



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CAMPUS A. C. SIMÕES  
ICF – Instituto de Ciências Farmacêuticas  
CURSO FARMÁCIA

JEFFERSON ROCHA DE ALMEIDA

**IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA  
DELGADA DE ALTA PERFORMANCE (CCDAP): UMA REVISÃO DE  
LITERATURA.**

Maceió-AL

2023

JEFFERON ROCHA DE ALMEIDA

**IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA  
DELGADA DE ALTA PERFORMANCE (CCDAP): UMA REVISÃO DE  
LITERATURA.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
Curso de Farmácia da Universidade Federal de  
Alagoas, como requisito parcial à obtenção do  
título de Bacharelado em Farmácia.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dra. Samia Andricia Souza  
da Silva

Maceió-AL

2023

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

A447i Almeida, Jefferson Rocha de.  
Identificação de flavonoides por cromatografia em camada delgada de alta performance (CCDAP) : uma revisão de literatura / Jefferson Rocha de Almeida. – 2023.  
71 f. : il.

Orientadora: Samia Andricia Souza da Silva.  
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 45-58.  
Apêndices: f. 59-71.

1. Métodos cromatográficos de análise. 2. Cromatografia em camada delgada. 3. Flavonoides. 4. Revisão. I. Título.

CDU: 543.544

## RESUMO

Os Flavonoides são polifenóis de origem biossintética mista, são biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides e do ácido xiquímico. São um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal. Sendo um dos primeiros a ser isolado, a rotina em meados de 1930. Nesta ocasião acreditava-se que se tratava de uma nova vitamina, no entanto tratava de uma nova substância, um flavonoide. Devido à importância farmacêutica que os flavonoides demonstram na elaboração de medicamentos, por exemplo, sendo usados para o tratamento de doenças circulatórias como a hipertensão, isso porque alguns podem agir como cofator de vitamina C. Vários métodos foram concebidos para análise dos flavonoides em matrizes, dos quais Cromatografia em camada delgada de alta performance (CCDAP) aparenta ter maior destaque. E razão para esse destaque encontra-se entre suas vantagens, tais como, bom rendimento de amostra e baixo custo por análise, além da análise e separação simultânea de mais de uma amostra. Sendo assim, considerando a importância dos flavonoides e as vantagens da CCDAP como método para analisá-los. O presente trabalho teve por objetivo compilar informações sobre os protocolos de tratamento de amostras e de análise de flavonoides utilizando a técnica supracitada. Após identificação e seleção dos estudos conforme os critérios pré-estabelecidos (inclusão e exclusão), foram incluídos no presente trabalho: os artigos que usavam apenas extratos e/ou frações de origem vegetal; métodos para limpeza da amostra; trabalhos que usavam CCDAP para análise de frações e/ou extratos e/ou fases. O que resultou um total de 50 artigos incluídos. A organização dos dados foi realizada em um quadro no Word<sup>®</sup>, o qual pudesse ser analisado. O quadro foi dividido em colunas preenchidas com os seguintes dados: Tipo de amostras, padrões de flavonoides utilizados, método de extração + clean-UP, fases estacionárias, fases móveis, métodos de revelação e a referência. Como resultado, o quadro revelou certas recorrências no uso de padrões de flavonoides, fases móveis, estacionárias, reveladores e mesmo métodos de clean-up empregados na cromatografia em camada delgada de alta performance (CCDAP) na análise de flavonoides em matrizes de origem vegetal. Esses resultados foram apresentados por meio de quadros individualizados para cada elemento observado no presente estudo. Nesses quadros foram enumerados os elementos analisados, o número de estudos em que aparecem, proporção dos constituintes e a classificação, segundo as particularidades de cada elemento. Dessa forma sendo possível identificar os elementos de maior recorrência, estabelecer os possíveis critérios utilizados para a escolha de cada um destes elementos e quando necessário/possível sugerir alternativas menos custosas e/ou de mais fácil obtenção.

**Palavras-chave:** Métodos cromatográficos; CCDAP; Flavonoides; Revisão.

## ABSTRACT

Flavonoids are polyphenols of mixed biosynthetic origin, they are biosynthesized from the phenylpropanoids and shikimic acid pathway. They are one of the most important and diversified phenolic groups among products of plant origin. Rutin was one of the first to be isolated in the mid-1930s. At that time it was believed that it was a new vitamin, however it was a new substance, a flavonoid. Due to the pharmaceutical importance that flavonoids demonstrate in the preparation of medicines, for example, being used for the treatment of circulatory diseases such as hypertension, because some can act as a cofactor of vitamin C. Several methods have been designed for the analysis of flavonoids in matrices, of which High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) appears to have the most prominence. And the reason for this highlight lies among its advantages, such as good sample yield and low cost per analysis, in addition to the simultaneous analysis and separation of more than one sample. Therefore, considering the importance of flavonoids and the advantages of HPTLC as a method to analyse them. This study aimed to compile information on sample treatment and flavonoid analysis protocols using the aforementioned technique. After identification and selection of studies according to pre-established criteria (inclusion and exclusion), the following were included in this study: articles that used only extracts and/or fractions of plant origin; methods for cleaning the sample; works that used HPTLC for analysis of fractions and/or extracts and/or phases. Which resulted in a total of 50 articles included. The organization of the data was carried out in a table in Word<sup>®</sup>, which could be analysed. The table was divided into columns filled with the following data: Type of samples, standards of flavonoids used, extraction method + clean-up, stationary phases, mobile phases, development methods and the reference. As a result, the table revealed certain recurrences in the use of flavonoid standards, mobile and stationary phases, developers and even clean-up methods employed in high-performance thin layer chromatography (HPTLC) in the analysis of flavonoids in matrices of vegetable origin. These results were presented through individual tables for each element observed in the present study. In these tables, the analysed elements were listed, the number of studies in which they appear, the proportion of constituents and the classification, according to the particularities of each element. In this way, it is possible to identify the elements with the greatest recurrence, establish the possible criteria used to choose each of these elements and, when necessary/possible, suggest alternatives that are less expensive and/or easier to obtain.

**Keywords:** Chromatographic methods; HPTLC; Flavonoids; Review.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Classificação de flavonoides e exemplos de estruturas.....	19
Figura 2	- Fluxograma descrevendo a metodologia.....	28
Figura 3	- Padrões analíticos de glicosídeos de flavonoides utilizados na análise por CCDAP.....	29
Figura 4	- Padrões analíticos de geninas de flavonoides utilizados na análise por CCDAP.....	30
Figura 5	- Fases estacionárias utilizadas nas análises de flavonoides por CCDAP em relação a quantidade de trabalhos analisados (n=50).....	33
Figura 6	- Exemplos de cartuchos para extração em fase sólida.....	39
Figura 7	- Tubos Strata <sup>®</sup> -X PRO Solid Phase Extraction (SPE).....	39
Figura 8	- Placa corada com Reagente natural (NP) sob luz UV em $\lambda = 366 \text{ nm}$ .....	42
Figura 9	- Placa corada com Tricloreto de alumínio sob luz UV em $\lambda = 365 \text{ nm}$ .....	42
Figura 10	- Revelação de placa utilizando apenas indicador F254.....	43

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Exemplos de métodos reveladores.....	20
Quadro 2	Avanços feitos em CCD levando ao desenvolvimento de CCDAP.....	21
Quadro 3	Características da CCDAP e CLAE.....	22
Quadro 4	Atividades farmacológicas atribuídas a quercetina, rutina, kaempferol e luteolina.....	29
Quadro 5	Padrões analíticos de geninas e glicosídeos de flavonoides utilizados na análise por CCDAP.....	31
Quadro 6	Flavonoides mais recorrentes nos estudos de análise por CCDAP.....	32
Quadro 7	Relação Fase estacionaria X Custo de cromatoplasas para CCDAP.....	32
Quadro 8	Fases moveis mais recorrentes em análise de flavonoides por CCDAP.....	34
Quadro 9	Fases móveis com variação das proporções de solventes usadas na análise de flavonoides por CCDAP.....	35
Quadro 10	Recorrência do método SPE e fases solidas utilizadas.....	37
Quadro 11	Recorrência do método cromatografia em coluna e fases solidas utilizadas em clean up para análise de flavonoides por CCDAP.....	38
Quadro 12	Artigos que citam dimensões das colunas e quantidades de solventes utilizados em clean up para análise de flavonoides por CCDAP .....	38
Quadro 13	Custo dos reveladores utilizados em análises de flavonoides por CCDAP...	40



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UFAL	Universidade Federal de Alagoas
CCD	Cromatografia em camada delgada
GC	Cromatografia gasosa
CLAE	Cromatografia liquida de alta eficiência
CCDAP	Cromatografia em camada delgada de alta performance
HPTLC	Cromatografia em camada delgada de alta performance (High performance thin-layer chromatography)
CLAE-EM	Cromatografia liquida de alta performance acoplada a espectrometria de massas (High performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry)
SPA	Extração em fase sólida (Solid Phase Extraction)
NP	Produto natural (Natural product)
PEG	Polietilenoglicol (polyethylene glycol)

## LISTA DE SÍMBOLOS

USD	Dólar
R\$	Real
%	Porcentagem
®	Assinatura registrada

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	Objetivo geral.....	16
2.1.1	Objetivos específicos.....	16
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
3.1	Flavonoides.....	17
3.1.2	Importância, funções e classificação.....	17
3.2	Métodos cromatográficos de análise.....	20
3.2.1	Aplicações da CCDAP.....	23
3.2.2	CCDAP em produtos farmacêuticos.....	23
3.2.3	CCDAP em produtos naturais.....	23
3.2.4	Outras aplicações da CCDAP.....	24
3.3	Métodos de clean up de amostra para análise.....	24
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	25
4.1	Identificação do objetivo da pesquisa.....	25
4.2	Identificação dos estudos relevantes.....	25
4.3	Seleção dos estudos conforme critérios pré-estabelecidos (inclusão e exclusão).....	26
4.4	Sistematização dos dados.....	26
4.5	Apresentação dos resultados, identificando possíveis implicações para pratica metodológica em pesquisas.....	27
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	29
5.1	Padrões de flavonoides utilizados em análise por CCDAP.....	29
5.1.1	Fases estacionarias utilizadas na análise de flavonoides por CCDAP.....	32
5.1.5.1	Fases móveis utilizadas na análise de flavonoides por CCDAP.....	34
5.1.5.1.1	Métodos de Clean-UP para flavonoides.....	37
5.1.5.1.5.1	Reveladores utilizados em análise de flavonoides por CCDAP.....	40
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	44
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	46
	<b>APÊNDICE A – QUADROS REFERENTES A PADRÕES, FASES</b>	

<b>MÓVEIS E ESTACIONARIAS, CLEAN-UPS E REVELADORES UTILIZADOS .....</b>	<b>59</b>
---	-----------

## 1 INTRODUÇÃO

Flavonoides, são compostos “biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides, constituem uma importante classe de polifenóis, [...]. Essa classe de compostos é amplamente distribuída no reino vegetal. [...] e representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural.” (SIMÕES et al., 2010, p. 577).

Sua importância se dá no emprego e na elaboração de medicamentos. Por exemplo “...para o tratamento de doenças circulatórias, hipertensão e agindo como cofator de vitamina C.” (SIMÕES et al., 2010). Há ainda estudos que sugerem que os flavonoides possuem ações antitumorais consideráveis, ação antiviral, anti-hemorrágicos, hormonais, anti-inflamatórios, antimicrobianos e também antioxidantes. (SIMÕES et al., 2010).

Dessarte, é de muita valia a caracterização e determinação de flavonoides em produtos de origem vegetal, nos quais são amplamente distribuídos. Com esse objetivo foram concebidos vários métodos para análise de flavonóides em matrizes, dos quais cromatografia em cama delgada (CCD) (Sanvido, M.E. et al., 2015), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Ferreira, C. H. A., Colombo, R., 2011), Cromatografia em camada delgada de alta performance (CCDAP) (Heimler, D et al., 1992) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrômetro de massas (CLAE-EM) (Li, J. et al., 2018) são os métodos de análise com maior destaque.

Contudo, em razão de haver vantagens tais como “...alto rendimento de amostra e baixo custo por análise; múltiplas amostras e padrões podem ser separados simultaneamente, e os requisitos de preparação de amostra são geralmente mínimos porque a fase estacionária é descartável” (Srivastava, MM. Et al., 2011 p. 10). É possível citar ainda outras vantagens que incluem:

...a detecção estática e off-line de zonas usando uma grande variedade de métodos de detecção universal e seletiva pós-cromatográfica complementares que são frequentemente aplicados sequencialmente e o armazenamento da separação, contendo todos os componentes da amostra, na camada para identificação e quantificação posteriormente por métodos in situ ou de eluição (Srivastava, MM. Et al., 2011 p. 10).

E, é por essas vantagens que o CCDAP obteve destaque, apresentando-se mais favorável para a determinação de flavonoides e outros compostos de interesse farmacológico.

Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo compilar informações sobre os protocolos de tratamento de amostras e de análise de flavonoides utilizando a técnica CCDAP.

E desta maneira poder contribuir para o melhor acesso aos métodos de análise de flavonoides através técnica de CCDAP, já bastante difundida e que possui ótimos resultados.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Compilar informações referentes aos protocolos de tratamento de amostras de origem vegetal, e da análise de flavonoides utilizando a técnica CCDAP. E dessa forma, poder contribuir para o melhor acesso aos métodos de análise de flavonoides através técnica de CCDAP.

#### **2.1.1 Objetivos específicos**

Identificar os principais padrões de flavonoides utilizados nas análises por CCDAP, através da pesquisa bibliográfica.

Identificar métodos de extração e cleanup utilizados na preparação das amostras utilizadas para pesquisa de flavonoides, também por meio da pesquisa bibliográfica.

Identificar quais fases moveis, estacionarias e os reagentes reveladores mais utilizados mais utilizadas na análise de flavonoides por CCDAP. Através da pesquisa bibliográfica.

Identificar, de possível, alternativas a elementos onerosos ou com baixa disponibilidade, utilizados nas análises de flavonoides por CCDAP.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Flavonoides:

##### 3.1.2 Importância, funções e classificação

Em meados de 1930, uma nova substância foi isolada da laranja, acreditando-se ser um membro de uma classe nova de vitaminas, foi nomeada vitamina P. Mas, quando ficou evidente tratasse de uma outra substância, o flavonoide rutina, deu-se início a uma série de estudos com o objetivo de isolar este e outros flavonoides (Nijveldt et al., 2001). Dessa forma, “desde que os flavonoides foram identificados [...], sua natureza química tem sido estudada extensivamente.” (Woo et al., 2005).

“Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal.” (SIMÕES et al., 2010). Nas plantas, diversas funções podem ser atribuídas, como visto a baixo:

- (a) Proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e visível, além de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias; (b) atração de animais com finalidade de polinização; (c) antioxidantes; (d) controle da ação de hormônios vegetais; (e) agentes alelopáticos; e (f) inibidores de enzimas (SIMÕES, C. et al., 2010 p. 580).

Uma variedade de estudos também atribui aos flavonoides atividades farmacológicas. Atividade antiviral, atividade antitumoral, atividade anti-inflamatória, antioxidante e hormonal segundo Santos, D.S; Rodrigues MMF., 2017. São alguns dos principais efeitos farmacológicos desse grupo.

Sendo a atividade antiviral atribuída a flavonoides como quercetina, luteolina, apigenina (Kaul, T. N.; Middleton, Jr., E.; Ogra P. L., 2023), (Fan, W. et al., July 2016) e (Khandelwal, N. et al., 2020); o galato de epigalocatequina demonstrou efeito antitumoral evitando proliferação de células cancerígenas do estômago humano (Kinjo, J., et al. 2002). A galangina também demonstrou efeitos anticancerígenos, possuindo uma capacidade de inibir a progressão do ciclo celular (Singh, D., et al., 2022).

Hesperidina e diosmina tem demonstrado capacidade de inibição significativa da formação das prostaglandinas, moléculas mediadoras do processo inflamatório, in vivo (Rathee, P., et al., 2009). “Os flavonoides e outros derivados fenólicos são conhecidos por atuarem na captura e neutralização de espécies oxidantes como ânion superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxila ou



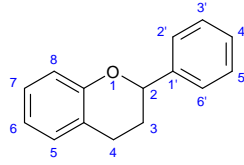
radical peróxido, ...” (SIMÕES et al., 2010). Quercetina, isorramnetina são exemplos de flavonoides com essa capacidade (Zuo, A., et al., 2011).

Quanto a atividade hormonal. As isoflavonas de soja, biochanina A e genisteína, demonstram potente atividade estrogênica. No entanto, a luteolina e a naringenina exibem uma estrogenicidade ainda mais forte, enquanto a apigenina possui uma atividade progestacional relativamente mais forte (Zand, R. S. R.; Jenkins, D. J. A.; Diamandis, E. P., 2000).

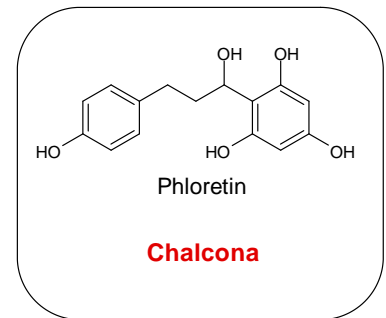
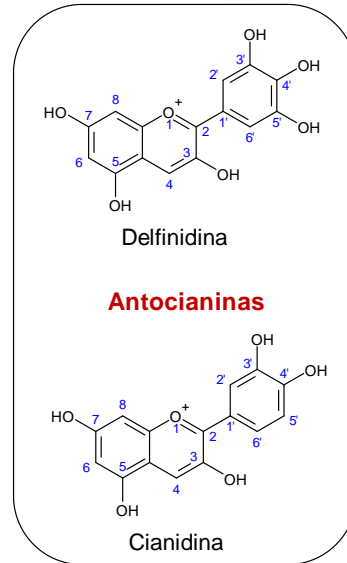
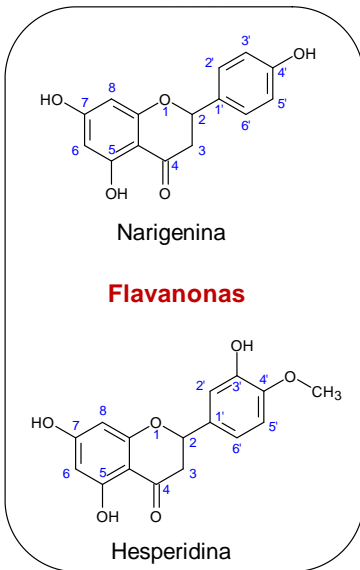
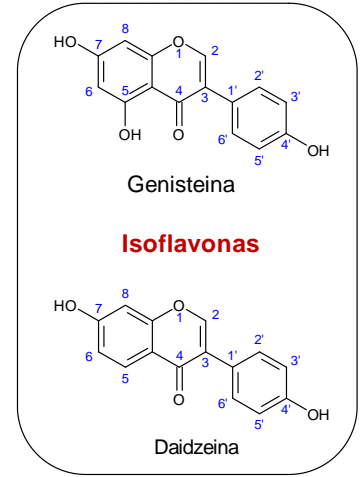
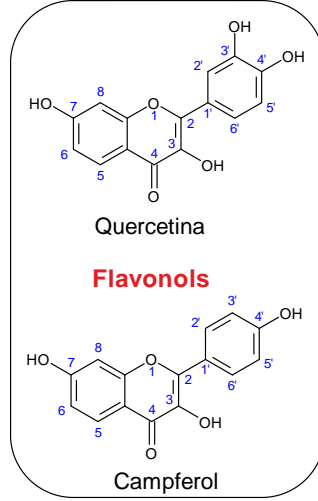
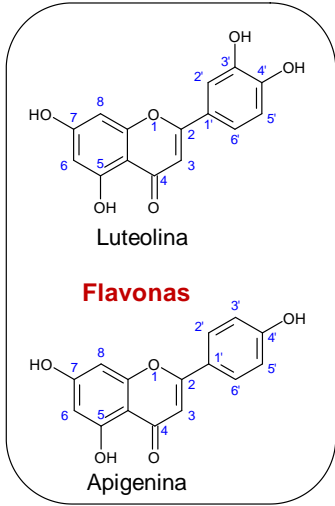
Concernente a classificação, “... Os flavonoides podem ser subdivididos em diferentes subgrupos, dependendo do carbono do anel C ao qual o anel B está ligado e do grau de insaturação e oxidação do anel C.” (Panche, A. N.; Diwan, A. D.; Chandra, S. R., 2016) (Figura 1). Os flavonoides que o anel B possui ligação com a posição 3 do anel C são nomeados isoflavonas.

Já os flavonoides em que o anel B liga-se a posição 4 são denominados neoflavonoides, já aqueles que possuem o anel b ligado a posição 2 são divididos em subgrupos com fundamentação nas características estruturais pertencentes ao anel C (Panche, A. N.; Diwan, A. D.; Chandra, S. R., 2016). Estes subgrupos são: flavonas, flavonois, flavanonas, flavanois ou catequinas, antocianinas e chalconas (Figura 1).

Figura 1 Classificação de flavonoides e exemplos de estruturas



Esqueleto base dos flavonoides



Fonte: elaborado pelo próprio autor (2023)

### 3.2 Métodos cromatográficos de análise CCDAP x CCD:

“A cromatografia em camada delgada CCD consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente retido sobre uma superfície plana. ” (Collins, C. H. et al., 1997). Em resumo a técnica, para ser realizada, lança mão, basicamente de um suporte (placa cromatográfica), a fase estacionária (esta aderida ao suporte), uma fase móvel (solvente único ou mistura) e claro a amostra a ser aplicada.

A técnica começou a ser utilizada com os trabalhos de IZMAILOV e SHRAIBER no ano de 1983, no entanto apenas depois da década de 60 passou a ser amplamente usada, de modo que, se tornou praticamente indispensável atualmente em laboratórios que envolvam análises de substâncias orgânicas (Collins, C. H. et al., 1997).

Quanto a visualização, métodos usados podem ser classificados em físicos, químicos e biológicos. Estes ainda podem ser separados em métodos destrutivos (por alterarem a estrutura química dos compostos, com uso de fortes oxidantes) e não destrutivos (fluorescência, a natural dos compostos analisados ou de substâncias UV-ativas misturadas aos adsorventes por exemplo) (Quadro 1).

*Quadro 1: Exemplos de métodos reveladores*

<b>Métodos não destrutivos</b>	<b>Métodos destrutivos</b>
Vapores de iodo	Anisaldeído
Fluorescência	Sulfato cérico

*Fonte: elaborado pelo próprio autor*

Em suma, a CCD é uma técnica que possui inúmeras vantagens tais como, fácil compreensão e execução, grande reprodutibilidade e baixo custo (Collins, C. H. et al., 1997). E como consequência óbvia dessas vantagens a técnica passou por múltiplos desenvolvimentos (Quadro 2). Sua combinação com outras técnicas analíticas aumentou dramaticamente o uso da cromatografia em camada fina para a caracterização de misturas complexas.

Entre essas alterações, “a introdução de scanners espectrodensitométricos comerciais permitiu a quantificação de analitos diretamente na camada de CCD” (Srivastava, MM. Et al., 2011 p. 6). E o reconhecimento da vantagem de utilizar um tamanho médio de partícula menor de sílica gel (5-6 mm) na preparação de placas, sendo Halpaap em 1973 o primeiro a reconhecer essa vantagem (Srivastava, MM. Et al., 2011).

Inicialmente, as novas de placas eram denominadas nano-TLC, mas logo mudaram para a uma nova designação ‘placas HPTLC/CCDAP’ com o reconhecimento de que a cromatografia em camada delgada de alta performance (CCDAP) adicionou uma nova dimensão a CCD (Srivastava, MM. Et al., 2011 p. 6) (Quadro 2). A técnica moderna de CCDAP, ao ser combinada com aplicação automatizada das amostras e escaneamento densitométrico, é “sensível e totalmente confiável, adequada para uso em análises qualitativas e quantitativas” (Srivastava, MM. Et al., 2011 p. 9).

Quadro 2: Avanços feitos em CCD levando ao desenvolvimento de CCDAP

CCD	Características	CCDAP
Manual	Técnica	Instrumental
Feita no laboratório ou pré-revestida	Camada	Pré-revestida
Circular (2-4 nm dia)	Forma da amostra	Retangular (6mm L X 1mm W)
Não controlado Dependente do solvente	Tamanho da amostra	Controlado Independente do solvente
2-10%	Vol. Precisão	0.5%-2%
Não compatível	Boas Práticas de Laboratório	Compatível
1 a 10 $\mu$ L	Volume da faixa	0.1 a 500 $\mu$ L
Não	Conectividade com o PC	Sim
Não	Armazenamento do método	Sim
Não	Validação	Sim
Capilar/Pipeta	Detentor da amostra	Seringa
Não	Análises quantitativas	Sim
254 ou 366 nm, visível	Intervalo de comprimento de onda	190 ou 800 nm, monocromático
Não	Análise de espectro	Sim
Pelo analista	Análise crítica	Pela máquina

Fonte: High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC) - Srivastava, MM. Et al., 2011 p. 10

“Embora a sílica gel seja, de longe, o adsorvente mais amplamente utilizado, muitas outras fases estacionárias têm sido usadas como meio de separação, por exemplo, fases reversas, fases ligadas, alumina, Kieselguhr, etc.” (Srivastava, MM. Et al., 2011 p. 56). E em todos o princípio vantajoso da utilização de um tamanho médio de partícula menor se mantem. Assim como o controle preciso da porosidade da placa (tamanho e distribuição) (Halpaap, H.; Ripphahn, J.; Merck, E., 1977). O que distingue a placa de CCDAP da utilizada CCD comum.

Assim como a fase estacionaria, outro fator importante é a escolha da fase móvel (mistura de solventes). Esta é feita com base “no material adsorvente usado como fase estacionária e nas propriedades físicas e químicas do analito” (Srivastava, MM. Et al., 2011 p.

46). Esta mistura de solventes tem a função de realizar o carreamento da amostra na placa cromatográfica separando o/os analitos.

Geralmente são utilizados os seguintes sistemas como base, consoante suas particularidades: éter dietílico, diclorometano e clorofórmio combinados individualmente ou em conjunto com hexano como solvente de ajuste de resistência para cromatografia em fase normal e metanol, acetonitrila e tetrahidrofurano misturados com água para ajuste de resistência em cromatografia em fase reversa (Srivastava, MM. Et al., 2011).

Entre as vantagens do CCDAP ainda se encontram: “alto rendimento de amostra e baixo custo por análise; múltiplas amostras e padrões podem ser separados simultaneamente, e os requisitos de preparação de amostra são geralmente mínimos...” (Srivastava, MM. Et al., 2011 p. 10). A cromatografia em camada delgada de alta performance não só é mais vantajosa que CCD como também em relação a CLAE nas circunstâncias adequadas, ver características no (Quadro 3):

O HPTLC quantitativo moderno, quando executado adequadamente por analistas bem treinados, pode ser vantajoso em comparação com a cromatografia de coluna líquida de alto desempenho em muitas situações analíticas (Srivastava, MM. Et al., 2011 p. 9).

Quadro 3 Características da CCDAP e CLAE

Características	CLAE	CCDAP
<b>Fase estacionária</b>	Líquida/sólida	Sólida
<b>Fase móvel</b>	Líquida	Líquida
<b>Fase condicionante</b>	Nenhuma	Gás
<b>As amostras devem ser</b>		Não-volátil
<b>Resultados</b>	Por Detector	Detector + visual
<b>Análises</b>	On-line	Off-line
<b>Resolução</b>	Muito elevada	Moderada para alta
<b>Sistema cromatográfico</b>	Fechado	Aberto
<b>Meio separador</b>	Coluna tubular	Camada Plana (placa)
<b>Análises em paralelo</b>	Não, apenas uma por vez	Sim, até 100 amostras
<b>É necessária alta pressão?</b>	Sim	Não
<b>Tempo por amostra</b>	2-60 min	1-3 min
<b>Dados obtidos a partir de cromatografia</b>	Pouco a muito alto (dependente do detector)	Alto a muito alto (dependente do detector)
<b>Derivatização pós-cromatográfica</b>	Possibilidades limitadas Incômoda	Simple, possível para todas as amostras, fornece informações adicionais
<b>Coleta de frações/cromatografia micro preparativa</b>	Requer preparação. cromatógrafo de escala e coletor de frações	Simple, sem requisitos especiais
<b>Sensibilidade</b>	Alto a ultra alto	Moderado a ultra alto
<b>Dados de fluorescência</b>	Possível, opcional	Possível, incorporado

<b>Abs. espectros para identificação</b>	Sim (PDA)	Sim
<b>Detectores</b>	UV, Flúor, dispersão de luz Electrochem, MS, etc.	UV-Vis, bioluminescência, MS
<b>Documentação da imagem do cromatograma</b>	Não	Sim, em 254 a 366 nm e visíveis
<b>Clean-up de amostras</b>	Coluna completa reutilizável	Não tão importante Camada descartável
<b>Impressão digital cromatográfica</b>	Sim, mas limitada.	Sim, abrangente
<b>Custo por análise</b>	Muito alto	Baixo
<b>Manutenção de equipamento</b>	Muito alto	Baixo
<b>Habilidades exigidas do analista</b>	Alta a muito alta	Baixa (CCD) para alta (CCDAP)

*Fonte: High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC) - Srivastava, MM. Et al., 2011 p. 64*

### 3.2.1 Aplicações da CCDAP

“O HPTLC é um dos métodos mais amplamente aplicados para análise nas indústrias farmacêuticas, química clínica, química forense, bioquímica, cosmetologia, análise de alimentos e medicamentos, análise ambiental e outras áreas” (Attimarad, M. et al., 2011, p. 72). Algumas das aplicações pontuadas anteriormente são brevemente comentadas a seguir.

### 3.2.2 CCDAP em produtos farmacêuticos:

No âmbito farmacêutico a CCDAP tem sua aplicação no desenvolvimento de métodos de análise de pureza e eficácia de preparações farmacêuticas e formas de dosagem (Attimarad, M. et al., 2011). Como exemplo é possível citar: o método para determinações simultâneas de ofloxacina e ornidazol em forma sólida desenvolvido por Puranik M. et al., 2010.

### 3.2.3 CCDAP em produtos naturais

A CCDAP é “... uma ferramenta de triagem ideal para adulterações e é altamente adequada para avaliação e monitoramento de cultivo, colheita e processos de extração e teste de estabilidade” (Attimarad, M. et al., 2011, p. 73). Sendo A CCDAP também é o método indicado na United State Pharmacopoeia (USP) para identificação e controle de qualidade de produtos de origem vegetal (USP - United State Pharmacopoeia, 2021 capítulo 203).

Um método simples e com reprodutibilidade comprovada, tendo por finalidade a análise quantitativa dos diterpenóides na casca da raiz de *Photinia integrifolia* foi executado com sucesso por Yadav, D e colaboradores. E cada um dos diterpenoides encontrados e analisados foi usado como marcador químico para a realização de padronização de extratos vegetais obtidos de *Photinia integrifolia* (Attimarad, M. et al., 2011).

### 3.2.4 Outras aplicações da CCDAP

“Nos últimos anos, CCDAP é uma solução prática aceita globalmente para caracterizar pequenas moléculas na avaliação de qualidade em todo o mundo em desenvolvimento” (Attimarad, M. et al., 2011, p. 74). A técnica está sendo amplamente utilizada em controle de pureza de produtos químicos, pesticidas, esteroides e análise de água.

Como exemplo, observa-se a o método desenvolvido por Walter Weber *et al.* Para avaliação da qualidade da água em relação a presença de substancias toxicas. A técnica consiste no uso de detecção luminográfica de com bactérias luminescentes (*Vibrio fischeri*) (Attimarad, M. et al., 2011, p. 74).

### 3.3 Métodos de clean up de amostra para análise

A “Purificação, fracionamento e concentração da amostra são de grande importância para a análise de polifenóis” (Fernández O. L. et al., 2020, p. 9). É comum, que durante a extração também ocorra a coextração de outras substâncias, como açúcares, glicosídeos, ácidos orgânicos, gorduras, alcaloides, terpenoides, ceras e pigmentos (Fernández O. L. et al., 2020).

Sendo assim tornando-se necessária uma etapa adicional de limpeza da amostra antes da análise, tendo por objetivo remover essas substâncias e evitar prováveis interferências (Fernández O. L. et al., 2020). “As técnicas mais empregadas para o processo de limpeza são extração líquido x líquido (ELL) e extração em fase solida (SPE)” (Plaza, M. et al., 2018). Também podem ser utilizados como métodos de limpeza a cromatografia em coluna (CUI, J. 2011) e, hidrólise dos componentes associada a outro método de separação como partição ou própria cromatografia em coluna (El Sohafy, 2009), (Singh, B. 2009).

## **4 METODOLOGIA**

A metodologia utilizada foi elaborada com base em um conjunto mínimo de itens baseado em evidências para relatórios em revisões sistemáticas e meta-análises. O PRISMA-ScR = Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses for Scoping Reviews (Tricco, A. C., et al 2018) e (Page, J. P. et al., 2021). Adaptando-se o arcabouço metodológico proposto aos propósitos deste trabalho.

Tendo como objetivo reunir e sistematizar dados acerca de estudos envolvendo a análise de flavonoides por CCDAP. E com a pretensão de prover uma visão de caráter descritivo dos artigos postos sob análise. Sem, no entanto, chegar a avaliá-los muito profundamente ou compendiar evidências de distintas investigações, a semelhança de uma revisão sistemática.

A estrutura deste trabalho consiste em 5 etapas consecutivas: identificação do objetivo da pesquisa; identificação dos estudos relevantes, que atendessem aos propósitos desse estudo; seleção dos estudos conforme critérios pré-estabelecidos (inclusão e exclusão); Sistematização dos dados; apresentação dos resultados, identificando possíveis implicações para pratica metodológica em pesquisas.

### **4.1 IDENTIFICAÇÃO DO OBJETIVO DA PESQUISA**

Inicialmente, foi proposto o seguinte tema para investigação: Análise de flavonoides por CCDAP: breve discussão acerca de padrões, fases moveis, fases estacionarias, métodos de clean-UP e reveladores mais utilizados. Em seguida optou-se pelas seguintes palavras chaves capazes de captar os artigos relacionados a essa temática: HPTLC (High Performance Thin-layer Chromatography) e Flavonoid.

### **4.2 IDENTIFICAÇÃO DOS ESTUDOS RELEVANTES**

Para identificação dos estudos considerados relevantes foi consultado o banco de dados de periódicos Web of Science. Essa base de dados foi escolhida por ser abrangente e possuir grande cobertura das publicações relativas à área da saúde. A seguinte estratégia, HPTLC, Flavonoid [Tile/Abstract]. A estratégia foi desenvolvida pelo autor em conjunto com a orientadora.



### **4.3 SELEÇÃO DOS ESTUDOS CONFORME CRITÉRIOS PRÉ-ESTABELECIDOS (INCLUSÃO E EXCLUSÃO)**

A seleção dos artigos se deu pelos seguintes critérios de inclusão:

1. Artigos que usavam apenas extratos e/ou frações de origem vegetal;
2. Artigos que continham métodos de clean-UP.
3. Artigos que utilizavam a técnica de CCDAP para análise de flavonoides em extratos e/ou frações e/ou fases;

Quanto aos critérios de exclusão, foram utilizados os seguintes critérios:

1. Artigos que não se aplicavam ao tema;
2. Artigos que não observavam a presença de flavonoides em extrato, fração ou fases.
3. Artigos que não continham os métodos de revelação das placas de CCADP;
4. Artigos que avaliavam a presença de outras classes além dos flavonoides.
5. Artigos que não continham o método de clean up da amostra.
5. Artigos que não estavam disponíveis na íntegra para acesso livre.

As buscas foram realizadas no período que compreende artigos publicados até à 25 de fev. de 2022.

Ao fim do processo de análise dos artigos, do total de 534 artigos que incluíam os descritores usados, 235 foram excluídos por não se aplicarem ao tema, 4 foram excluídos por não analisarem a presença de flavonoides em extrato, fração ou fases, 21 por analisarem outras classes além dos flavonoides, outros 4 por não utilizarem apenas extratos e/ou frações de origem vegetal e 186 pela ausência de metodologias de clean up. Restando, após a exclusão, 50 artigos.

### **4.4 SISTEMATIZAÇÃO DOS DADOS**

Os dados obtidos dos 50 estudos selecionados para serem utilizados nesse trabalho foram organizados sistematicamente por meio de um quadro no programa Microsoft Word<sup>®</sup>, o qual foi preenchido com as informações subsequentes: autor (es), ano de publicação, título, data de acesso, tipo de amostras, método de extração + clean-UP, padrões de flavonoides, fase móvel, fase estacionária e reveladores.

O quadro foi aprimorado até que chegou numa versão final, podendo ser melhor analisada. Esta versão final contém as seguintes colunas de dados: tipos de amostras utilizadas,

métodos de extração + clean up, padrões de flavonoides utilizados, fases móveis, fases estacionárias, reveladores e referências.

#### **4.5 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS**

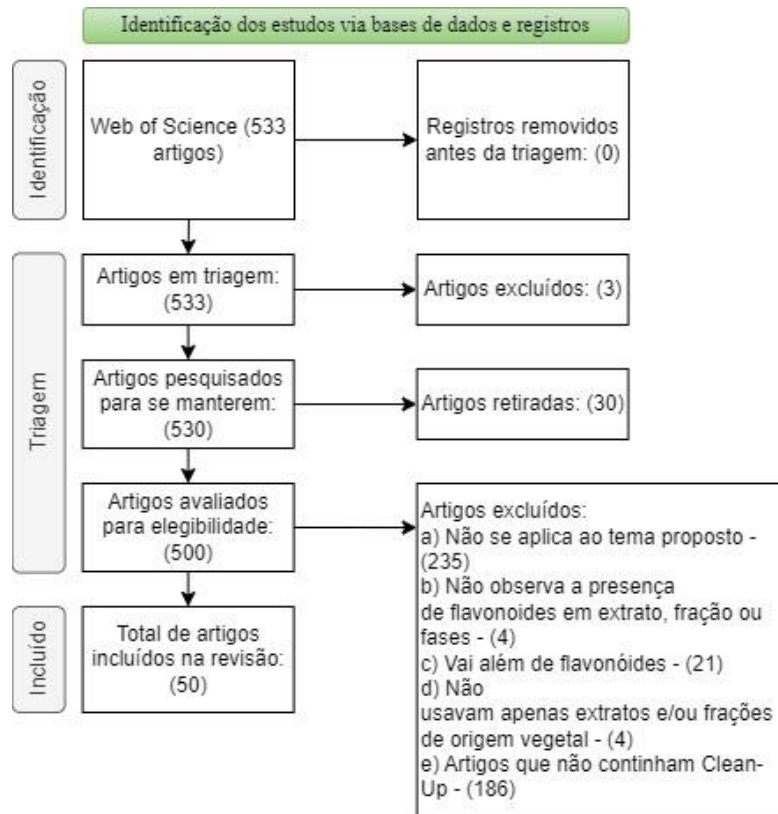
Após cuidadosa observação dos dados sistematizados no quadro, com o objetivo de identificar entre os elementos elencados em cada coluna aqueles que eram mais recorrentes entre os 50 estudos de análise de flavonoides por CCDAP. Buscou-se então estabelecer os possíveis critérios utilizados pelos pesquisadores para a escolha desses elementos em particular.

Sendo assim os resultados obtidos foram apresentados através de quadros individualizados construídos no Microsoft Word® para cada elemento observado no presente estudo (Apêndice A). Quadros estes, que enumeram os elementos analisados, o número de estudos em que aparecem, proporção dos constituintes e classificação. Isto segundo as particularidades de cada elemento.

Por fim, após termino da compilação dos dados em seus respectivos quadros, realizar-se o intento de expor a visão geral do material reunido, por meio de uma construção de conhecimento via abordagem temática. A fim de responder o tema proposto, ou seja, uma breve discussão acerca de padrões, fases moveis, fases estacionarias, métodos de clean-UP e reveladores mais utilizados no estudo de flavonoides em matrizes de origem vegetal.

A Figura 2 demonstra, como base na recomendação da PRISMA - Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses for Scoping Reviews (Page, J. P. et al., 2021), o fluxograma do processo de seleção dos artigos desta revisão.

Figura 2: Fluxograma descrevendo a metodologia



Fonte: elaborado pelo autor tendo por base o fluxograma PRISMA - (Page, J. P. et al. *PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews.*, 2021, p. 19)

## 5 DISCUSSÃO

A partir dos dados relativos a padrões, fases móveis e estacionárias, métodos de clean-UP e reveladores compilados e sistematizados (quadros listados no apêndice A), elementos importantes na CCDAP. Foi possível identificar aqueles, entre os citados, que podem ser considerados mais recorrentes e adequados a análise de flavonoides por CCDAP.

Assim como possibilitou também a identificação de alternativas a alguns desses elementos que, embora muito adequados a técnica, são de elevado custo ou baixa disponibilidade, de relativa inviabilidade e/ou difícil obtenção. Isto será discutido a seguir.

### 5.1 Padrões de flavonoides utilizados em análise por CCDAP

Quanto à utilização de padrões analíticos de flavonoides, a quercetina, kaempferol e a luteolina (geninas) e a rutina (glicosídeo) foram os mais utilizados pelos pesquisadores, sendo a quercetina o mais usado entre eles, como pode ser visto nos gráficos a baixo (Figuras 3 & 4).

Figura 3: padrões analíticos de glicosídeos de flavonoides utilizados na análise por CCDAP



Fonte: elaborado pelo próprio autor (2023)

Figura 4: padrões analíticos de geninas de flavonoides utilizados na análise por CCDAP



Fonte: elaborado pelo próprio autor (2023)

Uma possível explicação para a grande frequência com a qual estes flavonoides (quercetina, rutina, kaempferol e luteolina) aparecem em relação aos demais pode ser por pertencerem a algumas das classes mais comuns. Quercetina, rutina e kaempferol sendo pertencente aos flavonóis e luteolina da classe das flavonas.

Além disso, as aplicações farmacológicas também favorecem a escolha dos pesquisadores por esses flavonoides em particular (Quadro 4).

Quadro 4: Atividades farmacológicas atribuídas a Quercetina, Rutina, Kaempferol e luteolina

Atividade	Flavonoide	Referências
Antitumoral	Quercetina	Formica e Regelson, 1995
Antiespasmódica	Quercetina-3-glicosídeo; Rutina;	Mata et al., 1997
Anti-inflamatória	Quercetina	Duwiejua e Zeitlin, 1993
Antimicrobiana	Quercetina	Gutkind et al., 1984 Beil et al., 1995
Antiúlceras	Quercetina	Alarcon et al., 1994 Beil et al., 1995
Antiviral	Quercetina	Formica e Regelson, 1995
	Canferol; Luteolina; Quercetina	Amoros et al., 1992
	Quercetina;	Mucsi e Pragai, 1985
Antioxidante	Quercetina; rutina	Larson, 1988
	Quercetina	Morel et al.; 1993
	Luteolina-3'-O-β-D-glicuronídeo Luteolina-3'-O-(4''-O-acetil)-β-D-glicuronídeo	Okamura et al., 1994

	Luteolina-3'-O-(3''-O-acetil)- $\beta$ -D-glicuronídeo	
--	--	--

Fonte: Adaptado de SIMÕES, C. et al. (2010, p. 607)

Outra observação que pode ser feita é que, assim como ocorre entre o total de flavonoides empregados, entre os quatro que aparecem com mais frequência também são maioria as agliconas/geninas, sendo a proporção de 27 geninas para 21 glicosídeos no total de padrões e de 3/1 entre os quatro padrões mais frequentes (Quadros 5 & 6).

Quadro 5: padrões analíticos de geninas e glicosídeos de flavonoides utilizados na análise por CCDAP

	Genina	Glicosídeo
	Quercetina	Rutina
	Kaempferol	Isoquercitrina
	Apigenina	Quercitrina
	Luteolina	Isovitexina
	Catequina	Orientina
	Naringenina	Isoorientina
	Epicatequina	Vitexina
	Isorhamnetina	Hiperosídeo
	Miricetina	Miquelianina
	Crisina	Astragalina
	Baicaleína	Espiraosídeo
	Wogonina	Escutelareína
	Oroxilina A	Tilirosídeo
	Penduletin	Violantina
	Chrysopenol D	Miricitrina
	Galangina	Hesperidina
	Mentoflavona	Neo-hesperidina
	Biflavonóides GB-1a (3), GB-1 (4)	Eriocitrina
	Moreloflavona	Diosmina
	Pinocembrin	Narirutina
	Formononetina	Isorhoifolina
	Biapigenina	
	Hesperetina	
	Genisteína	
	Morina	
	Pelargonidina	
	Eriodictiol	
<b>Total</b>	27	21

Fonte: elaborado pelo próprio autor (2023)

Quadro 6: flavonoides mais recorrentes nos estudos de análise por CCDAP

<b>Genina</b>	<b>Glicosídeo</b>
<b>Quercetina</b>	Rutina
<b>Kaempferol</b>	
<b>Luteolina</b>	

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

A preferência por estudar flavonoides não glicosilados vista na análise dos artigos pode ser explicada pela aparente dificuldade de se trabalhar com seus pares glicosilados, isto devido à alta polaridade destes que causa interferência na obtenção de uma boa definição durante o processo de separação na placa cromatográfica em sílica gel que é a mais utilizada em CCDAP.

### 5.1.1 Fases estacionarias utilizadas na análise de flavonoides por CCDAP

A visível propensão dos pesquisadores a escolher sílica pré-tratada com indicador fluorescente F254 ou sílica sem nenhum tratamento ou modificação pode ser facilmente relacionada a questões como disponibilidade e principalmente ao custo dessas fases estacionarias em relação as demais (Quadro 7). Haja vista a disparidade entre a frequência com a qual a sílica F254, utilizada em 33 trabalhos, e a sílica gel 60 sem fluorescência, utilizada em 16 trabalhos, foram escolhidas em relação as demais que aparecem uma ou duas vezes em um total de 50 artigos que tratam da separação e análise de diferentes padrões de flavonoides (Figura 5).

Quadro 7: Relação Fase estacionaria X Custo de cromatoplas para CCDAP

<b>Relação Fase estacionaria X Custo de cromatoplas para CCDAP</b>		
<b>Fase estacionaria</b>	<b>Valor</b>	<b>Fonte</b>
<b>Sílica F254</b>	2.413,53 R\$ (caixa com 100 unidades 10x10 cm)	(DsysLab) <a href="https://www.dsylab.com.br/reagentes/tlc-silicagel-60-f254-caixa-com-100-placas-10x10-cm-merck-150009885">https://www.dsylab.com.br/reagentes/tlc-silicagel-60-f254-caixa-com-100-placas-10x10-cm-merck-150009885</a> - Acesso 13/12/2022
	2.619,56 R\$ (caixa com 25 unidades 20x20 cm)	(Pro-analise) <a href="https://www.pro-analise.com.br/index.php?user=fox_proanalise&amp;route=product/product&amp;product_id=252&amp;search=f254">https://www.pro-analise.com.br/index.php?user=fox_proanalise&amp;route=product/product&amp;product_id=252&amp;search=f254</a> - Acesso 13/12/2022
	547,44 USD (2.895,96 R\$) (caixa com 25 unidades 20x10 cm)	(Thomas Scientific) <a href="https://www.thomassci.com/Laboratory-Supplies/TLC-Plates/ /HPTLC-SILICA-GEL-60-F254S-25-GLASS-PLATES-20-X-10-CM">https://www.thomassci.com/Laboratory-Supplies/TLC-Plates/ /HPTLC-SILICA-GEL-60-F254S-25-GLASS-PLATES-20-X-10-CM</a> - Acesso 13/12/2022

<b>Sílica gel60</b>	3.756,77 R\$ (caixa com 25 unidades 20x20 cm)	(Pro-analise) <a href="https://www.pro-analise.com.br/index.php?route=product/search&amp;search=silicagel%2060">https://www.pro-analise.com.br/index.php?route=product/search&amp;search=silicagel%2060</a> – Acesso 13/12/2022
<b>RP18</b>	6.594,84 R\$ (caixa com 25 unidades 10x10)	(Pro-analise) <a href="https://www.pro-analise.com.br/index.php?user=fox_proanalise&amp;route=product/product&amp;product_id=2404&amp;search=silicagel+60&amp;page=3">https://www.pro-analise.com.br/index.php?user=fox_proanalise&amp;route=product/product&amp;product_id=2404&amp;search=silicagel+60&amp;page=3</a> – Acesso 13/12/2022
	1.499,21 USD (7.930,82 R\$) (caixa com 25 unidades 20x10 cm)	(Thomas Scientific) <a href="https://www.thomassci.com/Laboratory-Supplies/TLC-Plates/_/HPTLC-LiChrospher-Silica-gel-60-RP-18-WF254s?q=Tlc%20Silica%20Gel%2060%20Rp-18">https://www.thomassci.com/Laboratory-Supplies/TLC-Plates/_/HPTLC-LiChrospher-Silica-gel-60-RP-18-WF254s?q=Tlc%20Silica%20Gel%2060%20Rp-18</a> – Acesso 13/12/2022
<b>C50</b>	Não foi possível obter os valores	
<b>Poliamida</b>	Não foi possível obter os valores	
<b>Sílica modificada com CN, NH<sub>2</sub>, DIOL e C18</b>	Não foi possível obter os valores	
<b>NH<sub>2</sub></b>	490 euros (2.758,70 R\$) (caixa com 25 unidades 20x20)	(Carl Roth) <a href="https://www.carlroth.com/com/en/amino-modified-hptlc-silica-layers/hptlc-plates-alugram-nano-sil-nh2---uv254---amino-modified/p/3767.1">https://www.carlroth.com/com/en/amino-modified-hptlc-silica-layers/hptlc-plates-alugram-nano-sil-nh2---uv254---amino-modified/p/3767.1</a> – Acesso 13/12/2022

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Figura 5 Fases estacionárias utilizadas nas análises de flavonoides por CCDAP em relação a quantidade de trabalhos analisados (n=50)



Fonte: elaborado pelo autor (2022)



### 5.1.5.1 Fases móveis utilizadas na análise de flavonoides por CCDAP

Dos elementos a serem discutidos nesse trabalho, foi o que apresentou maior variação entre seus componentes e menor frequência de repetição entre os artigos. Após análise dos artigos foram enumeradas 56 fases móveis diferentes, destas, a fase mais utilizada, acetato de etila: diclorometano: ácido fórmico: ácido acético: água, na proporção de 100:25:10:10:11 (v/v) apareceu apenas em 6 trabalhos (Quadro 8).

Quadro 8 Fases móveis mais recorrentes em análise de flavonoides por CCDAP

<b>Fases móveis mais utilizadas</b>			
<b>Solventes</b>	<b>Proporção</b>	<b>Número de trabalhos</b>	<b>Referência</b>
<b>Acetato de etila: diclorometano: ácido fórmico: ácido acético: água</b>	100:25:10:10:11 (v/v)	6x	(Gainche, 2021) (Alimoglu, 2021) (Marrelli, 2020) (Marrelli, 2017) (Araniti, 2014) (Araniti, 2016)
<b>Clorofórmio: acetato de etila: ácido fórmico</b>	5:4:1 (v/v)	2x	(Stanek, 2018) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
<b>Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água</b>	100:11:11:27 (v/v)	2x	(Oomen, 2020) (Guerrini, 2009)
<b>Acetato de etila: butanona: éter diisopropílico: ácido fórmico</b>	3:10:4:1 (v/v)	2x	(Tomczyk, 2012) (Bazylko, 2011)
<b>Tolueno: acetato de etila: ácido fórmico</b>	6:4:1 (v/v)	2x	(Satpathy, 2018) (Satpathy, Patra, Hussain, 2018)
<b>Tolueno: formato de metila: ácido fórmico</b>	6:4:1 (v/v)	2x	(Bazylko, 2011) (Tomczyk, Bazylko, 2010)
<b>Clorofórmio: metanol</b>	9:1 (v/v)	2x	(Menon, 2018) (Rameshkumar, 2015)
<b>Acetona: ácido fórmico</b>	85:15 (v/v)	2x	(Fecka, Raj, 2007) (Fecka, Turek, 2007)
<b>Acetato de etila: diclorometano: ácido fórmico: ácido acético glacial: metanol</b>	10:10:1:1:2 (v/v)	2x	(Mishra, 2021) (Rajput, 2020)

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Destaca-se que das 56 fases, apenas 9 aparecem sendo usadas em mais de um artigo analisado. No entanto dessas nove, excluindo-se a mais usada que aparece seis vezes, uma é citada 3 vezes e as outras 7 são citadas 2 vezes cada. Restando 47 fases diferentes citadas cada uma por um estudo diferente.

Durante a análise dos trabalhos, também foi possível observar recorrência de 11 misturas de solventes, nas quais, alterava-se apenas a proporção destes (Quadro 9). Entre elas destacou-se a mistura de ‘Tolueno: acetato de etila: ácido fórmico’, utilizada em 7 proporções diferentes. Seguida de ‘Acetato de etila: ácido fórmico: água’ em 4, ‘Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água’ em 3 proporções e ‘Clorofórmio: etanol’, ‘Acetato de etila: diclorometano: ácido fórmico: ácido acético: água’ em 3 proporções diferentes cada.

Quadro 9: Fases móveis com variação das proporções de solventes usadas na análise de flavonoides por CCDAP

<b>Fases móveis com variação das proporções de solventes usadas na análise de flavonoides por CCDAP</b>			
<b>Solventes</b>	<b>Proporções</b>	<b>Recorrência em proporções diferentes</b>	<b>Trabalhos</b>
<b>Clorofórmio: etanol</b>	9:1 (v/v) 4:1 (v/v) 3:1 (v/v)	3x	(Olennikov, 2013)
<b>Acetato de etila: ácido fórmico: água</b>	6:1:1 (v/v) 90:5:5 (v/v) 17/2/2 (v/v) 85:15:10 (v/v)	4x	(Vilegas, 1998) (Bezerra, 2018) (Mosaic, 2019) (Simonovska, 2003)
<b>Tolueno: acetato de etila: ácido fórmico</b>	6:4:0,5 (v/v) 3:6:1 (v/v) 4:7:1 (v/v) 6:4:0,3 (v/v) 13:11:2 (v/v) 5:3:1 (v/v) 6:4:1 (v/v)	7x	(Mandal, 2018) (Amina, 2018) (Mosaic, 2019) (Panchal, 2017) (Niranjan, 2013) (Margina, 2015) (Satpathy, 2018) (Satpathy, Patra, Hussain, 2018)
	100:25:10:10:11 (v/v)	3x	(Gainche, 2021)

<b>Acetato de etila: diclorometano: ácido fórmico: ácido acético: água</b>			(Alimoglu, 2021) (Marrelli, 2020) (Marrelli, 2017) (Araniti, 2014) (Araniti, 2016)
	100: 31,25: 1,25: 1,25: 1,25 (v/v) 80:25:1:1:1 (v/v)		(Araniti, 2014) (Araniti, 2016)
<b>Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água</b>	100:11:11:27 (v/v)	4x	(Oomen, 2020) (Guerrini, 2009)
	100:11:11:26 (v/v) 100:12:12:26 (v/v)		(Dhanabal, 2012) (Pirvu, 2014)
<b>Acetato de etila: metanol: ácido fórmico: água</b>	20:2,7:0,5:2 (v/v) 20:2,5:2,5:0,5 (v/v)	2x	(Oomen, 2020) (Nile, 2014)
<b>Tolueno: formato de etila: ácido fórmico</b>	6:4:1 (v/v)	2x	(Bazylko, 2011) (Tomczyk, Bazylko, 2010)
	7:5:1 (v/v)		(Bazylko, 2011)
<b>Formato de metila: hexano: ácido fórmico</b>	3:7:0,1 (v/v) 4:6:0,1 (v/v) 5:5:0,1 (v/v)	3x	(Bazylko, 2007)
<b>Tolueno: acetato de etila: metanol: ácido fórmico</b>	6:3:0,2:0,4 (v/v) 3:3:1,4:0,2 (v/v)	2x	(Singh, 2009) (Nampoothiri, 2011)
<b>Éter diisopropílico: acetona: ácido fórmico: água</b>	50:30:10:10 (v/v) 55:25:10:10 (v/v)	2x	(Fecka, Raj, 2007) (Fecka, Turek, 2007)
<b>n-hexano: acetato de etila: ácido fórmico</b>	10,5:3,5:0,43 (v/v) 20:19:1 (v/v)	2x	(Dar, 2014) (Simonovska, 2003)

Fonte: elaborado pelo próprio autor (2023)

Dessa maneira com a pulverização dos resultados, tornasse difícil inferir algum tipo de relação que determine a escolha das fases para estudo do padrão ou padrões a serem estudados, além claro, a que aparenta ser mais óbvia, a disponibilidade dos solventes e as características físico-químicas do flavonoide pesquisado.

### 5.1.5.1.1 Métodos de Clean-UP para flavonoides

Foram identificados cinco métodos de clean-UP diferentes, Partição: sucessivas etapas de fracionamento líquido-líquido, por vezes utilizando éter de petróleo, éter dietílico, acetato de etila e n-butanol, seguindo do solvente menos polar ao mais polar. Reproduzindo o método de Bruneton ou uma variação deste, ao exemplo abaixo:

O pó obtido (100 g) foi utilizado para extração de flavonoides de acordo com o protocolo de Bruneton (1999). [...] compreendendo duas etapas principais: A primeira é uma maceração em metanol; a segunda é uma série de extrações líquido-líquido com solventes cada vez mais polares (éter de petróleo, éter dietílico, acetato de etila e n-butanol) (El Haddad, et al. 2018, p. 384).

Este também foi o método mais utilizado, sendo citado em 24 artigos. O outro método que se destacou foi a utilização de colunas de vidro, para extração em fase sólida recheadas com Amberlite XAD -2 ou C18. Foi citado em 5 artigos (Quadro 10).

*Quadro 10 Recorrência do método SPE e fases sólidas utilizadas*

<b>Método Clean-UP</b>	<b>Recorrência</b>	<b>Trabalhos</b>	<b>Fase sólida</b>
<b>SPE</b>	5x	(Stanek, Jasicka-Misiak, 2018)	Amberlite XAD -2
		(Vilegas, 1998)	Amberlite XAD -2
		(Fecka, Raj, 2007)	C18
		(Guerrini, 2009)	Amberlite XAD -2
		(Fecka, Turek, 2007)	C18

*Fonte: elaborado pelo próprio autor (2023)*

Também foi utilizado, em 7 trabalhos, a cromatografia em coluna aberta, como método de purificação das amostras. Nestes casos observou-se que as colunas foram preenchidas com poliamida, C18, Biobeads SX-3, sílica gel 60 e sílica gel 60-120 ou 100-200 mesh (Quadro 11).

Quadro 11 Recorrência do método cromatografia em coluna e fases solidas utilizadas em clean up para análise de flavonoides por CCDAP

Método Clean-UP	Recorrência	Trabalhos	Fase sólida
Cromatografia em coluna	7x	(SUN, 2010)	Poliamida
		(CUI, 2011)	Poliamida
		(Gainche, 2021)	C18 e Biobeads SX-3
		(Menon, 2018)	Sílica gel 60-120 e 100-200 mesh
		(Aravind, Asha, 2016)	Sílica gel 60-120 e 100-200 mesh
		(Rameshkumar, 2015)	Sílica gel 60-120 mesh
		(Amina, M. 2018)	Sílica gel 60 RP18 Sephadex LH-20

Fonte: elaborado pelo próprio autor (2023)

Essas colunas possuíam dimensões variadas: 30 cm x 2,5 cm; 50 cm x 3 cm. Na cromatografia flash utilizou-se Chromabond C18 (80 g) (Gainche, 2021). Segue a baixo um quadro relacionando os artigos e as dimensões das colunas, assim como a quantidade de solvente utilizado, ambos quando disponíveis (Quadro 12).

Quadro 12 - Artigos que citam dimensões das colunas e quantidades de solventes utilizados em clean up para análise de flavonoides por CCDAP

Artigos que citam dimensões das colunas e quantidades de solventes utilizados em clean up para análise de flavonoides por CCDAP		
Artigo	Dimensões das colunas	Quantidade de fase estacionaria
(SUN, 2010)	coluna de 30 cm x 2,5 cm	Não cita
(CUI, 2011)	coluna de 50 cm x 3 cm	3 L de solvente, etanol-água, 1:1 (v/v).
(Gainche, 2021)	Chromabond C18 (80 g)	Água-acetonitrila a 45 mL/min
(Menon, 2018)	Não cita	Não cita
(Aravind, Asha, 2016)	Não cita	Não cita
(Rameshkumar, 2015)	Não cita	Não cita
(Amina, 2018)	coluna (50 x 2 cm)	Não cita

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Outra opção, menos utilizada, foi usar cartuchos para SPA (Solid Phase Extraction) (figuras 6 & 7), esta técnica é citada em apenas 3 artigos. Este método assim como a hidrólise,

técnica a ser discutida em momento posterior, foi bastante utilizada nos estudos dos flavonoides glicosilados.

Figura 6: Exemplos de cartuchos para extração em fase sólida



Fonte: <https://www.waters.com/nextgen/pt/pt/products/sample-preparation/sep-pak-sample-extraction-products.html>

Figura 7: Tubos Strata®-X PRO Solid Phase Extraction (SPE)



Fonte: <https://www.selectscience.net/products/strata-x-pro-solid-phase-extraction-spe-tubes-and-96-well-plates/?prodID=217476>

Por último, houve também a utilização do processo de hidrólise ácida, citada em 7 artigos. A reação de hidrólise em meio ácido teve o objetivo de separar a fração glicídica dos flavonoides, que depois passa por uma etapa partição líquido-líquido para finalizar o processo de limpeza da amostra, como visto a baixo:

50 mL de cada (E1-E8) extratos etanólicos foram (separadamente) hidrolisados por 30 min em ambiente de 4 N HCl. Os filtrados resultantes foram em seguida particionados com acetato de etila (50 mL × 3) e, em seguida, evaporados até a secura

e redissolvidos em etanol a 98% até um volume final de 50 mL (Pirvu, et al. 2014, p. 347).

#### 5.1.5.1.5.1 Reveladores utilizados em análise de flavonoides por CCDAP

Entre os reveladores encontrados, um total de 16, o reagente de produto natural (NP), associado ou não com polietilenoglicol (PEG), se destaca aparecendo onze vezes apenas NP e doze associado a PEG. No entanto esse é um revelador de alto custo (Quadro 13). Uma opção a esse reagente é o uso de placas contendo indicador fluorescente F254, opção bastante utilizada pelos pesquisadores, em um total de 14 trabalhos.

Quadro 13 Custo dos reveladores utilizados em análises de flavonoides por CCDAP

Custo dos reveladores utilizados em análises de flavonoides por CCDAP		
Revelador	Custo	Referência
NP (2-Aminoethyl diphenylborinate)	50,00 USD (264 R\$) – 5mg	(MCE) <a href="https://www.medchemexpress.com/2-aminoethyl-diphenylborinate.html?utm_source=google&amp;utm_medium=CPC&amp;utm_campaign=US&amp;utm_term=HY-W009724&amp;utm_content=2-Aminoethyl%20diphenylborinate&amp;gclid=CjwKCAiAzKqdBhAnEiwAePEjkjH8SY3aCdXci1gcmpTaCvmHjq7pZOSBHZVQAXZ ZuX77dF4Uh-yQIRoCo4AQA vD BwE">https://www.medchemexpress.com/2-aminoethyl-diphenylborinate.html?utm_source=google&amp;utm_medium=CPC&amp;utm_campaign=US&amp;utm_term=HY-W009724&amp;utm_content=2-Aminoethyl%20diphenylborinate&amp;gclid=CjwKCAiAzKqdBhAnEiwAePEjkjH8SY3aCdXci1gcmpTaCvmHjq7pZOSBHZVQAXZ ZuX77dF4Uh-yQIRoCo4AQA vD BwE</a> – Acesso 27/12/2022
	141,00 USD (744,48 R\$) - 10g	(TCI) <a href="https://www.tcichemicals.com/BR/en/search/?text=2-Aminoethyl+diphenylborinate">https://www.tcichemicals.com/BR/en/search/?text=2-Aminoethyl+diphenylborinate</a> – Acesso 27/12/2022
	72,80 USD (382,80 R\$) – 5g	(Fisher Scientific) <a href="https://www.fishersci.com/shop/products/2-aminoethyl-diphenylborinate-98-thermo-scientific/AAA1660606">https://www.fishersci.com/shop/products/2-aminoethyl-diphenylborinate-98-thermo-scientific/AAA1660606</a> – Acesso 27/12/2022
Tricloreto de alumínio (AlCl <sub>3</sub> )	442,72 R\$ - 250g	(Labimport) <a href="https://www.labimport.com.br/reagentes/cloreto-de-aluminio/cloreto-de-aluminio-anidro-pa-250-g-14671">https://www.labimport.com.br/reagentes/cloreto-de-aluminio/cloreto-de-aluminio-anidro-pa-250-g-14671</a> – Acesso 28/12/2022
	114,00 USD (599,64 R\$) – 500g	(Thomas Scientific) <a href="https://www.thomasci.com/Chemicals/Reagent-A/Aluminum-chloride-anhydrous-sublimed-981?q=AlCl3">https://www.thomasci.com/Chemicals/Reagent-A/Aluminum-chloride-anhydrous-sublimed-981?q=AlCl3</a> – Acesso 28/12/2022

	53,94 USD (284,26 R\$) – 500g	(Fisher Scientific) <a href="https://www.fishersci.com/shop/products/aluminum-iii-chloride-tci-america-2/A1831500G#?keyword=AlCl3">https://www.fishersci.com/shop/products/aluminum-iii-chloride-tci-america-2/A1831500G#?keyword=AlCl3</a> – Acesso 28/12/2022
Anisaldeído	133,03 USD (701,07 R\$) – 500mL	(Fisher Scientific) <a href="https://www.fishersci.com/shop/products/p-anisaldehyde-99-thermo-scientific/AC104805000#?keyword=anisaldhyde">https://www.fishersci.com/shop/products/p-anisaldehyde-99-thermo-scientific/AC104805000#?keyword=anisaldhyde</a> – Acesso 28/12/2022
	86,60 USD (464,17 R\$) – 500mL	(Thomas Scientific) <a href="https://www.thomassci.com/Chemicals/Reagent-A/ALDRICH-p-Anisaldehyde-98?q=anisaldehyde">https://www.thomassci.com/Chemicals/Reagent-A/ALDRICH-p-Anisaldehyde-98?q=anisaldehyde</a> – Acesso 02/12/2023
	50,00 USD (268,00 R\$) – 500mL	(MCE) <a href="https://www.medchemexpress.com/m-anisaldehyde.html">https://www.medchemexpress.com/m-anisaldehyde.html</a> – Acesso 02/12/2023

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

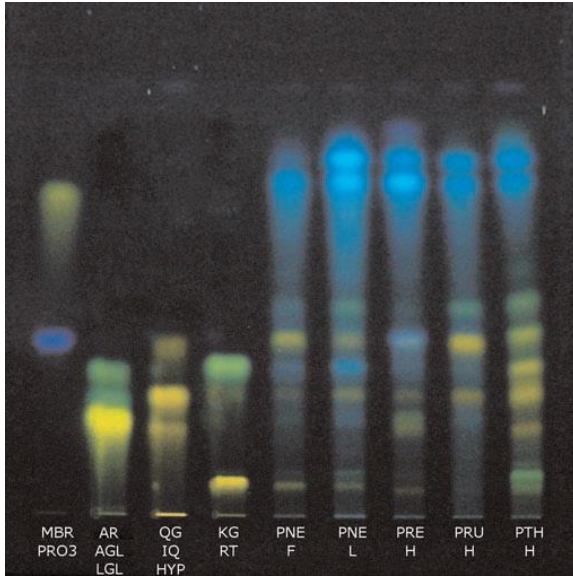
Outra opção, além de utilizar placas pré-tratadas com indicador F254, uma vez que o pesquisador opte por um revelador a parte, é o tricloreto de alumínio citado seis vezes a 1% e uma, a 2% em metanol. No entanto, mesmo o tricloreto de alumínio tendo menor custo (quadro 10), não é específico como o NP, corando outros compostos como os ácidos fenólicos.

Toda via, sob condições corretas, utilizando cloreto de alumínio + metanol e a leitura feita a 420nm, reduz-se a interferências de outros compostos durante análise de flavonoides com uso de  $AlCl_3$  como revelador. Isto porque complexo flavonoide + cátion de alumínio absorve em comprimento muito maior do que o mesmo flavonoide sem a presença do agente complexante. Diferindo assim dos ácidos fenólicos que mesmo formando um complexo com o alumínio, absorvem comprimentos de onda bem menores.

A baixo estão as figuras 8, 9 e 10 que representam as placas coradas com NP,  $AlCl_3$  e utilizando apenas o indicador fluorescente F254 respectivamente.

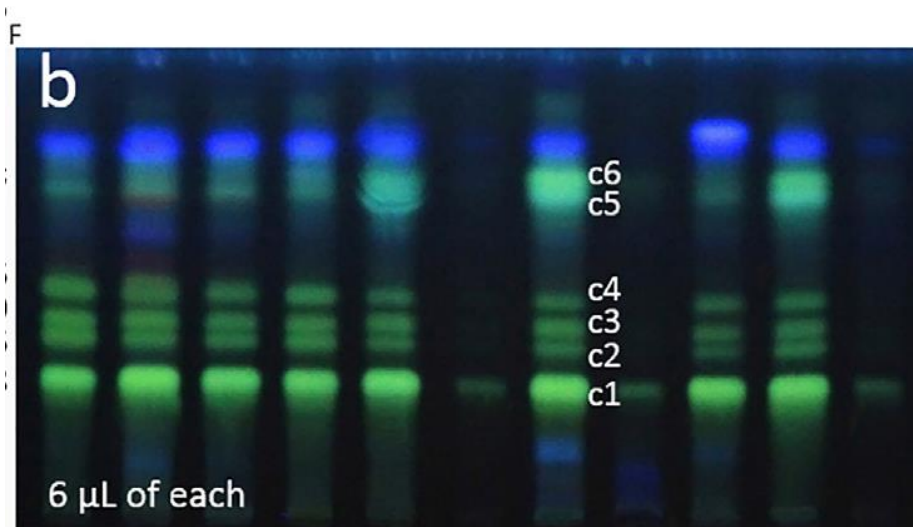


Figura 8 – Placa corada com Reagente natural (NP) sob luz UV em  $\lambda = 366 \text{ nm}$



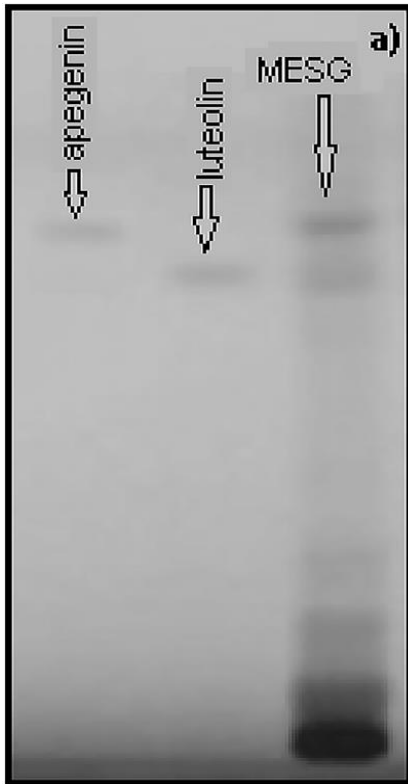
Fonte: (Bazyko, 2011)

Figura 9 – Placa corada com Tricloreto de alumínio sob luz UV em  $\lambda = 365 \text{ nm}$



Fonte: (Moricz, 2018)

Figura 10: revelação de placa utilizando apenas indicador F254



Fonte: (Mishra, 2021)

### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma vez consolidados, os dados mostraram um total de 49 padrões diferentes, 7 fases estacionárias, 57 fases móveis, 16 reveladores e 4 formas de clean-UP. Entre os padrões concluiu-se que a escolha se deu pela frequência com que são encontrados na natureza, assim como sua importância farmacêutica.

Para a escolha das fases estacionárias os motivos para escolha foram principalmente relacionados ao custo e disponibilidade no mercado. Já ao observar os dados referentes fases móveis utilizadas, foi possível notar uma pulverização resultados. Muitas fases diferentes que quase não se repetiam, com exceção de 9 em um total de 56.

Aparentando assim, um modo bastante particular de escolha baseada em quais reagentes e o volume disponível que havia para compor a fase móvel. Claro que as características físico-químicas dos padrões a serem estudados também foram levados em consideração.

Como esperado, entre os reveladores, o que mais se destacou apesar do custo elevado, foi o reagente de produto natural (NP) por gerar cromatografias com melhores resoluções. E como alternativas o uso de placas pré-tratadas e do tricloreto de alumínio se mostraram muito viáveis.

Entre os métodos de clean-UP a partição líquido-líquido se destacou como método mais escolhido 24x. Também foi possível notar uma certa preferência na utilização de cromatografia em coluna que aparece em 7 trabalhos, assim com a hidrólise, outros métodos menos utilizados foram as colunas preparadas para SPE, citadas 5x e os cartuchos para SPE, citados 3x. Vale ressaltar que os métodos de extração em fase sólida assim como a hidrólise foram particularmente utilizados para estudo de amostras contendo flavonoides glicosilados.

Considerasse aqui, uma oportunidade para desenvolvimento de um estudo comparando a eficiência entre os métodos: hidrólise seguida de cromatografia em coluna e as colunas preparadas para SPE, considerando a similaridade de ambos com os cartuchos, como métodos de clean-UP para amostras contendo flavonoides glicosídeos. Este estudo poderia não somente contribuir para melhorar os resultados finais de trabalhos futuros como também na redução de custos.

Para concluir, afirmou-se que os objetivos foram concluídos, os dados referentes a processos de tratamento foram compilados e organizados segundo o esperado e os elementos importantes para a realização do estudo de flavonoides por meio de CCDAP identificados, assim como alternativas a eles foram discutidas nos casos em que houve necessidade.

## REFERÊNCIAS

- ALIMOGLU, G et al. **Monofloral and polyfloral bee pollens: Comparative evaluation of their phenolics and bioactivity profiles.** LWT-Food Science and Technology: Amsterdam, Netherlands. V. 142, MAY 2021. Disponível em: < <https://www-sciencedirect.ez9.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0023643821001262?via%3Dihub> >. Acesso em: 25/02/2022
- AMINA, M et al. **Isolation and validated HPTLC analysis of four cytotoxic compounds, including a new sesquiterpene from aerial parts of *Plectranthus cylindraceus*.** Natural Product Research: Abingdon, England. V. 32, Ed. 7, p. 804-809, 2018. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1080/14786419.2017.1363750> >. Acesso em: 25/02/2022
- ARANITI, F et al. **Artemisia arborescens L. leaf litter: phytotoxic activity and phytochemical characterization.** Acta Physiologiae Plantarum: Heidelberg, Germany. V. 38, Ed. 5, MAY 2016. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1007/s11738-016-2141-7> >. Acesso em: 25/02/2022
- ARANITI, F et al. **Phytotoxic activity of *Cachrys pungens* Jan, a mediterranean species: separation, identification and quantification of potential allelochemicals.** Acta Physiologiae Plantarum: Reggio Di Calabria, Italy. V. 36, Ed. 5, p. 1071-1083, MAY 2014. Disponível em: < [https://www.researchgate.net/publication/271660491\\_Phytotoxic\\_activity\\_of\\_Cachrys\\_pungens\\_Jan\\_a\\_mediterranean\\_species\\_Separation\\_identification\\_and\\_quantification\\_of\\_potential\\_allelochemicals](https://www.researchgate.net/publication/271660491_Phytotoxic_activity_of_Cachrys_pungens_Jan_a_mediterranean_species_Separation_identification_and_quantification_of_potential_allelochemicals) >. Acesso em: 25/02/2022
- ARAVIND, APA; ASHA, KRT; RAMESHKUMAR, KB. **Phytochemical analysis and antioxidant potential of the leaves of *Garcinia travancorica* Bedd.** Natural Product Research: Abingdon, England. V. 30, Ed. 2, p. 232-236, JAN 17 2016. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1080/14786419.2015.1043551> >. Acesso em: 25/02/2022

Aromataris E, Munn Z (Editors). **JBI Manual for Evidence Synthesis**. JBI, 2020.

Disponível em: < <https://synthesismanual.jbi.global>.

<https://doi.org/10.46658/JBIMES-20-01> >. Último acesso: 06/03/2023

Attimarad, M. et al. **High-performance thin layer chromatography: A powerful analytical technique in pharmaceutical drug discovery**. *Pharmaceutical Methods: India*. V. 2, Ed 2, p. 71-75, 2011. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.4103/2229-4708.84436> >. Acesso em: 02/03/2023

BAZYLKO, A et al. **Chemical Fingerprint of Potentilla Species by Using HPTLC Method**. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC: Heidelberg, Germany*. V. 24, Ed. 5, p. 441-444, OCT 2011. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1556/JPC.24.2011.5.14> >. Acesso em: 25/02/2022

BAZYLKO, A et al. **Chemical Fingerprint of Potentilla Species by Using HPTLC Method**. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC: Heidelberg, Germany*. V. 24, Ed. 5, p. 441-444, OCT 2011. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1556/JPC.24.2011.5.14> >. Acesso em: 25/02/2022

BAZYLKO, A et al. **Chemical Fingerprint of Potentilla Species by Using HPTLC Method**. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC: Heidelberg, Germany*. V. 24, Ed. 5, p. 441-444, OCT 2011. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1556/JPC.24.2011.5.14> >. Acesso em: 25/02/2022

BAZYLKO, A; STRZELECKA, H. **A HPTLC densitometric determination of luteolin in Thymus vulgaris and its extracts**. *Fitoterapia: Amsterdam, Netherlands*. V. 78, Ed 6, p. 391-395, SEP 2007. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1016/j.fitote.2007.01.007> >. Acesso em: 25/02/2022

BAZYLKO, A; STRZELECKA, H. **A HPTLC densitometric determination of luteolin in Thymus vulgaris and its extracts**. *Fitoterapia: Amsterdam, Netherlands*. V. 78, Ed 6, p. 391-395, SEP 2007. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1016/j.fitote.2007.01.007> >. Acesso em: 25/02/2022

BEZERRA, ICF et al. **Chromatographic profiles of extractives from leaves of Eugenia uniflora**. *Revista Brasileira de Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy: Brasil*. V. 28, Ed. 1, p. 92-101, JAN/FEB 2018. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1016/j.bjp.2017.11.002> >. Acesso em: 25/02/2022

BHANDARI, P et al. **A rapid RP-HPTLC densitometry method for simultaneous determination of major flavonoids in important medicinal plants**. *Journal of Separation Science: Weinheim, Germany*. V. 30, Ed. 13, p. 2092-2096, AUG 2007. Disponível em: < <https://analyticalsciencejournals-onlinelibrary-wiley.ez9.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1002/jssc.200700066> >. Acesso em: 11/01/2023

BHANDARI, P et al. **A rapid RP-HPTLC densitometry method for simultaneous determination of major flavonoids in important medicinal plants**. *Journal of Separation Science: Weinheim, Germany*. V. 30, Ed. 13, p. 2092-2096, AUG 2007. Disponível em: < <https://analyticalsciencejournals-onlinelibrary-wiley.ez9.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1002/jssc.200700066> >. Acesso em: 11/01/2023

COLLINS, C. H. et al. **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 7ª ed. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 1997

CUI, J et al. **HPTLC Analysis of the Flavonoids in Eight Species of Indocalamus Leaves**. JPC-journal of planar chromatography-modern tlc: Budapest, Hungary.

V. 24, Ed. 5, p. 394-399, OCT 2011. Disponível em: < <https://scihub.se/https://doi.org/10.1556/jpc.24.2011.5.6> >. Acesso em: 25/02/2022

DAR, AA et al. **Simultaneous quantification of eight bioactive secondary metabolites from Codonopsis ovata by validated high performance thin layer chromatography and their antioxidant profile**. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis: Oxford, England. V. 100, p. 300-308, NOV 2014. Disponível em: < <https://www-sciencedirect.ez9.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0731708514003677?via%3Dihub> >. Acesso em 25/02/2022

DHANABAL, SP et al. **Antipsoriatic activity of extracts and fractions obtained from Memecylon malabaricum leaves**. Journal of Pharmacy and Pharmacology: Oxford, England. V. 64, Ed. 10, p. 1501-1509, OCT 2012. Disponível em: < <https://academic.oup.com/jpp/article/64/10/1501/6135214?login=true> >. Acesso em: 25/02/2022

DHANABAL, SP et al. **Antipsoriatic activity of extracts and fractions obtained from Memecylon malabaricum leaves**. Journal of Pharmacy and Pharmacology: Oxford, England. V. 64, Ed. 10, p. 1501-1509, OCT 2012. Disponível em: < <https://academic.oup.com/jpp/article/64/10/1501/6135214?login=true> >. Acesso em: 25/02/2022

DHANABAL, SP et al. **Antipsoriatic activity of extracts and fractions obtained from Memecylon malabaricum leaves**. Journal of Pharmacy and Pharmacology: Oxford, England. V. 64, Ed. 10, p. 1501-1509, OCT 2012. Disponível em: < <https://academic.oup.com/jpp/article/64/10/1501/6135214?login=true> >. Acesso em: 25/02/2022

DHANABAL, SP et al. **Antipsoriatic activity of extracts and fractions obtained from Memecylon malabaricum leaves**. Journal of Pharmacy and Pharmacology: Oxford, England. V. 64, Ed. 10, p. 1501-1509, OCT 2012. Disponível em: < <https://academic.oup.com/jpp/article/64/10/1501/6135214?login=true> >. Acesso em: 25/02/2022

EL HADDAD, D et al. **Acaricidal activity of flavonoids extract of Borago officinalis L. (Boraginaceae) against brown dog tick, Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806)**. Tropical Biomedicine: Kuala Lumpur, Malaysia. V. 35, Ed. 2, p. 383-391, JUN 2018. Disponível em: < <http://msptm.org/files/Vol35No2/383-391-El-haddad-D.pdf> >. Acesso em: 17/01/2023

EL HADDAD, D et al. **Acaricidal activity of flavonoids extract of Borago officinalis L. (Boraginaceae) against brown dog tick, Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806)**. Tropical Biomedicine: Malaysia. V. 35, Ed. 2, p. 383-391, JUN 2018. Disponível em: < <http://msptm.org/files/Vol35No2/383-391-El-haddad-D.pdf> >. Acesso em: 25/02/2022

EL SOHAFY et al. **Quantification of flavonoids of Psidium guajava L. preparations by Planar Chromatography (HPTLC)**. Pharmacognosy Magazine: Bengaluru, India. V. 5, Ed: 17, p. 61-66, JAN/MAR 2009. Disponível em: <

<https://www.proquest.com/docview/863443230/fulltextPDF/589F5D821B0747DCPQ/1?accountid=26580> >. Acesso em: 25/02/2022

Fan, W. et al. **Antiviral activity of luteolin against Japanese encephalitis virus.** Virus Research. V. 220, p. 112-116, Jul, 2016. Disponível em: < <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.04.021> >. Acesso em: 27/02/2023

FECKA, I; RAJ, D; KRAUZE-BARANOWSKA, M. **Quantitative determination of four water-soluble compounds in herbal drugs from Lamiaceae using different chromatographic techniques.** Chromatographia: Heidelberg, Germany. V. 66, Ed 1-2, p. 87-93, JUL 2007. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1365/s10337-007-0233-7> >. Acesso em: 25/02/2022

FECKA, I; TUREK, S. **Determination of water-soluble polyphenolic compounds in commercial herbal teas from Lamiaceae: Peppermint, melissa, and sage.** Journal of Agricultural and Food Chemistry: Washington, United States. V. 55, Ed. 26, p 10908-10917, DEC 26 2007. Disponível em: < <https://pubs-acsc.org.ez9.periodicos.capes.gov.br/doi/10.1021/jf072284d> >. Acesso em: 25/02/2022

Fernández O. L. et al. **Determination of Polyphenols Using Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Technique (LC–MS/MS): A Review.** Antioxidants: Basel, Switzerland. V. 9, Ed. 6, p. 479, 2020. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/6/479> >. Acesso em: 08/03/2023

Ferreira, C. H. A.; Colombo, R. **Validação de método e determinação espectrométrica dos flavonoides das folhas e do vinhoto da cana-de-açúcar e comparação com método CLAE-UV.** Química Nova: Brasil. V. 34, Ed. 9, p. 1651-1655, 2011. Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/qn/a/mzNtKptFKpPbLS93CF9v7rh/?lang=pt#> >. Acesso em: 21/02/2023

GAINCHE, M et al. **Xanthine Oxidase Inhibitors from Filipendula ulmaria (L.) Maxim. and Their Efficient Detections by HPTLC and HPLC Analyses.**

Molecules: Switzerland. V. 26, Ed. 7, APR 2021. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.3390/molecules26071939> >. Acesso em: 25/02/2022

GUERRINI, A et al. **Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product.** Food Chemistry: Oxford, England. V. 114, Ed 4, p. 1413-1420, JUN 15 2009. Disponível em: < [https://www-sciencedirect.ez9.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814608013678?via%3Dihub](https://www.sciencedirect.ez9.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814608013678?via%3Dihub) >. Acesso em: 25/02/2022

Halpaap, H.; Rippahn, J.; Merck, E. **High performance thindayer chromatography: development, data and results.** Journal of Chromatography Library. V. 9, p. 95-127, 1977. Disponível em: < [https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/S0301-4770\(08\)70061-7](https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/S0301-4770(08)70061-7) >. Acesso em: 03/03/2023

HEIMLER, D et al. **DETERMINATION OF FLAVONOIDS, FLAVONOID GLYCOSIDES AND BIFLAVONOIDS IN OLEA-EUROPAEA L LEAVES.** Chromatographia: Heidelberg, Germany. V. 33, Ed. 7-8, p. 369-373, APR 1992. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1007/BF02275920> >. Acesso em: 25/02/2022

JASICKA-MISIAK, I; MAKOWICZ, E; STANEK, N. **Chromatographic fingerprint, antioxidant activity, and colour characteristic of polish goldenrod (Solidago virgaurea L.) honey and flower.** European Food Research and Technology: New York, United States. V. 244, Ed. 7, p 1169-1184, JUL 2018. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1007/s00217-018-3034-3> >. Acesso em: 25/02/2022

Kaul, T. N.; Middleton, Jr., E.; Ogra P. L. **Antiviral Effect of Flavonoids on Human Viruses.** Journal of Medical Virology: V. 15, Ed. 1, p. 71-79, 1985. Disponível em: < <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1002/jmv.1890150110> >. Acesso em: 27/02/2023

Khandelwal, N. et al. **Antiviral activity of Apigenin against buffalopox: Novel mechanistic insights and drug-resistance considerations.** Antiviral Research. V. 181, 2020. Disponível em: < <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104870> >. Acesso em: 27/02/2023



Kinjo, J., et al. **Activity-Guided Fractionation of Green Tea Extract with Antiproliferative Activity against Human Stomach Cancer Cells.** *Biological and Pharmaceutical Bulletin: Japão*. V. 25, Ed. 9, p. 1238-1240, 2002. Disponível em: < [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/25/9/25\\_9\\_1238/pdf/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/25/9/25_9_1238/pdf/-char/en) >. Acesso em: 27/02/2023

Li, J. et al. **HPLC–MS/MS determination of flavonoids in Gleditsiae Spina for its quality assessment.** *Journal of Separation Science: California, EUA*. V. 41, Ed. 8, 1752-1763, April 2018. Disponível em: < <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1002/jssc.201701249> >. Acesso em: 21/02/2023

MANDAL, B et al. **Suppression of the Mechanisms of Stone Formation by a Flavonoid-enriched Ethyl Acetate Fraction of Aerial and Underground Parts of Aerva lanata (Linn.) Juss. Ex Schult.** *Pharmacognosy Magazine: Maharashtra, Índia*. V. 14, Ed. 59, p. S630-S637, DEC 2018. Disponível em: < <https://www.proquest.com/docview/2168821337?pq-origsite=gscholar&fromopenview=true> >. Acesso em: 25/02/2022

MARGINA, D et al. **Assessment of the potential health benefits of certain total extracts from Vitis vinifera, Aesculus hyppocastanum and Curcuma longa.** *Experimental and Therapeutic Medicine: Athens, Greece*. V. 10, Ed. 5, p. 1681-1688, NOV 2015. Disponível em: < <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2015.2724> >. Acesso em: 25/02/2022

MARRELLI, M et al. **Echinophora tenuifolia L. branches phytochemical profile and antiproliferative activity on human cancer cell lines.** *Natural Product Research: Abingdon, England*. V. 34, Ed. 18, p. 2664-2667, SEP 16 2020. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1080/14786419.2018.1548457> >. Acesso em: 25/02/2022

MARRELLI, M et al. **Echinophora tenuifolia L. inflorescences: phytochemistry and in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages.** *Plant Biosystems: Arcavacata, Italy*. V. 151, Ed. 6, p. 1073-1081, 2017. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1080/11263504.2016.1231142> >. Acesso em: 25/02/2022

MENON, LN et al. **Chemical Composition and Cytotoxicity of Garcinia rubro-echinata, a Western Ghats Endemic Species.** Natural Product Communications: Thousand Oaks, United States. V. 13, Ed. 11, p. 1497-1499, NOV 2018. Disponível em: < <https://journals.sagepub.com/doi/epdf/10.1177/1934578X1801301121> >. Acesso em: 25/02/2022

MISHRA, AP. **Antibacterial activity and phytochemical characterisation of Saussurea gossypiphora D. Don.** Archives of Microbiology: NEW YORK, United States. V. 203, Ed. 8, p. 5055-5065, OCT 2021. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1007/s00203-021-02494-1> >. Acesso em: 25/02/2022

Moraes, BJ et al. **Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos Bioavailability and classification of phenolic compounds.** Nutrição Brasil: Brasil. V. 18, Ed. 1, p. 39-48, 2019. Disponível em: < <https://www.portalatlanticaeditora.com.br/index.php/nutricaoBrasil/article/view/1432/4972> >. Acesso em: 12/12/2022

MORICZ, AM et al. **Antibacterial potential of the Cistus incanus L. phenolics as studied with use of thin-layer chromatography combined with direct bioautography and in situ hydrolysis.** Journal of Chromatography A: Amsterdam, Netherlands. V. 1534, p. 170-178, JAN 2018. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1016/j.chroma.2017.12.056> >. Acesso em: 25/02/2022

MOSIC, M et al. **Phenolic Composition Influences the Health-Promoting Potential of Bee-Pollen.** Biomolecules: Switzerland. V. 9, Ed. 12, DEC 2019. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.3390/biom9120783> >. Acesso em: 25/02/2022

MOSLEH, G et al. **Anti-Inflammatory Activity and Quality Control of Erysimum cheiri (L.) Crantz.** Biomed Research International: London, England. V. 2021, JUN 9 2021. Disponível em: < <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2021/5526644/> >. Acesso em: 25/02/2022

NAMPOOTHIRI, SV. **Invitro antioxidant activities of the methanol extract and its different solvent fractions obtained from the fruit pericarp of Terminalia**

**bellerica**. Natural Product Research: Abingdon, England. V. 25, Ed. 3, p. 277-287, 2011. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1080/14786419.2010.482053> >. Acesso em: 25/02/2022

Nijveldt, R. J. et al. **Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications**. The American Journal of Clinical Nutrition. V. 74, p. 418-425, OUT 2001. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1093/ajcn/74.4.418> >. Acesso em: 24/02/2023

NILE, SH; PARK, SW. **HPTLC analysis, antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative activities of Arisaema tortuosum tuber extract**. Pharmaceutical Biology: Netherlands. V. 52, Ed 2, p. 221-227, FEB 2014. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.3109/13880209.2013.831110> >. Acesso em: 25/02/2022

NIRANJAN, A et al. **High-Performance Thin-Layer Chromatographic Analysis for the Simultaneous Quantification of Four Phenolic Compounds in Green, Red, and Black Fruits of *Trapa natans* var. *bispinosa* Roxb. (Singhara)**. JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC: Heidelberg, Germany. V. 26, Ed. 4, p. 316-321, AUG 2013. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1556/JPC.26.2013.4.4> >. Acesso em: 25/02/2022

OLENNIKOV, DN et al. **Phenolic compounds of *Sophora flavescens* Soland. of Russian origin**. Russian Journal of Bioorganic Chemistry: Russian Federation. V. 39, Ed. 7, p. 755-760, DEC 2013. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1134/S106816201307011X> >. Acesso em: 25/02/2022

OOMEN, WW et al. **Natural Deep Eutectic Solvent Extraction of Flavonoids of *Scutellaria baicalensis* as a Replacement for Conventional Organic Solvents**. Molecules: Switzerland. V. 25, Ed 3, FEB 1 2020. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.3390/molecules25030617> >. Acesso em: 25/02/2022

ORESANYA, IO et al. **Isolation of flavonoids from *Musa acuminata* Colla (Simili radjah, ABB) and the in vitro inhibitory effects of its leaf and fruit fractions on free radicals, acetylcholinesterase, 15-lipoxygenase, and carbohydrate**

**hydrolyzing enzymes.** Journal of Food Biochemistry: United States. V. 44, Ed. 3, MAR 2020. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1111/jfbc.13137> >. Acesso em: 25/02/2022

Page, J. P. et al. **PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews.** BMJ - British Medical Journal: 2021; 372: n160. Disponível em: < <https://www.bmj.com/content/372/bmj.n160> >. Acesso em: 06/03/2023

PANCHAL, H; AMIN, A; SHAH, M. **Development of Validated High-performance Thin-layer Chromatography Method for Simultaneous Determination of Quercetin and Kaempferol in Thespesia populnea.** Pharmacognosy Research: Índia. V. 9, Ed. 3, p. 277-281, JUL-SEP 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5541485/> >. Acesso em: 25/02/2022

Panche, A. N.; Diwan, A. D.; Chandra, S. R. **Flavonoids: an overview.** JNS - Journal of Nutritional Science: V. 5, Ed. 47, p. 1-15, 2016. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1017/jns.2016.41> >. Acesso em: 28/02/2023

PIRVU, ET AL. **Comparative Studies on Analytical, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of a Series of Vegetal Extracts Prepared from Eight Plant Species Growing in Romania.** JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC: V. 27, Ed. 5, p. 346-356, OCT 2014. Disponível em: < <https://akjournals.com/view/journals/1006/27/5/article-p346.xml> >. Acesso em: 17/01/2023

PIRVU, L et al. **Comparative Studies on Analytical, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of a Series of Vegetal Extracts Prepared from Eight Plant Species Growing in Romania.** JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC: Heidelberg, Germany. V. 27, Ed. 5, p. 346-356, OCT 2014. Disponível em: < <https://akjournals.com/view/journals/1006/27/5/article-p346.xml> >. Acesso em: 25/02/2022

Plaza, M. et al. **Polyphenols analysis and related challenges**. Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications. Ed 1, p. 177-232, 2018. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1016/B978-0-12-813572-3.00006-3> >. Acesso em: 08/03/2023

Puranik, M. et al. **Simultaneous Determination of Ofloxacin and Ornidazole in Solid Dosage Form by RP-HPLC and HPTLC Techniques**. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences: India. V. 72, Ed. 4, p. 513-517, 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3013582/> >. Acesso em: 02/03/2023

RAJPUT, R et al. **Bioactive Fractions from the Chinese Caterpillar Mushroom, Ophiocordyceps sinensis (Ascomycetes), Elucidate Adaptogenic Role against Hypoxia Stress**. International Journal of Medicinal Mushrooms: Danbury, United States. V. 22, Ed. 11, p. 1121-U26, 2020. Disponível em: < <https://www.dl.begellhouse.com/download/article/5f90678f5cd63e37/IJM-36713.pdf> >. Acesso em: 25/02/2022

RAMESHKUMAR, KB et al. **Curcuma ecalcarata - new natural source of pinocembrin and piperitenone**. Natural Product Research: Abingdon, England. V. 29, Ed. 13, p. 1276-1279, JUL 3 2015. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1080/14786419.2014.994210> >. Acesso em 25/02/2022

Rathee, P., et al. **Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: A Review**. Inflammation & Allergy - drug targets. V. 8, p. 229-235, 2009. Disponível em: < <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.2174/187152809788681029> >. Acesso em: 27/02/2023

Santos, D.S; Rodrigues MMF. **Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão**. Estação Científica (UNIFAP): Brasil, Macapá. V. 7, n. 3, p. 29-35, set./dez. 2017. Disponível em: < <https://pdfs.semanticscholar.org/ecc3/3343d98c2266c39587fb51581a5e8e7b7d32.pdf> >. Acesso em: 24/02/2023

Sanvido, M.E. et al. **Análise comparativa do teor de flavonoides e da atividade antioxidante de extratos de baccharis uncinella obtidos por extração supercrítica**

e **maceração**. Blucher Chemical Engineering Proceedings: Brasil. V. 1, Ed. 3, p. 708-713, 2015. Disponível em: < [https://repositorio.pucrs.br/dspace/bitstream/10923/12481/2/ANALISE\\_COMPARATIVA\\_DO\\_TEOR\\_DE\\_FLAVONOIDES\\_E\\_DA\\_ATIVIDADE\\_ANTIOXIDANTE\\_DE\\_EXTRATOS\\_DE\\_BACCHARIS\\_UNCINELLA\\_OBTIDOS\\_POR.pdf](https://repositorio.pucrs.br/dspace/bitstream/10923/12481/2/ANALISE_COMPARATIVA_DO_TEOR_DE_FLAVONOIDES_E_DA_ATIVIDADE_ANTIOXIDANTE_DE_EXTRATOS_DE_BACCHARIS_UNCINELLA_OBTIDOS_POR.pdf) >. Acesso em: 21/02/2023

SATPATHY, S et al. **Amelioration of postmenopausal osteoporosis and anticancer properties of an antioxidant enriched fraction from Hygrophila spinosa T. Anders**. South African Journal of Botany: Amsterdam, Netherlands. V. 117, p. 247-255, JUL 2018. Disponível em: < <https://www-sciencedirect.ez9.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0254629917316800?via%3DIhub> >. Acesso em: 25/02/2022

SATPATHY, S; PATRA, A; AHIRWAR, B. **Development and Validation of a Novel High-Performance Thin-Layer Chromatography Method for the Simultaneous Determination of Apigenin and Luteolin in Hygrophila spinosa T. Anders**. JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC: Heidelberg, Germany. V. 31, Ed. 6, p. 437-443, DEC 2018. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1556/1006.2018.31.6.3> >. Acesso em: 25/02/2022

SIMÕES, C. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6ª ed. rev. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed Universidade /UFRGS/ Ed. Universidade/ UFSC, 2010

SIMONOVSKA, B et al. **Investigation of phenolic acids in yacon (Smallanthus sonchifolius) leaves and tubers**. Journal of Chromatography A: Amsterdam, Netherlands. V. 1016, Ed 1, p. 89-98, OCT 17 2003. Disponível em: < <https://www-sciencedirect.ez9.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S002196730301183X> >. Acesso em: 25/02/2022

SINGH, B et al. **HPTLC Densitometric Quantification of Glycyrrhizin, Glycyrrhetic Acid, Apigenin, Kaempferol and Quercetin from Glycyrrhiza glabra**. Chromatographia: Heidelberg, Germany. V. 70, Ed. 11-12, p. 1665-1672,

DEC 2009. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1365/s10337-009-1383-6> >. Acesso em: 25/02/2022

Singh, D., et al. **Galangin, as a Potential Anticancer Agent**. Revista Brasileira de Farmacognosia: Brasil. V. 32, p. 331-343, April 2022. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007/s43450-022-00238-w#citeas> >. Acesso em: 27/02/2023

Srivastava, MM. et al. **High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011. Disponível em: < [https://www.researchgate.net/profile/Pinakin-Dhandhukia/publication/235448945\\_Quantitative\\_Analysis\\_and\\_Validation\\_of\\_Method\\_using\\_HPTLC/links/00b4952d0efec189e1000000/Quantitative-Analysis-and-Validation-of-Method-using-HPTLC.pdf#page=20](https://www.researchgate.net/profile/Pinakin-Dhandhukia/publication/235448945_Quantitative_Analysis_and_Validation_of_Method_using_HPTLC/links/00b4952d0efec189e1000000/Quantitative-Analysis-and-Validation-of-Method-using-HPTLC.pdf#page=20) >

STANEK, N; JASICKA-MISIAK, I. **HPTLC Phenolic Profiles as Useful Tools for the Authentication of Honey**. Food Analytical Methods: United States. V. 11, Ed. 11, p. 2979-2989, NOV 2018. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1007/s12161-018-1281-3> >. Acesso em: 25/02/2022

SUN, J. et al. **Simultaneous HPTLC Analysis of Flavonoids in the Leaves of Three Different Species of Bamboo**. JPC-journal of planar chromatography-modern tlc: Budapest, Hungary. V. 23, Ed. 1, p. 40-45, FEB 2010. Disponível em: < <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1556/jpc.23.2010.1.7> >. Acesso em: 25/02/2022

TOMCZYK, M; BAZYLKO, A; BONAREWICZ, J. **Method development and validation for optimized separation of quercetin derivatives in selected Potentilla species using high-performance thin-layer chromatography photodensitometry method**. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis: Oxford, Inglaterra. V. 61, p. 265-270, MAR 5 2012. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1016/j.jpba.2011.12.010> >. Acesso em: 25/02/2022

TOMCZYK, M; BAZYLKO, A; STASZEWSKA, A. **Determination of Polyphenolics in Extracts of Potentilla Species by High-performance Thin-layer**

**Chromatography Photodensitometry Method.** Phytochemical Analysis: Hoboken, United States. V. 21, Ed. 2, p. 174-179, MAR/APR 2010. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1002/pca.1174> >. Acesso em: 25/02/2022

Tricco, A. C. et al. **PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA ScR): Checklist and Explanation.** Annals of Internal Medicine: V. 169, p. 467-473, 2018. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.7326/M18-0850> >. Acesso em 06/03/2023

**United States Pharmacopeia (USP-NF39).** 2021.

UPASANI, SM et al. **Partial characterization and insecticidal properties of Ricinus communis L foliage flavonoids.** Pest Management Science: United Kingdom. V. 59, Ed. 12, p. 1349-1354, DEC 2003. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1002/ps.767> >. Acesso em: 25/02/2022

VILEGAS, JHY et al. **Characterization of adulteration of "Espinheira Santa" (Maytenus ilicifolia and Maytenus aquifolium, Celastraceae) hydroalcoholic extracts with Sorocea bomplandii (Moraceae) by high-performance thin layer chromatography.** Phytochemical Analysis: United Kingdom. V. 9, Ed. 6, p. 263-+, NOV/DEC 1998. Disponível em: < <https://analyticalsciencejournals-onlinelibrary-wiley.ez9.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1002/%28SICI%291099-1565%28199811/12%299%3A6<263%3A%3AAID-PCA415>3.0.CO%3B2-N> >. Acesso em: 25/02/2022

Woo, H; Jeong, R.B; Hawes, C.M. **Flavonoids: from cell cycle regulation to biotechnology.** Review Biotechnology Letters. V. 27, p. 365-374, MAR 2005. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1007/s10529-005-1521-7> >. Acesso em: 24/02/2023

Yadav D.; Tiwari, N.; Gupta M. M. **Simultaneous quantification of diterpenoids in Premna integrifolia using a validated HPTLC method.** Journal of separation science: Germany. V. 34, Ed. 3, p. 286-291, 2011. Disponível em: < <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jssc.201000696> >. Acesso em: 02/03/2023



YE, Z et al. **Chemical Differentiation of *Dendrobium officinale* and *Dendrobium devonianum* by Using HPLC Fingerprints, HPLC-ESI-MS, and HPTLC Analyses.** Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: London, England. V. 2017, 2017. Disponível em: < <https://sci-hub.se/10.1155/2017/8647212> >. Acesso em: 25/02/2022

Zand, R. S. R.; Jenkins, D. J. A.; Diamandis, E. P. **Steroid hormone activity of flavonoids and related compounds.** Breast Cancer Res Treat: V. 62, Ed. 1. P, 35-49, 2000. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1006422302173#citeas> >. Acesso em: 27/02/2023

ZHANG, J et al. **A New Approach to Develop a Standardized Method for Simultaneous Analysis of Astragaloside IV and Formononetin in Radix Astragali by High-Performance Thin-Layer Chromatography.** JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC: Heidelberg, Germany. V. 28, Ed. 4, p. 268-273, AUG 2015. Disponível em: < <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1556/1006.2015.28.4.1> >. Acesso em: 25/02/2022

Zuo, A., et al. **Study on the relation of structure and antioxidant activity of isorhamnetin, quercetin, phloretin, silybin and phloretin isonicotinyl hydrazine.** Free Radicals and Antioxidants: India. V. 1, Ed. 4, p. 39-47, 2011. Disponível em: < <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.5530/ax.2011.4.7> >. Acesso em: 27/02/2023

## APÊNDICE A – QUADROS REFERENTES A PADRÕES, FASES MÓVEIS E ESTACIONARIAS, CLEAN-UPS E REVELADORES UTILIZADOS

Quadro 1 Relação de fases estacionarias utilizadas nos trabalhos analisados

QUADRO 1 - FASE ESTACIONÁRIA		
Fase estacionária	Número de trabalhos	Referência
Sílica F <sub>254</sub>	33x	(Cui, 2011) (El Sohafy, 2009) (HEIMLER, 1992) (Upasani, 2003) (Oresanya, 2020) (Oomen, 2020) (Tomczyk, 2012) (Mandal, 2018) (Vilegas, 1998) (Bazylo, 2011) (Ye, 2017) (Nile, Park, 2014) (Bezerra, 2018) (El Haddad, 2018) (Amina, 2018) (Singh, 2009) (Moricz, 2018) (Menon, 2018) (Nampoothiri, 2011) (Mishra, 2021) (Tomczyk, Bazylo, 2010) (Aravind, Asha, 2016) (Rameshkumar, 2015) (Dar, 2014) (Alimoglu, 2021) (Satpathy, Patra, 2018) (Panchal, Amin, 2017) (Dhanabal, 2012) (Mosleh, 2021) (Satpathy, Patra, Hussain, 2018) (Niranjan, 2013) (Fecka, Turek, 2007) (Margina, 2015)
Sílica gel 60	16x	(Gainche, 2021) (HEIMLER, 1992) (Stanek, Jasicka, 2018) (Masic, 2019) (Olennikov, 2013) (Fecka, Raj, 2007) (Guerrini, 2009) (Zhang, 2015) (Rajput, 2020) (Marrelli, 2020) (Marrelli, 2017) (Araniti, 2014) (Simonovska, 2003) (Araniti, 2016) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)

		(Bazyłko, Strzelecka, 2007)
RP18/C18/octadecilnilano	1x	(HEIMLER, 1992)
C50	1x	(HEIMLER, 1992)
Poliamida	1x	(SUN, 2010)
Sílica modificada com CN, NH <sub>2</sub> , DIOL e octadecil	1x	(Bazyłko, 2011)
Sílica modificada com NH <sub>2</sub>	2x	(Fecka, Raj, 2007) (Fecka, Turek, 2007)

Fonte: elaborado pelo próprio autor (2022)

Quadro 2 Relação de fases moveis utilizadas nos trabalhos analisados

<b>QUADRO 2 - FASE MÓVEL</b>			
<b>Fase móvel</b>	<b>Proporção</b>	<b>Número de trabalhos</b>	<b>Referência</b>
A–B–C 33:67:8 (v/v)	Onde <b>A</b> é dodecil sulfato: n-butanol: n-heptano 13,74:15,8:2,8 (p/p), <b>B</b> é água, e <b>C</b> é ácido fórmico.	1x	(SUN, 2010)
Metanol: acetona: cloreto de metileno	Multiestágio [1°.20:35:45 (v/v), 2°.10:5:35:50 (v/v), 3°.5:10:30:55 (v/v)]	1x	(CUI, 2011)
Tolueno: acetona: metanol: ácido fórmico	46:8:5:1 (v/v)	1x	(El Sohafy, 2009)
Acetato de etila: diclorometano: ácido fórmico: ácido acético: água	100:25:10:10:11 (v/v)	6x	(Gainche, 2021) (Alimoglu, 2021) (Marrelli, 2020) (Marrelli, 2017) (Araniti, 2014) (Araniti, 2016)
Acetato de etila: diclorometano: ácido fórmico: ácido acético: água	100: 31,25: 1,25: 1,25: 1,25 (v/v)	1x	(Araniti, 2014)
Acetato de etila: diclorometano: ácido fórmico: ácido acético: água	80:25:1:1:1 (v/v)	1x	(Araniti, 2016)
Metanol: água: ácido acético	50: 50: 6 (v/v)	1x	(HEIMLER, 1992)
Benzeno: piridina: ácido fórmico	100:20:7 (v/v)	1x	(HEIMLER, 1992)
Benzeno: acetato de etila: metanol: ácido fórmico	12:4,5:2:1,5 (v/v)	1x	(Upasani, 2003)
Clorofórmio: acetato de etila: ácido fórmico	5:4:1 (v/v)	2x	(Stanek, 2018) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
Acetato de etila: tolueno: ácido fórmico: água	6,8:1:1,4:1, (v/v)	1x	(Oresanya, 2020)
Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água	100:11:11:27 (v/v)	2x	(Oomen, 2020) (Guerrini, 2009)
Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água	100:11:11:26 (v/v)	1x	(Dhanabal, 2012)

Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água	100:12:12:26 (v/v)	1x	(Pirvu, 2014)
Acetato de etila: metanol: ácido fórmico: água	20:2,7:0,5:2 (v/v)	1x	(Oomen, 2020)
Acetato de etila: metanol: ácido fórmico: água	20:2,5:2,5:0,5 (v/v)	1x	(Nile, 2014)
Acetato de etila: butanona: éter diisopropílico: ácido fórmico	3:10:4:1 (v/v)	2x	(Tomczyk, 2012) (Bazylko, 2011)
Tolueno: acetato de etila: ácido fórmico	6:4:0,5 (v/v)	1x	(Mandal, 2018)
Tolueno: acetato de etila: ácido fórmico	3:6:1 (v/v)	1x	(Amina, 2018)
Tolueno: acetato de etila: ácido fórmico	4:7:1 (v/v)	1x	(Mosaic, 2019)
Tolueno: acetato de etila: ácido fórmico	6:4:1 (v/v)	2x	(Satpathy, 2018) (Satpathy, Patra, Hussain, 2018)
Tolueno: acetato de etila: ácido fórmico	6:4:0,3 (v/v)	1x	(Panchal, 2017)
Tolueno: acetato de etila: ácido fórmico	13:11:2 (v/v)	1x	(Niranjan, 2013)
Tolueno: acetato de etila: ácido fórmico	5:3:1 (v/v)	1x	(Margina, 2015)
Acetato de etila: ácido fórmico: água	6:1:1 (v/v)	1x	(Vilegas, 1998)
Acetato de etila: ácido fórmico: água	90:5:5 (v/v)	1x	(Bezerra, 2018)
Acetato de etila: ácido fórmico: água	17/2/2 (v/v)	1x	(Mosaic, 2019)
Acetato de etila: ácido fórmico: água	85:15:10 (v/v)	1x	(Simonovska, 2003)
Tolueno: formato de etila: ácido fórmico	6:4:1 (v/v)	2x	(Bazylko, 2011) (Tomczyk, Bazylko, 2010)
Tolueno: formato de etila: ácido fórmico	7:5:1 (v/v)	1x	(Bazylko, 2011)
Acetato de etila: butanona: ácido fórmico: água	4:3:1:1 (v/v)	1x	(Ye, 2017)
Formato de metila: hexano: ácido fórmico	3:7:0,1 (v/v)	1x	(Bazylko, 2007)
Formato de metila: hexano: ácido fórmico	4:6:0,1 (v/v)	1x	(Bazylko, 2007)
Formato de metila: hexano: ácido fórmico	5:5:0,1 (v/v)	1x	(Bazylko, 2007)
Acetona: tolueno: etanol: amônia	45%:45%:7%:3% (v/v)	1x	(El Haddad, 2018)
Acetato de etila: etanol: água: amônia	6,5: 2: 0,4: 0,1 (v/v)	1x	(Singh, 2009)
Tolueno: acetato de etila: metanol: ácido fórmico	6:3:0,2:0,4 (v/v)	1x	(Singh, 2009)
Tolueno: acetato de etila: metanol: ácido fórmico	3:3:1,4:0,2 (v/v)	1x	(Nampoothiri, 2011)
Clorofórmio: etanol	9:1 (v/v)	1x	(Olennikov, 2013)
Clorofórmio: etanol	4:1 (v/v)	1x	(Olennikov, 2013)
Clorofórmio: etanol	3:1 (v/v)	1x	(Olennikov, 2013)
Clorofórmio: metanol: acetato de etila	75:15:10 (v/v)	1x	(Moricz, 2018)
Clorofórmio: metanol	9:1 (v/v)	2x	(Menon, 2018) (Rameshkumar, 2015)

Acetona: ácido fórmico	85:15 (v/v)	2x	(Fecka, Raj, 2007) (Fecka, Turek, 2007)
Éter diisopropílico: acetona: ácido fórmico: água	50:30:10:10 (v/v)	1x	(Fecka, Raj, 2007)
Éter diisopropílico: acetona: ácido fórmico: água	55:25:10:10 (v/v)	1x	(Fecka, Turek, 2007)
Acetato de etila: diclorometano: ácido fórmico: ácido acético glacial: metanol	10:10:1:1:2 (v/v)	2x	(Mishra, 2021) (Rajput, 2020)
Hexano-acetato de etila	30:70 (v/v)	1x	(Aravind, Asha, 2016)
Etilacetato: metanol: ácido fórmico	80:17,5:2,5 (v/v)	1x	(Aravind, Asha, 2016)
n-hexano: acetato de etila: ácido fórmico	10,5:3,5:0,43 (v/v)	1x	(Dar, 2014)
n-hexano: acetato de etila: ácido fórmico	20:19:1 (v/v)	1x	(Simonovska, 2003)
n-hexano: acetato de etila: ácido acético glacial	5:3:1 (v/v)	1x	(Alimoglu, 2021)
Tolueno: acetato de etila: ácido acético	50:45:5 (v/v)	1x	(Guerrini, 2009)
Éter de petróleo: n - butanol saturado com água: ácido acético glacial	3,5:2:4 (v/v)	1x	(Zhang, 2015)
n-hexano : Etanol acidificado : Ácido etanoico	5 : 3 : 1 (v/v)	1x	(Mosleh, 2021)

Fonte: elaborado pelo próprio autor (2022)

Quadro 3 Relação de reveladores utilizados nos trabalhos analisados

QUADRO 3 – REVELADORES		
Reveladores	Número de trabalhos	Referências
NP/ NTS/ natural reagente/ Diphenylboric acid $\beta$ -aminoethyl ester complex	11x	(Stanek, Jasicka –Misiak, 2018) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018) (Oomen, 2020) (Bazylko, 2011) (Marrelli, 2020) (Marrelli, 2017) (Araniti, 2014) (Simonovska, 2003) (Araniti, 2016) (Mosleh, 2021) (Margina, 2015)
NP + PEG	12x	(Gainche, 2021) (HEIMLER, 1992) (Oresanya, 2020)

		(Vilegas, 1998) (Nile, Park, 2014) (Bezerra, 2018) (Mosaic, 2019) (Moricz, 2018) (Fecka, Raj, 2007) (Alimoglu, 2021) (Fecka, Turek, 2007) (Pirvu, 2014)
Apenas indicador fluorescente F254	14x	(Upasani, 2003) (Tomczyk, 2012) (Mandal, 2018) (El Haddad, 2018) (Singh, 2009) (Menon, 2018) (Nampoothiri, 2011) (Mishra, 2021) (Tomczyk, Bazylko, 2010) (Rameshkumar, 2015) (Satpathy, Patra, 2018) (Dhanabal, 2012) (Satpathy, Patra, Hussain, 2018) (Niranjan, 2013)
Tricloreto de alumínio (AlCl <sub>3</sub> ) 1%	6x	(CUI, 2011) (HEIMLER, 1992) (Stanek, Jasicka –Misiak, 2018) (Ye, 2017) (SUN, 2010) (Moricz, 2018)
Tricloreto de alumínio (AlCl <sub>3</sub> ) 2%	1x	(Fecka, Turek, 2007)
Anisaldeído	5x	(Amina, 2018) (Olennikov, 2013) (Marrelli, 2020) (Araniti, 2014) (Araniti, 2016)
Sulfato de alumínio 4%	1x	(Guerrini, 2009)
FeCl <sub>3</sub>	1x	(Moricz, 2018)
DPPH	1x	(Simonovska, 2003)
PABA	1x	(Moricz, 2018)
DPA	1x	(Moricz, 2018)

Sulfanilamida bis-diazotizada	2x	(Fecka, Raj, 2007) (Fecka, Turek, 2007)
Etanol a 10% de ácido sulfúrico	1x	(Zhang, 2015)
Ácido bórico (10%) e ácido oxálico (3%)	1x	(Panchal, Amin, 2017)
Sulfato de amônio cerico	1x	(Dar, 2014)
Não cita ou não utiliza reveladores	3x	(El Sohafy, 2009) (Bazylko, Strzelecka, 2007) (Aravind, Asha, 2016) (Rajput, 2020)

Fonte: elaborado pelo próprio autor (2022)

Quadro 4 Relação de padrões utilizados nos trabalhos analisados

<b>QUADRO 4 - PADRÕES</b>			
<b>Padrões</b>	<b>Número de trabalhos</b>	<b>Identificação</b>	<b>Referências</b>
Quercetina	28x	Genina	(CUI, 2011) (El Sohafy, 2009) (Gainche, 2021) (HEIMLER, 1992) (Upasani, 2003) (Oresanya, 2020) (Tomczyk, Bazylko, 2012) (Bazylko, 2011) (Nile, Park, 2014) (El Haddad, 2018) (Singh, 2009) (Olennikov, 2013) (Nampoothiri, 2011) (Mishra, 2021) (Alimoglu, 2021) (Guerrini, 2009) (Rajput, 2020) (Marrelli, 2020) (Araniti, 2014) (Simonovska, 2003) (Araniti, 2016) (Panchal, Amin, 2017) (Dhanabal, 2012) (Mosleh, 2021)

			(Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018) (Niranjan, 2013) (Pirvu, 2014) (Margina, 2015)
Rutina	22x	Glicosídeo	(SUN, 2010) (El Sohafy, 2009) (Gainche, 2021) (HEIMLER, 1992) (Upasani, 2003) (Tomczyk, Bazylko, 2012) (Vilegas, 1998) (Bazylko, 2011) (Ye, 2017) (Nile, Park, 2014) (Mosaic, 2019) (Olechnikov, 2013) (Mishra, 2021) (Alimoglu, 2021) (Rajput, 2020) (Marrelli, 2020) (Marrelli, 2017) (Araniti, 2014) (Simonovska, 2003) (Araniti, 2016) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018) (Pirvu, 2014)
Kaempferol	18x	Genina	(Gainche, 2021) (Upasani, 2003) (Oresanya, 2020) (Mandal, 2018) (Bazylko, 2011) (El Haddad, 2018) (Singh, 2009) (Moricz, 2018) (Tomczyk, Bazylko, 2010) (Alimoglu, 2021) (Guerrini, 2009) (Araniti, 2014)



			(Araniti, 2016) (Panchal, Amin, 2017) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018) (Niranjan, 2013) (Pirvu, 2014) (Margina, 2015)
Apigenina	14x	Genina	(Bazylo, 2011) (Singh, 2009) (Olenikov, 2013) (Moricz, 2018) (Dar, 2014) (Alimoglu, 2021) (Guerrini, 2009) (Simonovska, 2003) (Satpathy, Patra, 2018) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018) (Satpathy, Patra, Hussain, 2018) (Fecka, Turek, 2007) (Pirvu, 2014) (Margina, 2015)
Luteolina	18x	Genina	(HEIMLER, 1992) (Bazylo, 2011) (Bazylo, Strzelecka, 2007) (Nile, Park, 2014) (Olenikov, 2013) (Fecka, Raj, 2007) (Dar, 2014) (Alimoglu, 2021) (Guerrini, 2009) (Marrelli, 2020) (Marrelli, 2017) (Simonovska, 2003) (Araniti, 2016) (Satpathy, Patra, 2018) (Satpathy, Patra, Hussain, 2018) (Fecka, Turek, 2007) (Pirvu, 2014) (Margina, 2015)

Catequina	7x	Genina	(Gainche, 2021) (Nampoothiri, 2011) (Marrelli, 2020) (Marrelli, 2017) (Araniti, 2014) (Araniti, 2016) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
Naringenina	7x	Genina	(Ye, 2017) (Mosaic, 2019) (Alimoglu, 2021) (Guerrini, 2009) (Araniti, 2014) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018) (Fecka, Turek, 2007)
Epicatequina	1x	Genina	(Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
Isoquercitrina	6x	Glicosídeo	(Gainche, 2021) (Tomczyk, Bazytko, 2012) (Bazytko, 2011) (Alimoglu, 2021) (Guerrini, 2009) (Pirvu, 2014)
Quercitrina	6x	Glicosídeo	(Gainche, 2021) (Alimoglu, 2021) (Guerrini, 2009) (Marrelli, 2017) (Araniti, 2014) (Araniti, 2016)
Isovitexina	2x	Glicosídeo	(SUN, 2010) (CUI, 2011)
Orientina	2x	Glicosídeo	(SUN, 2010) (CUI, 2011)
Isoorientina	2x	Glicosídeo	(SUN, 2010) (CUI, 2011)
Vitexina	4x	Glicosídeo	(SUN, 2010) (CUI, 2011) (Ye, 2017) (Pirvu, 2014)

Hiperosídeo	6x	Glicosídeo	(Gainche, 2021) (Tomczyk, Bazylko, 2012) (Bazylko, 2011) (Mosaic, 2019) (Alimoglu, 2021) (Pirvu, 2014)
Miquelianina	1x	Glicosídeo	(Gainche, 2021)
Astragalina	2x	Glicosídeo	(Gainche, 2021) (Bazylko, 2011)
Isorhamnetina	2x	Genina	(Gainche, 2021) (Guerrini, 2009)
Espiraosídeo	1x	Glicosídeo	(Gainche, 2021)
Miricetina	6x	Genina	(Upasani, 2003) (Stanek, Jasicka-Misiak, 2018) (Mandal, 2018) (Bazylko, 2011) (Mosaic, 2019) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
Crisina	5x	Genina	(Stanek, Jasicka-Misiak, 2018) (Mosaic, 2019) (Alimoglu, 2021) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018) (Margina, 2015)
Escutelareína	1x	Glicosídeo	(Oomen, 2020)
Baicaleína	1x	Genina	(Oomen, 2020)
Wogonina	1x	Genina	(Oomen, 2020)
Oroxilina A	1x	Genina	(Oomen, 2020)
Tilioside	2x	Glicosídeo	(Bazylko, 2011) (Tomczyk, Bazylko, 2010)
Violantina	1x	Glicosídeo	(Ye, 2017)
Miricitrina	1x	Glicosídeo	(Bezerra, 2018)
Penduletin	1x	Genina	(Amina, 2018)
Chrysopenol D	1x	Genina	(Amina, 2018)
Galangina	3x	Genina	(Mosaic, 2019) (Alimoglu, 2021) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
Mentoflavona	1x	Genina	(Menon, 2018)

Biflavonóides GB-1a (3), GB-1 (4)	1x	Genina	(Aravind, Asha, 2016)
Moreloflavona	1x	Genina	(Aravind, Asha, 2016)
Pinocembrin	3x	Genina	(Rameshkumar, 2015) (Alimoglu, 2021) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
Hesperidina	3x	Glicosídeo	(Alimoglu, 2021) (Guerrini, 2009) (Fecka, Turek, 2007)
Neo-hesperidina	1x	Glicosídeo	(Guerrini, 2009)
Formononetina	2x	Genina	(Zhang, 2015) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
Biapigenina	2x	Genina	(Marrelli, 2020) (Marrelli, 2017)
Hesperetina	1x	Genina	(Araniti, 2014)
Genisteína	1x	Genina	(Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
Morina	1x	Genina	(Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
Pelargonidina	1x	Genina	(Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
Eriocitrina	1x	Glicosídeo	(Fecka, Turek, 2007)
Diosmina	1x	Glicosídeo	(Fecka, Turek, 2007)
Narirutina	1x	Glicosídeo	(Fecka, Turek, 2007)
Eriodictiol	1x	Genina	(Fecka, Turek, 2007)
Isorhoifolina	1x	Glicosídeo	(Fecka, Turek, 2007)

Fonte: elaborado pelo próprio autor (2022)

Quadro 5 Relação de métodos de clean-UP utilizados nos trabalhos analisados

<b>QUADRO 5 – MÉTODOS de clean-UP</b>		
<b>Método de clean-UP</b>	<b>Número de trabalhos</b>	<b>Referência</b>
Cartucho para SPE	3x	(Mosic, 2019) (Oomen, 2020) (Jasicka-Misiak, Makowicz, 2018)
SPE em coluna de vidro	5x	(Stanek, Jasicka-Misiak, 2018)

		(Vilegas, 1998) (Fecka, Raj, 2007) (Guerrini, 2009) (Fecka, Turek, 2007)
Cromatografia em coluna	7x	(SUN, 2010) (CUI, 2011) (Gainche, 2021) (Menon, 2018) (Aravind, Asha, 2016) (Rameshkumar, 2015) (Amina, 2018)
Partição (fracionamento)	24x	(Oresanya, 2020) (Tomczyk, Bazylo, 2012) (Mandal, 2018) (Bazylo, 2011) (Ye, 2017) (Bazylo, Strzelecka, 2007) (Nile, Park, 2014) (Bezerra, 2018) (El Haddad, 2018) (Moricz, 2018) (Nampoothiri, 2011) (Tomczyk, Bazylo, 2010) (Dar, 2014) (Alimoglu, 2021) (Zhang, 2015) (Rajput, 2020) (Marrelli, 2020) (Marrelli, 2017) (Araniti, 2014) (Simonovska, 2003) (Araniti, 2016) (Satpathy, Patra, 2018) (Dhanabal, 2012) (Satpathy, Patra, Hussain, 2018) (Niranjan, 2013)
Hidrolise	7x	(El Sohafy, 2009) (HEIMLER, 1992) (Singh, 2009) (Zhang, 2015)

		(Panchal, Amin, 2017) (Mosleh, 2021) (Pirvu, 2014)
--	--	--

*Fonte: elaborado pelo próprio autor (2022)*

