

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

ELTON KAZMIERCZAK

PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS  
DA POLPA DOS FRUTOS DE *Garcinia cochinchinensis*

PONTA GROSSA  
2022

ELTON KAZMIERCZAK

PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS  
DA POLPA DOS FRUTOS DE *Garcinia cochinchinensis*

Dissertação apresentada para obtenção do título  
de Mestre em Química no Programa de Pós-  
Graduação em Química da Universidade  
Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Romaiana Picada Pereira  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cássia Gonçalves  
Magalhães

PONTA GROSSA  
2022

K23 Kazmierczak, Elton  
Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante de extratos da polpa dos  
frutos de *Garcinia cochinchinensis* / Elton Kazmierczak. Ponta Grossa, 2022.  
66 f.

Dissertação (Mestrado em Química - Área de Concentração: Química),  
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Romaiana Picada Pereira.

Coorientadora: Profa. Dra. Cássia Gonçalves Magalhães.

1. Falso mangostão. 2. Compostos fenólicos. 3. Compostos fenólicos. I.  
Pereira, Romaiana Picada. II. Magalhães, Cássia Gonçalves. III. Universidade  
Estadual de Ponta Grossa. Química. IV.T.

CDD: 541



Profa. Dra. Jociani Ascari

UTFPR/PR

Profa. Dra. Barbara Celânia Fiorin

UEPG/PR

**Ponta Grossa, 30 de agosto de 2022**



Documento assinado eletronicamente por **Romaiana Picada Pereira, Professor(a)**, em 02/09/2022, às 12:00, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **JOCIANI ASCARI, Usuário Externo**, em 05/09/2022, às 13:40, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Barbara Celania Fiorin, Professor(a)**, em 12/09/2022, às 20:02, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **1120567** e o código CRC **AF74A13A**.

Dedico este trabalho à toda minha família, minha esposa e a todos que se dedicam à vida intelectual e  
passam por dificuldades na saúde mental.

## AGRADECIMENTOS

A Deus Pai, Deus Filho e Deus Espírito Santo que me mantém, por todo o Amor e por toda a criação, mas principalmente pelos dons e por me amparar tantas vezes que precisei. Louvado seja Nosso Senhor Jesus Cristo. Agradeço à Virgem Maria, Mãe de Deus Nosso Senhor Jesus Cristo, por seu amor e por estar sempre comigo nos momentos que mais necessitei.

Aos meus amados pais, Iracema e Élio Kazmierczak, aos meus irmãos Eliane e Emerson Kazmierczak por todo o apoio, incentivo e orações. Agradeço de forma especial à minha esposa pela paciência, incentivo, carinho e companheirismo ao meu lado nessa luta.

Agradeço às professoras Dr<sup>a</sup> Romaiana Picada Pereira e Dr<sup>a</sup> Cássia Gonçalves Magalhães, minhas queridas orientadoras, por todo o trabalho de orientação e coorientação nessa pesquisa. Agradeço pelos muitos conselhos sejam eles de cunho profissional, espiritual, religioso e pessoal além, é claro, da paciência que tiveram comigo no desenvolvimento desse projeto.

Ao professor Dr André Brinatti pelo uso do aparelho de ultrassom para realizar as extrações.

Ao professor Dr José Carlos Rebuglio Velloso por ter disponibilizado seu laboratório de pesquisa para que parte desse trabalho fosse realizado.

Aos amigos e colegas de pós-graduação do doutorado Ana e Maycon pela amizade, contribuições, ajuda e por terem me ensinado muitas coisas. Destaco o agradecimento ao Maycon que além de me ajudar contribuiu muito com momentos descontraídos no laboratório e conversando para que a minha ansiedade se amenizasse.

Aos colegas e amigos Felipe e Hualace, de outros grupos de pesquisa, pelos momentos de conversa, amizade, descontração e pela presença como amigos nesse caminho e na troca de ideias e experiências.

À CAPES pela bolsa concedida.

Agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente nessa pesquisa que se os nomes não estão aqui mencionados não é por menor gratidão.

Vinde a mim, vós todos que estais aflitos sob o fardo, e eu vos aliviarei. Tomai meu jugo sobre vós e recebei minha doutrina, porque eu sou manso e humilde de coração e achareis o repouso para as vossas almas. Porque meu jugo é suave e meu peso é leve.

(Mateus 11, 28-30)

## RESUMO

*Garcinia cochinchinensis* (*Clusiaceae*), nome popular falso mangostão, é uma espécie pouco estudada entre as espécies desse gênero, na medicina popular a casca é usada para tratar doenças de pele e ameaça de aborto. Outras espécies desse gênero apresentam atividade antioxidante, antiglicêmica, anticâncer e outras. Espécies vegetais fornecem compostos orgânicos que possuem habilidade antioxidante, tais como compostos fenólicos flavonoides e xantonas, onde espécies do gênero *Garcinia* (*Clusiaceae*) se apresentam como relevante fonte desses metabólitos. O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre espécies oxidantes e espécies antioxidantes em favor das primeiras. Esse fenômeno está relacionado a diversas doenças, como diabetes melitus, doenças neurodegenerativas como Alzheimer e Parkinson e outras. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antioxidante de extratos dos frutos da *Garcinia cochinchinensis*. A extração dos polpa da frutos foi realizada por meio da extração assistida por ultrassom e pelo método clássico de extração fracionada por solvente. Após a obtenção dos extratos, o conteúdo de fenólicos totais e flavonoides totais foi determinado pelos métodos do reagente Folin-Ciocalteu e da complexação do alumínio, respectivamente. Os extratos A12A e AM12A foram analisados por Cromatografia em Fase Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG-EM), sendo possível identificar e quantificar os compostos voláteis presentes. A atividade antioxidante de todos os extratos foi avaliada pelos métodos de captura do radical DPPH• e ABTS, bem como por ensaios de quelação do ferro e poder redutor. Os extratos obtidos com acetato de etila em pH 8 nos três fracionamentos apresentaram os maiores teores de conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides comparado com os demais ( $p > 0,05$ ). O rendimento da extração por ultrassom foi maior do que na extração clássica. A variação de pH para 8 nas extrações foi o valor ótimo para a extração de compostos fenólicos e assim obter melhor atividade antioxidante. Os extratos A8C (90,6%) e AM8C (91%) apresentaram as maiores capacidades de quelar ferro em comparação com os demais extratos ( $p > 0,05$ ). Quanto aos ensaios de atividade antioxidante de captura dos radicais DPPH• e ABTS, os extratos obtidos com acetato de etila nos pH 8 e 4 apresentaram ótimos valores de inibição para esses radicais. Os resultados demonstraram boa atividade antioxidante dos extratos obtidos por diferentes métodos de extração. Portanto, os extratos de *G. cochinchinensis* podem ser submetidos a maiores investigações acerca da atividade antioxidante *in vivo* e mecanismos relacionados para verificação de sua possível utilidade como fonte de princípios ativos a serem aplicados na prevenção e tratamento de doenças cuja patofisiologia relaciona-se ao estresse oxidativo

Palavras-chave: falso mangostão; compostos fenólicos; extração por ultrassom; extração líquido-líquido;

## ABSTRACT

*Garcinia cochinchinensis* (*Clusiaceae*), popular name false mangosteen, is a poorly studied species among the species of this genus, in folk medicine the bark is used to treat skin diseases and the threat of abortion. Other species of this genus have antioxidant activity, antglycemic, anticancer and other activities. Plant species provide organic compounds that have antioxidant ability, such as phenolic compounds, flavonoids and xanthenes, where species of the genus *Garcinia* (*Clusiaceae*) are a relevant source of these metabolites. Oxidative stress occurs when there is an imbalance between oxidant species and antioxidant species in favor of the former. This phenomenon is related to several diseases, such as diabetes mellitus, neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's and others. The present work aimed to evaluate the antioxidant activity of extracts from the fruits of *Garcinia cochinchinensis*. The extraction of pulp from the fruit was carried out by means of ultrasound-assisted extraction and the classic method of fractional solvent extraction. After obtaining the extracts, the content of total phenolics and total flavonoids was determined using the Folin-Ciocalteu reagent and aluminum complexation methods, respectively. The extracts A12A and AM12A were analyzed by Gas Chromatography coupled to a Mass Spectrometer (GC-MS), making it possible to identify and quantify the volatile compounds present. The antioxidant activity of all extracts was evaluated by DPPH• and ABTS radical capture methods, as well as by iron chelation and reducing power assays. The extracts obtained with ethyl acetate at pH 8 in the three fractionations showed the highest content of phenolic compounds and flavonoids compared to the others ( $p > 0.05$ ). The yield of ultrasound extraction was higher than that of classical extraction. The pH variation to 8 in the extractions was the optimal value for the extraction of phenolic compounds and thus obtaining better antioxidant activity. The A8C (90.6%) and AM8C (91%) extracts showed the highest iron chelation capacity compared to the other extracts ( $p > 0.05$ ). As for the antioxidant activity of capturing DPPH• and ABTS radicals, the extracts obtained with ethyl acetate at pH 8 and 4 showed excellent inhibition values for these radicals. The results showed good antioxidant activity of the extracts obtained by different extraction methods. Therefore, extracts of *G. cochinchinensis* may be submitted to further investigations about the antioxidant activity in vivo and related mechanisms to verify its possible usefulness as a source of active principles to be applied in the prevention and treatment of diseases whose pathophysiology is related to oxidative stress.

Keywords: oxidative stress; false mangosteen; phenolic compounds; extraction by ultrasound;

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 A) Fruto de <i>G. cochinchinensis</i> B) Detalhe das folhas da espécie estudada.....	17
Figura 2 Estrutura da morelloflavona e 7-epiclusianona .....	18
Figura 3 Terpenos encontrados no óleo essencial do gênero <i>Garcinia</i> .....	18
Figura 4 Exemplos de xantonas encontradas no gênero <i>Garcinia</i> .....	20
Figura 5 Exemplos de antioxidantes sintéticos .....	25
Figura 6 Exemplos de xantonas.....	26
Figura 7 Tipos de sistemas de ultrassom.....	28
Figura 8 Exemplo de ocorrência do fenômeno da cavitação em folhas de boldo .....	29
Figura 9 Ponteira do aparelho de ultrassom utilizado.....	33
Figura 10 Fluxograma das etapas de extração do fracionamento 1 (F1) .....	34
Figura 11 Fluxograma das etapas de extrações líquido-líquido para o EU1.....	35
Figura 12 Fluxograma das etapas de extrações líquido-líquido para o EU2.....	36
Figura 13 Estrutura dos constituintes presentes nos extratos A12A e AM12A .....	42
Figura 14 Reação entre o ácido gálico e o molibdênio (Folin-Ciocalteu) .....	47
Figura 15 Reação do flavonoide quercetina com o cloreto de alumínio ( $AlCl_3$ ) .....	48
Figura 16 Reação de quelatação do ferro com a 1,10-fenantrolina.....	49
Figura 17 Sítios de quelatação mais comuns entre os metais de transição e os flavonoides .....	50
Figura 18 Estrutura do radical DPPH e DPPH reduzido.....	52
Figura 19 Curvas de inibição do radical DPPH dos extratos.....	53
Figura 20 Reação do ABTS com oxidante forte e reação do ABTS <sup>•+</sup> com antioxidantes.....	54
Figura 21 Possível reação de <i>FRAP</i> entre complexo de Fe-1,10-fenantrolina e composto antioxidante .....	57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Exemplos de Espécies Reativas.....	22
Tabela 2 Substâncias detectadas no extrato A12A por CG-EM.....	41
Tabela 3 Composição química do extrato AM12A por CG-EM.....	42
Tabela 4 Conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides totais obtidos por EAU .....	43
Tabela 5 Conteúdo de compostos fenólicos totais e flavonoides totais dos extratos de <i>G. cochinchinensis</i> .....	45
Tabela 6 Valores de ferro quelado dos extratos de <i>G. cochinchinensis</i> .....	48
Tabela 7 Valores de CI 50 dos extratos de <i>G. cochinchinensis</i> .....	51
Tabela 8 Valores de Capacidade de Redução do Ferro dos extratos de <i>G. cochinchinensis</i> .....	57

## LISTA DE SIGLAS

AA	Ácido ascórbico
ABTS <sup>•+</sup>	2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico)
AcOEt	Acetato de Etila
A4A	Extrato obtido com acetato de etila pH 4 no Fracionamento 1
A4B	Extrato obtido com acetato de etila pH 4 no fracionamento à partir do EU1
A4C	Extrato obtido com acetato de etila pH 4 no fracionamento à partir do EU2
A8A	Extrato obtido com acetato de etila pH 8 no Fracionamento 1
A8B	Extrato obtido com acetato de etila pH 8 no Fracionamento EU1
A8C	Extrato obtido com acetato de etila pH 8 no Fracionamento EU2
A12A	Extrato obtido com acetato de etila pH 12 no Fracionamento 1
A12B	Extrato obtido com acetato de etila pH 12 no fracionamento à partir do EU1
AM12A	Extrato obtido com acetato de etila e metanol pH 12 no Fracionamento 1
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
CAT	Catalase
CG-MS	Cromatografia em Fase Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas
CA	Extrato obtido com clorofórmio no Fracionamento 1
CB	Extrato obtido com clorofórmio no fracionamento à partir do EU1
C.C	Extrato obtido com clorofórmio no fracionamento à partir do EU2
CI50	Concentração de inibição 50%
CLAE-MS	Cromatografia em Fase Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Espectrômetro de Massas
DM	Diabetes Melitus
DMSO	Dimetilsulfóxido

DMT1	Diabetes Melitus Tipo 1
DMT2	Diabetes Melitus Tipo 2
DPPH•	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EAU	Extração assistida por Ultrassom
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EO	Estresse Oxidativo
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EU1	Extrato obtido por Ultrassom 1
EU2	Extrato obtido por Ultrassom 2
EU3	Extrato obtido por Ultrassom 3
GPx	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa redutase
GSH	Glutationa
MDA	Malondialdeído
PG	Galato de propila
SOD	Superóxido dismutase
TBGQ	Butil-hidroquinona terciária
TMB	3,3',5,5'-tetrametilbenzidina
TPTZ	2,4,6-Tris(2-piridil)-S-triazina
UEL	Universidade Estadual de Londrina

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
2.1 O GÊNERO <i>GARCINIA</i> E <i>G. cochinchinensis</i> .....	16
2.1.1 Potencial antioxidante do gênero <i>Garcinia</i> .....	17
2.2 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO .....	22
2.3 XANTONAS .....	25
2.4 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM DE PRODUTOS NATURAIS: TÉCNICA E FUNDAMENTOS .....	27
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>31</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	31
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
4.1 REAGENTES .....	32
4.2 COLETA DO MATERIAL VEGETAL, PREPARO E OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	32
4.2.1 Coleta e tratamento do material vegetal .....	32
4.2.2. Obtenção dos extratos por Extração Assistida por Ultrassom (EAU).....	32
4.2.3. Obtenção dos extratos por extração com solventes e do óleo essencial .....	33
4.3 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS DA <i>G. cochinchinensis</i> .....	36
4.4 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FLAVONOIDES TOTAIS DOS EXTRATOS DA <i>G. cochinchinensis</i> .....	37
4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE <i>G.</i> <i>cochinchinensis</i> UTILIZANDO DPPH.....	37
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE <i>G.</i> <i>cochinchinensis</i> UTILIZANDO ABTS <sup>+</sup> .....	38
4.7 CAPACIDADE QUELANTE DOS EXTRATOS DE <i>G. cochinchinensis</i> .....	39
4.8 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS PRESENTES DOS EXTRATOS AcOEt pH 12 F1 e AcOEt/MeOH pH 12 de <i>G. cochinchinensis</i> POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLACADA AO ESPECTROMÊTRO DE MASSAS .....	39
4.9 AVALIAÇÃO DO PODER REDUTOR DOS EXTRATOS DE <i>G. cochinchinensis</i> .....	40
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>41</b>
5.1 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS PRESENTES DOS EXTRATOS A12A e AM12A de <i>G. cochinchinensis</i> .....	41
5.2 CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS DOS EXTRATOS OBTIDOS DE <i>G. cochinchinensis</i> .....	43
5.3 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE QUELANTE DOS EXTRATOS DE <i>G.</i> <i>cochinchinensis</i> .....	48

5.4 DETERMINAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE <i>G. cochinchinensis</i> PELOS MÉTODOS DE DPPH E ABTS .....	51
5.5 AVALIAÇÃO DO PODER REDUTOR DOS EXTRATOS DE <i>G. cochinchinensis</i> .....	55
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>60</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Desde as antigas civilizações, o homem tem usado produtos naturais para o tratamento de doenças, controle de pragas e alimentação. Tal conhecimento foi transmitido de geração a geração, e se pode definir produtos naturais como recursos básicos extraídos de plantas e animais, sendo as primeiras a base para o tratamento de enfermidades (JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018; PETROVSKA, 2012). O termo “plantas medicinais” pode ser entendido como “a variedade de plantas que possui propriedades medicinais” (JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018, p.2). No Brasil, em particular, encontram-se diversas espécies com tais propriedades, devido à sua grande biodiversidade (20-22% do total existente no planeta das espécies de plantas superiores) (DUTRA *et al.*, 2016).

É importante verificar tanto a qualidade como a quantidades de compostos bioativos responsáveis por propriedades químicas benéficas à saúde humana. Os metabólitos secundários são definidos como substâncias químicas produzidas por plantas e microorganismos a partir de sua interação com o ambiente onde estão inseridas, que podem contribuir no combate ou prevenção de diversas doenças (NUNES; BESTEN, 2016).

Os metabólitos secundários estão presentes nos extratos e óleos essenciais obtidos de várias espécies vegetais. Os óleos essenciais são definidos como “misturas líquidas de compostos voláteis” (AMORATI; FOTI; VALGIMIGLI, 2013, p.10835), os quais são obtidos de plantas aromáticas, comumente extraídos por destilação (AMORATI; FOTI; VALGIMIGLI, 2013). São usados como matéria prima para fabricação de perfume e produtos de limpeza. (DIAS; SILVA, 1996). Além disso, os óleos essenciais têm sido utilizados como antissépticos, antioxidantes e anti-inflamatórios, por exemplo. Muitos compostos com baixo ponto de ebulição têm sido identificados em óleos essenciais e são explorados como potenciais antioxidantes naturais de baixa toxicidade oferecendo vantagem em relação a muitos antioxidantes sintéticos (AMORATI; FOTI; VALGIMIGLI, 2013).

Dentre as doenças que são tratadas com o uso de plantas medicinais, estão aquelas relacionadas ao Estresse Oxidativo (EO), ou seja, o excesso de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e Espécies Reativas de Nitrogênio (ERNs) no meio celular e sanguíneo. O EO está, geralmente, relacionado a doenças neurodegenerativas (Alzheimer e Parkinson), câncer, artrite, doenças cardiovasculares, além da Diabetes Melitus Tipo 2 (DMT2) (CASSIDY *et al.*, 2020; ZHENG *et al.*, 2019).

A espécie *G. cochinchinensis* pertence à família *Clusiaceae*. Suas frutas são chamadas popularmente mangostão. As plantas do gênero *Garcinia* são nativas da Sudeste Asiático, África e Polinésia, sendo a *G. cochinchinensis* originária do Camboja e Vietnã. Há cerca de 400 espécies do gênero *Garcinia*, das quais destacam-se *Garcinia mangostana*, *G. kola* e *G. xanthochymus*. (ARAZO *et al.*, 2011a; WATERMAN; HUSSAIN, 1983). No Brasil, observa-se a ocorrência de *G. brasiliensis*, *G. xanthochymus*, *G. mangostana* e a *G. cochinchinensis*, sendo apenas a primeira nativa do Brasil. Os principais metabólitos secundários encontrados em plantas desse gênero são compostos fenólicos, mono e biflavonoides, xantonas e benzofenonas poliisoprenadas. (CHE HASSAN; TAHER; SUSANTI, 2018; DO SACRAMENTO *et al.*, 2007; NGUYEN; TRINH; NGUYEN, 2011; SANTA-CECÍLIA *et al.*, 2013).

Diversas espécies do gênero *Garcinia* apresentam propriedades antioxidantes devido à presença de compostos fenólicos, flavonoides e xantonas. Encontraram-se na literatura poucos trabalhos referentes à espécie *G. cochinchinensis*. Sendo assim, considerando a importância destes compostos e a escassez de estudos acerca da referida espécie, o presente trabalho busca elucidar a composição e possível potencial antioxidante de seus extratos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O GÊNERO *GARCINIA* E *G. cochinchinensis*

O nome do gênero *Garcinia* é uma homenagem ao botânico francês Laurent Garcin, por ser o primeiro a publicar uma descrição do fruto. (CARVALHO, 2014). O gênero *Garcinia* possui aproximadamente 400 espécies de árvores frutíferas e arbustos polígamos, distribuídos na flora nativa da África, Sudeste Asiático sendo o maior gênero da família *Clusiaceae* (antiga denominação *Guttiferae*). Espécies desse gênero são caracterizadas por liberar látex amarelo, ocasionalmente branco em algumas espécies, no endocarpo da fruta ou da casca da árvore. (ARAZO *et al.*, 2011b; WATERMAN; HUSSAIN, 1983).

Uma das espécies mais conhecidas e de maior importância econômica desse gênero é a *G. mangostana* (nome popular mangostão), proveniente da Ásia, mais especificamente na região da China e Índia, podendo ser encontrada desde o sul do Vietnã até a Malásia. O mangostão é considerada uma fruta de sabor apreciável e fonte de compostos antioxidantes e anti-inflamatórias, tanto na casca como na polpa (AIZAT; AHMAD-HASHIM; SYED JAAFAR, 2019; DO SACRAMENTO *et al.*, 2007; WATERMAN; HUSSAIN, 1983). No Brasil, a espécie *G. mangostana* foi introduzida no ano de 1935 na Bahia e, 1942, no Pará, sendo cultivada nos estados do Pará, Bahia, e Amazonas, com relativo valor econômico (SACRAMENTO *et al.*, 2007). O mangostanzeiro é cultivado em áreas onde o clima é quente e úmido, com chuvas bem distribuídas durante o ano. (DO SACRAMENTO *et al.*, 2007). A *G. mangostana* também é reconhecida como a “rainha das frutas” por causa de seu sabor único, uma combinação de doce-azedo, e possui alto impacto econômico chegando a ser produzida cerca de 700.000 toneladas em todo o mundo no ano de 2017 (AIZAT; AHMAD-HASHIM; SYED JAAFAR, 2019)

Estudos fitoquímicos sobre as espécies do gênero *Garcinia* revelaram que as mesmas são ricas em metabólitos secundários como compostos fenólicos, xantonas, benzofenonas, flavonoides e biflavonoides. (CHE HASSAN; TAHER; SUSANTI, 2018; WATERMAN; HUSSAIN, 1983). Além desses metabólitos, podem ser encontrados na casca, semente e pericarpo outros metabólitos como açúcares, aminoácidos e formas preniladas de xantonas e benzofenonas (AIZAT; AHMAD-HASHIM; SYED JAAFAR, 2019; NGUYEN; TRINH; NGUYEN, 2011; TRINH *et al.*, 2013).

*G. cochinchinensis* é uma árvore frutífera, podendo ser confundida por aparência com a *G. mangostana*, *G. brasiliensis* e *G. xanthochymus*, especialmente na fase jovem. Seu nome

popular é falso mangostão ou mangostão amarelo. No Brasil não tem expressão econômica, apenas cultivo doméstico. O fruto tem forma de baga subglobosa e seu tamanho varia entre 4 e 9 cm de comprimento transversal e 3,6 a 6,5 cm de altura. Sua massa está, geralmente, entre 30 a 240 g, apresentando pericarpo amarelo. Em espécies como a *G. mangostana*, o fruto é de cor purpúrea, e são encontradas, frequentemente, de 1 a 4 sementes a depender de seu tamanho (DO SACRAMENTO *et al.*, 2007). Na Figura 1, apresenta-se a foto do mangostão amarelo e a árvore na qual é encontrado:

**Figura 1** A) Fruto de *G. cochinchinensis* B) Detalhe das folhas da espécie estudada



Fonte: o autor

Na medicina popular do Vietnã, país em que a *G. cochinchinensis* é nativa, a casca do fruto e da árvore é usada para tratar alergia, coceira e doenças da pele, já os botões são usados no tratamento de ameaça ao aborto. (NGUYEN; TRINH; NGUYEN, 2011)

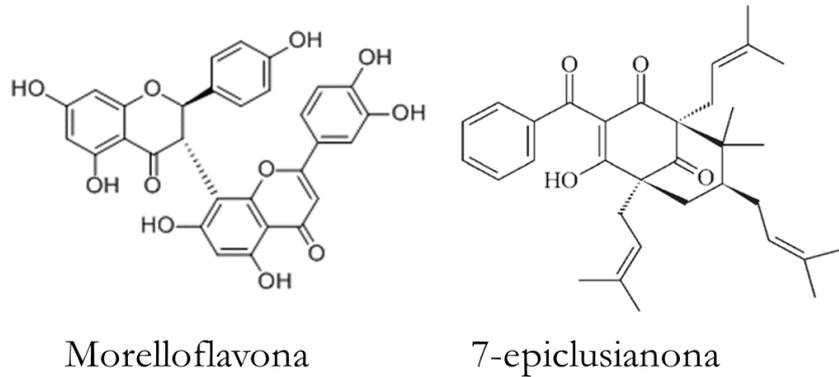
### 2.1.1 Potencial antioxidante do gênero *Garcinia*

Diversos trabalhos na literatura sobre espécies do gênero *Garcinia* reportam seu potencial antiglicêmico e antioxidante. No entanto, há poucos trabalhos publicados sobre a espécie *G. cochinchinensis*.

Araújo e colaboradores (2019) realizaram testes *in vivo* em camundongos que faziam a ingestão diária de extrato etanólico de folhas de *G. brasiliensis* para avaliar a sua atividade antioxidante, modulação da microbiota intestinal e atividade anti-inflamatória. O extrato etanólico da folha continha o biflavonoide morelloflavona e a benzofenona 7-epiclusianona (Fig 2). Concluíram que o extrato foi capaz de reduzir o estresse oxidativo, demonstrado pelo

aumento da quantidade de enzimas antioxidantes. O mesmo inibiu o processo inflamatório, modulou a microbiota intestinal, favorecendo as bactérias benéficas e regulando o metabolismo lipídico, que reduz a obesidade (ARAÚJO *et al.*, 2019)

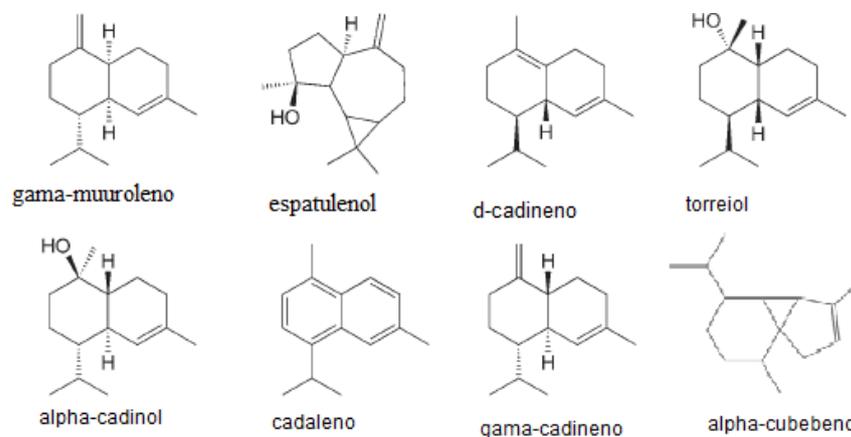
**Figura 2** Estrutura da moreloflavona e 7-epiclusianona



Fonte: o autor;

Martins e colaboradores (2008) investigaram a atividade antioxidante e anti-inflamatória do óleo essencial dos frutos de *G. brasiliensis*, que continha terpenos como espatulenol, torreiol e alfa-cadinol (Fig.3) e foi capaz de inibir o processo inflamatório em pata de rato em 25%. Os autores também verificaram a atividade antioxidante desse óleo essencial frente ao radical DPPH. No entanto, os valores obtidos foram significativamente menores que os valores obtidos do controle ácido ascórbico (MARTINS *et al.*, 2008).

**Figura 3** Terpenos encontrados no óleo essencial do gênero *Garcinia*

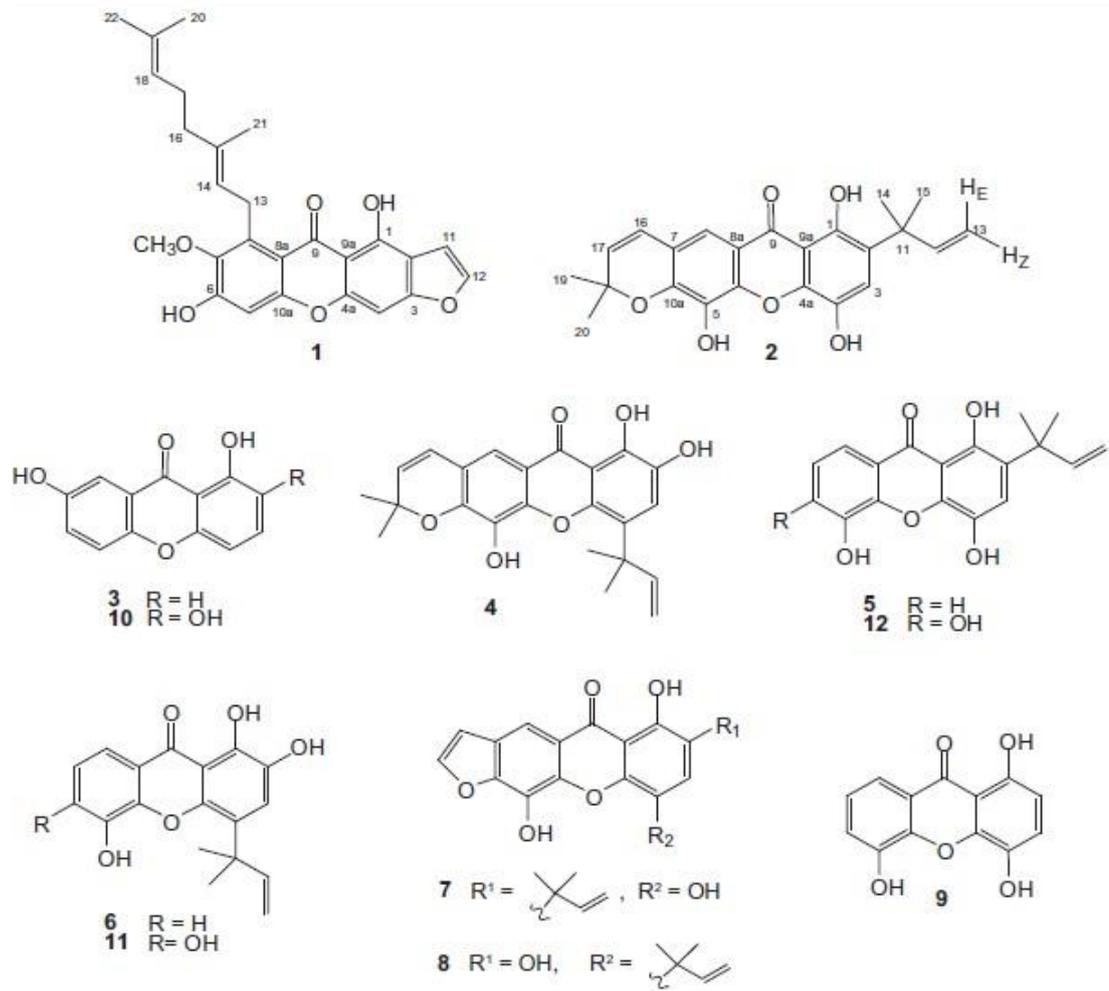


Fonte: adaptado de MARTINS *et al.*, 2008

Farinazzi e colaboradores (2017a) realizaram ensaios de atividade antioxidante de extratos de frutas e folhas de *G. cochinchinensis*, assim como quantificaram conteúdos totais de fenólicos e flavonoides. O extrato em acetona 80%, obtido dos frutos e das folhas, apresentou atividade antioxidante em captura do radical DPPH sob os valores expressos em  $90,6\% \pm 2,52$  e  $64,4\% \pm 12,8$  para frutos e folhas, respectivamente (FARINAZZI-MACHADO *et al.*, 2017a). Além disso, foi verificada a presença de carotenoides, antocianinas e clorofila no extrato das folhas e frutas. Observou-se com testes *in vivo* em ratos que sucos da fruta e das folhas reduziram a gordura visceral após ingestão por 41 dias. (FARINAZZI-MACHADO *et al.*, 2017b),

Nguyen e colaboradores (2017) isolaram 12 xantonas da casca da espécie *G. xanthochymus* a partir de um extrato de acetato de etila. Esses compostos exibiram atividade anti-diabética frente à enzima  $\alpha$ -glucosidase e à enzima PTP1B. Os autores relataram também o isolamento de duas novas xantonas, xanthochymusxantona A (1) e B (2), como também outras xantonas conhecidas que foram isoladas a partir do mesmo extrato, 1,7-dihidroxixantona (3) e as demais presentes na Figura 4:

**Figura 4** Exemplos de xantonas encontradas no gênero *Garcinia*



Fonte: (NGUYEN *et al.*, 2017)

Diversos outros trabalhos relataram atividade antioxidante e antiglicêmica em espécies do gênero *Garcinia*, tais como: *G. xanthochymus* (CHE HASSAN; TAHER; SUSANTI, 2018; ZHONG *et al.*, 2009; ZHONG; CHEN; YANG, 2008), e *G. mangostana* ( THONG *et al.*, 2014), evidenciando a importância desse gênero.

Chen *et al* (2010) isolaram seis xantonas à partir de um extrato de acetato de etila da casca do caule da *G. xanthochymus*. Os compostos isolados foram xantonas hidroxiladas e preniladas, a xantona que exibiu maior atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi identificada pelos autores uma xantona, cuja concentração inibitória de 50 % do radical DPPH foi de  $19,64 \pm 0,39 \mu\text{M}$  tendo quatro grupos hidroxilas, valor bem distante da xantona de menor atividade antioxidante ( $66,88 \pm 0,19 \mu\text{M}$ ) de apenas dois grupos hidroxilas. Essa diferença nos valores de atividade antioxidante nos mostra a influência do número de grupos hidroxilas na reação de captura do radical. (CHEN *et al.*, 2010)

Além dos métodos convencionais de extração de metabólitos secundários, Mohammad e colaboradores (2019) utilizaram extração assistida por micro-ondas em que foi realizada extração do pericarpo da *G. mangostana*. Os autores estudaram as variáveis de extração para se obter melhores rendimentos de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Sendo assim, variaram o tempo de irradiação no micro-ondas, razão sólido-solvente e concentração de etanol em porcentagem. Os valores ótimos de atividade antioxidante nos métodos de captura dos radicais DPPH e ABTS e poder redutor foram obtidos seguindo as condições ótimas obtidas de 2,24 minutos de tempo de irradiação,  $25 \text{ mL g}^{-1}$  de razão sólido-solvente e 71% de concentração de etanol (MOHAMMAED *et al*, 2019).

A atividade antioxidante das folhas de *G. mangostana* também foram estudadas por Assemian e colaboradores (2019) e obtiveram dois extratos (diclorometano e etanol), ambos utilizando Soxhlet como meio de extração. Os extratos foram avaliados em termos de atividade antioxidante no método de captura do radical DPPH, sendo o valor de concentração inibitória de 50% obtida para os extratos de etanol e diclorometano de  $33,40 \pm 0,67 \mu\text{M mL}^{-1}$  e  $580 \pm 23,02 \mu\text{M mL}^{-1}$ , respectivamente (ASSEMIAN *et al*, 2019). Foram realizados também estudos *in vivo* em ratos avaliando o status antioxidante total de soro de sangue de após dieta com extratos de *Garcinia*. Tjahjani e colaboradores (2019), por exemplo, avaliaram a atividade antioxidante em ratos após a ingestão em diferentes doses de extrato obtido com acetato de etila da casca da fruta. O grupo de ratos que apresentou a maior atividade antioxidante ( $0,276 \pm 0,058 \text{ mM Trolox}$ ) recebeu 20 mg/kg peso corporal/dia do extrato de acetato de etila da *G. mangostana* (TJAHJANI *et al*, 2019).

## 2.2 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Radicais livres, ou simplesmente radicais, são espécies que ocorrem naturalmente no metabolismo celular do corpo humano. Essas espécies reativas podem ser definidas como átomos ou moléculas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados na camada de valência. No entanto, pode-se encontrar espécies sem carga, como por exemplo o peróxido de hidrogênio,  $H_2O_2$ . Por conta de seu elétron ímpar e desemparelhado, o radical se torna instável, de curta duração e reativo. Pela sua alta reatividade, os radicais atacam outras substâncias para retirar seus elétrons e atingir estabilidade. A substância que sofreu o ataque pode vir a se tornar um radical e atacar outra subsequente e, assim, iniciar uma reação em cadeia, que por fim, causa dano celular (KEHRER; ROBERTSON; SMITH, 2010; PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015).

Ullah e colaboradores (2016) consideram os radicais livres como mal necessário, pois mesmos envolvidos em danos celulares, eles agem em processos normais de migração, sinalização celular e outros efeitos benéficos a saúde, atuando no fornecimento de energia, controle da pressão sanguínea, desintoxicação, exibindo também função imunológica (DIMITRIOS, 2006; METCALFE; ALONSO-ALVAREZ, 2010; VASCONCELOS *et al.*, 2007).

Espécies reativas de oxigênio (EROs) ocorrem em todos os organismos aeróbicos. Essas espécies são produzidas no processo de respiração celular, sendo prejudiciais quando em excesso, podendo danificar biomoléculas como proteínas, lipídios e DNA (DUDONNÉ *et al.*, 2009). Além das EROs, há também espécies reativas de nitrogênio (ERNs). Essas também podem estar na forma radicalar e não radicalar. Na Tabela 1 encontram-se exemplos de EROs e ERNs, junto de seus símbolos e tempo de meia vida:

**Tabela 1** Exemplos de Espécies Reativas (continua)

Espécie reativa	Símbolo	Meia-vida
EROs Radicais		
Superóxido	$O_2^{\cdot-}$	$10^{-6}$ s
Hidroxila	$HO^{\cdot}$	$10^{-10}$ s
Alcoxila	$RO^{\cdot}$	$10^{-6}$ s
Peroxila	$ROO^{\cdot}$	17 s
Não radicalais		
Peróxido de hidrogênio	$H_2O_2$	Estável

**Tabela 2** Exemplos de Espécies Reativas (continua)

Espécie reativa	Símbolo	Meia-vida
Oxigênio singlete	$^1\text{O}_2$	$10^{-6}$ s
Ozônio	$\text{O}_3$	Segundos
Peróxido orgânico	ROOH	Estável
Ácido hipocloroso	HOCl	Estável (min)
Ácido hipobromoso	HOBr	Estável (min)
ERNs		
Radicais		
Dióxido de nitrogênio	$\text{NO}_2\bullet$	s*
	Não radicais	
Peroxinitrito	$\text{ONOO}^-$	$10^{-3}$ s
Cloreto de nitrila	$\text{NO}_2\text{Cl}$	s*
Cloroamina	$\text{R}_2\text{NCl}$	Estável (min)

Nota: (\*) tempo de meia vida que dura poucos segundos

Fonte: adaptado de PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015; VASCONCELOS *et al.*, 2007

Quando, no corpo humano, há excesso de espécies reativas, ocorre o fenômeno chamado estresse oxidativo (EO), que é definido pelo desequilíbrio ou desbalanço entre a quantidade de substâncias pro-oxidantes e o sistema antioxidante em favor dos pro-oxidantes. Isso leva a danos ao organismo, seja excesso de pro-oxidantes ou pela escassez da defesa antioxidante (DUDONNÉ *et al.*, 2009; KEHRER; ROBERTSON; SMITH, 2010). O termo estresse redutivo também tem sido utilizado na literatura, tendo o sentido oposto ao conceito de EO (GUTTERIDGE; HALLIWELL, 2018).

É conhecido que o EO está relacionado a cerca de aproximadamente 100 doenças, (PISOSCHI; POP, 2015), dentre as quais podem-se destacar doenças neurodegenerativas (Alzheimer e Parkinson), diabetes, câncer, catarata entre outras. (PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015; VASCONCELOS *et al.*, 2007). Mesmo não sendo diagnosticado como “doença”, o EO ainda pode estar relacionado aos processos de envelhecimento e morte celular. Por outro lado, existem benefícios na presença de EROs e ERNs, uma vez que desempenham papéis fundamentais no organismo, como o controle da pressão sanguínea, na sinalização celular, apoptose, fagocitose de agentes patógenos, fertilização de ovos e amadurecimentos de frutos (VASCONCELOS *et al.*, 2007). Portanto, é necessário controlar os níveis e concentração de oxidantes (espécies reativas) no organismo, e isso pode ser feito tanto pela defesa antioxidante do corpo como pela dieta de substâncias antioxidantes.

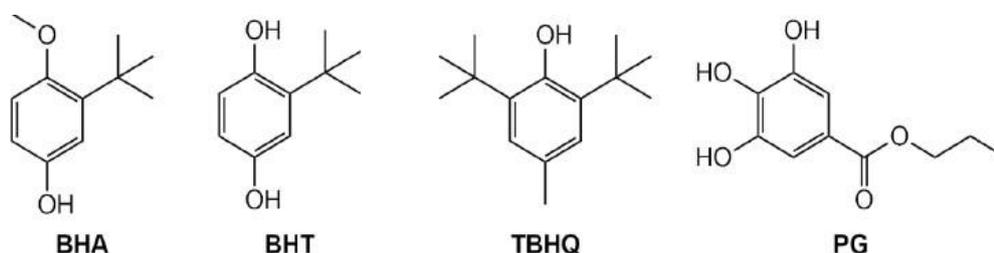
Por fim, pode-se definir antioxidantes como substâncias que em baixas concentrações, quando comparadas com a concentração do substrato oxidável alvo, inibem a oxidação do substrato. (GUTTERIDGE; HALLIWELL, 2018; HALLIWELL, 2006). No entanto, Shahidi e Zong (2015) apresentam outra definição mais ampla, defendendo que antioxidantes são “substâncias que quando presentes nos alimentos ou no corpo em concentrações muito baixas, retardam, controlam ou previnem processos oxidativos que levam à deterioração da qualidade dos alimentos ou a iniciação e propagação de doenças degenerativas no corpo” (SHAHIDI; ZHONG, 2015, p 758). Os antioxidantes podem agir de diferentes maneiras no processo de inibição de oxidação. Dessa forma, são classificados entre primários e secundários. Os primários são aquelas substâncias que podem inibir a reação em cadeia de oxidação pela doação de hidrogênio. Os antioxidantes fenólicos estão entre os principais representantes dos oxidantes primários e atuam principalmente na captura e inibição de radicais livres. (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). Já os antioxidantes secundários agem prevenindo ou retardando a oxidação ou os promotores de oxidação, como por exemplo capturando e quelando o  $Fe^{2+}$  que participa da reação de Fenton originando radical hidroxila ( $OH\bullet$ ) (PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015), outros íons metálicos de transição, oxigênio singlete, enzimas pro-oxidantes e outros oxidantes (SHAHIDI; ZHONG, 2015).

O corpo humano desenvolveu mecanismos de defesa para combater e prevenir o excesso de substâncias pro-oxidantes (radicais livres, EROs e ERNs) (APAK *et al.*, 2016). O sistema de defesa é constituído por substâncias enzimáticas endógenas, não enzimáticas endógenas e exógenas. As enzimas antioxidantes são responsáveis por prevenir reações oxidantes, inibir e reagir com oxidantes. Dentre os antioxidantes enzimáticos presentes no corpo podem-se destacar a superóxido dismutase (SOD), glutaciona peroxidase (GPx), catalase (CAT) e glutaciona redutase (GR). Há também compostos não enzimáticos que exercem função antioxidante, essas substâncias são produzidas *in vivo*, tais como glutaciona (GSH), ácido úrico e ubiquinona (APAK *et al.*, 2016; KEHRER; ROBERTSON; SMITH, 2010; VALKO *et al.*, 2007; VASCONCELOS *et al.*, 2007).

Contudo, não havendo apenas os antioxidantes endógenos, há também a possibilidade de fortalecer a defesa antioxidante do organismo pela ingestão de antioxidantes exógenos, presentes na dieta, que ocorrem em vegetais e produtos naturais marinhos. Como exemplo, encontram-se tocoferóis (Vitamina E), fenólicos, flavonoides, carotenos (ex: vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C) e outros. Essas aplicações despertam o interesse no uso de extratos que sejam fonte dessas substâncias, além do isolamento desses metabólitos para possível uso farmacêutico e alimentício. (DIMITRIOS, 2006; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

Além dos antioxidantes naturais, há alguns sintéticos que são utilizados pela indústria alimentícia para preservação dos alimentos, podendo ser associados a antioxidantes naturais, a fim de potencializar o efeito sinergicamente. (SHAHIDI; ZHONG, 2015). Os antioxidantes sintéticos, também classificados como secundários, os mais utilizados são butilhidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), butil-hidroquinona-terciária (TBHQ) e galato de propila (PG). Esses antioxidantes sintéticos demonstraram-se atrativos devido ao seu baixo custo e sabor suave. No entanto, a demanda por rótulos limpos e naturais aumentou e aos poucos retornando a busca por antioxidantes de fontes naturais para substituí-los. (SHAHIDI; ZHONG, 2015). Na Figura 5 estão representadas as estruturas dos antioxidantes sintéticos mencionados.

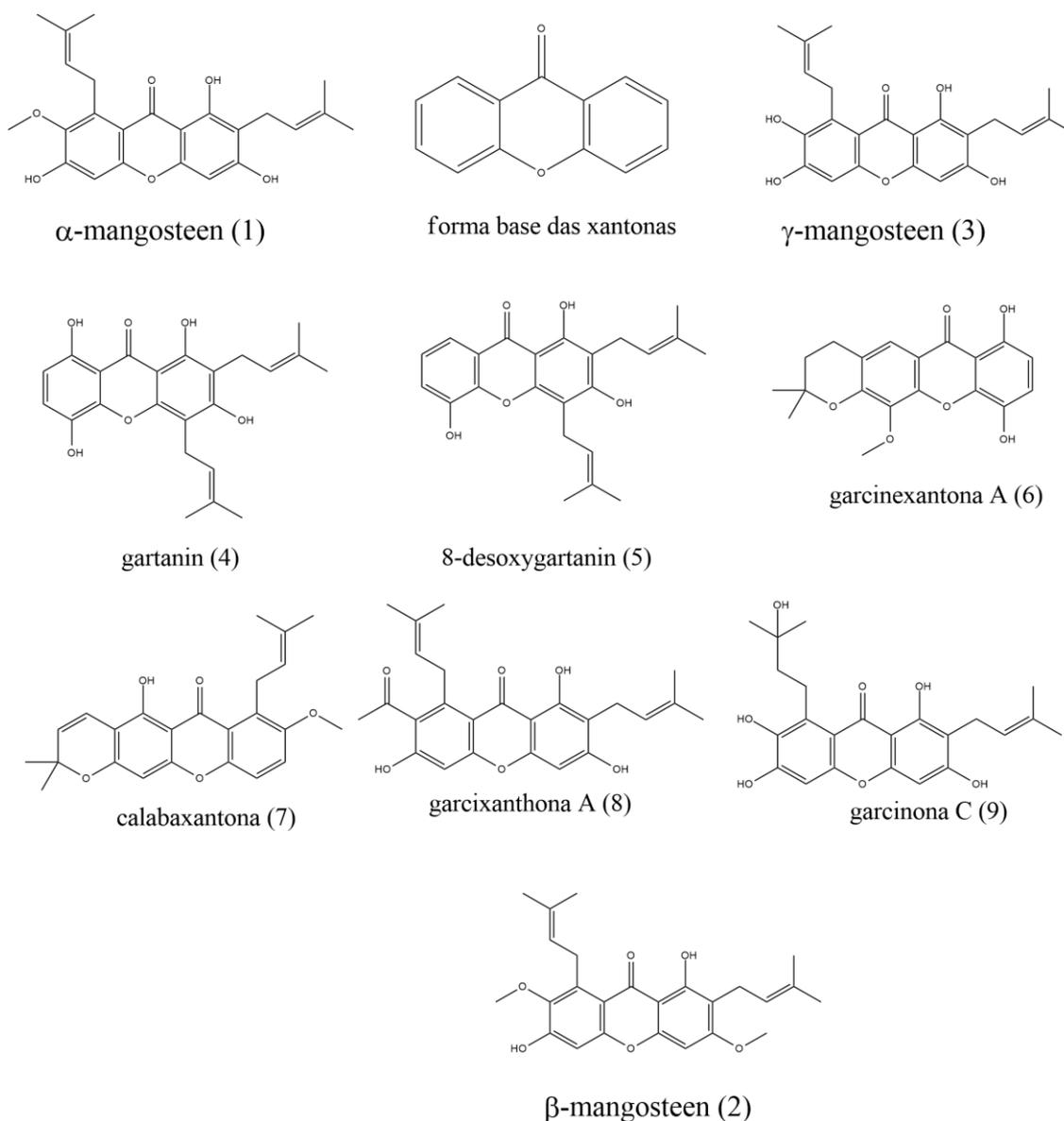
**Figura 5** Exemplos de antioxidantes sintéticos



Fonte: o autor

### 2.3 XANTONAS

Uma das principais classes de compostos bioativos encontradas em espécies do gênero *Garcinia* são as xantonas, podendo ser encontradas na forma oxigenada, associadas a grupos isoprenila e glicosídeos. O esqueleto base da classe xantonona é composto por dois anéis benzênicos ligados por um anel  $\gamma$ -pirano (Figura 9), cuja fórmula molecular é  $C_{13}H_8O_2$ . Sua estrutura em triciclo pode ser associada com suas atividades biológicas (ASHTON *et al.*, 2019; SALMAN *et al.*, 2019). As xantonas podem ser encontradas em várias partes de plantas do gênero *Garcinia*, como a fruta, pele (casca) da fruta, madeira e casca do tronco e sementes. (LEE *et al.*, 2016; ZHONG; CHEN; YANG, 2008). Entre as principais xantonas conhecidas, destacam-se:  $\alpha$ -mangostin (1),  $\beta$ -mangontin (2),  $\gamma$ -mangontin (3), gartanin (4), 8-desoxygartanin (5), garcinexantonona A (6), cabalaxantonona (7), garcixantonona A (8), garcinona C (9). Na Figura 6, encontram-se exemplos de xantonas e a forma base dessa classe de compostos.

**Figura 6** Exemplos de xantonas

Fonte: o autor.

Diversos análogos de xantonas e seus glicosídeos são obtidos por adição de substituintes na cadeia lateral dos anéis aromáticos do esqueleto base, mas em diferentes posições. Assim, são reportadas xantonas hidroxiladas, de mono até poli-hidroxiladas, preniladas, alquiladas, ligadas a grupos carregados, ligadas a grupos glicosídeos, ligados a grupos alcóxido e também xantonas encontradas na forma de dímeros e trímeros. (ARAZO *et al.*, 2011a; ASHTON *et al.*, 2019)

As xantonas encontradas em espécies de *Garcinia* exibem atividades biológicas diversificada importantes, como antioxidante, antitumoral, anti-viral, anti-HIV, anti-glicêmica, antimicrobiana e neuroprotetora (SALMAN *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2017;

GUNTER *et al.*, 2010; INOUE *et al.*, 2017). As xantonas, assim como outros compostos fenólicos, são fortes antioxidantes encontrados na natureza e sua atividade antioxidante pode variar de acordo com a quantidade de substituintes hidroxila e da posição de demais substituintes no esqueleto. Xantonas reagem com os radicais livres através da transferência de elétron singleto (SET) ou transferência de átomo de hidrogênio (HAT). Xantonas com substituintes hidroxila são as que possuem maior atividades antioxidante. Isso ocorre devido ao fato de os grupos hidroxila ligados a anéis aromáticos, formando grupos fenólicos, atuarem de forma eficaz na captura dos radicais livres. O número de grupos hidroxila presentes nas xantonas também afeta seu potencial antioxidante. Embora as dihidroxi e trihidroxi xantonas possuam atividade antioxidante significativa, as tetrahidróxi xantonas são mais potentes que as di- e trissubstituídas. A posição dos grupos hidroxila também afeta significativamente a atividade antioxidante desses compostos, o que se observa em diferentes experimentos (SALMAN *et al.*, 2019). No entanto, é necessário levar em consideração a presença de outros substituintes que alteram a interação entre a xantona e o composto oxidante. Entre esses substituintes podem-se listar grupos alcóxidos, prenil e com esqueletos enjaulados. Isso estimula estudos no sentido de avaliar a relação estrutura-atividade para melhor investigar o potencial biológico dessas moléculas (SALMAN *et al.*, 2019).

Sabendo-se que as xantonas são metabólitos abundantes no gênero *Garcinia*, os pesquisadores buscam extrair e isolar tais compostos que tenham valores ótimos de atividades biológicas. Não apenas atividade antioxidante. As xantonas podem ser encontradas em diversas partes das espécies do gênero *Garcinia*.

Frente a essa problemática, têm-se a necessidade de investigar a atividade antioxidante de produtos naturais visando diferentes aplicações.

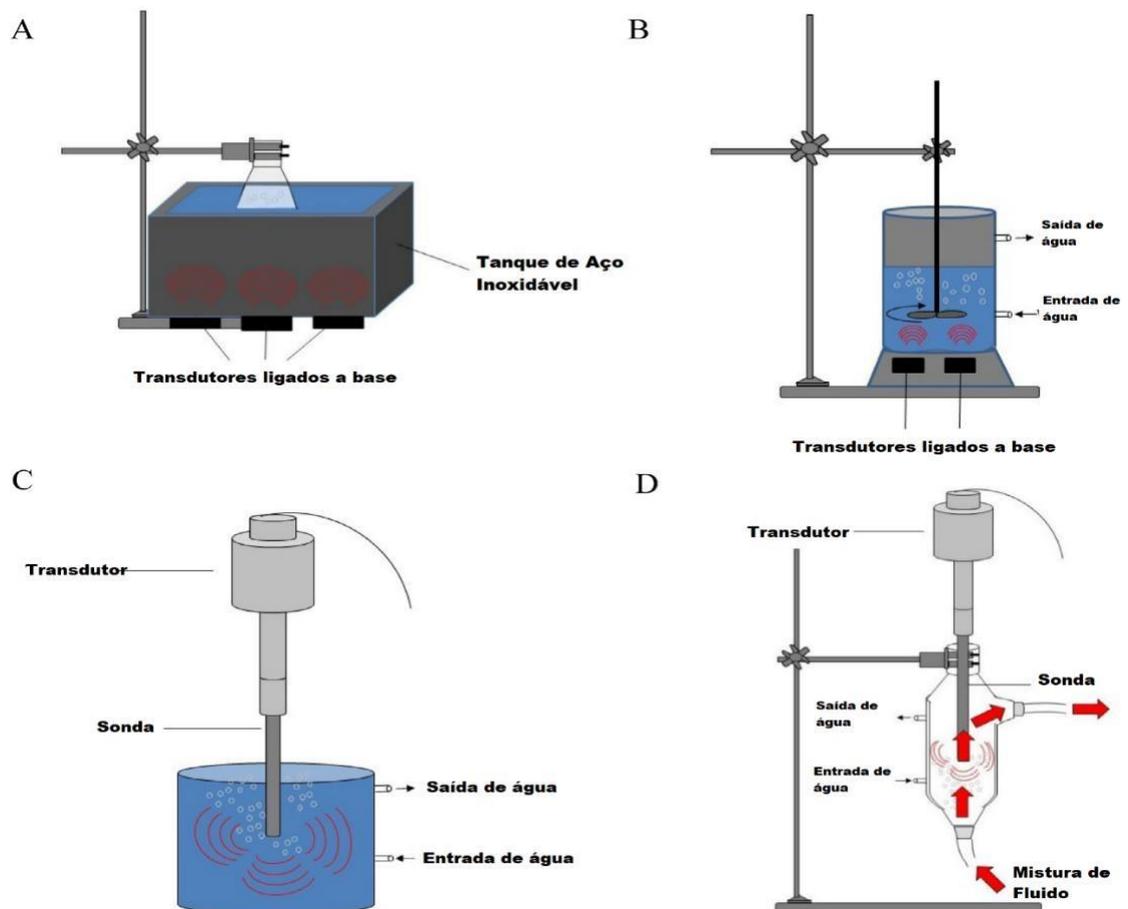
#### 2.4 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM DE PRODUTOS NATURAIS: TÉCNICA E FUNDAMENTOS

A extração por ultrassom é uma técnica emergente e possui diversas aplicações. Na pesquisa de produtos naturais oriundos de vegetais, esse tipo de radiação é utilizado principalmente na extração de antioxidantes, pigmentos, lipídios e outros fitoquímicos de interesse. Essa tecnologia proporciona uma extração de forma não destrutiva sobre o material vegetal, minimiza alguns danos e otimiza alguns parâmetros, tais como tempo de extração, duração, consumo de energia e quantidade de solvente consumido (CHEMAT *et al.*, 2017). Alguns autores consideram essa técnica como sendo tecnologia-chave e que permite extrações

verdes e sustentáveis (CHEMAT *et al.*, 2017; SOLTANI FIROUZ; FARAHMANDI; HOSSEINPOUR, 2019). Além dos pontos positivos apresentados, ainda é possível unir essa técnica com outras técnicas de extração como Soxhlet, destilação Clevenger e micro-ondas. Comumente, encontra-se na literatura o termo “extração assistida por ultrassom” (EAU), do inglês *ultrasound-assisted extraction* (UAE), no que se refere a trabalhos que utilizam dessa técnica para extrair compostos de interesse. (CHEMAT *et al.*, 2017).

Por definição, ultrassom são ondas mecânicas sonoras que variam numa frequência de 20 kHz a 200 kHz, sendo acima do limite audível pelo ser humano. No entanto, não se difere em suas propriedades físicas dos sons audíveis pelo homem. (SOLTANI FIROUZ; FARAHMANDI; HOSSEINPOUR, 2019).- Na Figura 7 estão representados quatro modelos para sistema de ultrassom:

**Figura 7** Tipos de sistemas de ultrassom

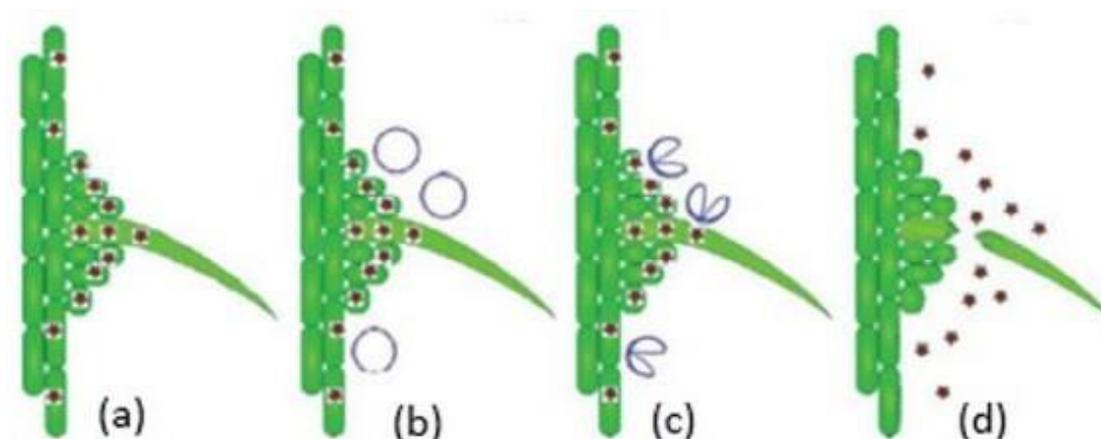


Legenda: a) sistema de banho de ultrassom; b) reator de ultrassom com agitação; c) ponteira (sonda) de ultrassom; d) sonificação contínua com sonda de ultrassom

Fonte: CHEMAT *et al.*, 2017, p 549. Tradução do autor.

Os efeitos sonoquímicos e de extração são atribuídos ao fenômeno acústico da cavitação. Quanto à formação do campo de ultrassom, o fenômeno acústico da cavitação ocorre em meio líquido e se refere à formação, crescimento e implosão de bolhas na propagação de ultrassom nesse meio. Esse fenômeno ocorre em ciclos repetidas vezes e é resultado da variação de pressão causadas pelo campo de ultrassom aplicado no meio. (CHEMAT *et al.*, 2017; SOLTANI FIROUZ; FARAHMANDI; HOSSEINPOUR, 2019). Petigny e colaboradores (2013) estudaram o efeito do ultrassom em folhas de boldo, comparando com métodos clássicos de extração por solvente como a maceração. Os autores relataram que houve aumento na eficiência de extração utilizando o método de extração assistida por ultrassom em 25%, em termos de massa extraída (g/100g). As folhas de boldo possuem tricomas em sua superfície e foi observado que, após a aplicação ultrassonográfica, ocorreu a remoção desses tricomas, evento que não ocorreu durante a maceração. A erosão e a cavitação, fenômenos resultados do campo ultrassônico, facilitaram a entrada da água como solvente, otimizando a extração e solubilização conforme esquematizado na Figura 8 (PETIGNY *et al.*, 2013).

**Figura 8** Exemplo de ocorrência do fenômeno da cavitação em folhas de boldo



Legenda: a) perfil da planta com tricoma na superfície da folha; b) geração de bolhas de cavitação; c) colapso das bolhas de cavitação; d) abrasão da superfície, quebra do tricoma e liberação do material solúvel no meio circundante

Fonte: (PETIGNY *et al.*, 2013)

Parâmetros como temperatura, escolha do solvente, pressão e gases dissolvidos no meio líquido influenciam na qualidade de extração. O solvente deve ser escolhido de acordo com a solubilidade das moléculas alvo que se deseja extrair, porém levando em consideração algumas características do solvente como viscosidade, tensão superficial e pressão de vapor,

pois essas características influenciam na cavitação do meio líquido. Por exemplo, solventes de alta viscosidade aumentam a resistência da amostra e do meio às ondas ultrassônicas do dispositivo. Por outro lado, o aumento da temperatura favorece a tensão superficial e a pressão de vapor e diminui a viscosidade do solvente, assim, facilitando a entrada de vapor de solvente e a geração de mais bolhas de cavitação. A presença de gases dissolvidos influencia diretamente na formação de bolhas de cavitação, pois atuam como núcleo de formação de novas bolhas de cavitação. O último parâmetro refere-se à matriz da amostra, mais especificamente ao seu pré-tratamento, se irá ser utilizado o material vegetal seco ou fresco ou triturado. O pré-tratamento da amostra vegetal influencia diretamente no rendimento e na eficiência da extração, mas depende também do objetivo e das moléculas alvo de interesse (CHEMAT *et al.*, 2017).

Diversas pesquisas reportam a extração assistida por ultrassom associada à avaliação de atividade antioxidante de produtos naturais isolados de fontes vegetais, tais como: fibra pressionada de palma, *Elaeis guineenses* Jacq, (DAL PRÁ *et al.*, 2017), casca de laranja, *Citrus sinensis*, (ALLAF *et al.*, 2013), frutos de *Zizyphus lotus*, (HAMMI *et al.*, 2015), diversas espécies de pimenta (*Capsicum sp*), (SRICHAROEN *et al.*, 2017), abacaxi, *Ananas comosus var. Perola*, (RODRÍGUEZ *et al.*, 2017), ariticum, (ARRUDA *et al.*, 2019), orégano, (SANTOS-ZEA *et al.*, 2018), baobá, *Adansonia digitata*, (ISMAIL *et al.*, 2020). São reportados também estudos envolvendo espécies do gênero *Garcinia* e extrações assistidas por ultrassom, principalmente envolvendo as espécies *G. indica* (BHARATE *et al.*, 2014; CARRILLO-HORMAZA *et al.*, 2020; NAYAK; RASTOGI, 2013) e *G. mangostana* (CHEOK *et al.*, 2013; MISHIMA *et al.*, 2015; ZHANG; XIAO, 2018).

Dada a importância e as vantagens da técnica de extração assistida por ultrassom, há na literatura diversos trabalhos envolvendo o rendimento das extrações por ultrassom bem como comparações com técnicas clássicas. Vários autores investigam e buscam otimizar os parâmetros de ultrassom como tempo de sonificação, amplitude, frequência e proporções dos solventes empregados. (ARRUDA *et al.*, 2019; CHEOK *et al.*, 2013; HIRANRANGSEE *et al.*, 2016). Diante do exposto, torna-se relevante comparar a eficiência desse método de extração com outras técnicas, principalmente para amostras pouco estudadas.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o potencial antioxidante e a composição química de diferentes extratos da polpa do fruto de *Garcinia cochinchinensis*.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter extratos da polpa do fruto *G. cochinchinensis*, utilizando-se diferentes solventes e sistemas de solventes para obtenção e separação de compostos de diferentes polaridades;
- Obter extratos da polpa do fruto *G. cochinchinensis*, utilizando-se da técnica de extração assistida por Ultrassom para obtenção e separação de compostos de diferentes polaridades;
- Obter óleo essencial do fruto *G. cochinchinensis* por hidrodestilação;
- Analisar a composição química dos extratos;
- Determinar a atividade antioxidante dos diferentes extratos e do óleo essencial por métodos *in vitro*.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 REAGENTES

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau PA, adquiridos de fornecedores como Vetec, Sigma-Aldrich e Merck. Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura.

Os padrões de ácido gálico e quercetina e o reagente Folin-Ciocalteu foram obtidos do fornecedor Sigma-Aldrich. Os solventes metanol, etanol, acetato de etila e clorofórmio foram obtidos dos fornecedores Vetec e Merck. As soluções de acetato de potássio, cloreto de alumínio, ácido gálico, carbonato de sódio, quercetina, ácido gálico e reagente Folin-Ciocalteu foram preparadas utilizando a devida e apropriada massa e volume de água ultrapura para dissolução, com exceção da quercetina que foi preparada utilizando como solvente metanol.

### 4.2 COLETA DO MATERIAL VEGETAL, PREPARO E OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

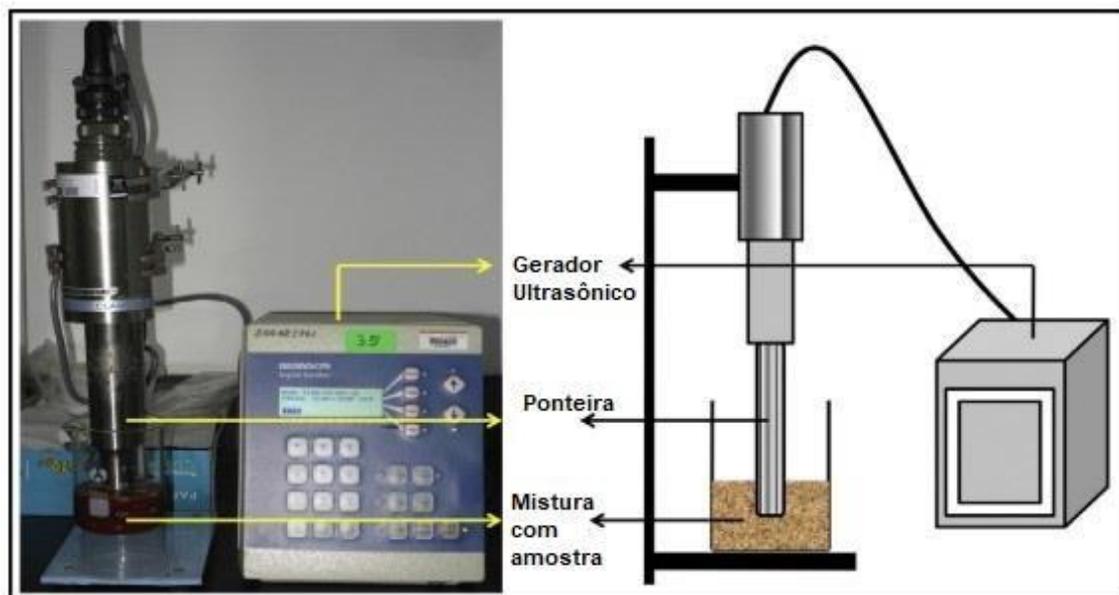
#### 4.2.1 Coleta e tratamento do material vegetal

Os frutos da *G. cochinchinensis* foram coletadas em março de 2020 no Campus Universidade Estadual de Londrina (UEL, -23,3146 S, -51,2144 W), em Londrina, Paraná. A exsicata desse vegetal está depositada no herbário da UEL, com registro FUEL 54604. Os frutos coletados foram selecionados de acordo com sua aparência saudável. Os frutos foram lavados, descascados e suas sementes foram removidas manualmente com auxílio de uma faca.

#### 4.2.2. Obtenção dos extratos por Extração Assistida por Ultrassom (EAU)

A amostra vegetal fatiada (700 g) foi submetida a extração assistida por ultrassom em um aparelho de ultrassom (sonificador da marca *Sonics & Materials Inc* modelo Vibra-Cell VC 505, 500 W, 20 kHz) com uma sonda acoplada a uma microponta cônica de titânio de 12 mm de diâmetro (Figura 9). Utilizou-se como sistema de solventes H<sub>2</sub>O/EtOH 1:1. A frequência de ondas sonoras selecionadas foi de 25 kHz e o tempo de duração foi de 1 h. Após a extração na ponteira, o extrato líquido foi submetido a filtração a vácuo para retirada fragmentos sólidos provenientes do fruto.

**Figura 9** Ponteira do aparelho de ultrassom utilizado



Fonte: adaptado de (CHEOK *et al.*, 2013).

Os extratos obtidos foram denominados:

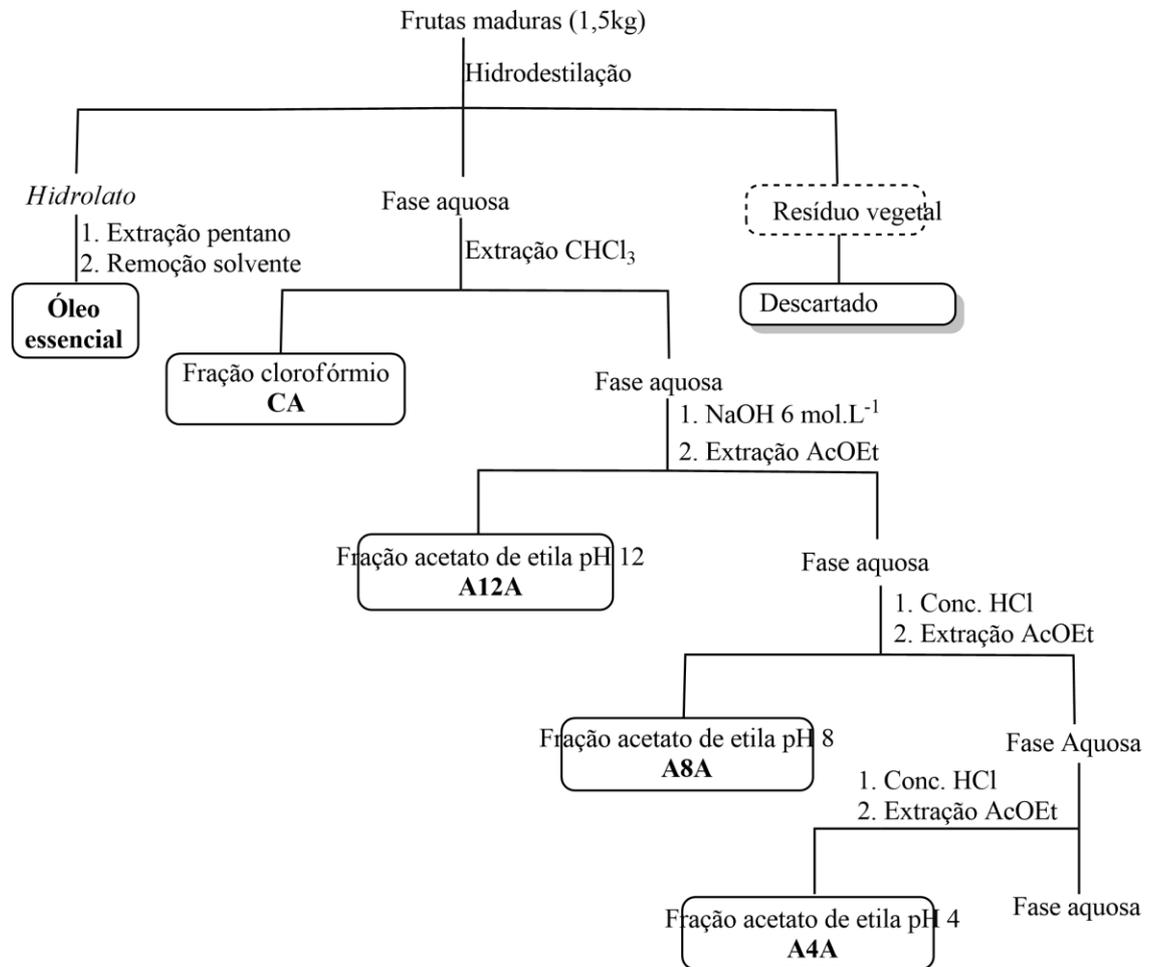
- Extrato obtido por extração assistida por ultrassom 1 (EU1),
- Extrato obtido por extração assistida por ultrassom 2 (EU2),
- Extrato obtido por extração assistida por ultrassom 3 (EU3).

#### 4.2.3. Obtenção dos extratos por extração com solventes e do óleo essencial

Para obtenção dos extratos, os frutos foram descascados manualmente com auxílio de uma faca e extraídas as sementes. Logo após, foram cortados em pequenos pedaços.

Para obtenção do óleo essencial e fracionamento 1 (F1), as frutas (1,5 kg) foram submetidas à hidrodestilação por aproximadamente 2,5 h. O extrato aquoso restante foi submetido a extração por solvente com clorofórmio (3 x 60 mL) (CA). Após a obtenção dos extratos com clorofórmio, prosseguiu-se alcalinizando a solução aquosa até pH 12, nas extrações A e B, e extraiu-se com acetato de etila (3x 70 mL), obtendo-se assim os extratos A12A e A12B. Prosseguiu-se do mesmo modo ajustando o pH para 8 e depois acidificando para 4.

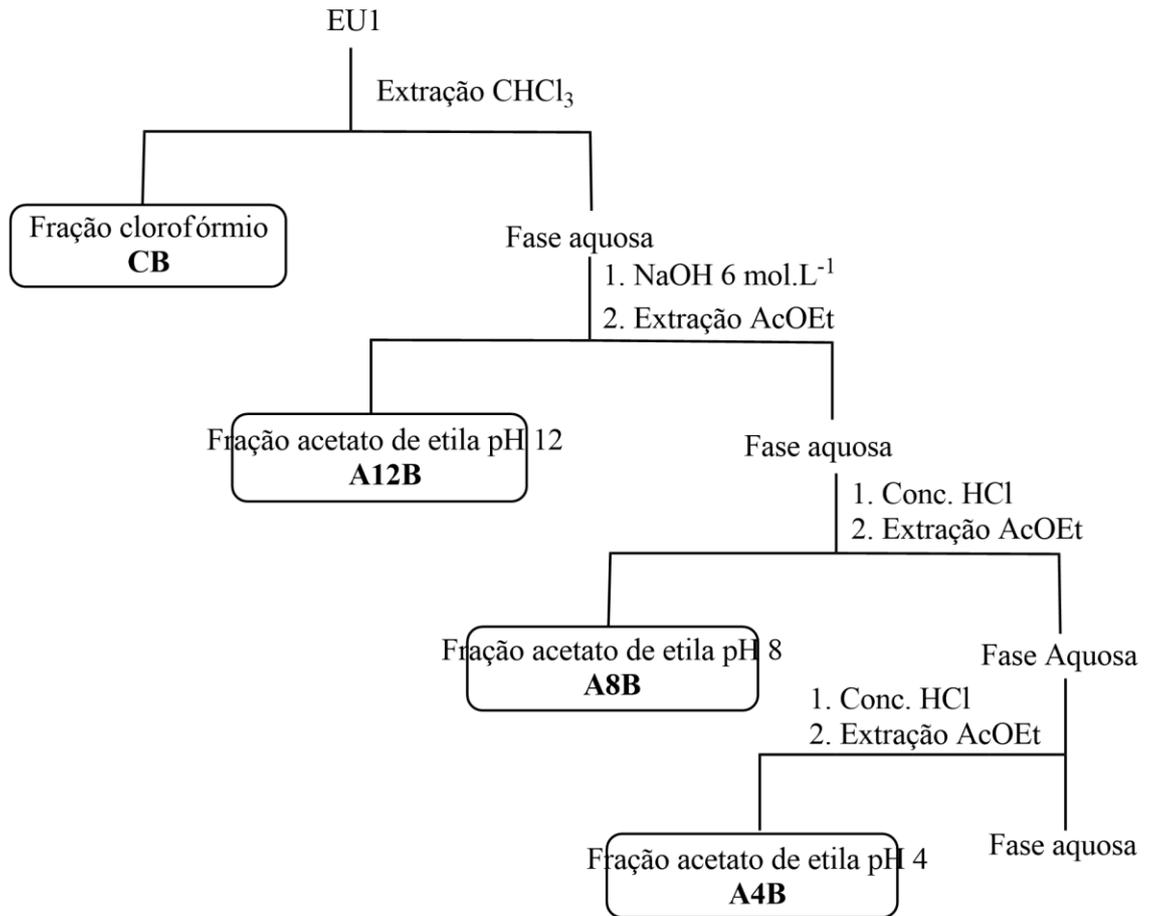
Após a obtenção do extrato com acetato de etila em pH 12 (A12A), extraiu-se mais uma vez com acetato de etila e metanol (70:30) obtendo-se o extrato AM12A. O fluxograma do fracionamento da extração se encontra na Figura 10 (p. 22).

**Figura 10** Fluxograma das etapas de extração do fracionamento 1 (F1)

Fonte: o autor.

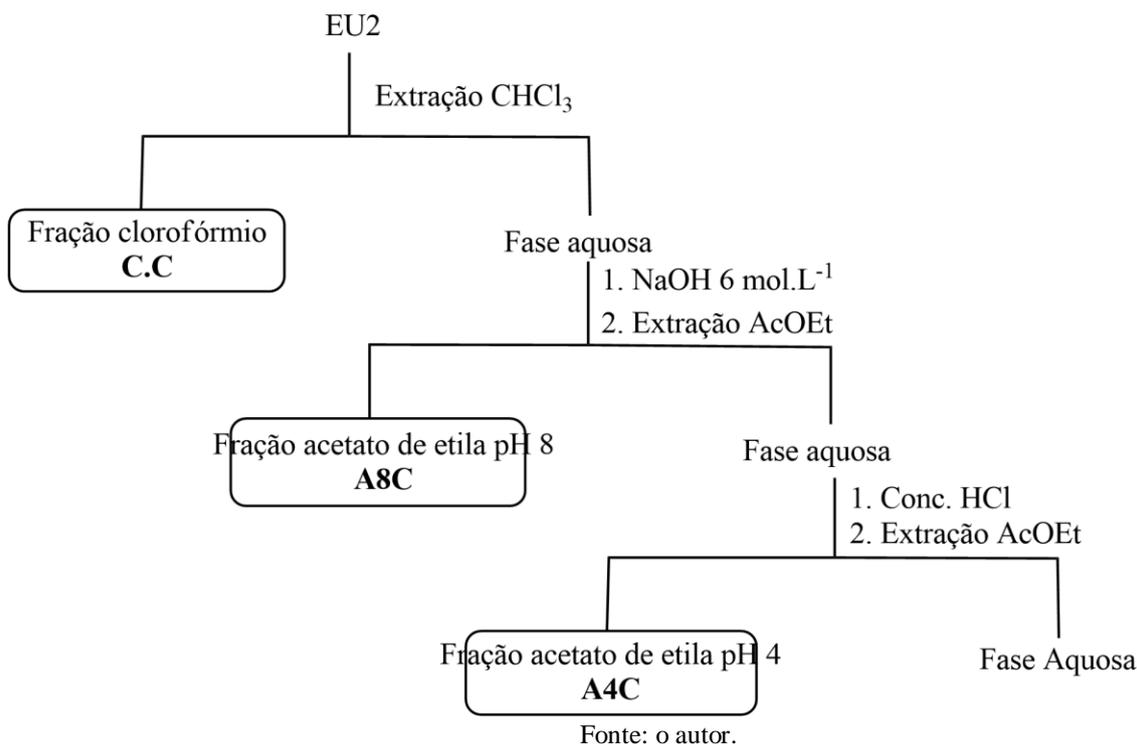
Os extratos obtidos por meio desse fracionamento foram identificados com a sigla A no final de seu nome. Para dar prosseguimento em mais extrações, os extratos obtidos por ultrassom EU1 e EU2 foram submetidos a extração fracionada por solvente de modo similar ao F1.

O EU1 foi novamente solubilizado no sistema de solvente água ultrapura e etanol (H<sub>2</sub>O:EtOH, 1:1) com 200 mL de volume. A partir dessa fase aquosa foi iniciada a extração com clorofórmio (3 X 60 mL) (CB). Ajustou-se o pH da fase aquosa para 12, em seguida realizou-se extração com acetato de etila (3 X 100 mL) (A12B). Repetiu-se a extração com o solvente acetato de etila, porém ajustando-se o pH para 8 e 4 (A8B e A4B). No fluxograma presente na Figura 11 (p.23) estão apresentadas as etapas realizadas nessa extração. Os extratos dessa etapa foram identificados com a sigla B no final de seu nome.

**Figura 11** Fluxograma das etapas de extrações líquido-líquido para o EU1

Fonte: o autor.

Realizou-se um novo procedimento de extração com o EU2 com modificações. Essa extração foi feita com acetato de etila em pH 8 e 4, após a extração com esse solvente e pH 8 e 4, extraiu-se novamente, porém utilizando-se acetato de etila e metanol (AcOEt/MeOH 70:30). Nesse fracionamento obtiveram-se os extratos C.C., A8C, AM8C, A4C e AM4C. O fluxograma que apresenta as etapas dessa extração estão presentes na Figura 12 (p. 24).

**Figura 12** Fluxograma das etapas de extrações líquido-líquido para o EU2

Ao final de todas as extrações, as fases orgânicas foram secas utilizando-se sulfato de sódio anidro,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtradas e depois concentradas em rotavaporador a aproximadamente  $50\text{ }^\circ\text{C}$ . As últimas fases aquosas de cada extração foram armazenadas para possíveis estudos posteriores bem como o EU3.

#### 4.3 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS DA *G. cochinchinensis*

O conteúdo de fenólicos totais foi realizado seguindo o protocolo proposto por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999), com modificações. Preparou-se uma curva de calibração com ácido gálico como padrão, a  $0,25\text{ mg/mL}$ . Os extratos foram diluídos em água ultrapura, sendo  $10\text{ mg}$  de extrato em  $1\text{ mL}$  de água ultrapura. Em uma placa ELISA de 96 poços, foram adicionados  $5\text{ }\mu\text{L}$  de extratos,  $125\text{ }\mu\text{L}$  de reagente Folin-Ciocalteu, 10% (v/v) e  $100\text{ }\mu\text{L}$  de solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% (m/V). Para a realização da curva, foi realizado o mesmo procedimento, porém adicionando-se ácido gálico, 1 a  $5\text{ }\mu\text{L}$ , no lugar da amostra. Logo após a adição de todos os reagentes, a placa foi incubada a  $45^\circ\text{C}$  por aproximadamente 15 min em estufa e foi realizada a leitura em um espectrofotômetro em  $765\text{ nm}$ . A partir dos valores de absorvância obtidos, foi calculado o conteúdo de fenólicos totais das amostras de

acordo com a curva de calibração, sendo o resultado expresso em mg de ácido gálico por grama de extrato. (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTO, 1999). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

#### 4.4 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FLAVONOIDES TOTAIS DOS EXTRATOS DA *G. cochinchinensis*

A determinação do conteúdo de flavonoides totais foi realizada conforme o protocolo de captura e complexação de alumínio elaborado por Kosalec e colaboradores (2004). Preparou-se uma curva de calibração com quercetina, 0,1 mg/mL. No preparo de reação das amostras, em uma placa de ELISA de 96 poços foram adicionados 5 µL de extrato. Depois, adicionaram-se 75 µL de metanol, 4µL solução aquosa de cloreto de alumínio, AlCl<sub>3</sub> 10% (m/v) e completou-se o volume com 112µL de água ultrapura. Para a curva de calibração, o procedimento foi realizado da mesma forma, porém substituindo as amostras por quercetina (0,1 mg/mL) variando a curva no volume de 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28 µL da solução de quercetina. No espectrofotômetro de placas, efetuou-se a leitura da placa em comprimento de onda de 415 nm. O conteúdo total de flavonoides foi calculado a partir da curva padrão de quercetina e os resultados foram expressos como mg de quercetina (QER) por g de extrato. As análises foram realizadas em triplicata.

#### 4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE *G. cochinchinensis* UTILIZANDO DPPH

Após a quantificação de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, os extratos foram avaliados em termos de atividade antioxidante pelo método de captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•). (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). O controle para construção da curva foi uma amostra padrão de ácido ascórbico seguindo as concentrações de 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 e 1,5625 ppm em uma placa ELISA, 96 cavidades. Prepararam-se soluções etanólicas das amostras nas concentrações de 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 e 1,5625 ppm. Na placa ELISA, adicionaram-se 20µL das amostras em diferentes concentrações, 80 µL de etanol e, por último, 100µL de solução etanólica de DPPH• (120µmol/L). Para o branco, foi adicionado 180µL de etanol e 20µL da amostra, sem adicionar o radical DPPH. Foi realizado também controle positivo adicionando em triplicata 100 µL de DPPH e 100 µL de etanol. Após a construção da curva e a adição das amostras e do

DPPH, a placa foi incubada por 30 min no escuro, até completar a reação. Em um espectrofotômetro foi realizada a leitura da placa em 518 nm.

O cálculo de porcentagem (Equação 1) de inibição do DPPH foi realizado com os valores de absorbância obtidos. Pode-se observar em que  $Abs_{amostra}$  são os valores correspondentes às concentrações variadas dos extratos,  $Abs_{controle}$  se refere à absorbância do controle contendo ácido ascórbico e  $Abs_{branco}$  se refere à mistura de etanol e amostra de extrato sem o radical. Com esses valores obtidos e a curva construída (porcentagem de inibição vs concentração) é possível calcular a concentração inibitória 50% (CI50), ou seja, a concentração necessária para inibir 50% da concentração de DPPH.

**Equação 1** Cálculo de porcentagem de inibição

$$I(\%) = 100 - \left[ \frac{(Abs_{Amostra} - Abs_{Branco}) \times 100}{Abs_{Controle}} \right]$$

Fonte: o autor.

#### 4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE *G. cochinchinensis* UTILIZANDO ABTS<sup>•+</sup>

A segunda avaliação foi realizada pelo método de captura do radical 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico), (ABTS<sup>•+</sup>), com modificações. (PELLEGRINI *et al.*, 1999). Primeiro, para construção da curva, em uma placa ELISA 96 poços foram adicionadas concentrações variadas de ácido ascórbico padrão, entre 1, 5, 10 e 100 µg/mL. O radical ABTS<sup>•+</sup> foi diluído em dimetilsulfóxido (DMSO). As amostras foram diluídas em etanol, sendo adicionados 20 µL dos extratos, nas concentrações entre 1 a 100µg/mL, adicionados tampão fosfato de sódio (0,05mol/L) e 100 µL de solução de ABTS (7mmol/L) diluída em tampão de fosfato de sódio (10 mmol/L). O branco foi preparado com uma mistura do tampão fosfato de sódio e solução aquosa dos extratos. Logo em seguida, a placa foi incubada no escuro, ausência de luz, por cerca de 30 minutos até o término da reação. Em um espectrofotômetro, foi realizada a leitura da placa em 734 nm. A porcentagem de inibição do radical ABTS<sup>•+</sup> foi calculada seguindo o mesmo procedimento do item anterior (4.5) a fim de calcular o CI50.

#### 4.7 CAPACIDADE QUELANTE DOS EXTRATOS DE *G. cochinchinensis*

A capacidade de quelar íons Fe (II) pelos extratos obtidos de *Garcinia cochinchinensis* foi avaliado pelo método proposto por Minotti e Aust (1987) adaptado por Akomolafe e colaboradores (2012). As amostras de extratos nas concentrações (500 µg/mL) foram adicionados em placas de ELISA, 96 poços, no volume de 150 µL. Depois, adicionaram-se 100 µL de sulfato de ferro II, FeSO<sub>4</sub>, 500 µmol L<sup>-1</sup>. As amostras foram então incubadas por 5 minutos. Após esse tempo, adicionaram-se 30 µL de 1,10-fenantrolina 0,25% m/v. Para o branco, foi realizado, simultaneamente, o mesmo procedimento, porém sem adição da solução aquosa de FeSO<sub>4</sub>. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 510 nm. As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em termos de porcentagem de íons ferro quelados (MINOTTI; AUST, 1987).

#### 4.8 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS PRESENTES DOS EXTRATOS AcOEt pH 12 F1 e AcOEt/MeOH pH 12 de *G. cochinchinensis* POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLADA AO ESPECTROMÊTRO DE MASSAS

Foi realizada análise qualitativa dos extratos AcOEt pH 12 F1 e AcOEt/MeOH pH 12 de *Garcinia cochinchinensis* por cromatografia a gás hifenada a espectrômetro de massas (CG-EM). O Cromatógrafo utilizado foi um CGMS2010 Plus (Shimadzu, Japão) é acoplado à um espectrômetro de massas em tandem do tipo triplo quadruplo TQ8040 e auto amostrador AC 5000, com coluna SH-Rtx-5MS (Shimadzu). A coluna empregada possui as seguintes dimensões 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. As condições de análise foram: temperatura do forno: 60 °C; temperatura do injetor: 180 °C; temperatura de interface: 240 °C; modo de injeção: splitless; modo de controle do fluxo: velocidade linear (36,5 cm/s); vazão: 4,0 mL/min; fluxo da coluna: 1,00 mL/min; fluxo de purga: 3,0 mL/min. Temperatura inicial da coluna foi de 60 °C até 240 °C, sendo essa variação de temperatura numa taxa de aquecimento de 4,0 °C/min. O intervalo de varredura das relações massa atômica e a carga (m/z) correspondente é de 29,00 a 400,00. Os resultados obtidos foram expressos em termos de tempo de retenção e proporção relativa (porcentagem de sua concentração) dos constituintes encontrados.

#### 4.9 AVALIAÇÃO DO PODER REDUTOR DOS EXTRATOS DE *G. cochinchinensis*

O poder redutor pelo método de poder antioxidante de redução de ferro, do inglês *ferric-reducing antioxidant power* (FRAP), foi avaliado pelo método modificado por Berker e colaboradores (2007). Foram aferidas 160,0 mg de sulfato férrico amoniacal dodecahidratado ( $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ). Dissolveu-se em 2 mL de ácido clorídrico (HCl 1 M). Adicionou-se 50 mL de água ultrapura e 180,2 mg de 1,10-fenantrolina. Completou-se o volume com água ultrapura no balão até 100 mL. A solução de concentração final foi de  $1,10 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . As duas soluções foram misturadas e diluídas com água ultrapura até o volume de 100 mL. Em uma placa ELISA de 96 poços foram adicionados 150  $\mu\text{L}$  das amostras diluídas na concentração de 500  $\mu\text{g/mL}$  e 150  $\mu\text{L}$  da solução complexo de 1,10-fenantrolina. Incubou-se no escuro por 30 min até finalizar a reação. As leituras da absorbância foram medidas em 510 nm contra o reagente branco. Para o branco, repetiu-se o procedimento, mas sem adição das amostras de extratos. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo.

#### 4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os valores obtidos foram apresentados como sendo a média e seu desvio padrão. Os dados foram tratados estatisticamente utilizando o programa GraphPad Prism 9.0.2.161, a fim de serem analisados por ANOVA, sendo a média dos grupos comparadas pelo teste de t-Student-Newman-Keuls com  $p < 0,05$  sendo considerado significativo para todos os casos. As correlações dos dados foram calculadas por meio da correlação de Pearson. Os resultados foram expressos como a média ( $n = 3$ ) e desvio padrão.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS PRESENTES DOS EXTRATOS A12A e AM12A de *G. cochinchinensis*

Os extratos A12A e AM12A foram analisados por CG-EM a fim de identificar os compostos presentes. Foram escolhidos esses extratos devido a volatilidade presente neles, tornando possível a caracterização, nos demais extratos não foi possível. As substâncias encontradas, o tempo de retenção e as proporções relativas estão descritas nas Tabelas 2 e 3. A identificação foi realizada biblioteca de dados do equipamento. Na Figura 13 estão apresentadas as estruturas moleculares dos compostos identificados.

**Tabela 3** Substâncias detectadas no extrato A12A por CG-EM

Nome	Tempo de retenção (min)	Concentração (%)
2,3-butanodiol	4,32	4,56
Carbonato de propila e (E)-but-2-enila	4,36	3,14
2-hidroxi-2-metilpropanoato de etila	4,79	3,54
3-furaldeído	4,97	3,09
Óxido de linalool	12,00	2,25
Álcool feniletílico	13,47	18,06
Mircenol	13,66	1,47
Ácido benzoico	15,10	2,66
$\alpha$ -terpineol	16,42	2,03

Fonte: o autor.

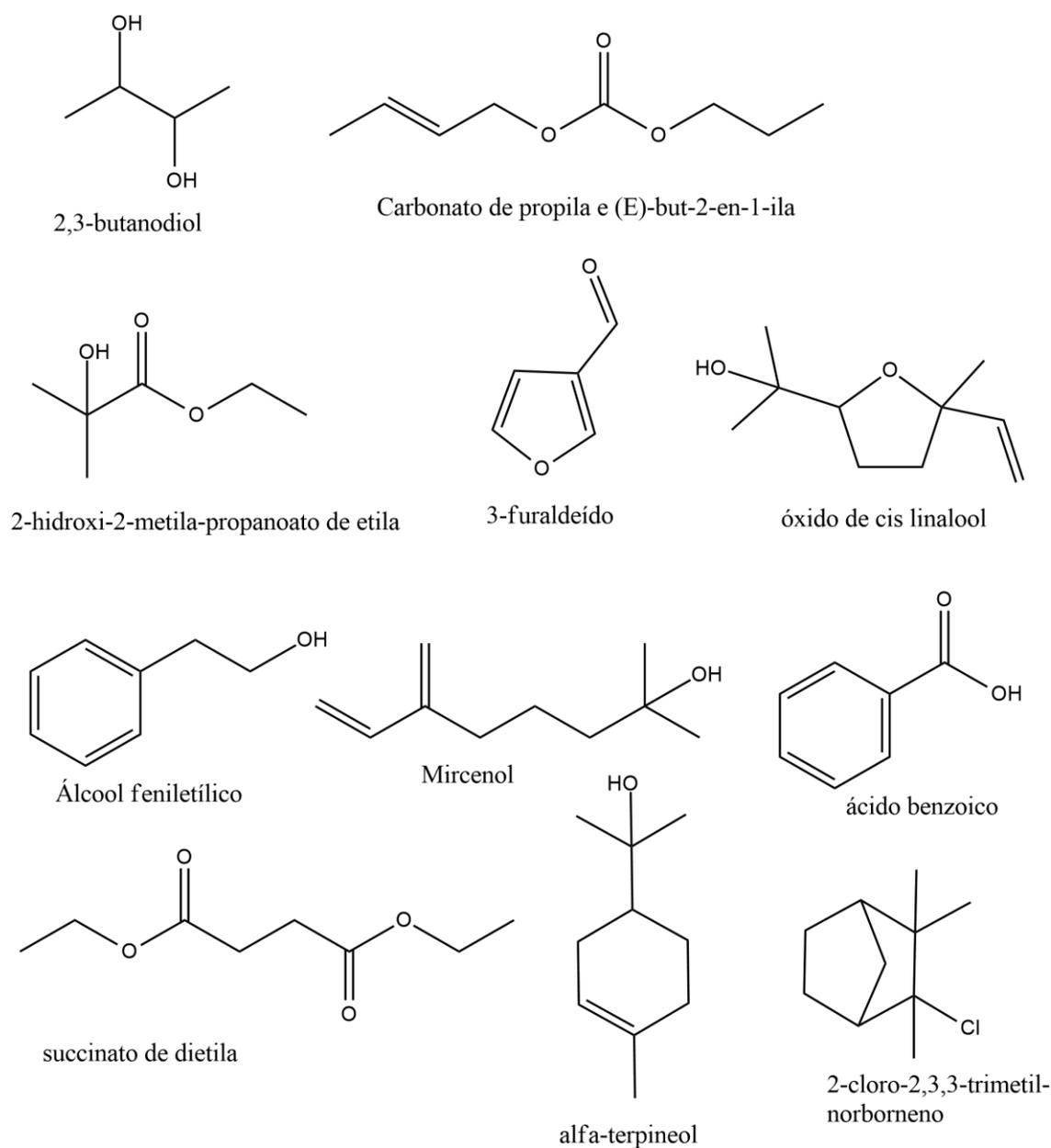
No extrato A12A, o componente majoritário foi álcool feniletílico (18,06%), seguido de 2,3-butanodiol (4,56%), 2-hidroxi-2-metilpropanoato de metila (3,54%), carbonato de propila e (E)-but-2-enila (3,14%), 3-furaldeído (3,09%) (Tabela 2).

**Tabela 4** Composição química do extrato AM12A por CG-EM

Nome	Tempo de retenção (min)	Concentração (%)
2-cloro-2,3,3-trimetil-norborneno	22,58	17,41

Fonte: o autor.

No extrato AM12A, o componente majoritário foi 2-cloro-2,3,3-trimetil-norborneno (17,41%) (Tabela 3).

**Figura 13** Estrutura dos constituintes presentes nos extratos A12A e AM12A

Fonte: o autor.

Felipe T. Martins e colaboradores (2008) identificaram, principalmente, a presença de sesquiterpenos no óleo essencial da fruta de *Garcinia brasiliensis*. Entre os compostos encontrados na *G. brasiliensis* por CG-EM. Os autores destacam  $\gamma$ -muuroleno (10,3%), espatulenol (8,7%),  $\delta$ -cadineno (8,3%), torreyol (8,0%),  $\alpha$ -cadinol (7,0%), cadaleno (6,3%) e  $\gamma$ -cadineno (5,3%). (MARTINS *et al.*, 2008). O óxido de linalool também é encontrado como um constituinte volátil entre outras espécies do gênero *Garcinia*, tais como a *G. atroviridis*. (TAN *et al.*, 2013). Por sua vez, o óleo essencial dessa espécie apresenta forte atividade antibacteriana. (TAN *et al.*, 2013). Hartati, Triyem e Cahyana (2010) extraíram o óleo essencial da casca seca do caule da *G. bancana*, onde identificaram copaeno, 4,7-metanoazuleno,  $\gamma$ -cadineno e óxido de cariofileno (HARTATI; TRIYEM; CAHYANA, 2010).

## 5.2 CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS DOS EXTRATOS OBTIDOS DE *G. cochinchinensis*

O conteúdo de compostos fenólicos totais e flavonoides dos extratos obtidos por ultrassom (EU1, EU2 e EU3) encontram-se na Tabela 4.

**Tabela 5** Conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides totais obtidos por EAU

Amostra	Fen. mg (Ac.g.) g <sup>-1</sup> *	Flav. Mg (QER) g <sup>-1</sup> *
EU1	700,54± 99,2a	5,1±1,02b
EU2	592,38± 105,7b	12,8±2,3a
EU3	747,02±112,8a	16,5±1,8a

Nota: \*Valores apresentados sendo a média e o  $\pm$  desvio padrão (n=3)

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente de acordo com o teste Student-Newman-Keuls (p<0,05)

Fonte: o autor.

A amostra EU2 se diferenciou estatisticamente na determinação de fenólicos e o EU1 se difere estatisticamente na determinação de flavonoides. Outro fator observado está na diferença dos valores obtidos por esse trabalho e os valores apresentados por Farinazzi e colaboradores (2017). Farinazzi-Machado e colaboradores (2017) realizaram a extração líquido-líquido, não sequencial, dos frutos da *G. cochinchinensis* e utilizaram o extrato em acetona para realização da determinação do conteúdo de fenólicos e flavonoides totais. (FARINAZZI-MACHADO *et al.*, 2017a). Os valores obtidos por Farinazzi-Machado e

colaboradores foram  $469,6 \pm 114,9$  mg ácido gálico  $100 \text{ g}^{-1}$  da fruta para compostos fenólicos totais,  $89,6 \pm 14,7$  mg de rutina  $100 \text{ g}^{-1}$  da e  $14,9 \pm 2,43$  mg de quercetina  $\text{g}^{-1}$  para flavonoides. A diferença nesse caso se deve à técnica empregada na extração, bem como à natureza do solvente utilizado. no trabalho de Farinazzi e colaboradores (2017) não há menção sobre a massa utilizada da fruta para a extração. Conseqüentemente, a comparação entre os valores obtidos dos teores fica inviabilizada.

O fenômeno acústico do ultrassom contribuiu para melhor extração dos compostos fenólicos e flavonoides. Cheek e colaboradores (2013) realizaram EAU a fim de otimizar a extração de antocianinas monoméricas totais e conteúdo de compostos fenólicos totais para a casca da espécie *G. mangostana*. Os autores utilizaram sonda de ultrassom e variaram a amplitude das ondas, o tempo de extração e solvente (etanol e metanol), mantendo a frequência em 20 kHz e 100 W de potência. Os maiores valores obtidos de compostos fenólicos totais foram nas condições de 80% de amplitude e 25 min de tempo de sonificação, sendo  $187,01 \pm 5,57$  mg de ácido gálico/g de pó da casca e  $245,78 \pm 9,86$  mg de ácido gálico/g de pó da casca, em metanol e etanol, respectivamente. Os autores avaliaram também quais dos dois solventes, metanol ou etanol, nas condições otimizadas de extração apresentariam melhores resultados de teores de fenólicos em etanol do que em metanol, sendo que nas extrações utilizando a sonda tiveram rendimento maior do que se utilizando o banho por ultrassom. A extração otimizada ( $245,78 \pm 9,86$  mg A.G./g) utilizando a sonda foi 8,75% maior do que o método clássico de agitação ( $223,8 \pm 8,4$  mg A.G./g). O uso de etanol, na proporção empregada, como solvente de extração está de acordo com o trabalho de Mohammad e colaboradores (2019) que realizaram um estudo comparativo de qual concentração de etanol extraía maiores quantidades de compostos fenólicos e que apresentam valores consideráveis de atividade antioxidante pela inibição do radical DPPH. Naquele estudo, as proporções de 60% e 80% de etanol exibiram teores maiores de compostos fenólicos que na proporção de 40% (MOHAMMAD *et al.*, 2019)

Naves e colaboradores (2019) realizaram ensaios de atividade antioxidante através da captura do radical DPPH, avaliação da citotoxicidade e quantificação de compostos fenólicos totais e flavonoides em extratos etanólicos e aquosos de folhas da espécie *G. brasiliensis*. Além das folhas, foram submetidas às mesmas avaliações as cascas e sementes do fruto. Os maiores valores foram observados dos extratos etanólico e aquoso da folha, sendo  $159,85 \pm 7,9$  e  $343,98 \pm 4,8$ mg de ácido gálico/g para fenólicos, respectivamente, e  $32,22 \pm 0,9$  e  $45,62 \pm 07$  mg de quercetina/g de extrato para flavonoides, respectivamente (NAVES *et al.*, 2019).

Melia e colaboradores (2019) avaliaram a atividade antioxidante do extrato etanólico do pericarpo da *G. mangostana*. O extrato foi obtido por maceração do pericarpo com etanol, buscando-se extrair antioxidantes como fenólicos e a classe de compostos característica do gênero, as xantonas. O teor de compostos fenólicos para esse extrato foi de 8,49 mg A.G./g do pericarpo. (MELIA *et al.*, 2019).

Arazo e colaboradores (2011) também utilizaram o etanol na extração de compostos antioxidantes da polpa e da pele da fruta da *G. tinctoria*. Os autores utilizaram 5 g da polpa e da pele e obtiveram 6,52±0,62 e 474,53±11,6 mg A.G./ 100 mL de extratos. (ARAZO *et al.*, 2011b)

Foram determinados o conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides totais dos fracionamentos F1(A), EU1 (B) e EU2 (C) presentes na Tabela 5.

**Tabela 6** Conteúdo de compostos fenólicos totais e flavonoides totais dos extratos de *G. cochinchinensis*.

Extratos	Compostos fenólicos totais (mg A.G. g <sup>-1</sup> )*	Flavonoides totais (mg QER g <sup>-1</sup> )*
CA	10,42±0,48 d	5,65 ± 1,47de
A12A	4,93±0,11f	14,18 ± 0,45a
A8A	25,3± 0,23b	10,11 ± 0,16bc
A4A	4,36±0,8 f	2,81 ± 0,74ef
CB	4,43±0,4 f	2,85 ± 0,78ef
A12B	4,79± 0,05f	2,86 ± 0,48ef
A8B	24,6±0,23 b	11,45 ± 0,19abc
A4B	20,23±0,08 bc	12,58 ± 0,84ab
C.C	18,03±0,09 bc	8,88 ± 0,17c
A8C	28,40± 0,28a	11,59 ± 0,13abc
AM8C	2,60±0,1 f	7,55 ± 0,1cd
A4C	8,52±0,03 f	8,47 ± 0,08cd

Nota: \*Valores apresentados como média ± desvio padrão (n=3)

Médias seguidas de letras diferentes (a-f) diferem estatisticamente na mesma coluna (Newman-Keuls a p > 0,05). Foi aplicado Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: o autor

Pode-se comparar o teor de fenólicos e flavonoides totais também pelo método de extração, não apenas pelos solventes empregados. Os solventes muito polares como a água e outros de baixa polaridade extraem baixa quantidade de compostos fenólicos e flavonoides. Solventes de solubilidade intermediária, como o acetato de etila, conseguem extrair mais facilmente em comparação aos anteriores. (SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2014). Nesse trabalho, utilizaram-se dois métodos de extração, sendo a extração líquido-líquido por fracionamento e a extração assistida por ultrassom seguida de fracionamento, sendo que na primeira utilizou-se 1,5 kg de massa da fruta e na segunda 700 g. Mesmo com essa diferença

entre massa, foi possível averiguar que, de forma geral, os conteúdos de fenólicos e flavonoides totais é igual entre os mesmos solventes, salvo exceções em que os extratos obtidos por ultrassom apresentaram conteúdos maiores de fenólicos e flavonoides. Exemplo disso são os extratos obtidos com acetato de etila em pH 8, em que nas extrações A e B são muito semelhantes, mas o A8C é maior ( $p > 0,005$ ). Os extratos A12A e A12B apresentaram quantidades próximas de conteúdo de fenólicos ( $p > 0,005$ ), no entanto a massa de fruta utilizada no ultrassom foi menor que na extração clássica, o que aponta a eficiência e rendimento da extração assistida por ultrassom. Por outro lado, ainda comparando esses dois extratos, observa-se que a quantidade de flavonoides é maior em A12A ( $14,18 \pm 0,45$  mg QER  $g^{-1}$ ) do que em A12B ( $2,86 \pm 0,48$  mg QER  $g^{-1}$ ), além disso a quantidade de flavonoides em A12A é maior do que a quantidade de fenólicos, isso pode ter ocorrido devido a erros no experimento no momento da extração ou pode ter ocorrido que outros grupos, não necessariamente sendo fenólicos, tenham quelado e capturado o alumínio.

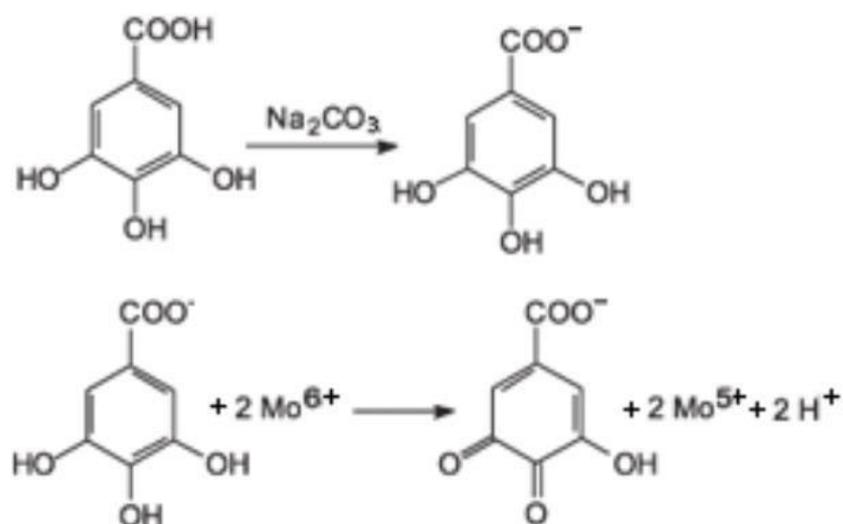
Os extratos obtidos em clorofórmio apresentam quantidades menores de fenólicos e flavonoides (Tabela 5) comparando-se com aqueles que foram obtidos com acetato de etila, no mesmo fracionamento ( $p > 0,005$ ).

A variação de pH também foi levada em consideração nesse trabalho quanto aos fracionamentos para melhor extração de compostos fenólicos e flavonoides, por consequência, e assim se obter valores mais expressivos de atividade antioxidante. O teor de compostos fenólicos totais e flavonoides aumentou nos extratos obtidos com acetato de etila em pH 8, nos três fracionamentos, pois o ajuste de pH 12 para 8, permite que a solução esteja levemente basificada ocasionando a formação de íons fenolato dos compostos fenólicos que possuem  $pK_a$  em torno de 4 a 4,5, proveniente de ressonância dos fenóis pela reação com íons hidróxido do meio básico, tendo ainda a solubilidade em acetato de etila os flavonoides de hidrogênios de acidez mais elevada que se mantêm intactos. Acima de pH 9,5 pode ocorrer a ionização de prótons mais ácidos, o que dificulta a extração, ocasionando que os íons fenolato sejam solubilizados na fase aquosa. Isso justifica o motivo de os compostos fenólicos não permanecem em alto teor nos extratos obtidos em pH 12 em comparação aos obtidos em pH 8, ( $p > 0,005$ ), pois o  $pK_a$  da solução da fase orgânica fica ajustado de modo que pela força iônica dos íons fenolato eles migrem com facilidade para a fase aquosa que será extraída com acetato de etila em pH 8. (NUNES; BESTEN, 2016). Outro fator que pode ter contribuído para o aumento do teor de compostos fenólicos e flavonoides em A12A se deve ao fato do processo de hidrodestilação prévio.

Por fim, destaca-se que os extratos que apresentaram maior teor de compostos fenólicos e flavonoides são os extratos A8A, A8B e A8C, ( $p > 0,005$ ). Portanto, esse seria o pH adequado para extração de tais compostos.

O método utilizado nesse trabalho para quantificação de compostos fenólicos totais foi reagente Folin-Ciocalteu. O método consiste na redução do reagente Folin-Ciocalteu pela espécie em questão, nesse caso compostos fenólicos, através de um meio alcalino. (SHAHIDI; ZHONG, 2015). A composição química do reagente é conhecida como um complexo dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico, os quais sofrem redução pela reação com o antioxidante fenólico, produzindo um cromóforo de cor azul, cuja absorção ocorre em 765 nm. O centro que contém molibdênio é aceito como o sítio de redução. Tomando como exemplo o ácido gálico, utilizado comumente como padrão nas pesquisas, o meio alcalino desprotona a carboxila do ácido gálico e o mesmo reage com o molibdênio no seu estado de oxidação máximo (VI),  $\text{Mo}^{6+}$ , reduzindo para  $\text{Mo}^{5+}$  através do elétron doado (Figura 14). Portanto, esse ensaio Folin-Ciocalteu é um método baseado na transferência de elétron se utilizou o ácido gálico como padrão referência. (SHAHIDI; ZHONG, 2015)

**Figura 14** Reação entre o ácido gálico e o molibdênio (Folin-Ciocalteu)

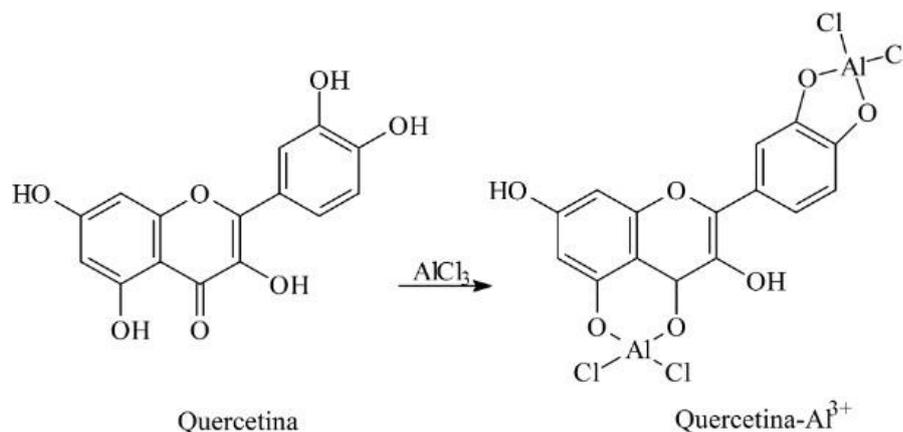


Fonte: DE OLIVEIRA *et al.*, 2009

O método empregado nesse trabalho para a determinação do conteúdo de flavonoides totais foi por meio da complexação do íon alumínio,  $\text{Al}^{3+}$ . O alumínio, após o término da reação, é complexado pelos flavonoides que estão presentes na amostra formando um complexo flavonoide- $\text{Al}^{3+}$  de coloração amarela intensa (Figura 15). A intensidade de cor

amarela produzida é diretamente proporcional ao teor de flavonoides presentes na amostra, cuja absorbância máxima está em 415 nm. (PEIXOTO SOBRINHO *et al.*, 2012)

**Figura 15** Reação do flavonoide quercetina com o cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ )



Fonte: PEIXOTO SOBRINHO *et al.*, 2012

### 5.3 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE QUELANTE DOS EXTRATOS DE *G. cochinchinensis*

A capacidade de quelar metais dos extratos da polpa da *G. cochinchinensis* foi avaliada pelo método da quelação de ferro. Os valores obtidos foram expressos em termos de porcentagem de ferro quelado e estão presentes na Tabela 6. De modo geral, a capacidade de quelação de metais é determinada pela medida do efeito quelante de antioxidantes para íons de ferro,  $\text{Fe}^{2+}$ . (SHAHIDI; ZHONG, 2015). Geralmente, a capacidade quelante de compostos antioxidantes pode ser medida tanto para quelar ferro (Fe) como cobre (Cu), e por sua vez, as espécies fenólicas e flavonoides são ambas capazes de quelar esses metais de transição. (MLADĚNKA *et al.*, 2010)

**Tabela 7** Valores de ferro quelado dos extratos de *G. cochinchinensis* (continua)

Extratos	Quelação de Ferro (%)*
CA	21,3 ± 4 d
A12A	81,7 ± 5ab
A8A	25,7 ± 8 d
A4A	65,7 ± 3abc
CB	42,7 ± 4cd
A12B	81,3 ± 2ab
A8B	89 ± 8 a
A4B	83 ± 12 ab
C.C	63,3± 3 abc

**Tabela 8** Valores de ferro quelado dos extratos de *G. cochinchinensis* (conclusão)

Extratos	Quelação de Ferro (%)*
A8C	90,6 ± ab
AM8C	91 ± 4 a
A4C	47,7 ± 3 cd

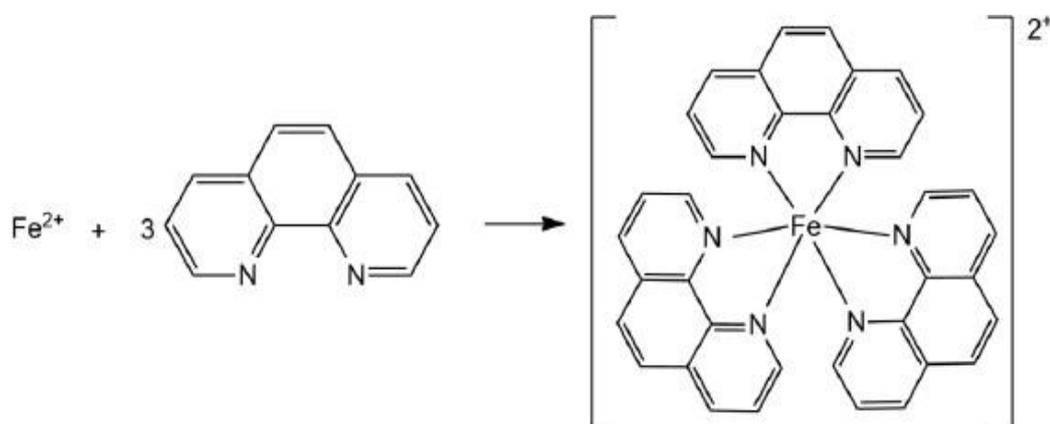
\*Valores apresentados como média ± desvio padrão (n=3)

Médias seguidas de letras diferentes (a-d) diferem estatisticamente na mesma coluna (Newman-Keuls a  $p > 0,05$ ). Foi aplicado Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: o autor

A capacidade quelante do ferro em termos de porcentagem de ferro quelado foi mais expressiva para os extratos AM8C (91%), A8C (90,6), A8B (89%), A4B (83%), A12B (81%) e AM12A (81%). A presença de compostos fenólicos e flavonoides nesses extratos confirma a capacidade quelante dos mesmos, já que essas espécies antioxidantes podem quelar o metal de transição e inibir ou retardar a participação dele na oxidação lipídica via reação de Fenton (HALLIWELL, 2006; SHAHIDI; ZHONG, 2015). A avaliação da atividade antioxidante é feita quando um complexo é formado entre o antioxidante e o metal.

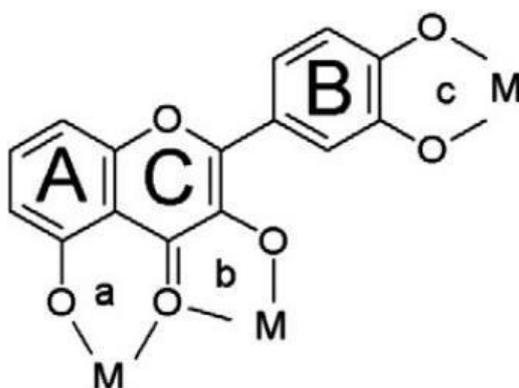
No presente trabalho, no entanto, foi utilizado o agente quelante 1,10-fenantrolina no lugar do EDTA para quelar o ferro em excesso que não foi quelado pelos compostos presentes nas amostras. Assim, a absorbância máxima foi medida em 510 nm que se lê para o complexo 1,10-fenantrolina-Fe (Figura 16), já que a perda da absorbância significa que foi formado, após a adição das amostras, um complexo metal-antioxidante e a capacidade de quelação do metal pôde ser quantificada espectrofotometricamente. Logo, o que se lê é o complexo 1,10-fenantrolina-Fe após a reação de quelação. Consequentemente, determinou-se a porcentagem de íons ferro,  $Fe^{2+}$ , quelados pelas amostras cujos resultados estão expressos na Tabela 6. (MINOTTI; AUST, 1987)

**Figura 16** Reação de quelação do ferro com a 1,10-fenantrolina

Fonte: o autor.

A quelação de metais de transição previne que eles participem de reações que gerem espécies oxidantes, como por exemplo, em reações de Fenton e Haber-Weiss. (KOHEN; NYSKA, 2002; MLADĚNKA *et al.*, 2010). Considerando a presença dos flavonoides nos extratos, a interação entre o flavonoide e o metal pode levar à formação de um quelato (Figura 17) que ocorre quando o metal é ligado à estrutura do flavonoide em três possíveis sítios: (a) entre a grupo 5-hidroxi e grupo 4-carbonila; (b) entre a 3-hidroxi e o grupo 4-carbonila; e (c) entre os grupos 3',4'-dihidróxi localizados no anel B. (MLADĚNKA *et al.*, 2010)

**Figura 17** Sítios de quelação mais comuns entre os metais de transição e os flavonoides



Fonte: MLADĚNKA *et al.*, 2010

*G. mangostana*, *G. atroviridis* e *G. hombroniana* foram avaliadas em termos de atividade antioxidante, como também sua capacidade de quelar ferro. (CHEW; LIM, 2018). Os autores realizaram extração etanólica convencional com as folhas, pericarpo e a polpa dessas espécies. Os resultados obtidos demonstraram que entre as folhas das espécies, a *G. hombroniana* (aproximadamente 60%) apresentou maior capacidade quelante de ferro que *G. mangostana* (33%) e *G. atroviridis* (29%). Entre os pericarpos avaliados, a de *G. mangostana* (78%) apresentou maior quelação que das outras duas (*G. hombroniana*, 45% e *G. atroviridis* 11%, respectivamente). Quanto às polpas, a de *G. hombroniana* apresentou maior capacidade quelante (30%) que das espécies *G. mangostana* (19%) e *G. atroviridis* (17%). No presente trabalho, porém, foram avaliados extratos fracionados, o que justifica a diferença entre os valores obtidos e os valores publicados por Chew e Lim (2018) que trabalharam somente com extrato etanólico numa extração líquido.

#### 5.4 DETERMINAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE *G. cochinchinensis* PELOS MÉTODOS DE DPPH E ABTS

Há várias formas de se representar a atividade antioxidante de um composto ou extrato. Pode-se realizar uma curva e representar por equivalente de um padrão conhecido. Para as atividades antioxidantes em questão, foi utilizada a representação de concentração inibitória 50 % (CI50), que se trata da concentração necessária para inibir 50 % dos radicais no experimento. Ou seja, quanto menor o valor de CI50, maior a atividade antioxidante do composto ou extrato analisado e avaliado, pois se trata de uma menor quantidade ou concentração necessária para se inibir o radical. A concentração expressa de atividade antioxidante de captura do radical DPPH e ABTS foi em ppm, tendo também sido realizadas análises simultâneas para o ácido ascórbico, utilizado como padrão de comparação. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Na Tabela 7 estão apresentados os valores de CI50 de todos os extratos da *Garcinia cochinchinensis*.

**Tabela 9** Valores de CI 50 dos extratos de *G. cochinchinensis*

Extratos	DPPH• CI50 (ppm)*	ABTS•+ CI50 (ppm)*
CA	86,70±11,04c	43,14±14c
A12A	364,7±91,3a	1843,77±268d
A8A	34,0±5,1c	40,08±8,6b
A4A	174,9±44,7ab	37,16±6,27c
CB	366,9±130,6ab	65,08±0,93c
A12B	774,3±285,5ab	14,44±0,85a
A8B	30,01±0,9c	15,14±1,25a
A4B	24,8±1,4c	33,02±17,81b
C.C	38,3±3,1c	51,35±8,1c
A8C	31,6±0,5c	19,27±2,45a
AM8C	43,4±4,1c	55,12±9,77c
A4C	26,6±2,9c	32,01±4,8b
AA (padrão)	12,46±1,7d	9,96±1,4 <sup>a</sup>

Nota: \*Valores apresentados como média ± desvio padrão (n=3)

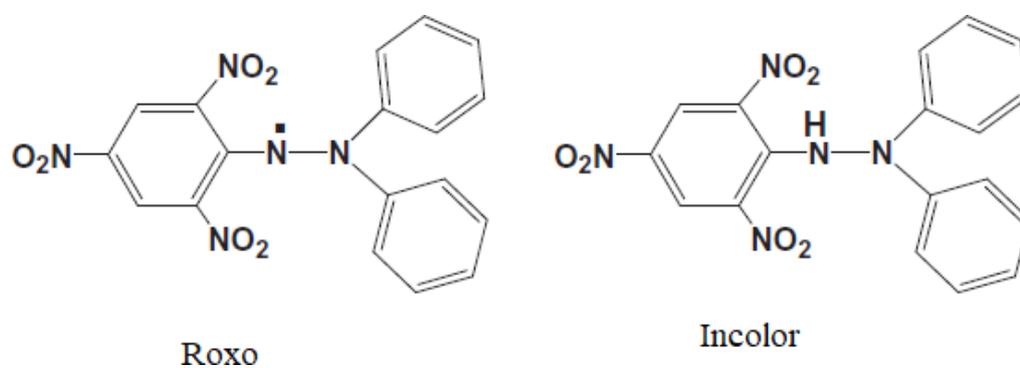
Médias seguidas de letras diferentes (a-b) diferem estatisticamente na mesma coluna (Newman-Keuls a p > 0,05). Foi aplicado Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: o autor

A partir dos dados de absorvância obtidos, foi possível calcular a CI50, ou seja, quantidade necessário em unidade de concentração para se inibir ou sequestrar o DPPH•. Entre os extratos avaliados, os extratos A8A (34,0 ± 5,1ppm), A8B (30,01 ± 0,9 ppm), A4B (24,8 ± 1,4 ppm), A8C (31,6 ± 0,5 ppm), AM8C (31,6 ± 0,5 ppm) e A4C (26,6 ± 2,9 ppm) apresentaram os melhores valores de inibição dos radicais estudados.

O ensaio de captura do radical DPPH está entre os ensaios mais empregados na avaliação da atividade antioxidante. Trata-se de um método baseado na transferência de elétrons (SET), sendo a transferência de átomos de hidrogênio um mecanismo de reação apenas uma via marginal no ensaio. (DE OLIVEIRA *et al.*, 2009; SHAHIDI; ZHONG, 2015). O DPPH é um radical estável de coloração roxa e solúvel em etanol, após reagir com antioxidantes, elétrons ou átomos de hidrogênio perde a cor roxa, tornando-se incolor ou cor levemente amarelada. O composto incolor formado também é chamado de 2,2-difenil-picril-hidrazila ou DPPH reduzido. (Figura 18). (SCHAICH; TIAN; XIE, 2015)

**Figura 18** Estrutura do radical DPPH e DPPH reduzido

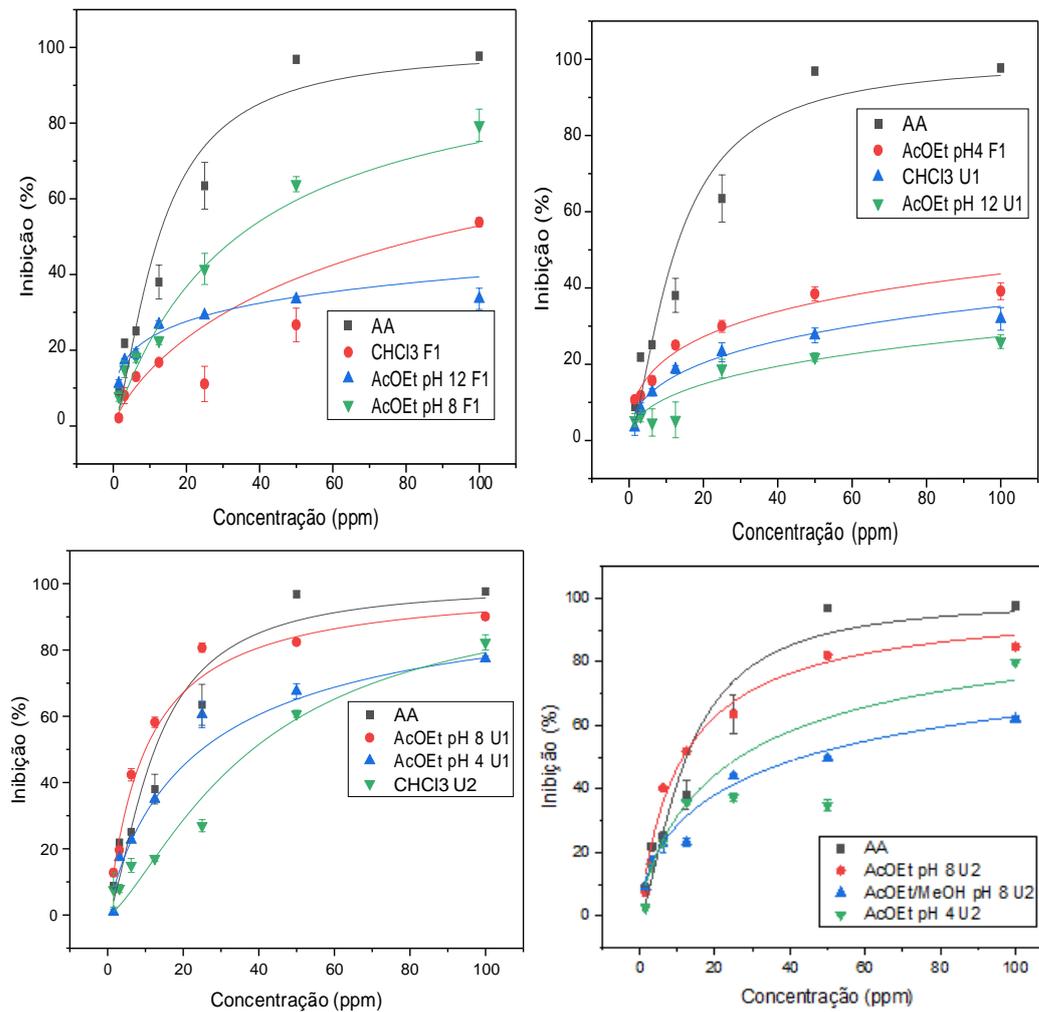


Fonte: adaptado de (SCHAICH; TIAN; XIE, 2015)

As reações do radical DPPH com antioxidantes fenólicos encontra-se abaixo:



Foram observados para os extratos CA, A12A, A4A, CB e A12B valores de CI50 maiores que 50 ppm, demonstrando baixa atividade antioxidante (Tabela 7) (Figura 22). Isso pode ter ocorrido devido ao baixo teor de compostos fenólicos e flavonoides nesses extratos, bem como a dificuldade de doação de átomos de hidrogênio ou transferência de elétrons dos compostos presentes nesses extratos. Na Figura 19 (p. 42) estão representados os gráficos das curvas de inibição dos extratos analisados no ensaio de captura do radical DPPH•.

**Figura 19** Curvas de inibição do radical DPPH dos extratos

Legenda: AA: ácido ascórbico; CHCl<sub>3</sub> F1: extrato clorofórmio fracionamento A; AcOEt pH 12 F1: extrato acetato de etila pH 12 fracionamento A; AcOEt pH 8 F1: extrato acetato de etila pH 8, fracionamento A; AcOEt pH 4 F1: extrato acetato de etila pH 4, fracionamento A; CHCl<sub>3</sub> U1: extrato clorofórmio fracionamento B; AcOEt pH 12 U1: extrato acetato de etila pH 12, fracionamento B; AcOEt pH 8 U1: extrato acetato de etila pH 8, fracionamento B; AcOEt pH 4 U1: extrato acetato de etila pH 4, fracionamento B; CHCl<sub>3</sub> U2: extrato clorofórmio fracionamento C; AcOEt pH 8 U2: extrato acetato de etila pH 8, fracionamento C; AcOEt/MeOH pH 8 U2: extrato acetato de etila/metanol pH 8, fracionamento C; AcOEt pH 4 U2: extrato acetato de etila pH 4, fracionamento C;

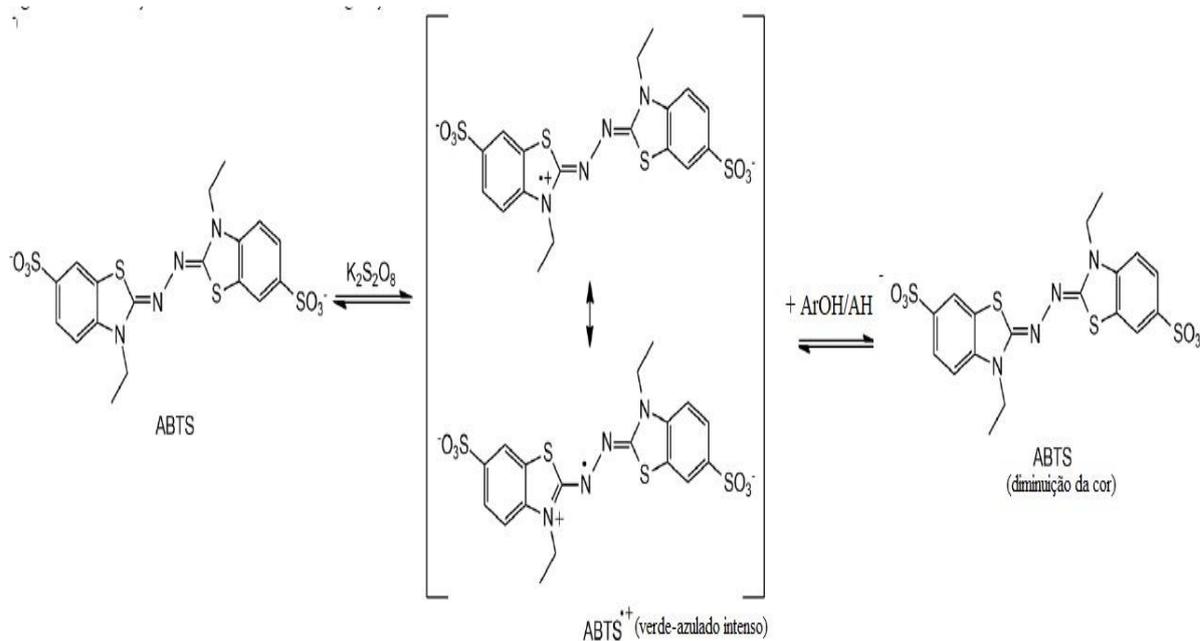
Fonte: o autor.

Farinazzi-Machado e colaboradores (2017) avaliaram a atividade antioxidante da *Garcinia cochinchinensis* da polpa do fruto e das folhas. Foi realizada a avaliação da atividade antioxidante por meio da captura do radical DPPH. Os valores obtidos foram 90,6% e 64,4% para o fruto e a folha, respectivamente. A diferença da presente pesquisa está na realização de outros métodos de extração (extração assistida por ultrassom e extração fracionada) e a realização de outros ensaios de atividade antioxidante como poder redutor, quelação do ferro e captura do radical ABTS•+.

Fu e colaboradores (2012) avaliaram a atividade antioxidante das folhas, raiz e o frutos de *G. xanthochymus*. Os autores realizaram extração fracionada com éter de petróleo, acetato de etila, n-butanol, de maneira semelhante à do presente trabalho. O extrato em acetato de etila das folhas exibiu valores ótimos de CI50 para os radicais DPPH e ABTS. Os valores de CI50 obtidos pelos autores com o extrato acetato de etila para o radical DPPH foram: para a folha ( $6,10 \pm 0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), raiz ( $16,82 \pm 0,11 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e fruto ( $16,74 \pm 0,14 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Entre os extratos obtidos do fruto a fração éter de petróleo ( $12,78 \pm 0,30 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) apresentou melhor valor de captura do radical DPPH, e quanto aos extratos obtidos do raiz, a fração obtida com n-butanol ( $11,54 \pm 0,42 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) apresentou melhor valor de CI50. Quanto ao ABTS, o extrato obtido com acetato de etila com melhor valor de CI50 ( $6,10 \pm 0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) para as folhas, sendo este melhor que o valor obtido para o antioxidante artificial BHT. (FU *et al.*, 2012).

O radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  é preparado a partir de ABTS não radicalar reagindo com forte agente oxidante, como o íon persulfato (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005; SCHAICH; TIAN; XIE, 2015). O  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  é um radical cátion de cor verde azulado com absorção máxima em 734 nm, o qual perde a intensidade de sua cor gradativamente quando reage com espécies antioxidantes. Na Figura 20 está representada abaixo apresenta a reação de formação do radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  sua reação com espécies antioxidantes (AH, Ar-OH) (SHAHIDI; ZHONG, 2015).

**Figura 20** Reação do ABTS com oxidante forte e reação do  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  com antioxidantes



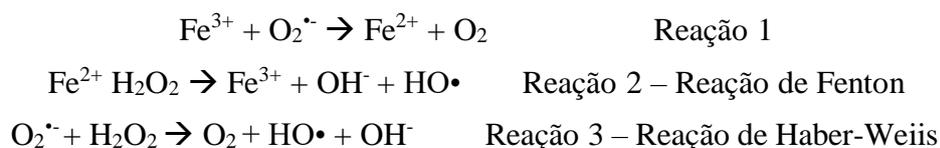
Fonte: adaptado de (SCHAICH; TIAN; XIE, 2015)

A atividade antioxidante de todos os extratos foi avaliada pelo método de captura do radical ABTS•+. Em alguns casos, o CI50 foi menor que aquele na captura do radical DPPH. Isso ocorreu devido a uma modificação na metodologia, o ABTS•+ foi solubilizado em DMSO, e após diversos outros testes e comparações com outros solventes, a atividade antioxidante obtida quando utilizado o solvente DMSO foi melhor que quando utilizada outros solventes para solubilizar o ABTS•+. Essa modificação está para ser publicada como nota técnica pelo grupo de pesquisa. Os extratos obtidos em clorofórmio apresentaram, CI50 próxima de 50 ppm. Os extratos obtidos com AcOEt pH 8, por sua vez, levaram a menores valores de CI50, ficando estes próximos ao CI50 do padrão AA, ( $p > 0,05$ ).

### 5.5 AVALIAÇÃO DO PODER REDUTOR DOS EXTRATOS DE *G. cochinchinensis*

O poder redutor de metais de transição, comumente avaliado pela redução do ferro, vem do nome em inglês *Ferric Reducing antioxidant Power (FRAP)* que significa poder antioxidante de redução de íons férrico. Por conveniência, nesse trabalho, adotou-se a sigla em inglês. O *FRAP* de extratos de amostras vegetais ocorre por meio das reações de transferência de elétron singleto (SET), já que esse é um método em que mede a capacidade do potencial antioxidante de transferir um elétron para reduzir qualquer composto, nesse caso o metal de transição ferro, assim como carbonilas e outros radicais oxidantes. (SCHAICH; TIAN; XIE, 2015; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

A necessidade de se investigar sobre a capacidade de redução de íons ferro está no seu envolvimento no processo oxidativo, aumento a concentração de EROs, por consequência, agravando o EO. O ferro participa da reação de Fenton, presente no corpo, (KOHEN; NYSKA, 2002), sendo a reação de Fenton um processo oxidativo avançado (POA), (FRIEDRICH *et al.*, 2017). Algumas EROs são moderadamente reativas como o superóxido,  $O_2^{\cdot-}$ , como a maior parte das moléculas biológicas. Porém, através da reação de Haber-Weiss catalisada pela reação de Fenton, são geradas outras EROs extremamente reativas (KEHRER; ROBERTSON; SMITH, 2010). O  $Fe^{3+}$  reage com o superóxido formando o  $Fe^{2+}$ , reação 1. Esse cátion reage rapidamente com peróxido de hidrogênio,  $H_2O_2$ , produzindo íons de ferro III, hidroxila radicalar e o íon hidroxila (reação 2), EROs extremamente nocivas ao corpo (HALLIWELL, 2006; PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015). A combinação das reações 1 e 2 resulta na reação de Haber-Weiss, reação 3, catalisada por ferro que acaba sendo possível ocorrer *in vivo* (KEHRER; ROBERTSON; SMITH, 2010; KOHEN; NYSKA, 2002; LIU *et al.*, 2001).



A importância de se avaliar *FRAP* está na redução do  $\text{Fe}^{3+}$  na reação 1, pois assim previne-se a formação de EROs. Enquanto que na quelação de ferro, os compostos antioxidantes presentes nos extratos quelam o íon  $\text{Fe}^{2+}$  na reação 2, também prevenindo a formação de EROs.

O método empregado na presente pesquisa difere do mais comumente encontrado na literatura, que se utiliza do reagente 2,4,6-Tris(2-piridil)-S-triazina (TPTZ) com cloreto de ferro (III) (BERKER *et al.*, 2007; DUDONNÉ *et al.*, 2009; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). Utilizou-se, ao invés do TPTZ com cloreto férrico, a 1,10-fenantrolina complexada com  $(\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O})$ , pois de acordo com Berker e colaboradores (2007), os métodos envolvendo os reagentes 1,10-fenantrolina, TPTZ e ferricianeto podem fornecer valores aceitáveis de absorbância máxima e que o método utilizando 1,10-fenantrolina pode ser uma alternativa viável, mais barata e com absorvidade molar melhorada sob as certas condições. (BERKER *et al.*, 2007)

O poder antioxidante das amostras foi avaliado sob as mesmas condições, tendo o ácido ascórbico (AA) como padrão positivo para construção da curva analítica, e todos os extratos estavam nas mesmas concentrações. A leitura da absorbância foi realizada em 510 nm. Os valores foram expressos em miligrama de ácido ascórbico por grama de extrato,  $\text{mg AA g}^{-1}$ . Os valores de *FRAP* obtidos nessa pesquisa para os extratos dos diferentes fracionamentos da polpa de *G. cochinchinensis* estão presentes na Tabela 8. Os maiores valores obtidos de ferro reduzido foram encontrados nos extratos obtidos com acetato de etila em pH 8 (A8A, A8B e A8C), que confere com os dados de atividade antioxidante obtidos em outros ensaios realizados nesse trabalho e são confirmados pela presença de fenólicos anteriormente mencionados

**Tabela 10** Valores de Capacidade de Redução do Ferro dos extratos de *G. cochinchinensis*

Extratos	FRAP (mg AA g <sup>-1</sup> )*
CA	2,97±0,02b
A12A	3,54±0,3b
A8A	47,26±0,2a
A4A	3,73±0,3b
CB	8,52±0,3b
A12B	7,71±0,3b
A8B	46,20±0,1b
A4B	5,93±0,3b
C.C	9,34±0,02b
A8C	50,3±0,7a
AM8C	4,42±0,01b
A4C	5,48±0,05b

Nota: \*Valores apresentados como média ± desvio padrão (n=3)

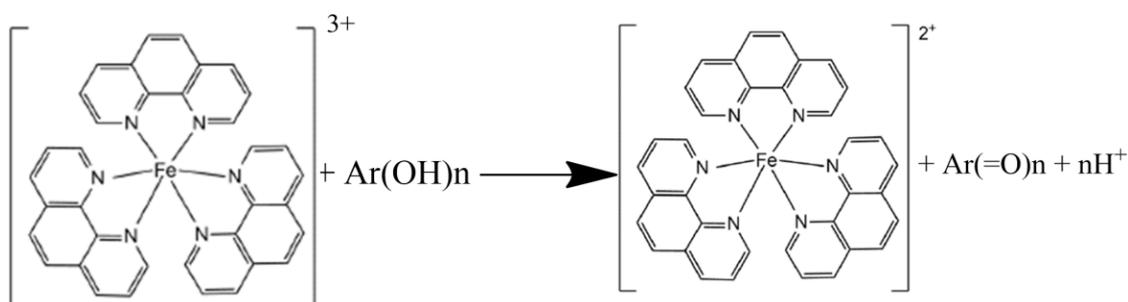
Médias seguidas de letras diferentes (a-b) diferem estatisticamente na mesma coluna (Newman-Keuls a  $p > 0,05$ ). Foi aplicado Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: o autor

Os compostos presentes no extrato A12A identificados por CG-EM, não são fenólicos e nem flavonoides, por isso apresenta baixo valor de *FRAP* 3,54±0,3 mg AA g<sup>-1</sup> comparado com os demais, ( $p > 0,05$ ). Dentre os compostos identificados, encontram-se álcoois, ésteres, terpenos e aldeídos. O mesmo ocorre com o extrato CA (2,97±0,02 mg AA g<sup>-1</sup>).

O método *FRAP*, utilizando-se da 1,10-fenantrolina, é baseado na habilidade dos antioxidantes presentes nos extratos em reduzirem o íon Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup> por doação de elétron na presença de 1,10-fenantrolina, formando o complexo 1,10-fenantrolina-Fe<sup>2+</sup>, com absorvância máxima em 510 nm (BERKER *et al.*, 2007). A reação redox que ocorre nesse experimento entre o complexo 1,10-fenantrolina-Fe<sup>3+</sup> e os compostos antioxidantes presentes podem ser representados pela Figura 21:

**Figura 21** Possível reação de *FRAP* entre complexo de Fe-1,10-fenantrolina e composto antioxidante



Fonte: o autor

onde a espécie oxidante é o  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ar}(\text{OH})$  é a espécie antioxidante e 1,10-fenantrolina- $\text{Fe}^{2+}$  é o complexo formado que apresenta coloração laranja e pode ser lido numa absorvância de 510 nm.

Arazo e colaboradores (2019) também avaliaram o poder redutor de suas amostras de *G. tinctoria* e obtiveram os seguintes valores de *FRAP*:  $474,53 \pm 11,60$  para a casca e  $6,54 \pm 0,62$  mg/100 mL para a polpa (ARAZO *et al.*, 2011). Diferente do presente trabalho, Virgolin e colaboradores (2017) investigaram a atividade antioxidante de extratos de frutos de *G. humilis* e *G. xanthochymus* utilizando acetona 70%. Entre as espécies pesquisadas, destaca-se achachairu (*G. humilis*) e mangostão amarelo (*G. xanthochymus*) e obtiveram os seguintes valores para *FRAP*:  $2995,88 \pm 3,23$  e  $489,39 \pm 0,48$   $\mu\text{mol trolox } 100 \text{ g}^{-1}$  da polpa, respectivamente. Os autores utilizaram trolox como padrão positivo e referência para montar a curva analítica. No entanto, os valores obtidos foram mais altos comparados ao do presente trabalho, pois os utilizaram-se 5 kg da polpa da fruta e não houve fracionamento em novas extrações. Outros padrões de concentração conhecida podem ser utilizados no lugar do trolox, como o ácido ascórbico. (BERKER *et al.*, 2007; SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2014; VIRGOLIN *et al.*, 2017). O extrato da pele dos frutos de *G. mangostana* exibiu *FRAP* ( $75,37 \pm 0,77$  mM trolox  $\text{g}^{-1}$ ) maior que de outras espécies. (SITI AZIMA; NORIHAM; MANSHOOR, 2017). Os valores de *FRAP* para polpa de frutos maduros ou verdes não demonstram diferenças significativas. De acordo com Ribani, Melo e Costa (2022), os extratos obtidos da polpa de *G. brasiliensis* tanto do estágio de maturação maduro ( $594 \pm 1,78$   $\mu\text{mol trolox/ } 100\text{g}$ ) como imaturo ( $683 \pm 1,69$   $\mu\text{mol trolox/ } 100\text{g}$ ) não apresentaram grande diferença entre si (RIBANI; MELO; COSTA, 2022). Isso confirma que o estágio de maturação não foi uma variável que pudesse afetar significativamente os valores obtidos.

A presente pesquisa está de acordo com o trabalho de Ramirez e colaboradores (2019), que investigaram o conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante de folhas, epicarpo e sementes dos frutos de *G. madruno*. Os autores utilizaram o ácido ascórbico como padrão equivalente para os experimentos de atividade antioxidante de *FRAP*. Os extratos em acetato de etila para as folhas e epicarpo exibiram maiores valores de *FRAP*, sendo  $21448 \pm 199$  mg AA  $\text{g}^{-1}$  para as folhas e  $2942 \pm 146$  mg AA  $\text{g}^{-1}$  para o epicarpo (RAMIREZ *et al.*, 2019):

## 6 CONCLUSÃO

Os solventes empregados na extração assistida por ultrassom, mistura de água ultrapura e etanol (70% v/v), foram eficientes na extração de compostos fenólicos e flavonoides da polpa do fruto de *Garcinia cochinchinensis*. Após o fracionamento de ambas as técnicas utilizadas, os extratos obtidos com acetato de etila em pH 8 exibiram maiores teores de compostos fenólicos e flavonoides. Portanto, nestas condições, esse seria o pH ideal para extrações destes compostos. Além disso, a extração com ultrassom forneceu a um melhor rendimento em relação à extração clássica fracionada.

Foram identificados álcool feniletílico, 2,3-butanodiol, 2-hidroxi-2-metilpropanoato de metila, 3-furaldeído carbonato de propila e (E)-but-2-enila, ácido benzoico, óxido de cis linalol, mircenol, alfa-terpineol, 2-hidroxi-2-metil-propanoato de etila e succinato de dietila nos extratos A12A e AM12A analisados por CG-EM. A presença de grupos hidroxila em 2,3-butanodiol, ácido benzoico, óxido de cis linalol, mircenol, alfa-terpineol e 2-hidroxi-2-metil-propanoato de etila justifica a propriedade antioxidante do extrato A12A.

Os diferentes extratos de *Garcinia cochinchinensis* obtidos via extração por ultrassom e pelo método de extração fracionada apresentaram atividade antioxidante nos métodos avaliados. Os extratos obtidos em acetato de etila pH 8, provenientes das duas técnicas, apresentaram valores expressivos de atividade antioxidante *in vitro* para os experimentos de captura dos radicais DDPH e ABTS, bem como na quelação de ferro e poder redutor, *FRAP*. Os outros extratos apresentaram moderada atividade antioxidante para esses testes, sendo que os extratos obtidos com clorofórmio e acetato de etila pH 12 foram menos ativos. Os extratos obtidos não foram capazes de inibir o hipoclorito, HOCl. Os resultados obtidos estimulam a continuação da investigação fitoquímica e do potencial biológico de *G. cochinchinensis*, o que pode agregar valor econômico à espécie e contribuir para o manejo sustentável da flora.

## REFERÊNCIAS

- AKOMOLAFE, S. F. *et al.* Inhibitory Effect of Aqueous Extract of *Moringa oleifera* and *Newbouldia laevis* Leaves on Ferrous Sulphate and Sodium Nitroprusside Induced Oxidative Stress in Rat's Testes in Vitro. **Open Journal of Medicinal Chemistry**, v. 02, n. 04, p. 119–128, 2012
- AIZAT, W. M.; AHMAD-HASHIM, F. H.; SYED JAAFAR, S. N. Valorization of mangosteen, “The Queen of Fruits,” and new advances in postharvest and in food and engineering applications: A review. **Journal of Advanced Research**, v. 20, p. 61–70, 2019.
- ALLAF, T. *et al.* Instant controlled pressure drop technology and ultrasound assisted extraction for sequential extraction of essential oil and antioxidants. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 239–246, 2013.
- AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant activity of essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 46, p. 10835–10847, 2013.
- APAK, R. *et al.* Antioxidant activity/capacity measurement. 3. Reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS) scavenging assays, oxidative stress biomarkers, and chromatographic/chemometric assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 5, p. 1046–1070, 2016.
- ARAÚJO, F. DE O. *et al.* Bacupari (*Garcinia brasiliensis*) extract modulates intestinal microbiota and reduces oxidative stress and inflammation in obese rats. **Food Research International**, v. 122, n. December 2018, p. 199–208, 2019.
- ARAZO, M. *et al.* **Antioxidant properties of pulp and peel of yellow mangosteen fruitsejfa.me**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://ejfa.info/517>>. Acesso em: 19 jun. 2020a.
- ARAZO, M. *et al.* Antioxidant properties of pulp and peel of yellow mangosteen fruits. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 23, n. 6, p. 517–524, 2011b.
- ARRUDA, H. S. *et al.* Effects of high-intensity ultrasound process parameters on the phenolic compounds recovery from araticum peel. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 50, n. August 2018, p. 82–95, 2019.
- ASHTON, M. M. *et al.* The therapeutic potential of mangosteen pericarp as an adjunctive therapy for bipolar disorder and schizophrenia. **Frontiers in Psychiatry**, v. 10, n. MAR, p. 1–17, 2019.
- ASSEMIAN, I. C. C. A. *et al.* *Garcinia mangostana* leaf extracts from ivory coast possess remarkable antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxicological properties. **Biomedical and Pharmacology Journal**, v. 12, n. 2, p. 571–578, 2019.
- BERKER, K. I. *et al.* Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. **Talanta**, v. 72, n. 3, p. 1157–1165, 2007.
- BHARATE, J. B. *et al.* Quantification of the polyisoprenylated benzophenones garcinol and

isogarcinol using multiple reaction monitoring LC/electrospray ionization-MS/MS analysis of ultrasound-assisted extracts of *Garcinia indica* fruits. **Journal of AOAC International**, v. 97, n. 5, p. 1317–1322, 2014.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

CARRILLO-HORMAZA, L. *et al.* High-intensity ultrasound-assisted extraction of *Garcinia madruno* biflavonoids: Mechanism, kinetics, and productivity. **Biochemical Engineering Journal**, v. 161, n. 52, p. 107676, 2020.

CASSIDY, L. *et al.* Oxidative stress in alzheimer's disease: A review on emergent natural polyphenolic therapeutics. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 49, n. November 2019, p. 102294, 2020.

CHE HASSAN, N. K. N.; TAHER, M.; SUSANTI, D. Phytochemical constituents and pharmacological properties of *Garcinia xanthochymus*- a review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 106, n. April, p. 1378–1389, 2018.

CHEMAT, F. *et al.* Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540–560, 2017.

CHEN, Y. *et al.* Prenylated xanthenes from the bark of *Garcinia xanthochymus* and their 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activities. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7438–7449, 2010.

CHEOK, C. Y. *et al.* Optimization of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) extractions from mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) hull using ultrasonic treatments. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 1–7, 2013.

CHEW, Y.-L.; LIM, Y.-Y. Evaluation and Comparison of Antioxidant Activity of Leaves, Pericarps and Pulps of Three *Garcinia* Species in Malaysia Yik-Ling Chew, and Yau-Yan Lim. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 8, n. 2, p. 130–134, 2018.

DA COSTA, M.; XIMENES, V. F.; DA FONSECA, L. M. Hypochlorous acid inhibition by acetoacetate: Implications on neutrophil functions. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 8, p. 1183–1187, 2004.

DAL PRÁ, V. *et al.* Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from palm pressed fiber with high antioxidant and photoprotective activities. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 36, p. 362–366, 2017.

DE CARVALHO, J. E. U. Mangostanzeiro: Botânica, propagação, cultivo e utilização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 148–155, 2014.

DE OLIVEIRA, A. C. *et al.* Vegetals as natural sources of antioxidants. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009.

DIAS, S.; SILVA, R. Perfumes: uma química inesquecível. **Química Nova na Escola**, v. 4, p. 3–6, 1996.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 9, p. 505–512, 2006.

DO SACRAMENTO, C. K. *et al.* Cultivo do mangostão no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 195–203, 2007.

DUDONNÉ, S. *et al.* Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1768–1774, 2009.

DUTRA, R. C. *et al.* Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4–29, 2016.

FARINAZZI-MACHADO, F. M. V. *et al.* Compostos fenólicos e atividade antioxidante in vitro dos frutos e folhas da *Garcinia cochinchinensis* CHOISY. **Revista Energia na Agricultura**, v. 32, n. 4, p. 8, 2017a.

FARINAZZI-MACHADO, F. M. V. *et al.* CAN GARCINIA COCHINCHINENSIS CHOISY AFFECT FOOD INTAKE AND BEHAVIOR IN EXPERIMENTAL MODELS? v. 6, n. 13, p. 108–120, 2017b.

FRIEDRICH, L. C. *et al.* Estudo mecanístico das reações fenton e cupro-fenton por análise voltamétrica in situ. **Química Nova**, v. 40, n. 7, p. 769–773, 2017.

FU, M. *et al.* Antioxidant activity of *Garcinia xanthochymus* leaf, root and fruit extracts in vitro. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 10, n. 2, p. 129–134, 2012.

GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. Mini-Review: Oxidative stress, redox stress or redox success? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 502, n. 2, p. 183–186, 2018.

HALLIWELL, B. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, n. June, p. 312–322, 2006.

HAMMI, K. M. *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 184, p. 80–89, 2015.

HARTATI, S.; TRIYEM, T.; CAHYANA, H. Antioxidant Activity of *Garcinia cf bancana* Miq. **Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention**, v. 1, n. 2, p. 85, 2010.

HIRANRANGSEE, L. *et al.* Extraction of anthocyanins from pericarp and lipids from seeds of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) by Ultrasound-assisted extraction (UAE) and evaluation of pericarp extract enriched functional ice-cream. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 10, p. 3806–3813, 2016.

HUANG, D.; BOXIN, O. U.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity

assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.

ISMAIL, B. B. *et al.* Ultrasound-assisted adsorption/desorption for the enrichment and purification of flavonoids from baobab (*Adansonia digitata*) fruit pulp. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 65, n. September 2019, p. 104980, 2020.

JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z.; AMINI-KHOEI, H. Medicinal plants: Past history and future perspective. **Journal of HerbMed Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 1–7, 2018.

KEHRER, J. P.; ROBERTSON, J. D.; SMITH, C. V. Free Radicals and Reactive Oxygen Species. **Comprehensive Toxicology: Second Edition**, v. 1–14, p. 277–307, 2010.

KOHEN, R.; NYSKA, A. Oxidation of biological systems. **Toxicologic Pathology**, v. 30, n. 6, p. 620–650, 2002.

LIU, X. L. *et al.* The protective effect of hepatocyte growth-promoting factor (pHGF) against hydrogen peroxide-induced acute lung injury in rats. **Medical Electron Microscopy**, v. 34, n. 2, p. 92–102, 2001.

MARTINS, F. T. *et al.* Composition, and anti-inflammatory and antioxidant activities of the volatile oil from the fruit peel of *Garcinia brasiliensis*. **Chemistry and Biodiversity**, v. 5, n. 2, p. 251–258, 2008.

MELIA, S. *et al.* The characteristics of the pericarp of *Garcinia mangostana* (mangosteen) extract as natural antioxidants in rendang. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 287, n. 1, 2019.

METCALFE, N. B.; ALONSO-ALVAREZ, C. Oxidative stress as a life-history constraint: The role of reactive oxygen species in shaping phenotypes from conception to death. **Functional Ecology**, v. 24, n. 5, p. 984–996, 2010.

MINOTTI, G.; AUST, S. D. An investigation into the mechanism of citrate-Fe<sup>2+</sup>-dependent lipid peroxidation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 3, n. 6, p. 379–387, 1987.

MISHIMA, K. *et al.* Liquid carbon dioxide extraction of xanthenes from the pericarps of *Garcinia mangostana* Linn. Enhanced by ultrasonic irradiation. **Solvent Extraction Research and Development**, v. 22, n. 2, p. 187–199, 2015.

MLADĚNKA, P. *et al.* Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 6, p. 963–975, 2010.

MOHAMMAD, N. A. *et al.* Optimization of the antioxidant-rich xanthone extract from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) pericarp via microwave-assisted extraction. **Heliyon**, v. 5, n. 10, p. e02571, 2019.

NAVES, V. M. L. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activity of *Garcinia brasiliensis* extracts. **South African Journal of Botany**, v. 124, p. 244–250, 2019.

NAYAK, C. A.; RASTOGI, N. K. Optimization of solid-liquid extraction of phytochemicals from *Garcinia indica* Choisy by response surface methodology. **Food Research**

**International**, v. 50, n. 2, p. 550–556, 2013.

NGUYEN, C. N. *et al.* Anti-diabetic xanthenes from the bark of *Garcinia xanthochymus*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 15, p. 3301–3304, 2017.

NGUYEN, H. D.; TRINH, B. T. D.; NGUYEN, L. H. D. Guttiferones Q-S, cytotoxic polyisoprenylated benzophenones from the pericarp of *Garcinia cochinchinensis*. **Phytochemistry Letters**, v. 4, n. 2, p. 129–133, 2011.

NUNES, D. S.; BESTEN, M. Análise Qualitativa de Metabólitos Secundários de Vegetais. In: **Análises Químicas, Propriedades Funcionais e Controle da Qualidade de Alimentos e Bebidas**. 1ª Ed. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. p. 537.

PALLADINO, P. *et al.* 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine As Multi-Colorimetric Indicator of Chlorine in Water in Line With Health Guideline Values. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 412, n. 28, p. 7861–7869, 2020.

PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S. *et al.* Total flavonoid content in products containing “pata-de-vaca” (*baubinia* L.) sold in pharmacies in Recife/PE. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 586–591, 2012.

PELLEGRINI, N. *et al.* Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6 sulfonic acid radical cation decolorization assay. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 379–389, 1999.

PETIGNY, L. *et al.* Batch and continuous ultrasound assisted extraction of boldo leaves (*Peumus boldus* Mol.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 3, p. 5750–5764, 2013.

PETROVSKA, B. B. Historical review of medicinal plants' usage. **Pharmacognosy Reviews**, v. 6, n. 11, p. 1–5, 2012.

PHANIENDRA, A.; JESTADI, D. B.; PERIYASAMY, L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 30, n. 1, p. 11–26, 2015.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55–74, 2015.

RAMIREZ, C. *et al.* Chemical constituents and antioxidant activity of *Garcinia madruno* (Kunth) Hammel. **Journal of King Saud University - Science**, v. 31, n. 4, p. 1283–1289, 2019.

RIBANI, R. H.; MELO, A. M. DE; COSTA, B. P. Identification of bioactive compounds , morphology , and nutritional composition of bacupari ( *Garcinia brasiliensis* ( Mart )) pulp powder in two stages of maturation – A short communication. v. 391, n. February, 2022.

RODRÍGUEZ, Ó. *et al.* Effect of acoustically assisted treatments on vitamins, antioxidant activity, organic acids and drying kinetics of pineapple. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 35, p. 92–102, 2017.

SALMAN, Z. *et al.* Antioxidant Nature Adds Further Therapeutic Value: An Updated Review on Natural Xanthenes and Their Glycosides. **Digital Chinese Medicine**, v. 2, n. 3, p. 166–192, 2019.

SANTA-CECÍLIA, F. V. *et al.* Estudo farmacobotânico das folhas de *Garcinia brasiliensis* Mart. (Clusiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 397–404, 2013.

SANTOS-ZEA, L. *et al.* Effect of ultrasound transducer design on the acoustically-assisted supercritical fluid extraction of antioxidants from oregano. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 47, n. February, p. 47–56, 2018.

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 111–125, 2015.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820–897, 2015.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757–781, 2015.

SINGLETON, V. D.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTO, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.

SITI AZIMA, A. M.; NORIHAM, A.; MANSHOOR, N. Phenolics, antioxidants and color properties of aqueous pigmented plant extracts: *Ardisia colorata* var. *elliptica*, *Clitoria ternatea*, *Garcinia mangostana* and *Syzygium cumini*. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 232–241, 2017.

SOLTANI FIROUZ, M.; FARAHMANDI, A.; HOSSEINPOUR, S. Recent advances in ultrasound application as a novel technique in analysis, processing and quality control of fruits, juices and dairy products industries: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 57, n. May, p. 73–88, 2019.

SRICHAROEN, P. *et al.* Phytochemicals in *Capsicum oleoresin* from different varieties of hot chilli peppers with their antidiabetic and antioxidant activities due to some phenolic compounds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 629–639, 2017.

SUTTIRAK, W.; MANURAKCHINAKORN, S. In vitro antioxidant properties of mangosteen peel extract. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 12, p. 3546–3558, 2014.

TAN, W. N. *et al.* Volatile constituents of the fruit of *Garcinia atroviridis* and their antibacterial and anti-inflammatory activities. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 28, n. 1, p. 2–9, 2013.

THONG, N. *et al.* Antioxidant properties of xanthenes extracted from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen): a theoretical study. **Elsevier**, [s.d.].

TJAHJANI, S. *et al.* Antioxidant Properties of *Garcinia Mangostana* L (Mangosteen) Rind. **Procedia Chemistry**, v. 13, n. 2009, p. 198–203, 2014.

TRINH, B. *et al.* Polyisoprenylated benzophenone and xanthone constituents of the bark of *Garcinia cochinchinensis*. **Phytochemistry Letters**, v. 6, p. 224–227, 2013.

VALKO, M. *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VASCONCELOS, S. M. L. *et al.* Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: Main analytical methods for their determination. **Quimica Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323–1338, 2007.

VIRGOLIN, L. *et al.* Composition, content of bioactive compounds, and antioxidant activity of fruit pulps from the Brazilian Amazon biome. **SciELO Brasil**, v. 52, n. 10, p. 933–941, 2017.

WATERMAN, P. G.; HUSSAIN, R. A. Systematic significance of xanthenes, benzophenones and biflavonoids in *Garcinia*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 11, n. 1, p. 21–28, 1983.

ZHANG, X.; XIAO, C. Biofabrication of silver nanoparticles and their combined effect with low intensity ultrasound for treatment of lung cancer. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 181, n. January, p. 122–126, 2018.

ZHENG, H. J. *et al.* The effect of probiotic and synbiotic supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in diabetic patients: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Pharmacological Research**, v. 142, n. February, p. 303–313, 2019.

ZHONG, F. *et al.* Xanthenes from the bark of *Garcinia xanthochymus* and their 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging activity. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 27, n. 1, p. 74–80, 2009.

ZHONG, F.; CHEN, Y.; YANG, G. Chemical Constituents from the Bark of *Garcinia xanthochymus* and Their 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Radical-Scavenging Activities, **Helvetica Chimica Acta**, v. 91, p. 1–9, 2008.