



ARTIGO

Propriedades antioxidantes de folhas e caules de *Bauhinia microstachya* (Raddi) J. F. Macbr.

Éverson Miguel Bianco^{1*} e Cid Aimbiré de Moraes Santos²

Recebido: 01 de junho de 2009

Recebido após revisão: 14 de junho de 2010

Aceito: 29 de julho de 2010

Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1258>

RESUMO: (Propriedades antioxidantes de folhas e caules de *Bauhinia microstachya* (Raddi) J.F. Macbr.). Este trabalho descreve as atividades antioxidantes *in vitro* de diferentes extratos (EBH_p, EBH_c, EBC_p, EBC_c, EBE_f e EBE_c) e frações (FAE_f e FAE_c) obtidos de folhas e caules de *Bauhinia microstachya* (Fabaceae), através de duas metodologias distintas: formação do complexo fosfomolibdênico (a) e redução do radical livre DPPH (b). Quando avaliados pelo método da formação do complexo fosfomolibdênico, EBE_p, EBE_c, FAE_f e FAE_c (200 µg.mL⁻¹) apresentaram as maiores atividades antioxidantes em relação ao padrão ácido ascórbico (Vitamina C) (45% ± 1,55, 47% ± 1,10, 49% ± 2,06 e 43% ± 3,14, respectivamente). De forma semelhante, quando testadas pelo método da redução do DPPH, FAE_f e FAE_c demonstraram-se altamente eficientes como antioxidantes (EC₅₀ = 2,75 e 2,86 µg.mL⁻¹, respectivamente), em relação aos padrões ácido ascórbico (EC₅₀ = 36 ± 0,35 µg.mL⁻¹), quercetina (EC₅₀ = 1,60 ± 0,17 µg.mL⁻¹) e rutina (EC₅₀ = 8,13 ± 0,13 µg.mL⁻¹). Estudos fitoquímicos, bem como análises de RMN ¹H e ¹³C, determinaram, nas frações mais ativas (FAE_f e FAE_c), a presença de substâncias polifenólicas (taninos e flavonóides). O percentual de flavonóides totais das folhas de *B. microstachya* foi verificado, sendo de 0,12 g% ± 0,03 (n = 5). Estes resultados, além de demonstrarem o alto potencial antioxidante *in vitro* desta espécie vegetal, estimulam novos estudos químicos, farmacológicos e biotecnológicos voltados à produção de possíveis fitoterápicos destinados ao combate dos radicais livres.

Palavras-chave: produtos naturais, plantas medicinais, *Bauhinia*, flavonóides, DPPH.

ABSTRACT: (Antioxidant properties of leaves and stems from *Bauhinia microstachya* (Raddi) J.F. Macbr.). This paper describes *in vitro* antioxidant activities of different extracts (EBH_p, EBH_c, EBC_p, EBC_c, EBE_f and EBE_c) and fractions (FAE_f and FAE_c) obtained from leaves and stems of *Bauhinia microstachya* (Fabaceae), using two distinct methodologies: the formation of a phosphomolibdenum complex (a) and the chemical reduction of DPPH free radical (b). When assayed by the phosphomolibdenum complex formation method, EBE_p, EBE_c, FAE_f and FAE_c (200 µg.mL⁻¹) showed the highest antioxidant activities with regard to standard ascorbic acid (Vitamin C) (45% ± 1.55, 47% ± 1.10, 49% ± 2.06, 43% ± 3.14, respectively). Similarly, when assayed by the DPPH reduction method, FAE_f and FAE_c showed that they are highly efficient as antioxidants (EC₅₀ = 2.75 and 2.86 µg.mL⁻¹ respectively) with regard to standard ascorbic acid (EC₅₀ = 36 ± 0.35 µg.mL⁻¹), quercetin (EC₅₀ = 1.60 ± 0.17 µg.mL⁻¹) and rutin (EC₅₀ = 8.13 ± 0.13 µg.mL⁻¹). Phytochemical studies, as well as ¹H and ¹³C NMR analysis of the most active fractions (FAE_f and FAE_c) established the presence of polyphenols (tannins and flavonoids). The percentage of total flavonoids from the leaves of *B. microstachya* was shown to be 0.12 g% ± 0.03 (n = 5). These results not only demonstrate the high *in vitro* antioxidant potential of this plant species, but prompt further chemical, pharmacological and biotechnological research studies with a view to producing new phytotherapies for medical use which are aimed at combating free radicals.

Key words: natural products, medicinal plants, *Bauhinia*, flavonoids, DPPH.

INTRODUÇÃO

A procura por novas substâncias antioxidantes, especialmente de origem natural, tem sido objeto de vários estudos (Oliveira *et al.* 2009, Pessuto *et al.* 2009). Para combater o perigo do estresse oxidativo causado pelos radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio (EROs), plantas e animais, em condições normais, possuem mecanismos de defesas próprios (antioxidantes), os quais, tendem a decrescer com a idade, tornando-os insuficientes (Hirata *et al.* 2004).

Em humanos, o desequilíbrio entre espécies oxidantes e antioxidantes (*glutathione peroxidase*, *glutathione reductase*, *superóxido dismutase* e *catalase*) pode provocar uma série de desordens celulares, tais como, peroxidação

lipídica, danos proteicos-enzimáticos e inclusive, alterações no DNA, as quais podem estar associadas a inúmeros processos deletérios, como o câncer, arteriosclerose, *Diabetes mellitus*, artrite reumatóide, distrofia muscular, catarata, desordens neurológicas e do trato respiratório e envelhecimento precoce (Fleschin *et al.* 2000, Wickens, A. P. 2001, Hirata *et al.* 2004).

Organismos aeróbios, desde as cianobactérias até o homem, desenvolveram uma série de mecanismos fisiológicos e moleculares de defesa contra os efeitos das EROs. Em células de organismos fotossintetizantes esses mecanismos estão fortemente desenvolvidos, uma vez que suas membranas fotossintéticas, por conterem lipídios não saturados como elementos estruturais majo-

1. Mestrando (2001-2003) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Farmacognosia, Universidade Federal do Paraná. Rua Prefeito Lothário Meissner, 3400, CEP 80210-170, Curitiba, PR, Brasil.

2. Professor Titular do Departamento de Farmácia, Laboratório de Farmacognosia, Universidade Federal do Paraná. Rua Prefeito Lothário Meissner, 3400, CEP 80210-170, Curitiba, PR, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: ebianco@chemist.com

ritários, constituem alvos primários aos efeitos nocivos da oxidação por EROs. Por essa razão, folhas de plantas superiores, bem como talos de macroalgas, podem conter numerosas substâncias antioxidantes de importância tanto para as indústrias alimentícias como para as farmacêuticas (Nordberg *et al.* 2001, Rocha *et al.* 2007).

Com o objetivo de ampliar as informações etnobotânicas de espécies vegetais nativas da Mata Atlântica do Estado Paraná, este trabalho desenvolvido a partir de estudo preliminar de Menezes *et al.* (2004), demonstra o potencial antioxidante *in vitro* de extratos e frações obtidas de *Bauhinia microstachya* (Raddi) J. F. Macbr., espécie conhecida popularmente por escada-de-macaco ou cipó-escada (Fortunato 1986), através do método da formação do complexo fosfomolibdênico e o da redução do radical livre 1,1-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH).

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material

Folhas e caules de *B. microstachya* (2,2 kg) foram coletadas em fevereiro de 2002, em Morretes, PR, em uma região de Mata Atlântica (25°30'S e 48°50'W). A espécie foi identificada pelo botânico Dr. Gerdt Hatschbach do Herbário do Museu Botânico de Curitiba, PR, onde uma exsicata sob número de registro 264361 encontra-se depositada.

Preparo dos extratos e obtenção das frações

Folhas e caules de *B. microstachya* foram desidratadas em estufa (45°C, 48h), trituradas mecanicamente e extraídas (96h) com *n*-hexano, CHCl₃ e EtOH/H₂O (9:1), obtendo-se os seguintes extratos: EBH_F (extrato bruto em *n*-hexano, folhas), EBC_F (extrato bruto em CHCl₃, folhas), EBE_F (extrato bruto em EtOH 90%, folhas), EBH_C (extrato bruto em *n*-hexano, caules), EBC_C (extrato bruto em CHCl₃, caules) e EBE_C (extrato bruto em EtOH 90%, caules), que foram secos em evaporador rotativo (40°C). Desses, EBE_F e EBE_C foram particionados com AcOEt, originando quatro frações, duas orgânicas e duas aquosas: FAE_F (fração em AcOEt, folhas), FA_F (fração aquosa, folhas), FAE_C (fração em AcOEt, caules) e FA_C (fração aquosa, caules).

Método da formação do complexo fosfomolibdênico

Extratos e frações (0,3 mL, 200 µg.mL⁻¹) foram incorporados a 3 mL de solução reagente (H₂SO₄ 0,6 mol.L⁻¹, Na₃PO₄ 28 mmol.L⁻¹, (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O 4 mmol.L⁻¹, em água destilada), incubados em banho-maria a 95°C por 90 minutos, resfriados a 25°C e lidos em espectrofotômetro UV-Vis 1601 Shimadzu, a 695 nm. Em paralelo, utilizou-se um sistema controle, constituído por 0,3 mL do solvente utilizado no preparo das amostras problemas (tratamentos) e 3 mL de solução reagente. Os resultados foram expressos com base na taxa de formação do complexo fosfomolibdênico em relação ao padrão ácido ascórbico (AAR%), com valor de referência 1,0, utilizando

a seguinte base de cálculo:

$$AAR\% = 100 \times [(Abs_{tratamento} - Abs_{controle}) / (Abs_{ác. ascórbico} - Abs_{controle})]$$

onde Abs = absorbância (Prieto *et al.* 1999, Yamaguti-Sasaki *et al.* 2007).

Método da redução do radical livre 1,1-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH)

Este método se baseia na transferência de elétrons de uma substância antioxidante para um radical livre, o DPPH, que ao se reduzir perde a sua coloração púrpura, tornando-se amarelo. Os ensaios seguiram a metodologia descrita na literatura (Braca *et al.* 2001, Mensor *et al.* 2001, Pessuto *et al.* 2009), onde o consumo de DPPH foi monitorado através da medida do decréscimo da absorbância das soluções das amostras, em um espectrofotômetro UV-1601 Shimadzu a 518 nm. As frações FAE_F e FAE_C foram diluídas em EtOH, obtendo-se soluções nas seguintes concentrações: 0,75, 1,5, 3,0, 6,0 e 12,0 µg.mL⁻¹ (FAE_F) e 0,25, 0,5, 1,0 2,0 e 4,0 µg.mL⁻¹ (FAE_C) (tratamentos) que foram adicionadas (2,5 mL) à solução de DPPH/EtOH (1,0 mL, 0,3 mmol.L⁻¹). O controle se deu apenas pela reação de EtOH (2,5 mL) com a solução de DPPH/EtOH (1,0 mL, 0,3 mmol.L⁻¹), enquanto que, o branco apenas pela mistura de EtOH (1 mL) com as soluções tratamentos (2,5 mL), de modo que, para cada concentração existiu um branco. Todas as reações foram feitas em triplicatas e nas mesmas condições de análise (30 minutos, 25°C) e os resultados foram expressos a partir da seguinte base de cálculo:

$$AAR\% = 100 - [(Abs_{tratamento} - Abs_{branco}) \cdot 100] / Abs_{controle}$$

onde Abs = absorbância. A critério de comparação foram utilizados como controles positivos os padrões ácido ascórbico, quercetina e rutina.

A concentração eficiente 50% (CE₅₀), quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, foi determinada utilizando o programa Microcal Origin 7,5, a partir de uma curva exponencial de primeira ordem, obtida plotando-se na abscissa as concentrações da amostra (µg.mL⁻¹) e na ordenada, a porcentagem de DPPH remanescente AAR% (Sousa *et al.* 2007).

Método da cromatografia em camada delgada (CCD)

Extratos e frações de *B. microstachya* foram analisados por CCD (Merck). A fase móvel utilizada foi EtOAc/HCOOH/CH₃COOH/H₂O (100:5:5:13) e o revelador solução de DPPH/EtOH (0,2%). O aparecimento de manchas amarelas (em até 30 minutos) nas placas, em contraste com a coloração púrpura do DPPH, indica atividade antioxidante (Conforti *et al.* 2002, Wagner & Bladt 1996).

Quantificação de flavonóides totais

O teor de flavonóides presentes nas folhas de *B. microstachya* foi determinado através de técnica descrita pela *Pharmacopoeia Helvetica*, padronizada para *Passiflora*

Tabela 1. Atividades antioxidantes de extratos e frações de *B. microstachya*.

Padrão/Amostras ^a	AAA% (200 µg.mL ⁻¹) ^a
Ácido ascórbico	100
EBH _F	31 ± 0,82
EBC _F	31 ± 2,1
EBE _F	45 ± 1,55
FAE _F	49 ± 2,06
EBH _C	25 ± 1,43
EBC _C	22 ± 3,28
EBE _C	47 ± 1,10
FAE _C	43 ± 3,14
Padrões/Amostras ^b	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹) ^b
Ácido ascórbico	36 ± 0,35
Quercetina	1,60 ± 0,17
Rutina	8,13 ± 0,13
FAE _F	2,75 ± 0,11
FAE _C	2,86 ± 0,004

a. Método utilizado = formação do complexo fosfomolibdênico; AAA% = Atividade antioxidante percentual em relação ao padrão ácido ascórbico.

b. Método utilizado = redução do DPPH; EC₅₀ = Concentração eficiente.

incarnata. O método consistiu em reagir flavonóides previamente extraídos de uma amostra problema (600 mg), com um reativo de AlCl₃, por 30 minutos, da qual o produto de reação formado (3 mL) foi lido a 422 nm em um espectrofotômetro UV-1601 Shimadzu. As reações foram feitas em triplicatas e os resultados foram expressos a partir da seguinte base de cálculo:

$$\text{Teor de flavonóides\%} = \text{Abs.} \cdot 1,25/m$$

onde Abs = absorvância e m = massa da amostra em gramas (Pharmacopeia Helvetica 1987, Bianco 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As atividades antioxidantes de extratos e frações obtidos de folhas e caules de *B. microstachya* foram avaliadas pelo método da formação do complexo fosfomolibdênico. Destacaram-se nestas análises os extratos hidrofílicos EBE_F, EBE_C e as frações FAE_F e FAE_C, obtidas ambas por partição com AcOEt (Tab. 1).

Estudos fitoquímicos, bem como, análises de RMN ¹H, ¹³C 1D e 2D (RMN ¹Hx¹H-COSY e RMN ¹Hx¹³C-HMBC), determinaram nas frações (FAE_F e FAE_C) a presença de substâncias polifenólicas (taninos e flavonóides) (Bianco 2003, Bianco & Santos 2003).

Análises de cromatografia em camada delgada (CCD) de FAE_F, quando reveladas com Np-PEG (revelador específico para substâncias polifenólicas) sob luz UV 365 nm (Wagner & Bladt 1996), demonstraram a presença de bandas amarelas, supostamente polifenóis as quais, ao serem reveladas com DPPH/EtOH (0,2%), adquiriram coloração amarela intensa, indicando atividade antioxidante. Dessa fração (FAE_F), em trabalho anterior, Bianco e Santos (2003) isolaram o flavonóide vitexina. Neste estudo, o teor de flavonóides totais das folhas de *B. microstachya* foi determinado, sendo de 0,12 g% ± 0,03 (n=5).

Diversos flavonóides já foram isolados do gênero *Bauhinia* (Silva & Cechinel-Filho 2002), sendo várias

funções ecológicas atribuídas a eles. Entre essas funções, a antioxidante é uma delas (Van Acker *et al.* 1995, Larson 1998, Simões *et al.* 2001, *et al.* 2001, Fazilatun *et al.* 2005).

Com base nos resultados obtidos, FAE_F e FAE_C foram reavaliadas pelo método do radical livre DPPH, o qual constitui um método amplamente descrito na literatura em estudos de antioxidantes naturais (taninos, flavonóides, catequinas, lignanas, fucoxantinas, ácidos fenólicos e terpenos), tanto de plantas superiores, como de algas e alguns invertebrados marinhos (Brand-Williams *et al.* 1995, Sánchez-Moreno *et al.* 2002, Utkina *et al.* 2004, Andrade *et al.* 2007, Rocha *et al.* 2007). Os resultados obtidos reafirmam a alta atividade antioxidante dessas duas frações (EC₅₀ = 2,75 ± 0,11 e 2,86 ± 0,004 µg.mL⁻¹, respectivamente) em relação ao padrão ácido ascórbico (EC₅₀ = 36 ± 0,35 µg.mL⁻¹), quercetina (1,60 ± 0,17 µg.mL⁻¹) e rutina (8,13 ± 0,13 µg.mL⁻¹) (Tab. 1), sugerindo que flavonóides possam estar envolvidas, pelo menos em parte, no mecanismo antioxidante tanto desta espécie, como de outras do gênero *Bauhinia*.

Considerando essa premissa, o presente trabalho estimula a continuidade dos estudos de isolamento e avaliação dessas substâncias polifenólicas, tanto *in vitro* como *in vivo*, as quais podem vir a contribuir com efeitos de proteção contra diversos processos patológicos que atingem o homem.

Estes resultados, apesar de utilizarem métodos distintos, complementam os apresentados por Silva *et al.* (2007), com espécimes de *B. microstachya* coletados no estado do Rio Grande do Sul.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao botânico Dr. Gerdt Hatschbach, do Museu Botânico de Curitiba, PR, pela identificação do vegetal e ao CNPq, CAPES e COPEL/PR, pelo apoio financeiro (2001-2003).

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, C. A., COSTA, C. K., BORA, K., MIGUEL, M. D., MIGUEL, O. G. & KERBER, V. A. 2007. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17 (2): 231-235.
- BIANCO, E. M. 2003. *Química e potencial antioxidante de folhas e caules de Bauhinia microstachya* (Raddi) Macbride, Caesalpinaceae. 104f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil, 2003.
- BIANCO, E. M. & SANTOS, C. A. M. 2003. Substâncias isoladas das folhas de *Bauhinia microstachya* (Raddi) Macbr. (Caesalpinaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13 (2): 93-99.
- BRACA, A., DE TOMMASI, N., BARI, L. D., PIZZA, C., POLITI, M. & MORELLI, I. 2001. Antioxidant principles from *Bauhinia terapotensis*. *Journal of Natural Products*, 64(7): 892-895.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E. & BERSET, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28 (1): 25-30.
- CONFORTI, F., STATI, G. A., TUNDIS, R., MENICHINI, F. & HOUGHTON, P. 2002. Antioxidant activity of methanolic extract of Hy-

- pericum triquetrifolium* Turra aerial part. *Fitoterapia*, 73 (6): 479-483.
- FAZILATUN, N., NORNISAH, M. & ZHARI, I. 2005. Superoxide radical scavenging properties of extracts and flavonoids isolated from the Leaves of *Blumea balsamifera*. *Pharmaceutical Biology*, 43 (1): 15-20.
- FLESCHEIN, S., FLESCHEIN, M., NITA, S., PAVEL, E. & MAGEARU, V. 2000. Free radicals mediated protein oxidation in biochemistry. *Roumanian Biotechnological Letters*, 5: 479-495.
- FORTUNATO, R. H. 1986. Revision del genero *Bauhinia* (Cercideae, Caesalpiniaceae, Fabaceae) para la Argentina. *Darwiniana*, 27 (1-4): 527-557.
- HIRATA, L. L., SATO, M. E. O. & SANTOS, C. A. M. 2004. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 23 (3): 418-424.
- LARSON, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27 (4): 969-978.
- MENEZES, P. R., SCHWARZ, E. A. & SANTOS, C. A. M. 2004. In vitro antioxidant activity of species collected in Paraná. *Fitoterapia*, 75: 398-400.
- MENSOR, L. L., REIS, A. S., MENEZES, F. S., LEITÃO, G. G., COUBE, C. S. & SANTOS, T. C. 2001. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, 15 (2): 127-130.
- NORDBERG, J. & ARNÉR, S. J. 2001. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31 (11), 1287-1312.
- OLIVEIRA, A. C., VALENTIM, I. B., GOULART, M. O. F., SILVA, C. A., BECHARA, E. J. H. & TREVISAN, M. T. S. 2009. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, 32 (3): 689-702.
- PHARMACOPOEIA HELVETICA. 1987. 7th ed. Berne: Eidgenössische. v. 1.
- PESSUTO, M. B., COSTA, I. C., SOUZA, A. B., NICOLI, F. M., MELLO, J. C. P., PETEREIT, F. & LUFTMANN, H. 2009. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. *Química Nova*, 32 (2): 412-416.
- PRIETO, P., PINEDA, M. & AGUILAR, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269 (2): 337-341.
- ROCHA, F. D., PEREIRA, R. C., KAPLAN, M. A. & TEIXEIRA, V. L. 2007. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17 (4): 631-639.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. 2002. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International*, 8(3): 121-137.
- SILVA, K. L. & CECHEINEL-FILHO, V. 2002. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. *Química Nova*, 25 (3): 449-454.
- SILVA, E. G., BEHR, G. A., ZANOTTO-FILHO, A., LORENZI, R., PASQUALI, M. A. B., RAVAZOLO, L. G., BORDIGNON, C. L., SILVA, F. A., ABOY, A. L., BASSANI, V. L., HENRIQUES, A. T., REGINATTO, F. H., DAL-PIZZOL, F. & MOREIRA, J. C. F. 2007. Antioxidant activities and free radical scavenging potential of *Bauhinia microstachya* (Rubiaceae) extracts linked to their polyphenol content. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 30 (8): 1488-1496.
- SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A. & PETROVICK, P. R. 1999. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da UFRGS/Ed. da UFSC. 821 p.
- SOUSA, C. M. M., SILVA, H. R., VIEIRA-JR, G. M., COSTA, L. S., ARAÚJO, D. S., CAVALCANTE, L. C. D., BARROS, E. D. S., ARAÚJO, P. B. M., BRANDÃO, M. S. & CHAVES, M. H. 2007. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, 30 (2): 351-355.
- UTKINA, N. K., MAKARCHENKO, A. E., SHCHELOKOVA, O. V. & VIROVAYA, M. V. 2004. Antioxidant activity of phenolic metabolites from marine sponges. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(4): 373-377.
- VAN ACKER, S. A., TROMP, M. N., HAENEN, G. R., VAN DER VIJGH, W. J. & BAST, A. 1995. Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 214 (3): 7510.