



Variação sazonal nos teores de flavonoides, taninos e atividade antioxidante de *Davilla rugosa* Poir.

Jéssica Marques Macedo; Luciana Godoy Pellucci Souza; Virgina del Carmem Troncozo Valenzuela; Alaíde Braga Oliveira; Rachel Oliveira Castilho; Rose Lisieux Ribeiro Paiva Jácome*¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG, Brasil

²Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, MG, Brasil.

RESUMO

Davilla rugosa Poir. (Dilleniaceae) é uma trepadeira, conhecida como folha de lixa e cipó-cabloco, com distribuição geográfica ampla no Brasil. É utilizada como analgésica, vasoconstritora, antiúlcera, útil no tratamento das hemorroidas e varizes. O objetivo do trabalho foi investigar a influência da variação sazonal sobre alguns parâmetros das folhas de *D. rugosa*, como os teores de flavonoides e taninos. Os teores de flavonoides e taninos, determinados nas 4 estações do ano, foram avaliados segundo a Farmacopeia Brasileira e foram mais elevados no verão (0,71%; 16,73%) seguido do outono (0,58%; 16,39%). Considerando que substâncias fenólicas são, provavelmente, os responsáveis pela atividade anti-inflamatória e antiulcerogênica, podemos inferir que a melhor época de coleta, que conduza a uma matéria-prima com concentrações desejáveis de princípios ativos, é, preferencialmente, no verão seguida do outono. A atividade antioxidante do extrato de acetato de etila, desengordurado com hexano, submetido ao teste do DPPH, apresentou uma CE_{50} de $24,73 \pm 2,95 \mu\text{g/mL}$ e no ensaio do fosfomobdênio de $1,85 \pm 0,57 \text{ mmol de ácido ascórbico/mg de extrato seco}$. A atividade antioxidante encontrada nos extratos reforça os efeitos anti-inflamatórios e antiúlcera gástrica atribuídos para a espécie.

Palavras-chave: *Davilla rugosa*. Fenólicos. Variação sazonal e atividade antioxidante.

INTRODUÇÃO

Davilla rugosa Poir. (Dilleniaceae) é uma trepadeira lenhosa, comum em bordas de florestas, de folhas ásperas, com distribuição geográfica ampla no Brasil. É conhecida popularmente como folha de lixa, cipó-carijó, cipó-cabloco (Hyakutake, 1969; Souza & Lorenzi, 2005) e é utilizada

como analgésica, vasoconstritora e antiúlcera, útil no tratamento das hemorroidas e varizes (Correa, 1931; Silva, 1989).

As descrições macro e microscópicas dessa espécie encontram-se na Farmacopeia Brasileira 1^a. edição (1926). Jácome et al. (2010) descrevem, além da caracterização microscópica, os teores de flavonoides, taninos e mucilagens em suas folhas colhidas no inverno (0,46%, 9,40% e 2,20%). Um estudo realizado por Gurni & Kubitzki (1981) sobre a distribuição de flavonoides na família Dilleniaceae, mostrou que miricetina, quercetina, canferol, miricetina-3-ramnosídeo, quercetina-3-ramnosídeo e procianidina foram encontrados com maior frequência em amostra de *D. rugosa*

Avaliações farmacológicas do extrato hidroalcoólico do caule de *D. rugosa* indicaram atividade antiulcerogênica e efeito estimulante em modelos animais (Guaraldo et al., 2000; Guaraldo et al., 2001). Desse extrato foram isolados a friedelina, sitostenona, ácido betulínico, narigenina, quercetina e 4'-*O*-metil taxifolina (David et al., 2006).

A Atividade anti-inflamatória foi observada para muitos flavonoides como a quercetina e o canferol, que são, também, capazes de proteger a mucosa gástrica da ação de diversos agentes ulcerogênicos (Di Carlo et al., 1999; Dornas et al., 2007). A ação anti-inflamatória pode ser atribuída à inibição das enzimas fosfolipase A₂ (PLA₂), lipo-oxigenase, ciclo-oxigenase e inibição da produção de óxido nítrico, através da modulação da enzima iNOS (Coutinho et al., 2009). Além disso, substâncias fenólicas são reconhecidamente detentoras de pronunciada atividade antioxidante, atuando como sequestradores de radicais livres e como quelantes de metais (Pessuto et al., 2009). Portanto, esses dados permitem sugerir que as atividades anti-inflamatória e antiúlcera gástrica da droga possam estar relacionadas aos flavonoides e polifenóis presentes na mesma (Coutinho et al., 2009).

Souza e colaboradores, 2008 relataram uma correlação entre a atividade antioxidante das folhas e cascas de *D. rugosa*, no modelo de sequestro de radicais TRAP e ORAC, sobre a capacidade de proteger as estruturas biológicas (eritrócitos) com os teores de polifenóis e flavonoides.

De acordo com a legislação do Ministério da Saúde (RDC n° 14), um fitoterápico deve atender as exigências

Autor correspondente: Rose Lisieux Ribeiro Paiva Jácome - Faculdade de Farmácia, Laboratório de Farmacognosia/Biotecnologia (sala 3036) - Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 - Campus Pampulha - CEP 31270-010 Belo Horizonte - MG - Brasil - e-mail:roselisieux@gmail.com

quanto ao tripé segurança, eficácia e qualidade e para tal é necessário que haja a validação da espécie vegetal. No entanto poucos produtos disponíveis no mercado nacional, na atualidade, estão em conformidade com a legislação vigente. Sabe-se que diversos fatores, tais como a identificação incorreta do material vegetal, pode ocorrer quando a coleta for feita por pessoa não especializada. Um acondicionamento inadequado ou a falta de padronização (química e farmacológica e/ou biológica) podem ser os responsáveis por produtos de qualidade duvidosa e ocasionar severas reações adversas contribuindo para o descrédito na utilização da fitoterapia (Brasil, 2010).

Assim, deve-se considerar que a época de coleta de uma matéria-prima vegetal pode ter grande influência na qualidade e, conseqüentemente no valor terapêutico de plantas medicinais e preparações fitoterápicas. Fatores como temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, entre outros, podem afetar o conteúdo final de metabólitos secundários em plantas medicinais (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

Este trabalho investigou a influência sazonal sobre a variabilidade de alguns parâmetros das folhas de *D. rugosa*, como umidade, cinzas totais, cinzas insolúveis e o teor de extrativos, bem como os teores de mucilagens, flavonoides e taninos. Assim foi possível sugerir a melhor época para sua coleta. Determinou-se também a atividade antioxidante, dos extratos etanólico e de acetato de etila desengordurado, uma vez que esse efeito poderia contribuir para a atividade anti-inflamatória da droga.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

Partes aéreas de *D. rugosa* foram coletadas durante as quatro estações 04/06 (outono), 12/08 (inverno), 21/12 (primavera) e 03/03 (verão) em São Gonçalo do Rio Abaixo em 2008, na Estação ecológica de Peti da Cemig, nas seguintes coordenadas: 0671223 latitude, 7799870 longitude, 781 ± 9 m. Uma exsiccata foi identificada e depositada no Herbário do Departamento de Botânica, no ICB/UFMG, sob os números BHCB 144291, por Caetano Troncoso Oliveira. As folhas limpas e selecionadas foram secas em estufa à temperatura de 45 °C, por três dias. Em seguida, foram pulverizadas em moinho de facas e armazenadas em embalagens plásticas escuras.

Ensaio de pureza, teores de extrativos e mucilagens

Os ensaios de pureza, tais como umidade, cinzas totais e cinzas insolúveis foram realizados nas amostras de folhas, colhidas nas quatro estações, de acordo com a metodologia da Farmacopeia Brasileira (2010). O teor de extrativos foi determinado após extração em aparelho de Soxhlet por 5 horas com etanol comercial e destilação do solvente em rotavapor. Os extratos foram transferidos para pequenos vidros já tarados, colocados em estufa a 40 °C até evaporação total do solvente e calculados pela massa percentual de quatro determinações de todas as amostras. O

teor de mucilagens ou índice de intumescência foi calculado pela medida do volume ocupado, pelo intumescimento de 1 g da droga e pela adição de água sob condições definidas (Farmacopeia Brasileira, 2010).

Caracterização fitoquímica e doseamentos

A prospecção das classes de metabólitos secundários, presentes nos extratos etanólicos das quatro coletas, foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD) analítica em gel de sílica G e reagentes seletivos para as diversas classes de produtos naturais, de acordo com Wagner e colaboradores (1984). Foram utilizados padrões de referência para cada classe química. As substâncias de referência usadas foram ácido gálico, rutina, sitosterol e cumarina, obtidas da Sigma e saponina padrão Merck.

Para a quantificação de taninos procedeu-se a extração do material vegetal das quatro estações do ano, com água sob refluxo por 30 minutos. Posteriormente, o material foi filtrado (sol 1). A 20 mL do filtrado foi adicionado 0,2 g de pó de pele (Sigma) que foram deixados sob agitação por 1 h (sol 2). Uma alíquota de 5 mL do filtrado da sol 1 e 2 foi transferida para 2 balões volumétricos de 25 mL, 2ml do reagente de Follin-Denis e o volume foi completado com solução de carbonato de sódio a 10,6% (p/v). A absorvância foi determinada a λ 760 nm após 30 minutos. O teste foi feito em triplicata e a porcentagem de taninos totais foi calculada com base na diferença dos valores de absorção da solução 1 e 2, calculados com uma curva de calibração utilizando o pirogalol (Farmacopéia Brasileira, 2010).

Para a quantificação de flavonoides procedeu-se a extração e a hidrólise do material vegetal das quatro estações do ano, sob refluxo com 2 mL de ácido clorídrico concentrado por 30 minutos. Após o refluxo, as agliconas flavonoídicas foram exaustivamente extraídas com acetato de etila. A uma alíquota de 10 mL da solução de acetato de etila de cada amostra foi adicionada 1 mL de solução de $AlCl_3$ a 2% (p/v) e o volume de um balão volumétrico de 25 mL foi completado com solução metanólica de ácido acético a 5% (v/v). A absorvância foi determinada a λ 425 nm após 30 min. O teste foi feito em triplicata e a porcentagem de flavonoides totais foi calculada com uma curva de calibração utilizando a rutina (Farmacopeia Brasileira, 2010).

Preparação do extrato para determinar a atividade antioxidante

Foram preparados dois extratos do pó das folhas. O primeiro em aparelho de Soxhlet, com etanol comercial, das 4 estações do ano (EET) e o segundo com extrações sucessivas do material vegetal, em aparelho de Soxhlet, com hexano e posteriormente com acetato de etila (EAT). Os extratos foram concentrados em rotavapor a 60°C.

Atividade antioxidante - qualitativo

A atividade antioxidante do extrato etanólico, das quatro coletas realizadas durante o ano, foi avaliado pelo método do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) em CCD analítica. Solução etanólica de

DPPH a 0,02% foi borrifada sobre os extratos eluídos em clorofórmio:metanol:água (70:30:4) em placa cromatográfica de sílica gel. Posteriormente determinou-se a atividade antioxidante do extrato que apresentou reação mais intensa.

Atividade antioxidante - quantitativo

A atividade antioxidante dos extratos etanólico (EET) e de acetato de etila (EAE) foram avaliadas pelos métodos do radical DPPH (Kurechi, et al., 1980) e pela formação do complexo fosfomolibdênio de acordo com Prieto e col. (1999).

Sequestro de radicais livres (DPPH)

Soluções da amostra estoque (1mg/mL) do extrato etanólico e do extrato de acetato de etila desengordurado da planta foram diluídas a concentrações finais de 250, 125, 50, 25,10 e 5 mg/mL em etanol. Rutina foi usada como padrão. Um mL de DDPH a 0,3 mM foi adicionada a 2,5 mL das soluções amostras, e deixado a temperatura ambiente. Depois de 30 minutos, os valores da absorvância foram determinados a λ 517 nm em espectrofotômetro Hitachi UV-Vis 2200 e convertido em porcentagem da atividade antioxidante (A %), usando a fórmula atividade antioxidante (%) = $A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}} / A_{\text{controle}} \times 100$; em que A_{controle} é a absorvância da solução de DPPH sem a amostra; A_{amostra} é a absorvância da amostra com o DPPH. Os percentuais da atividade antioxidante (%AAO) das amostras foram calculados e o gráfico da %AAO versus concentração foi construído para se obter a concentração efetiva em 50% de atividade por meio da regressão linear. O teste foi feito em triplicata e rutina e BHT foram utilizados como controle positivo.

Determinação da capacidade antioxidante total com fosfomolibdênio

A capacidade antioxidante relativa (CAR) foi avaliada utilizando o método do reagente fosfomolibdênio, que se baseia na redução do Mo (VI) – Mo (V) pelo extrato e subsequente formação do complexo verde de fosfato/Mo (V) em pH ácido. A uma alíquota do extrato de 0,3 mL foi adicionado 2,7 mL da solução reagente (0,6 M ácido sulfúrico, 28 mmol de fosfato de sódio e 4 mmol de molibdato de amônia). Os tubos de ensaio contendo a solução da reação foram incubados a 95 °C por 90 minutos. Posteriormente a absorvância foi medida em comprimento de onda de 695 nm em espectrofotômetro Hitachi UV-visível 2200. As soluções amostras foram preparadas nas concentrações de 1000, 500 e 250 μ g/mL em etanol. A análise foi realizada em triplicata e etanol foi utilizado como branco. Rutina e BHT foram utilizadas como controle positivo. A atividade antioxidante relativa foi calculada com base na taxa de formação do complexo fosfomolibdênio em relação ao ácido ascórbico e expressa como equivalentes de ácido ascórbico (mmol/mg de extrato seco).

Avaliação estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata, sendo os resultados expressos em média \pm desvio-padrão (M \pm DP). O programa utilizado para a execução das análises foi o *Sigmaplot*, versão 1.0, realizando-se a análise de variância pelo teste ANOVA e a comparação entre as médias dos resultados pelo método Tukey, fixando-se o nível de significância de $p < 0,05$.

Para os testes de atividade antioxidante foram realizados análises de variância pelo teste ANOVA, seguido do teste de Tukey-Kramer, quando $p < 0,05$, utilizando-se o programa GraphPad Prism, versão 4.0.

RESULTADOS

Na Tabela 1 estão descritos os teores dos ensaios de pureza, de extrativos e mucilagens, referente às coletas nas quatro estações do ano das folhas de *D. rugosa*.

Tabela 1: Teores dos ensaios de pureza, mucilagens e de extrativos nas 4 estações do ano de *D. rugosa* (%)

Teores	Outono	Inverno	Primavera	Verão
Umidade	7,83 \pm 0,29	5,05 \pm 0,09	8,57 \pm 0,25	7,85 \pm 0,05
Cinzas totais	9,12 \pm 0,16	12,39 \pm 0,03	8,73 \pm 0,12	11,82 \pm 0,02
Cinzas insolúveis	6,19 \pm 0,07	8,13 \pm 0,06	5,043 \pm 0,25	8,27 \pm 0,32
Extrativos	21,25 \pm 3,12	30,73 \pm 6,91	31,97 \pm 6,42	26,13 \pm 3,29
Mucilagens	2,27 \pm 0,15b	3,33 \pm 0,11b	4,78 \pm 0,13a	3,53 \pm 0,23a

Resultados: média \pm desvio padrão (n=3); ^{a,b}médias diferem no teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os teores de umidade, cinzas totais, cinzas insolúveis, e de extrativos variaram de 5,05 a 8,57%; 8,73 a 12,39%; 5,04 a 8,13%; 21,25 a 31,97%, respectivamente nas quatro estações do ano. O teor de mucilagens foi maior no verão=primavera>outono= inverno, variando de 2,27% no outono a 4,78% na primavera.

A prospecção fitoquímica dos extratos etanólicos das coletas realizadas nas quatro estações do ano, por CCD, mostrou a presença de esteroides ou triterpenos, cumarinas, flavonoides, polifenóis, taninos e saponinas. Esses resultados corroboram com aqueles obtidos por Jácome e colaboradores (2010) que mostram a presença de flavonoides nas duas espécies *D. rugosa* e *D. elliptica*.

A Figura 1 mostra as variações no conteúdo de taninos e flavonoides nas folhas de *D. rugosa* colhidas nas quatro estações do ano. Estatisticamente os teores de flavonoides foram maiores no verão=outono>primavera>inverno, os de taninos verão=outono>primavera=inverno,

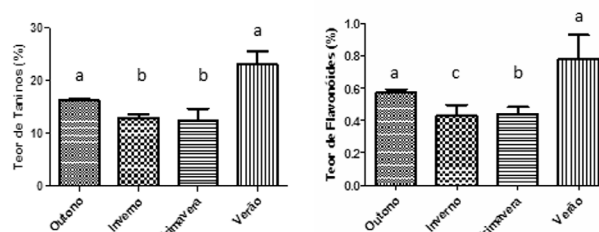


Figura 1. Porcentagem de taninos e flavonoides nas folhas de *D. rugosa* colhida nas 4 estações do ano (a,b,c médias diferem no teste de Tukey, $p < 0,05$).

Os extratos etanólicos (EET) das 4 estações foram avaliados no ensaio qualitativo com DPPH por CCD. Todas as amostras apresentaram coloração amarela quando borrifada com solução etanólica de DPPH a 0,02%, mas a coloração mais intensa foi do extrato de *D. rugosa* colhida no verão.

Os extratos EET das quatro estações do ano não apresentaram atividade antioxidante no ensaio quantitativo pelo DDPH ($CE_{50} > 2000 \mu\text{g/mL}$), o que foi atribuído à presença de metabólitos secundários interferentes. Portanto, usamos o extrato EAE, da amostra do verão, para o teste quantitativo, o qual apresentou uma CE_{50} $24,73 \pm 2,95 \mu\text{g/mL}$. Da mesma forma, quando os extratos EET foram submetidos ao ensaio do fosfomolibdênio os resultados foram negativos, mas o extrato EAE apresentou uma atividade antioxidante de $1,85 \pm 0,57 \text{ mmol}$ de ácido ascórbico /mg de extrato (Tabela 2).

Tabela 2: Atividade antioxidante dos extratos de *D. rugosa* e padrões pela redução do DPPH (IC_{50}) e pela formação do complexo fosfomolibdênio (CAR).

Extratos de <i>D. rugosa</i>	DPPH CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	CAR (mmol/mg de extrato)
EET verão	> 2000	0,08 \pm 0,001
EAE desengordurado	24,73 \pm 2,95	1,85 \pm 0,57
Rutina	9,48 \pm 0,64	1,91 \pm 0,05
BHT	2,66 \pm 0,08	3,26 \pm 0,07

Resultados: média \pm desvio padrão (n=3). CAR=capacidade antioxidante relativa, calculada para 1000 $\mu\text{g/mL}$ de amostra; EET=extrato etanólico; EAE=extrato de acetato de etila; BHT=di-terc-butil metil fenol

DISCUSSÃO

A Farmacopeia brasileira estabelece valores máximos para os ensaios de pureza como umidade, cinzas totais e cinzas insolúveis para todas as drogas vegetais. Esses valores para as folhas de *D. rugosa* foram de 8,57%; 12,39% e 8,27%, respectivamente. O teor de umidade, quando alto, pode indicar que a secagem da droga vegetal não foi adequada. A determinação dos teores de cinzas totais e insolúveis permite a verificação de impurezas inorgânicas como sílica e constituintes silicosos da droga. Conforme Barroso e colaboradores (1978), a aspereza característica das folhas de *D. rugosa* deve-se ao alto teor de sílica presente nas células epidérmicas e é uma característica da família Dilleniaceae. Logo, essas determinações constituem referências de qualidade e caracterização da matéria prima vegetal.

Os teores de extrativos e de mucilagens são específicos para cada droga vegetal. O teor de mucilagens foi maior na primavera e representa um importante mecanismo de adaptação das plantas a ambientes xéricos, pois pode estar relacionado à retenção de água (Silva & Potiguara 2009).

Como os teores de flavonoides e de taninos foram maiores no verão e no outono e podem ser os metabólitos responsáveis pela atividade anti-inflamatória, inferimos que a melhor época de coleta, que conduza a uma matéria-prima vegetal com maiores concentrações de princípios ativos, é no verão e no outono (Figura 1). Esses teores no verão (0,70 % e 16,73%, respectivamente) podem ser considerados expressivos, uma vez que espécies, que têm

como princípios ativos os flavonoides e taninos, citadas na Farmacopeia Brasileira, apresentam teores que variam de 0,4% a 1,5% para flavonoides (calêndula e cratogeomomus) e 2% a 9% para taninos (espinaheira santa e quebra-pedra) (Farmacopeia Brasileira, 2010).

Em *D. rugosa* os teores de compostos fenólicos foram maiores no verão e no outono, indicando que a maior intensidade de radiação solar é um dos fatores que favorece maior produção desses compostos. Isso pode ser explicado, principalmente no caso de flavonoides, pela proteção proporcionada por estes metabólitos contra a foto-destruição ao absorver e/ou dissipar a energia solar, dificultando assim a danificação dos tecidos mais internos pela radiação UV-B (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

Em *Maytenus aquifolium* o maior teor de flavonoides e fenóis totais ocorreu na primavera (Yariwake et al., 2005). Nas folhas de *Campomanesia adamantium* o teor de flavonoides foi maior com o aumento de temperatura (Coutinho et al., 2010). Em folhas de *Eugenia uniflora* a ocorrência de altos teores de taninos hidrolisáveis ocorreram durante a estação de chuvas, enquanto que os flavonoides foram mais produzidos principalmente na estação seca (Santos et al., 2011). Estes fatos sugerem que mudanças climáticas podem ser um dos fatores que afetam os níveis de polifenóis.

Uma avaliação da relação entre a atividade antioxidante, sequestro de radicais livres com o DPPH e a presença de fenólicos, fontes de antioxidantes naturais, pode ser uma ferramenta para sugerir a bioatividade dos extratos de drogas vegetais. Fenólicos de plantas podem agir como agentes redutores, uma vez que o estresse oxidativo está relacionado a uma série de doenças crônicas como: aterosclerose, doenças cardiovasculares, artrite e câncer (Masella et al., 2005; Dornas et al., 2007).

Os extratos EET preparados a partir das 4 coletas nas estações do ano apresentaram atividade antioxidante no teste do DPPH em CCD. Como era de se esperar, a amostra coletada no verão apresentou reação mais intensa devido a maior concentração de flavonoides e taninos. Os resultados mostraram que a atividade antioxidante pelo método do radical DPPH foi diretamente proporcional ao teor de taninos totais e flavonoides (Figura 1).

Os métodos utilizados para avaliação do potencial antioxidante do extrato de folhas de *D. rugosa* demonstraram que o extrato de EAE apresenta atividade antioxidante, devido, possivelmente, ao maior conteúdo em substâncias fenólicas (flavonoides e taninos). A atividade antioxidante desse extrato, no ensaio do DPPH e do fosfomolibdênio, quando comparado com o EET do verão (Tabela 2), denota o potencial desse extrato purificado. Resultados semelhantes podem ser observados na fração de acetato de etila de *Maytenus ilicifolia* que apresentou CE_{50} $25,39 \pm 1,04$ no ensaio com o DPPH (Pessuto et al., 2009).

A atividade antioxidante do extrato de EET de *D. rugosa*, quando comparado com o extrato EAE, demonstrou que o segundo método extrativo foi mais seletivo para potencializar a atividade antioxidante.

Em conclusão, as variações sazonais e a atividade antioxidante do extrato EAE desengordurado de *D. rugosa* são significativas e determinantes para definir a época de futuras coletas para estudos farmacológicos e para o desenvolvimento de um fitoterápico.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de desenvolvimento de Pesquisa do Estado de Minas Gerais FAPEMIG, pelo suporte financeiro e concessão das bolsas de iniciação científica de J.M.Macedo e L.G.P. de Souza.

ABSTRACT

Seasonal variation in the flavonoid and tannin contents and antioxidant activity of Davilla rugosa Poir

***Davilla rugosa* Poir. (Dilleniaceae) is a woody vine, popularly known as “folha de lixa e cipó-caboclo”, native to forest edges widely distributed across Brazil. It is used as an analgesic, vasoconstrictor and anti-ulcer agent and is useful in the treatment of hemorrhoids and varicose veins. The aim of this study was to investigate the influence of seasonal changes on some parameters of its leaves, such as the contents of flavonoids and tannins and antioxidant activity. The contents of flavonoids and tannins were determined in each of the four seasons, as recommended by the Brazilian Pharmacopeia, and found to be highest in summer (0.71%; 16.73%), followed by autumn (0.58%; 16.39%). Considering that phenolic substances are probably responsible for the anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities, we can infer that the best time for collection, to obtain a raw material with good concentrations of these metabolites, is in summer and autumn. The antioxidant activity of the ethyl acetate extract, subjected to the DPPH test after defatting with hexane, showed an EC₅₀ of 24.73 ± 2.95 µg/mL and the equivalent of 1.85 ± 0.57 mmol ascorbic acid/mg dry extract in the phosphomolybdenum assay. The antioxidant activity determined for this extract enhances the anti-inflammatory and anti-ulcer activities attributed to the species.**

Keywords: *D. rugosa*. Phenolics. Seasonal variation and antioxidant activity.

REFERÊNCIAS

Barroso GM, Guimarães EF, Ichaso CLF, Costa CG, Peixoto AL. Sistemática das Angiospermas do Brasil. São Paulo: Ed. da Universidade de São Paulo; 1978. v.1.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 14, de 13 e 14 de dezembro de 2010. [Internet]. Formulário Nacional Fitoterápico. [citado 2012 dez. 8]. Disponível em: <http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/SGu>.

Correa PM. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional; 1931. v.2.

Coutinho MAS, Muzitano MF, Costa SS. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. Rev Virtual Quim. 2009;1(3):241-56.

Coutinho ID, Kataoka VMF, Honda NK, Coelho RG, Vieira MC, Cardoso CAL. Influência da variação sazonal nos teores de flavonoides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae. Rev Bras Farmacogn. 2010;20(3):322-7.

David JM, Souza JC, Guedes MLS, David JP. Estudo fitoquímico de *Davilla rugosa*: flavonoides e terpenóides. Rev Bras Farmacogn. 2006;16(1):105-8.

Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F. Flavonoids: old and new aspects of class of natural therapeutic drugs. Life Sci. 1999;65(4):337-53.

Dornas WC, Oliveira TT, Rodrigues-das-Dores RG, Santos AF, Nagem TJ. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2007;28(3):241-9.

Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil. São Paulo: Editora Nacional; 1926.

Farmacopeia Brasileira. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2010. v.1-2.

Gobbo-Neto L, Lopes PN. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quim Nova. 2007;30(2):374-81.

Guaraldo L, Chagas DA, Konno AC, Korn GP, Pfiffer T, Nasello AG. Hydroalcoholic extract and fractions of *Davilla rugosa* Poiret: effects on spontaneous motor activity and elevated plus-maze behavior. J Ethnopharmacol. 2000;72(1-2):61-7.

Guaraldo L, Sertie JAA, Bacchi EM. Antiulcer action of the hydroalcoholic extract and fractions of *Davilla rugosa* Poiret in the rat. J Ethnopharmacol. 2001;76(2):191-5.

Gurni, AA, Kubitzki, K. Flavonoid chemistry and systematics of the Dilleniaceae. Biochem Syst Ecol. 1981;9:109-14.

Hyakutake S. Contribuição para o estudo botânico da espécie *Davilla rugosa* Poiret var. *rugosa*, Dilleniaceae. Rev Fac Farm Bioquím. 1969;7:285-93.

Jácome RLRP, Oliveira VDC, Oliveira MAT, Mariano MCF, Oliveira AB. Estudo farmacognóstico comparativo das folhas de *Davilla elliptica* St. Hil. e *D. rugosa* Poir. (Dilleniaceae). Rev Bras Farmacogn. 2010;20(3):390-6.

Kurechi T, Kikugawa K, Kato T. Studies on the antioxidants. 13. Hydrogen donation capability of antioxidants to 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl. Chem Pharm Bull. 1980; (28):2089-93.

Leong LP, Shui G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. Food Chem. 2002;76(1):69-75.

Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione

- and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*. 2005;16(10):577-86.
- Pessuto MB, Costa IC, Souza AB, Nicoli EFM, Mello JCP, Petereit F, Luftmann H. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. *Quim Nova*. 2009;32(2):412-6.
- Prietro P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*. 1999;269(2):337-41 .
- Santos RM, Oliveira MS, Ferri PH, Santos SC. Variação sazonal nos teores de fenóis de folhas de *Eugenia uniflora* L. *Rev Bras Plantas Med*. 2011;13(1):85-9.
- Silva RAD. Plantas medicinais brasileiras. Estudo botânico e farmacognóstico. *Rev Bras Farm*. 1989;(70):36-8.
- Silva RJF, Potiguara RCV. Substâncias ergásticas foliares de espécies amazônicas de *Oenocarpus* Mart. (Arecaceae): caracterização histoquímica e ultra-estrutural. *Acta Amaz*. 2009;39(4):793-8.
- Souza JNS, Silva EM, Loir A, Rees JF, Rogez H, Larondelle Y. Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological in vitro assays. *Food Chem*. 2008;(106):331-9.
- Souza VC, Lorenzi H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2005.
- Yariwake JH, Lanças FM, Cappelaro EA, Vasconcelos EC, Tiberti LA, Pereira MAS, Franca SC. Variabilidade sazonal de constituintes químicos (triterpenos, flavonóides e polifenóis) das folhas de *Maytenus aquifolium* Mart. (Celastraceae). *Rev Bras Farmacogn*. 2005;15(2):162-8.
- Wagner H, Bladt S, Zgainski EM. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Berlin: Springer-Verlag; 1984.

Recebido em 04 de outubro de 2012

Aceito publicação em 07 de janeiro de 2013.