicine. II. Biochemical, cellular and medical properties: edited by V. Cody, E. Middleton, Jr., JB Harborne and A. Beretz. Alan R. Liss, Inc., New York, 1988. 1989.

HUANG, X, *et al.* A network pharmacology strategy to investigate the anti-inflammatory mechanism of luteolin combined with in vitro transcriptomics and proteomics. **International Immunopharmacology**, v. 86, p. 106727, 2020.

JANG, D.S, *et al.* Prenylated flavonoids of the leaves of *Macaranga conifera* with inhibitory activity against cyclooxygenase-2. **Phytochemistry**, v. 61, n. 7, p. 867-872, 2002.

JOLY, A. B. Botânica—**introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Editora Nacional. 1987.

KALIL FILHO, A.N; KALIL, G.P.C; LUZ, A.I.R. **Conservação de germoplasma de plantas aromáticas e medicinais da Amazonia brasileira para uso humano**. 2000.

KRISHNAIAH, D; SARBATLY, R; NITHYANANDAM, R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and bioproducts processing**, v. 89, n. 3, p. 217-233, 2011.

LIMA, J.C.S, *et al.* Anti-inflammatory activity of 4', 6, 7-trihydroxy-5-methoxyflavone from *Fridericia chica* (Bonpl.) LG Lohmann. **Natural product research**, v. 34, n. 5, p. 726-730, 2020.

LIU, Q, *et al.* Dual effect of glucuronidation of a pyrogallol-type phytophenol antioxidant: a comparison between scutellarein and scutellarin. **Molecules**, v. 23, n. 12, p. 3225, 2018.

LOHMANN, L. G. Bignoniaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB112305>. Acesso em: 28 fev. 2023.

LOLIS, M.I.G.A; MILANEZE-GUTIERRE, M.A. Morfo-anatomia das folhas de *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae), o "figatil". **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 68-71, 2003.

MAFIOLETI, L, *et al.* Evaluation of the toxicity and antimicrobial activity of hydroethanolic extract of *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. **Journal of ethnopharmacology**, v. 150, n. 2, p. 576-582, 2013.

MANSON, M.M. Cancer prevention—the potential for diet to modulate molecular signalling. **Trends in molecular medicine**, v. 9, n. 1, p. 11-18, 2003.

MARK, R, *et al.* Sustainable production of natural phenolics for functional food applications. **Journal of Functional Foods**, v. 57, p. 233-254, 2019.

MARRONI, N.P; MARRONI, C.A. Estresse Oxidativo e antioxidante. Porto Alegre: **Editora Ulbra**, p. 33-48, 2002.

MICHEL, A.F.R.M, *et al.* Evaluation of anti-inflammatory, antiangiogenic and antiproliferative activities of *Arrabidaea chica* crude extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 165, p. 29-38, 2015.

MIOTO, RICARDO. País deixa de gerar US \$5 bi por ano com fitoterápicos. **Folha de São Paulo**. São Paulo, 2010.

MONDO, V.H.V, *et al.* Efeitos da luz e temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de plantas daninhas do gênero *Digitaria*. **Revista Brasileira de sementes**, v. 32, p. 131-137, 2010.

MURAKAMI, A; OHIGASHI, H. Targeting NOX, INOS and COX-2 in inflammatory cells: chemoprevention using food phytochemicals. **International journal of cancer**, v. 121, n. 11, p. 2357-2363, 2007.

MUTOH, M, *et al.* Suppression by flavonoids of cyclooxygenase-2 promoter-dependent transcriptional activity in colon cancer cells: structure-activity relationship. **Japanese Journal of Cancer Research**, v. 91, n. 7, p. 686-691, 2000.

NASCIMENTO, O; MALDONADO, J; ARNÓBIO, A. Estudo do desempenho comercial dos insumos farmacêuticos vegetais sob a ótica do Comércio Exterior. **Revista Fitos**, v. 9, n. 3, p. 233-246, 2015.

NEWALL, C.A. **Plantas medicinais: guia para profissional de saúde**. Editorial Premier, 2002.

OLIVEIRA, D.P.C, *et al.* Atividade antiinflamatória do extrato aquoso de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. sobre o edema induzido por venenos de serpentes amazônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 643-649, 2009.

PAULETTI, P.M; BOLZANI, V.S; YOUNG, M.C.M. Constituintes químicos de *Arrabidaea samydoidea* (Bignoniaceae). **Química Nova**, v. 26, p. 641-643, 2003.

PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S, *et al.* Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 683-689, 2008.

PETERSON, J; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition research**, v. 18, n. 12, p. 1995-2018, 1998.

PLACHA, D; JAMPILEK, J. Chronic inflammatory diseases, anti-inflammatory agents and their delivery nanosystems. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 1, p. 64, 2021.

**Relação Nacional de Medicamentos Essenciais : Rename 2020** / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília : Ministério da Saúde, 2020. 217 p. 1.

RIBEIRO, A, *et al.* Rosemary extracts in functional foods: Extraction, chemical characterization and incorporation of free and microencapsulated forms in cottage cheese. **Food & function**, v. 7, n. 5, p. 2185-2196, 2016.

SANTOS, R. L, *et al.* Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, p. 486-491, 2011.

SERVAT-MEDINA, L, *et al.* Chitosan–tripolyphosphate nanoparticles as *Arrabidaea chica* standardized extract carrier: Synthesis, characterization, biocompatibility, and antiulcerogenic activity. **International journal of nanomedicine**, v. 10, p. 3897, 2015.

SIMÕES, C.M.O, *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed Editora, 2016.

SIRAICHI, J.T.G, *et al.* Antioxidant capacity of the leaf extract obtained from *Arrabidaea chica* cultivated in Southern Brazil. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e72733, 2013.

TAKENAKA, I.K.T.M, *et al.* Chemical characterization and anti-inflammatory assessment of the hydroethanolic extract of *Fridericia chica*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 30, p. 559-567, 2020.

TASNEEM, S, *et al.* Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents. **Pharmacological research**, v. 139, p. 126-140, 2019.

VÁZQUEZ-YANES, C; SEGOVIA, A.O. Padrões de germinação e longevidade das sementes na floresta tropical. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 24, p. 69-87, 1983.

VIEGAS, J.R.C; BOLZANI, V.S; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.

VIEIRA, R.F; SILVA, S.R. Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas: resultados da 1ª reunião técnica. **In: Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas: resultados da 1ª reunião técnica**. 2002. p. 184-184.

WU, J.Y, *et al.* Chrysoeriol ameliorates TPA-induced acute skin inflammation in mice and inhibits NF- $\kappa$ B and STAT3 pathways. **Phytomedicine**, v. 68, p. 153173, 2020.

YU, C, *et al.* Hispidulin inhibits neuroinflammation in lipopolysaccharide-activated BV2 microglia and attenuates the activation of Akt, NF- $\kappa$ B, and STAT3 pathway. **Neurotoxicity research**, v. 38, p. 163-174, 2020.

ZORN, B, *et al.* 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. **Phytochemistry**, v. 56, n. 8, p. 831-835, 2001.

Article

## High-Resolution Mass Spectrometry Identification and Characterization of Flavonoids from *Fridericia chica* Leaves Extract with Anti-Arbovirus Activity

Ana Flávia Gomes da Cruz <sup>1</sup>, Adriana Cotta Cardoso Reis <sup>1</sup>, Jordano Augusto Carvalho Sousa <sup>1</sup> , Luana Beatriz Araújo Vaz <sup>1</sup>, Breno de Mello Silva <sup>2</sup> , Cíntia Lopes de Brito Magalhães <sup>2</sup>, Markus Kohlhoff <sup>3</sup>, Alaide Braga de Oliveira <sup>4</sup> and Geraldo Célio Brandão <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmácia, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Campus Morro do Cruzeiro, Ouro Preto 35.400-000, Minas Gerais, Brazil

<sup>2</sup> Departamento de Ciências Biológicas, ICEB, Universidade Federal de Ouro Preto, Campus Morro do Cruzeiro, Ouro Preto 35.400-000, Minas Gerais, Brazil

<sup>3</sup> Laboratório de Química de Produtos Naturais Bioativos, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto René Rachou, Belo Horizonte 30.190-009, Minas Gerais, Brazil

<sup>4</sup> Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte 31.270-901, Minas Gerais, Brazil

\* Correspondence: [celiobrandao@ufop.edu.br](mailto:celiobrandao@ufop.edu.br); Tel: +55-31-3551-1088; Fax: +55-31-3551-1069



**Citation:** da Cruz, A.F.G.; Reis, A.C.C.; Sousa, J.A.C.; Vaz, L.B.A.; de Mello Silva, B.; de Brito Magalhães, C.L.; Kohlhoff, M.; de Oliveira, A.B.; Brandão, G.C. High-Resolution Mass Spectrometry Identification and Characterization of Flavonoids from *Fridericia chica* Leaves Extract with Anti-Arbovirus Activity. *Molecules* **2022**, *27*, 6043. <https://doi.org/10.3390/molecules27186043>

Academic Editors: Wang-Liang Wong, Yujing Lu and Ning Hou

Received: 21 July 2022

Accepted: 17 August 2022

Published: 16 September 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Plant extracts are complex mixtures that are difficult to characterize, and mass spectrometry is one of the main techniques currently used in dereplication processes. *Fridericia chica* is a species with medicinal uses in Latin American countries, used in the treatment of inflammatory and infectious diseases. Extracts of this plant species are characterized by the presence of anthocyanidins. In this study, using high-resolution mass spectrometry coupled with liquid chromatography, it was possible to determine the molecular formula of thirty-nine flavonoids. Fragmentation analysis, ultraviolet spectrum and nuclear magnetic resonance data allowed the partial characterization of the structures of these compounds. The spectral dataset allowed the identification of a series of flavones in addition to the desoxyanthocyanidins common in extracts of the species. The occurrence of some of the proposed structures is uncommon in extracts of species of the Bignoniaceae family, and they are reported for the first time in the extract of this species. Quantitative analyses of total flavonoids confirmed the high content of these constituents in the species, with  $4.09 \pm 0.34$  mg/g of dry plant material. The extract under study showed low in vitro cytotoxicity with  $CC_{50} \geq 296.7 \pm 1.4$  µg/mL for Vero, LLC-MK2 and MRC-5 cell lines. In antiviral activity assays, inhibition of the cytopathic effects of Dengue, Zika and Mayaro viruses was observed, with  $EC_{50}$  values ranging between 30.1 and 40.9 µg/mL. The best result was observed against the Mayaro virus, with an  $EC_{50}$  of 30.1 µg/mL.

**Keywords:** *Arrabidaea chica*; Bignoniaceae; flavonoids; anti-dengue activity

### 1. Introduction

*Fridericia chica* (Bonpl.) L.G.Lohmann (Bignoniaceae) is a climbing plant belonging to the Bignoniaceae tribe, popularly used in Latin American countries in the treatment of infections, diarrhea, anemia, intestinal pain and uterine inflammation and for the healing of skin wounds [1,2]. Traditionally, it is also used in the production of red coloring, due to the presence of the 3-desoxyanthocyanidins chemical constituents characteristic of this species [1].

The presence of flavonoids is common in extracts of this species. Chapman and collaborators were the first researchers to study the leaves of *F. chica*, isolating two 3-desoxyanthocyanidins pigments, carajurin and carajurone, whose structure was fully