**ARTIGO ORIGINAL**
ISSN 1677-5090
© 2022 Revista de Ciências Médicas e Biológicas
DOI: https://doi.org/10.9771/cmbio.v21i1.44970

# Composição de fenólicos, flavonoides, antocianinas, determinação da atividade antioxidante e comparação de métodos extrativos da folha e da casca de Caryocar brasiliense

*Composition of Phenolic, Flavonoids, Anthocyanins, Determination of Antioxidant Activity and Comparison of Extractive Methods of Leaf and Bark of Caryocar brasiliense*

Jhonatas Emílio Ribeiro da Cruz[1]*, Priscila Silva Ribeiro[2], Fernanda Farisco[2], Marcos de Souza Gomes[3], Enyara Rezende Morais[4]

*[1]Doutorando do Programa de Pós-graduação em Genética e Bioquímica – UFU; [2]Acadêmica do Curso de Graduação em Biotecnologia, Uberlândia, MG; [3]Doutor em Agroquímica pela Universidade Federal de Lavras, MG, Professor Adjunto I do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, MG; [4]Pós-doutora pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, SP, Professora Adjunto III do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia, MG*

**Resumo**

**Introdução:** *Caryocar brasiliense* é conhecida popularmente como Pequi ou Pequizeiro, sendo uma planta com propriedades medicinais para tratamento de doenças respiratórias, úlceras gástricas e dores musculares. **Objetivo:** comparar a extração de biocompostos por meio de dois métodos extrativos, agitação magnética e banho ultrassônico. Além disso, avaliar a atividade antioxidante, o teor de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas em extratos das folhas e da casca de Pequi (*C. brasiliense*), com vistas a agregar valor quanto às suas propriedades funcionais. **Metodologia:** o conteúdo de compostos fenólicos foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, flavonoides e antocianinas pelo método de Lima e Melo. A atividade antioxidante foi medida pelo método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). **Resultados:** o extrato das folhas de Pequi exibiu maior teor de fenólicos em relação à casca, independente do método de extração. O extrato das folhas obtido em banho ultrassônico apresentou forte atividade antioxidante com valor de 72,2%. **Conclusão:** os extratos de Pequi demonstraram um perfil fitoquímico promissor que deve ser investigado no futuro para aplicação farmacológica como adjuvante ou precursor na síntese de novos cosméticos ou medicamentos com propriedades antioxidante.
**Palavras-chave:** Planta medicinal. Métodos de extração. Metabólito secundário. Novos medicamentos.

**Abstract**

***Introduction:*** *Caryocar brasiliense is a medicinal plant used in the treatment of respiratory diseases, gastric ulcers and muscle pain.* ***Objective:*** *to compare the extraction of natural compounds using two extractive methods, magnetic stirring and ultrasonic bath. In addition, to evaluate the antioxidant activity, the content of phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins in the leaves and bark of Pequi (C. brasiliense), with a view to adding value through its functional properties.* ***Methodology:*** *the phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method, flavonoids and anthocyanins by the Lima and Melo method. Antioxidant activity was measured using the 2.2-diphenyl-1-picrilhhydrazyl (DPPH) method.* ***Results:*** *the extract of the Pequi leaves exhibited a higher phenolic content in relation to the bark for both extraction methods. The Pequi leaf in an ultrasonic bath showed strong antioxidant activity with a value of 72.2%.* ***Conclusion:*** *Pequi extracts demonstrated a promising phytochemical profile that should be investigated in the future for pharmacological application as an adjuvant or precursor in the synthesis of a new cosmetic or medicine with antioxidant function.*
***Keywords:*** *Medicinal Plant. Extraction methods. Secondary metabolite. New drugs.*

## IINTRODUÇÃO

Inúmeras plantas medicinais têm sido investigadas por suas propriedades antioxidantes. Os antioxidantes naturais, na forma de extratos brutos ou seus constituintes químicos, são muito eficazes na prevenção dos processos deletérios causados por estresses oxidativos (ZENGIN *et al.*, 2011). Embora o perfil de toxicidade da maioria das plantas medicinais não tenha sido totalmente avaliado, os medicamentos derivados de produtos vegetais ou fitoterápicos são geralmente mais seguros do que seus equivalentes sintéticos (KAYODE *et al.*, 2007; STASZOWSKA-KARKUT; MATERSKA, 2020).

Evidências substanciais indicam papel vital das espécies reativas de oxigênio (ERO) e outros oxidantes no metabolismo celular, e com isso responsáveis por vários distúrbios e condições patológicas (STASZOWSKA-KARKUT; MATERSKA, 2020). A demanda por antioxidantes

**Correspondente/Corresponding**: *Jhonatas Emílio Ribeiro da Cruz – End: Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Patos de Minas, Bloco Palácio dos Cristais, Sala 202, Av. Getúlio Vargas, CEP 38700-128, nº 230, Patos de Minas, MG, Brasil. – Tel: (34) 3823-3714 – E-mail: jhonatas_emilio@hotmail.com

naturais tem sido crescente no contexto de produtos alimentícios funcionais, preparações farmacêuticas e cosméticas, por apresentarem multifacetabilidade em sua diversidade e magnitude de atividade. Além disso, fornecem enorme escopo na correção do desequilíbrio entre ERO e capacidade antioxidante celular (AIDI WANNES *et al.*, 2010; CVETKOVIĆ *et al*., 2018; MOURE *et al*., 2001)

O papel das reações de radicais livres na fisiopatologia das doenças está bem estabelecido e é conhecido por estar envolvido em muitas doenças agudas e crônicas em humanos, como diabetes mellitus, aterosclerose, doença de Alzheimer, doença de Parkinson e câncer (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; LIU *et al*., 2017). O uso de fitoterápicos com alto teor de constituintes antioxidantes tem sido proposto como uma abordagem terapêutica eficaz e a ingestão de antioxidantes naturais tem sido inversamente associada à morbimortalidade por doenças degenerativas (GÜLÇIN, 2012; STASZOWSKA-KARKUT; MATERSKA, 2020).

O Cerrado é o segundo maior bioma da América Latina e conhecido como a savana mais rica do planeta em diversidade de flora (KLINK, MACHADO, 2005). Este bioma brasileiro permite buscas promissoras por substâncias vegetais, com potencial valor de exploração em diversos setores, inclusive o medicinal (CHAVES *et al*., 2018).

Nesse contexto, encontra-se no Cerrado brasileiro o *C. brasiliense*, membro da família Caryocaraceae, sendo indicado na medicina popular por seus efeitos anti-inflamatórios e cicatrizantes, no tratamento de doenças respiratórias, úlceras gástricas, dores musculares e reumáticas (MATOS, 2007).

Com o objetivo de investigar o potencial fitoterápico de espécie ocorrente no Cerrado brasileiro e estimular o uso renovável desses recursos, o presente estudo realizou a triagem fitoquímica de metabólitos secundários e testou o potencial antioxidante *in vitro* de extratos obtidos de folhas e cascas de *C. brasiliense*, produzido pelos métodos de banho ultrassônico e agitação magnética. Assim, os extratos de *C. brasiliense* foram analisados, objetivando a descoberta de possíveis agentes terapêuticos e/ou protótipos para o futuro desenvolvimento de novos antioxidantes em formulações alimentícias e farmacêuticas.

## METODOLOGIA

### Coleta e identificação dos vegetais

As espécies selecionadas foram coletadas em agosto de 2016, na BR 354, próximo a Patos de Minas, Minas Gerais, Brasil, a 46°39’57.881” Norte; 18°35’30.433” Oeste. A identificação do material vegetal, e o registro e depósito das exsicatas foram realizados no herbário da Universidade Federal de Uberlândia (Tabela 1).

**Tabela 1 –** *Planta medicinal, registro de exsicatas, órgãos vegetais utilizados, solvente utilizado e método de extração.*

| Nome científico | Nome popular | Voucher | Órgão vegetal | Solvente usado | Método empregado |
|---|---|---|---|---|---|
| *C. brasiliense* | Pequi | 79877 | Folhas | Metanol 100% | Agitação Magnética e Banho Ultrassônico |
| *C. brasiliense* | Pequi | 79877 | Casca | Etanol 96% | Agitação Magnética e Banho Ultrassônico |

Fonte: Autoria própria

### Obtenção do material em pó

Após a coleta e obtenção dos materiais vegetais, estes foram lavados em água para retirar as impurezas. Em seguida, armazenado em ultra congelador a uma temperatura de -80ºC. Para a produção dos extratos brutos, os vegetais foram retirados do ultra congelador e rapidamente colocados para desidratação em liofilizador por 72 horas, seguido de trituração em moinho de facas até o estado de pó fino.

### Obtenção dos extratos brutos de *C. brasiliense*

### Banho ultrassônico

As amostras de pó obtidas das folhas e da casca foram pesadas duas vezes, obtendo-se a quantidade de 4 g para cada. Os pós foram colocados em um Erlenmeyer de 250 mL e colocados os respectivos solventes, para a folha do Pequi foi utilizado o metanol 100% e para a casca o etanol 96%, sendo a quantidade de 200 mL para cada. Com isso, foram levados ao banho de ultrassom por 15 min, sendo posteriormente deixados por 5 min em repouso, sendo realizados 3 ciclos e por fim armazenados na geladeira.

### Agitação magnética

Os pós obtidos das folhas e cascas (4 g) foram colocados em frascos âmbar de 500 mL, acrescentando-se 200 mL do solvente e levando-os em agitador magnético por 24 h. Ambos os extratos foram filtrados a vácuo em um Kitasato e evaporados rotativamente. À medida que os extratos se tornaram aquosos, eles foram levados ao liofilizador por 72 h. Em seguida, colocado em tubos Falcon de 50 mL e armazenado na geladeira.

### Determinação do conteúdo fenólico total

O teor de composto fenólico foi determinado pelo reagente Folin-Ciocalteu de acordo com o procedimento descrito por (SINGLETON, ROSSI, 1965). Uma alíquota de 0,1 mL da amostra diluída (50 g $L^{-1}$) foi misturada com 0,5 mL de 0,2 mol $L^{-1}$ do reagente Folin-Ciocalteu. Posteriormente, 0,4 mL de solução saturada de carbonato de sódio (75 g $L^{-1}$) foram adicionados à mistura reacional. As leituras de absorbância foram registradas a 760 nm após

incubação à temperatura ambiente por 2 h. O ácido gálico (250 mg / $mL^{-1}$) foi utilizado como padrão de referência e os resultados foram expressos em miligramas de Equivalente de Ácido Gálico (mg EAG) por grama de material vegetal. Todos os testes foram realizados em triplicata.

**Determinação de antocianinas e flavonoides**

O conteúdo de antocianinas e flavonoides foi determinado usando o método descrito por (LEES, FRANCIS, 1972). Foi utilizada uma solução extrativa contendo 15 mL de solução de HCl 1,5 mL/mol diluída e 85 mL de etanol 96%. Diluição de 1000 µg/mL foi diluída e 600 µL das amostras foram utilizadas para 2.400 µL de solução extrativa, considerando a concentração inicial do extrato utilizada de 5 mg/mL. As leituras de absorbância foram realizadas a 535 nm para antocianinas e 374 nm para flavonoides. As determinações foram feitas em triplicata e os níveis médios de antocianinas e flavonoides totais foram determinados pelo teste t de Student ao nível de 5% de probabilidade.

**Determinação da atividade antioxidante**

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), realizado de acordo com (GOBBO-NETO; LOPES, 2007) seguido por pequenas modificações. Foi preparada solução etanólica de DPPH (40 µg/mL). Para o ensaio, 0,9 mL da solução DPPH foi adicionado em tubos de ensaio, seguido pela adição de 0,1 mL de cada diluição (1000 µg/ mL, 100 µg/mL 50 µg/mL, 25 µg/mL e 12,5 µg/mL), para cada extrato bruto, preparado por agitação magnética ou banho ultrassônico. Paralelamente, foi preparado o controle negativo contendo todos os reagentes, exceto o extrato. Após 90 min de reação no escuro, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm. A atividade antioxidante (AA%) foi calculada usando a seguinte equação:

$$AA\% = [(A_{branco} - A_{amostra})/A_{branco}] \times 100,$$

Onde $A_{branco}$ é a absorbância da reação de controle (contendo todos os reagentes exceto o composto de teste), e $A_{amostra}$ é a absorbância do composto de teste.

**Análise Estatística**

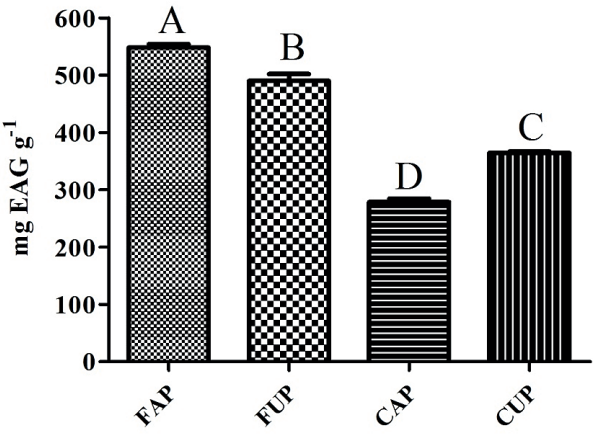
Os resultados foram expressos como uma média de três experimentos ± desvio padrão. Foi realizada análise de variância, seguida do teste F, para verificar a existência de diferenças entre as amostras. Foi utilizado o programa estatístico Sisvar® (versão 5.6), e os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Os resultados foram plotados em gráficos de barras e o software utilizado foi o GraphPad Prism® (versão 5.01). Considerando os resultados obtidos e a necessidade de correlacioná-los e agrupá-los, utilizou-se a análise de componentes principais (PCA) e a análise de agrupamento hierárquico (HCA).

## RESULTADOS

**Triagem fitoquímica**

Existem várias metodologias descritas para a preparação de extratos vegetais. Pelo que sabemos, a comparação entre os métodos de extração aplicados no presente estudo está sendo relatada pela primeira vez para o Pequi (Tabela 1). Os resultados obtidos na determinação dos fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu, expressos em mg EAG por grama ($g^{-1}$) de massa seca de material vegetal, para a folha e casca do Pequi são apresentados na Figura 1.

**Figura 1** – *Conteúdo de fenólicos totais da folha e da casca do Pequi. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão dos experimentos em triplicata. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott. FAP: Folha de Pequi por agitação magnética. FUP: Folha de Pequi por banho ultrassônico. CAP: Casca de Pequi por agitação magnética. CUP: Casca de Pequi por banho ultrassônico.*




Fonte: Autoria própria

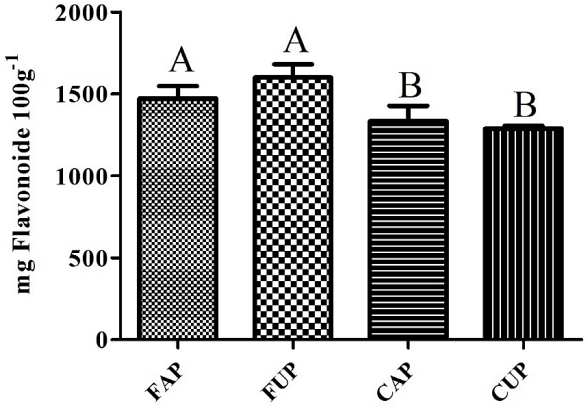
A análise estatística pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) mostrou que os extratos de folha de Pequi FAP – 547,87 ± 6,23 e FUP – 490,18 ± 11,54 mg GAE $g^{-1}$ exibiram maior teor de fenólicos em comparação aos extratos de casca de Pequi CAP – 278,46 ± 6 0,83 e CUP – 364,72 ± 5,62 mg GAE $g^{-1}$, para ambos os métodos de extração.

A folha do Pequi pelo método de agitação magnética apresentou maior teor de compostos fenólicos 547,87 ± 6,21 mg GAE $g^{-1}$, em relação à quantidade obtida pelo banho ultrassônico 490,18 ± 11,54 mg GAE $g^{-1}$. Por outro lado, houve diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$), com valores de fenólicos totais mais expressivos obtidos pela casca do Pequi pelo método ultrassônico 364,72 ± 5,62 mg GAE $g^{-1}$, em relação à casca utilizando agitação magnética 278,46 ± 6,83 mg GAE $g^{-1}$.

Por meio do teste de Scott-Knott, observou-se que os extratos de folhas de Pequi (FAP e FUP) apresentaram

os maiores teores de flavonoides totais com valores de 1473,52 ± 64,8 e 1600,31 ± 62,14 mg 100 $g^{-1}$, respectivamente, sem diferença estatisticamente significativa Figura 2.

**Figura 2** – *Conteúdo total de flavonoides para folha e casca de pequi. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão dos experimentos em triplicata. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott. FAP: Folha de Pequi por agitação magnética. FUP: Folha de Pequi por banho ultrassônico. CAP: Casca de Pequi por agitação magnética. CUP: Casca de Pequi por banho ultrassônico.*

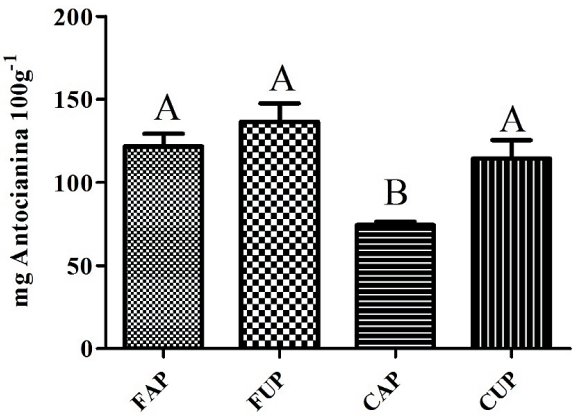



Fonte: Autoria própria

Por outro lado, os extratos da casca do pequi (CAP e CUP) apresentaram menores valores de flavonoides totais, com resultados de 1334,21 ± 102,52 e 1283,42 ± 8,73 mg 100 $g^{-1}$, respectivamente, ambos com valores estatisticamente semelhantes (p <0,05).

Por meio do teste de Scott-Knott observou-se que os extratos da folha e da casca do Pequi (FUP, FAP e CUP) apresentaram os maiores teores de antocianinas totais com valores de 132,14 ± 15,91, 112,25 ± 7,34 e 121,86 ± 6,23 mg 100 $g^{-1}$, respectivamente, sem diferença estatisticamente significativa entre eles (p <0,05). Por outro lado, o extrato da casca do Pequi (CAP) com o valor de 78,41 ± 5,34 mg 100 $g^{-1}$ foi o que apresentou o menor teor de antocianina total, demonstrado na Figura 3.

**Figura 3** – *Conteúdo de antocianina para folha e casca de Pequi. Médias seguidas da mesma letra, maiúscula para comparar a concentração entre os extratos e minúsculas para comparar a concentração dentro de cada extrato, não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott. FAP: Folha de Pequi por agitação magnética. FUP: Folha de Pequi por banho ultrassônico. CAP: Casca de Pequi por agitação magnética. CUP: Casca de Pequi por banho ultrassônico.*

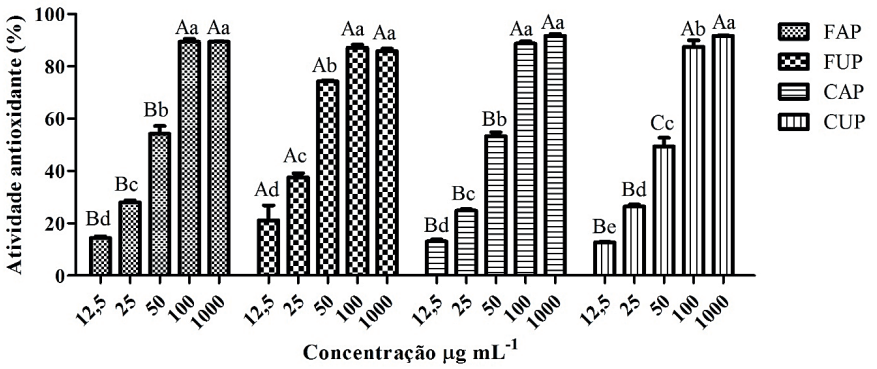



Fonte: Autoria própria

**Determinação da atividade antioxidante**

Os resultados para a atividade antioxidante determinada pela remoção do radical livre DPPH dos extratos da folha e da casca do Pequi são apresentados na Figura 4. Os valores de inibição do DPPH aumentaram rapidamente para concentrações variando de 12,5 a 50 µg/$mL^{-1}$ e, a seguir, estabilizaram em concentrações mais altas.

**Figura 4** – *Atividade antioxidante de extratos de folhas e cascas de Pequi pelo método DPPH. Médias seguidas da mesma letra, maiúscula para comparar a concentração entre os extratos e minúsculas para comparar a concentração dentro de cada extrato, não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott. FAP: Folha de Pequi por agitação magnética. FUP: Folha de Pequi por banho ultrassônico. CAP: Casca do Pequi por agitação magnética. CUP: Casca de Pequi por banho ultrassônico*

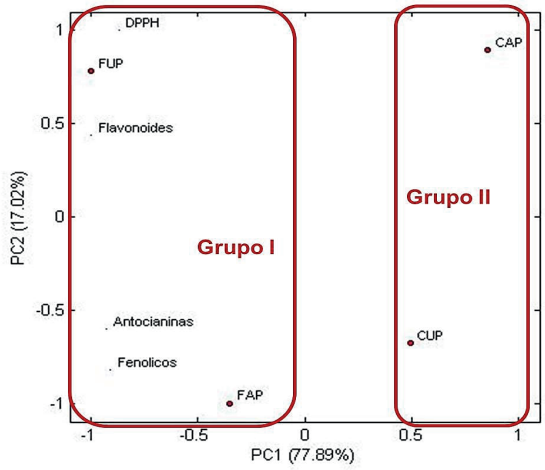



Fonte: Autoria própria

### Análise de Componente Principal (PCA) e Análise Hierárquica de Cluster (HCA)

Na busca pela correlação dos dados encontrados, foi realizado um estudo estatístico utilizando análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA). Assim, o objetivo foi correlacionar e agrupar os resultados da análise fitoquímica com a parte da planta utilizada e o método de extração utilizado. A PCA mostrou que com a primeira e segunda componente principal foi possível descrever 94,91% dos dados, sendo 77,89% da variância total descrita pela primeira componente.

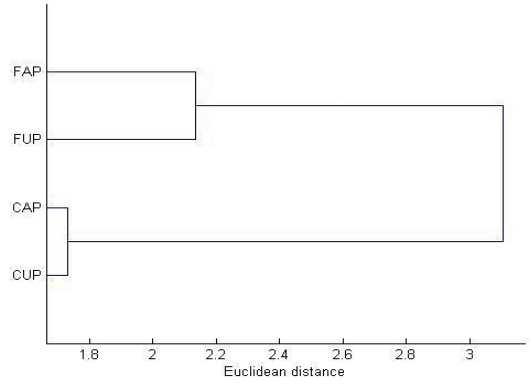
**Figura 5** – Gráfico biplot PC1 X PC2 mostrando a correlação entre os grupos. FAP: Folha de Pequi por agitação magnética. FUP: Folha de Pequi por banho ultrassônico. CAP: Casca de Pequi por agitação magnética. CUP: Casca de Pequi por banho ultrassônico.




Fonte: Autoria própria

O dendograma dos quatro extratos de Pequi estudados em relação ao perfil fitoquímico é mostrado na Figura 6.

**Figura 6** – *Dendograma dos quatro extratos estudados em relação ao perfil fitoquímico. FAP: Folha de Pequi por agitação magnética. FUP: Folha de Pequi por banho ultrassônico. CAP: Casca de Pequi por agitação magnética. CUP: Casca de Pequi por banho ultrassônico.*




Fonte: Autoria própria

O dendograma (Figura 6) para os extratos brutos e análises fitoquímicas estudados no presente estudo corrobora os resultados apresentados na Figura 5.

## DISCUSSÃO

### Triagem fitoquímica

O Pequizeiro (*C. brasiliense*) é rico em fitoquímicos, principalmente em compostos fenólicos, sendo grande o interesse por tais biocompostos na nutrição e na medicina, devido aos seus efeitos benéficos à saúde humana (MACEDO *et al*., 2015). Em nosso estudo, os extratos das folhas do Pequi exibiram maior teor de fenóis em comparação aos extratos da casca do Pequi, para ambos os métodos de extração (Figura 1), sugerindo alto teor de compostos fenólicos, como taninos, flavonoides e antocianinas nas folhas desta espécie. Esses compostos bioativos estão associados ao retardamento do envelhecimento e prevenção de várias doenças, como reações inflamatórias, câncer, doenças cardiovasculares, catarata e diabetes (CAVALCANTE *et al*., 2016; NASCIMENTO *et al*., 2018; ROCHA *et al*., 2016). Este resultado indica que esta espécie pode ser considerada uma importante fonte de compostos com ação antioxidante, o que a torna potencialmente útil na nutrição e para fins farmacêuticos.

Uma comparação da literatura mostrou que o maior teor de fenóis nas folhas do Pequi está de acordo com os encontrados por Macedo *et al*. (2008) em *S. adstringens*, que obteve maior teor de compostos fenólicos nas folhas, seguido da casca e do caule. Os valores encontrados mostraram que a folha é um importante órgão da planta para o armazenamento de metabólitos secundários.

Observou-se através dos resultados que o FAP foi melhor que o FUP (a agitação magnética foi mais eficiente na extração das folhas) (Figura 1), pois a agitação magnética promove uma mistura homogênea e com maior velocidade de extração (SARKER *et al*., 2007). O fato de utilizar a temperatura ambiente também é uma vantagem da agitação magnética, sendo menos provável a degradação dos metabólitos termolábeis.

Porém, o CUP foi melhor do que o CAP (o banho ultrassônico foi mais eficiente para a extração da casca), o que pode ser explicado pela maior indução de estresse mecânico do ultrassom na casca, que sabidamente tem maior resistência mecânica. Foi demonstrado que o banho ultrassônico tem a capacidade de intensificar a extração por meio de um processo denominado cavitação, pelo qual ondas ultrassônicas geram ciclos de bolhas de gás junto com cavidades no solvente líquido. Quando a cavitação ocorre próximo à parede celular da planta, a energia formada causa grande impacto na superfície sólida, consequentemente aumenta a permeabilidade celular e favorece a entrada do solvente, assim como o calor liberado pelas bolhas aumenta a solubilidade e ambos evidenciam maior eficiência na extração (SARKER *et al*., 2007). Esses fatores podem justificar a diferença nos resultados no conteúdo dos fenólicos totais.

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, uma quantidade significativa de flavonoides totais foi detectada no extrato das folhas do Pequi (Figura 2). Os flavonoides podem apresentar importantes atividades terapêuticas como considerável ação antitumoral, podendo também atuar como anti-inflamatório, antiviral, antimicrobiano e antioxidante devido à presença de hidroxilas aromáticas (SIMÕES *et al*., 2005). Os flavonoides têm demonstrado ser eliminadores altamente eficazes das moléculas mais oxidantes, incluindo oxigênio singlete e vários radicais livres (BRAVO, 2009) implicado em várias doenças.

Atualmente, atenção especial é dada aos produtos naturais com função antioxidante, ou seja, que combatem o estresse oxidativo, coadjuvante no tratamento de doenças infecciosas e/ou inflamatórias. Nesse contexto, o extrato bruto da folha do Pequi sugere ser eficaz no combate aos radicais livres em humanos, que segundo (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015) estão envolvidos na gênese ou desenvolvimento de várias doenças via estresse oxidativo.

O extrato da casca do Pequi (CAP) com o valor de (78,41 ± 5,34 mg 100 $g^{-1}$) foi o que apresentou o menor teor de antocianina total (Figura 3). Nesse sentido, o CAP também demonstrou, neste estudo, a menor concentração de compostos fenólicos (278,46 ± 6,83 mg GAE $g^{-1}$) entre os extratos analisados, isso explica, os menores valores encontrados para antocianinas totais, uma vez que essas substâncias são quimicamente pertencentes ao grupo dos compostos fenólicos.

Comparando esses resultados com os da literatura (ABE *et al*., 2007) o teor de antocianinas de variedades de Vitis vinifera variaram de 8 a 191 mg 100 g-1. As antocianinas apresentam capacidade antioxidante superior a outros fenólicos presentes nas uvas, uma vez que a correlação entre as antocianinas e a capacidade antioxidante foi superior à correlação entre a capacidade fenólica total e antioxidante (r = 0,81).

**Determinação da atividade antioxidante**

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método DPPH, que é uma solução de radical livre roxa, tornando-se amarelo pálido na presença de um antioxidante, devido à redução da hidrazina da doação de elétrons pelo antioxidante (PIRES *et al*., 2017). Atualmente, este método tem sido amplamente aplicado em diversas amostras, como vegetais, ervas e plantas medicinais, por ser um método rápido e fácil de aplicar e ter alta sensibilidade (ALAM *et al*., 2013). Os resultados demonstram que houve atividade antioxidante dos extratos testados e que a porcentagem de antioxidante é dose-dependente, ou seja, à medida que a concentração aumenta, maior ação antioxidante é obtida.

Extratos que exibem percentuais de atividade antioxidante acima de 70% têm forte capacidade de sequestrar radicais livres, enquanto aqueles que se manifestam entre 50% e 70% têm atividade moderada e aqueles abaixo de 50% têm baixa capacidade de sequestro (MELO *et al*., 2008). Observou-se que na concentração de 50,0 µg mL-1, o extrato de FUP (72,2%) apresentou forte atividade antioxidante (acima de 70%) (Figura 4). Esse resultado pode ser explicado pela considerável concentração de fenólicos totais na folha do Pequi, que possui grande capacidade de doar elétrons ao radical DPPH e estabilizá-lo. Porém, os extratos de CAP (49,8%) e CUP (45,7%) apresentaram baixa atividade antioxidante (abaixo de 50%), provavelmente devido à presença de substâncias com menor poder redutor na casca do Pequi.

Correlacionando com a forte ação antioxidante obtida neste trabalho, através do método DPPH, pelo extrato de folhas de Pequi, foi proposto que compostos fenólicos e flavonoides podem ser responsáveis diretos pela capacidade de sequestrar radicais livres no extrato (SONAL *et al*., 2012). Compostos fenólicos e flavonoides atuam como antioxidantes não apenas por causa de sua capacidade de doar hidrogênio ou elétrons, ligantes metálicos, mas também por causa de seus radicais intermediários estáveis, que evitam a oxidação.

**Análise de Componente Principal (PCA) e Análise Hierárquica de Cluster (HCA)**

A análise dos dados pela técnica de PCA permitiu agrupar os resultados de modo a expressar e evidenciar suas semelhanças e diferenças (Figura 5) obtendo 2 grupos. O grupo I agrupou FAP e FUP, e FUP está mais correlacionado com DPPH e flavonoides, enquanto FAP com antocianinas e compostos fenólicos. O grupo II agrupou CAP e CUP, e o CAP se correlaciona melhor com DPPH e flavonoides, enquanto CUP tem uma correlação mais alta com antocianinas e compostos fenólicos.

Na Figura 5 é evidenciado o agrupamento entre os extratos brutos das folhas (FAP e FUP) e entre os extratos brutos da casca (CAP e CUP). Isso significa que os extratos brutos das folhas do Pequi, produzidos tanto por agitação magnética quanto pelo banho ultrassônico, apresentam teores dos compostos estudados e também atividade antioxidante superiores às encontradas nos extratos brutos da casca do Pequi. Portanto, considerando as partes utilizadas da planta e os métodos de extração, é possível, por meio dessas análises estatísticas, afirmar que os extratos das folhas do Pequi são mais promissores para futuras investigações de uso terapêutico.

**CONCLUSÕES**

Nossos resultados mostraram que o extrato das folhas do Pequi foi o mais potente na inibição efetiva do radical DPPH. Essa propriedade antirradical pode ser devida aos altos níveis de compostos fenólicos quantificados e identificados nas folhas do Pequi, demonstrando ser um possível alvo em estudos farmacológicos futuros, sugerindo o uso de extratos desta planta como sendo útil como agente preventivo e/ou terapêutico contra doenças relacionadas a estresses oxidativos.

A eficiência do método de extração é relativa, ou seja, depende de qual amostra foi utilizada, se forem utilizadas folhas a agitação magnética é mais eficiente e se for utilizada a casca da planta o banho ultrassônico garante melhor extração.

## REFERÊNCIAS


ABE, L. T. *et al.* Phenolic compounds and antioxidant activity of Vitis labrusca and *Vitis vinifera* cultivars. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Lugo, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.

AIDI WANNES, W. *et al.* Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. italica L.) leaf, stem and flower. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v. 48, n. 5, p. 1362-1370, 2010.

ALAM, M. N. *et al*. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharm. J.**, Riyadh, v. 21, n. 2, p. 143-152, 2013.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutr. Rev.**, New York, v. 56, n. 11, p. 317-333, 2009.

CAVALCANTE, C. F. E. *et al.* The benefits of preventing sking aging. **Rev. Conex. Eletr.**, [s.l.], v. 13, p. 1-10, 2016.

CHAVES, M. V. *et al.* Potencial fungicida de plantas medicinais do cerrado da Costa Leste Do Estado De Mato Grosso Do Sul. **RESMA**, Três Lagoas, v. 53, n. 9, p. 1689-1699, 2018.

CVETKOVIĆ, D. *et al*. Aronia leaves at the end of harvest season — Promising source of phenolic compounds, macro – and microelements. **Sci. Hortic.**, [S.l.], 2018. v. 239, , p. 17-25, 2018.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Medicinal plants: Factors influencing the content of secondary metabolites. **Qim. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GÜLÇIN, I. Antioxidant activity of food constituents: An overview. **Arch. Toxicol.**, Berlin, v. 86, n. 3, p. 345–391, 2012.

KAYODE, A. O. *et al.* Toxic effects of methanolic extract of Aspilia africana leaf on the estrous cycle and uterine tissues of Wistar rats. **Internat. J. Morphol.**, [S.l.], v. 25, n. 3, p. 609-614, 2007.

KLINK, C.A., MACHADO, R. B. A conservação do cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, [s.l.], v. 1, n. 1, p. 147–155, 2005.

LEES, D. H., FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, [S.l], v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.

MACEDO, D. *et al.* (Poly)phenols protect from α-synuclein toxicity by reducing oxidative stress and promoting autophagy. **Hum. Mol. Genet.**, Oxford, v. 24, n. 6, p. 1717-1732, 2015.

MACEDO, F. M. *et al.* Determination of total phenolic compounds in barbatimão [Stryphnodendron adstringens (Mart) Coville]. **Braz. J. Biosci.**, [S.l.], v. 5, n. S2, p. pg. 1164-1165, 2008.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais:** guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. 3. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2007.

MELO, E. D. A. *et al.* Antioxidant capacity of the fruits. **Braz. J. Pharm. Sci.**, [S.l.], v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MOURE, A. *et al.* Natural antioxidants from residual sources. **Food Chem.**, Barking, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.

NASCIMENTO, K. S. do *et al.* Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian Apis mellifera honeys. **LWT – Food Sci. Technol.**, [S.l.], v. 91, p. 85-94, 2018.

PIRES, J. *et al.* **Microplate assay of antioxidant potential using the DPPH free radical scavenging method for algae extracts**. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. p. 6.

ROCHA, *et al*. The application of antioxidant foods in the prevention of skin aging. **Revista Científica Uniararas**, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 19-26, 2016.

SARKER, *et al*. **Nactural Products Isolation**. 2 ed. New Jersey: [s.n.], 2007.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **J. Funct. Foods**, [S.l.], v. 18, p. 820-897, 2015.

SIMÕES, *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: [s.n.], 2005.

SINGLETON, V. L. ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic.**, [S.l.], v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SONAL, A.; PATIL, S. Evaluation of antioxidant potential of a functional food formulation comprising Psidium guajava fruit, Juglans regia L. Fruit and whey. **Adv. Res. Pharm. Biol.**, [S.l.], v. 2, n. 1, 2012.

STASZOWSKA-KARKUT, M.; MATERSKA, M. Phenolic composition, mineral content, and beneficial bioactivities of leaf extracts from black currant (Ribes nigrum l.), raspberry (rubus idaeus), and aronia (aronia melanocarpa). **Nutrients**, [S.l.], v. 12, n. 2, 2020.

LIU, *et al*. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from molecular mechanisms to clinical applications. **Oxid. Med. Cell. Longev**, [S.l.], v. 2017, p. 1-11, 2017.

ZENGIN, G. *et al.* Antioxidant properties of methanolic extract and fatty acid composition of Centaurea urvillei DC. subsp. hayekiana Wagenitz. **Rec. Nat. Prod.**, [S.l.], v. 5, n. 2, p. 123-132, 2011.


**Submetido em:** 09/06/2021
**Aceito em:** 09/03/2022