

Caracterização fitoquímica e atividade antioxidante de *Bellucia dichotoma* Cogn.

Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi¹  & Valdir da Costa Mendes^{1,2} 

- (1) Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Saúde e Biotecnologia, Coari 69460-000, Amazonas, Brasil. E-mail: klenicy@gmail.com
- (2) Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido, Avenida André Araújo 2.936, Petrópolis 69067-375, Manaus, Amazonas Brasil.
E-mail: mendesvaldir27@gmail.com

Yamaguchi K.K.L. & Mendes V.C. (2020) Caracterização fitoquímica e atividade antioxidante de *Bellucia dichotoma* Cogn. *Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza*, 4: e1517.
<http://dx.doi.org/10.29215/pecen.v4i0.1517>

Editora acadêmica: Letícia Carvalho Benitez. **Recebido:** 07 maio 2020. **Aceito:** 29 setembro 2020. **Publicado:** 06 outubro 2020.

Resumo: *Bellucia dichotoma* Cogn., conhecida como Goiaba-de-anta, é largamente utilizada na medicina popular como anti-oxidante. O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização química e avaliar a capacidade antioxidante de extratos do fruto dessa espécie. A metodologia consistiu no preparo dos extratos dos frutos em hexano e metanol por meio de técnicas de maceração. Foi realizado a prospecção fitoquímica qualitativa, caracterização Cromatográfica em Camada Delgada (CCD) e avaliação da atividade antioxidante qualitativa. A CCD utilizando como eluente, hexano e acetato de etila (7:3) para substâncias apolares, e clorofórmio e metanol (9:1) para polares, possibilitou a separação de substâncias reveladas com luz UV 254nm e 366nm e por vanilina sulfúrica, além de obter os valores dos Fatores de Retenção (RFs). Na análise da atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH, observou-se resultado positivo para o extrato em metanol. Por meio da prospecção fitoquímica no extrato polar, foram detectados metabólitos secundários como antocianidinas, chalconas, leucoantocianidinas e catequinas. Os resultados obtidos demonstram que o fruto apresenta potencial terapêutico e antioxidante estimulando pesquisas futuras para a quantificação dos constituintes químicos e do aprofundamento das análises biológicas.

Palavras chave: Goiaba-de-anta, frutos amazônicos, CCD.

Phytochemical characterization and antioxidant activity of *Bellucia dichotoman* Cogn.

Abstract: *Bellucia dichotoma* is popularly knowledge as Goiaba-de-anta and has been used by folk medicine as anti-oxidant pharm. This work aims to carry out the chemical characterization and to evaluate antioxidant capacity of crude extracts of this fruit. The methodology was realized using maceration techniques to extract. Phytochemical prospecting, thin layer chromatographic characterization (TLC) and qualitative antioxidant activity were performed. Thin Layer Chromatography using different elution solvents as eluent, hexane and ethyl acetate (7:3) for nonpolar substances, and chloroform and methanol (9: 1) for polar, allowed the separation of substances revealed with UV light 254nm and 366nm and by sulfuric vanillin and Retention Factors (RFs) were obtained. In antioxidant activity analysis with free radical DPPH, a positive result was observed for the extract in methanol. Through phytochemical prospecting, secondary metabolic agents such as anthocyanidins, chalcones, leucoanthocyanidins and catechins were detected. Results indicates that the fruit has great nutritional and therapeutic potential, stimulating future research for quantification of chemical constituents and a deeper understanding of biological activity.

Key words: Tapir guava, amazon fruit, TLC.

Introdução

A região Amazônica destaca-se pela quantidade de frutas nativas e exóticas consideradas ricas em substâncias bioativas comumente associadas a benefícios para a saúde (Barreto *et al.* 2009; Rabelo 2012). Entre essas frutas, tem-se a espécie *Bellucia dichotoma* Cogn., pertencente a família Melastomataceae Juss e conhecida popularmente na Amazônia como goiaba-de-anta, arará-de-anta e goiaba-de-anta-branca. É um fruto nativo da região Amazônica, com distribuição nos estados do Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia e Roraima (Cavalcante 1991).

Trata-se uma espécie neotropical e de ampla ocorrência na Amazônia, podendo ser encontrada em florestas de capoeiras, florestas de bordas, pastagens e margens de estradas e ramais. Os frutos são comestíveis e muitos abundantes, no entanto pouco utilizados pelas populações, sendo classificada como Planta Alimentícia não Convencional (PANC) (Kinupp & Lorenzi 2014). Por outro lado, são amplamente consumidos por animais silvestres, o que faz jus a nomenclatura popular. Além da anta, animais como macaco, jabuti, aves em geral, peixes e morcegos são os principais consumidores (Cavalcante 1996; Rabelo 2012).

Poucos estudos são reportados na literatura sobre esses frutos, sendo descrito principalmente seus dados botânicos como hábito de crescimento, inflorescência, entre outros, mas com escassos relatos sobre a composição química (Rabelo 2012). As espécies desse gênero têm sido comumente utilizadas na medicina popular como vermífugo, antileucorreica, tratamentos antiofídicos e de abscesso, enquanto a madeira é utilizada para construção civil, construção de móveis e produção de energia (Cruz & Kaplan 2004; Lima *et al.* 2011; Moura *et al.* 2015; Onofre *et al.* 2015; Azevedo *et al.* 2018).

Pesquisas relacionadas com produtos amazônicos estão sendo conduzidas com o intuito de investigar a sua composição química, valorizando-os e sugerindo alternativas de utilização para produtos fitoterápicos e alimentos nutracêuticos, possibilitando a geração e desenvolvimento de bioativos para a indústria (Sousa *et al.* 2011).

Uma das linhas dessa investigação está relacionada com a atividade antioxidante em função dos efeitos secundários provocados pela utilização de antioxidantes sintéticos, como problemas de toxicidade, carcinogênese, aumento de peso do fígado e significativa proliferação do retículo endoplasmático, buscando produtos que possam substituir os sintéticos ou fazer associação com eles (Sánchez-Moreno 1998; Lamarão *et al.* 2020).

No presente trabalho, realizaram-se análises dos extratos de *Bellucia dichotoma* visando a prospecção fitoquímica, caracterização da composição de metabolitos secundários e avaliação da atividade antioxidante qualitativa. Considerando a importância de substâncias bioativas em aplicações biotecnológicas para a saúde da população, o estudo fitoquímico aliado à avaliação antioxidante é útil para o aproveitamento em massa dessas matérias primas, com a perspectiva de uma melhor utilização das mesmas e agregação de valor ao fruto.

Material e Métodos

Obtenção dos frutos e extrato vegetal

As amostras foram obtidas comercialmente na feira municipal do município de Coari, Amazonas/Brasil. Após, os frutos foram submetidos ao processo de higienização e seleção, resultando em 10 frutos escolhidos pela ausência de microorganismos ou parte com algum dano físico. Em seguida, o material foi seco em estufa por 48h à 60 °C e realizada a moagem em liquidificador industrial.

O extrato foi produzido por maceração a frio sequencial (1:10 m/v), utilizando como solvente extrator hexano e, posteriormente, metanol. Após a filtragem da maceração, os extratos foram secos em capela de ar circulante durante 5 dias e realizado o cálculo do rendimento, reservando os extratos até as análises. Todo o procedimento foi realizado em triplicata.

Análise Cromatográfica em Camada Delgada

A análise cromatográfica do extrato foi avaliada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando placas cromatográficas de fase normal de gel de sílica para os extratos obtidos do fruto. Os eluentes foram preparados conforme a natureza da amostra, ou seja, polar (clorofórmio e metanol) ou apolar (hexano e acetato de etila) visando a melhor separação cromatográfica. Como reveladores, foram utilizados luz ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$ e 356 nm) e vanilina sulfúrica (Wagner & Bladt 1996).

Análise qualitativa da atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH

O ensaio de atividade antioxidante foi realizado por meio da estabilização do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). O método baseia-se na redução dos radicais através da doação de um átomo de hidrogênio do composto do extrato à molécula do radical (Souza *et al.* 2011). Para tanto, foram realizados em uma placa cromatográfica de fase normal de gel de sílica a aplicação do extrato vegetal, após isso, foi aplicado a solução de DPPH 0.3 mM. Esperou-se 30s e observou-se a coloração. O resultado positivo para atividade antioxidante se dava na observação de halos com coloração amarelada em contraste com a cor roxa (Sánchez-Moreno *et al.* 1998).

Caracterização fitoquímica

A detecção das classes dos constituintes foi realizada por meio de prospecção fitoquímica descrita por Marins *et al.* (2011), onde foi possível detectar a ausência ou a presença de metabolitos secundários no extrato obtido em etanol, que é um solvente com amplo espectro, ou seja, capaz de extrair substâncias de diferentes polaridades. Essas detecções foram realizadas usando testes com reagentes específicos para cada classe, a saber: saponinas, cumarinas, compostos fenólicos, antraquinonas, antocianidinas, chalconas, leucoantocianidinas e catequinas.

Para triterpenóides e esteróides utiliza-se 5 gotas de ácido sulfúrico e 5 gotas de clorofórmio. O aparecimento da cor azul-esverdeado indica a presença de esteroides e a presença de coloração vermelha, triterpenos. Na detecção de saponinas, a amostra vegetal em água destilada foi agitada vagarosamente por 10 min e o aparecimento de espuma persistente indica a presença de saponinas. Para a identificação de cumarinas, ao extrato foi adicionada uma gota de solução de KOH 10%. A cor azul, sob luz UV 365 nm, indica a presença de cumarinas.

Para a observação de compostos fenólicos, utiliza-se solução de FeCl_3 2%. O aparecimento de uma macha azul indica a presença de compostos fenólicos. Na análise de antraquinonas, utiliza-se NaOH 0.5 mol L^{-1} e o aparecimento da coloração vermelha indica a presença de antraquinonas. Quanto às análises de antocianidinas e chalconas, na metodologia utilizada, são preparados dois tubos de ensaio, aos quais são adicionados 1 mL do extrato. A amostra de um dos tubos foi acidificada com HCl 0.5 mol L^{-1} até atingir pH 3. O segundo tubo foi alcalinizado com NaOH 0.5 mol L^{-1} para pH 8. O aparecimento de coloração vermelha, lilás e azul púrpura indica a presença de antocianidinas ou chalconas, de acordo com a coloração. Para leucoantocianidinas e catequinas, a amostra foi acidificada com HCl até pH 3, em seguida aquecida em bico de Bunsen e o aparecimento de coloração vermelha indica a presença de leucoantocianidinas e a cor amarela a presença de catequinas. Na análise de flavononas são utilizados pedaços de magnésio metálico e uma gota de HCl concentrado. O aparecimento de coloração vermelha indica a presença de flavononas.

Resultados e Discussão

Os valores de rendimento do extrato vegetal são importantes para demonstrar o perfil/potência industrial que esses materiais irão ter quando for necessária sua utilização em larga escala. A maceração a frio funcionou como um eficiente método de extração por ser fácil, rápido, econômico e eficiente. O rendimento do extrato em hexano foi de $10.13\% \pm 0.81$ e, em metanol, $16.67\% \pm 1.52$.

Na análise cromatográfica, diferentes sistemas de eluição foram analisados para a separação dos extratos. Na extração feita com hexano, o melhor eluente foi a proporção 7:3

contendo 7 mL de hexano e 3 mL de acetato de etila, sendo testados as diferentes proporções, a saber, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6 e 3:7. Para o extrato com metanol, o melhor eluente foi 9:1, sendo 9 mL de clorofórmio e 1 mL de metanol, sendo testados as diferentes proporções, a saber, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6 e 3:7. Como o eluente é definido pela natureza de polaridade do material vegetal, analisou-se a separação das misturas para identificar o perfil do extrato com relação a polaridade.

As imagens na **Figura 1** indicam a separação das substâncias na placa cromatográfica com os extratos em hexano e metanol no revelador físico de luz ultravioleta à 254 nm e 356 nm e no revelador químico, vanilina sulfúrica, e seus Fatores de Retenção (RFs), respectivamente.

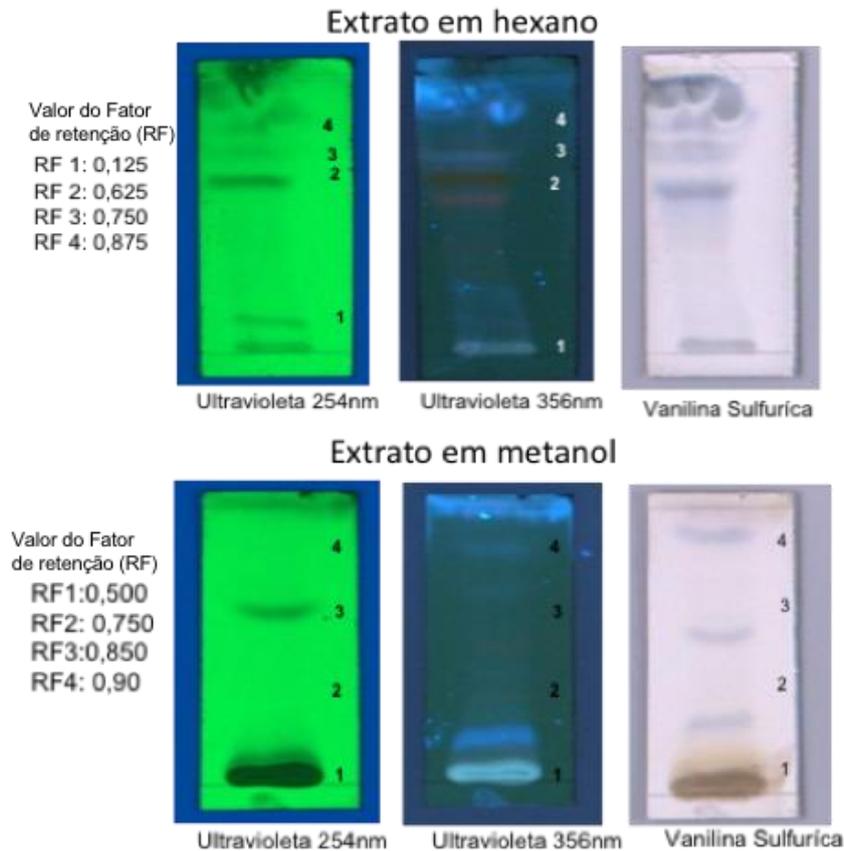


Figura 1. Caracterização cromatográfica do extrato em hexano e metanol de frutos de *Bellucia dichotoma* contendo o Fator de Retenção (RF) das substâncias utilizando como revelador físico UV 254 nm e 365 nm, e revelador químico vanilina sulfúrica.

O valor de RF é definido como a razão entre a distância percorrida pela banda do componente químico e a distância percorrida pelo eluente. Nas imagens, percebe-se a separação de diferentes bandas indicando substâncias com menor polaridade nos extratos em hexano e mais polares no extrato em metanol. Verifica-se, portanto, que a CCD funcionou como um eficiente método de separação, onde junto com os valores de RF podem servir como base para vários testes químicos de identificação das substâncias e análise de padrões.

Na continuação da caracterização química, avaliou-se a presença de diferentes classes de substâncias químicas importantes para a saúde humana, onde foram observados diferentes resultados para o fruto selecionado, indicados na **Tabela 1**.

Evidenciou-se a presença de substâncias fenólicas, antocianidinas, chalconas, leucoantocianidinas e catequinas no extrato polar. As substâncias fenólicas formam uma classe química composta por um anel aromático ligado a uma hidroxila. São correlacionadas a inúmeras atividades biológicas, como antioxidante, antiinflamatória e antimicrobiana e estão cada vez mais correlacionadas com a capacidade de diminuir os riscos para a saúde relacionados ao estresse oxidativo (Souza *et al.* 2011).

Tabela 1. Detecção das classes de substâncias testadas no extrato em etanol de *Bellucia dichotoma*. O sinal (+) indica presença da substância e o sinal (-) indica ausência.

| Classes de substâncias | Extrato |
|----------------------------------|---------|
| Saponinas | - |
| Cumarinas | - |
| Compostos fenólicos | + |
| Antraquinonas | - |
| Antocianidinas | + |
| Chalconas | + |
| Leucoantocianidinas e Catequinas | + |

As leucoantocianidinas detectadas favorecem o organismo humano por terem propriedades capazes de aumentar a tonicidade e resistência das paredes capilares, um mecanismo interessante para tratamento de diversas doenças que envolvem veias e artérias, contribuindo com a distribuição do fluxo microcirculatório no cérebro e do coração (Infinity Pharma 2012).

A presença de catequinas indica a possibilidade da ação direta desse metabólito relacionado a desordens patológicas ocasionadas pela ação dos radicais livres e pelo processo inflamatório, como antioxidante, quimioprotetora, anti-inflamatória e anticarcinogênica (Schmitz *et al.* 2005).

As chalconas possuem, em suas atividades farmacológicas, potencial antibacteriano, anti-inflamatório, inibidoras da tirosina fosfatase e propriedades antifúngicas (Boeck *et al.* 2005). Souza (2011), indica que as antraquinonas possuem atividades laxativas, hepatoprotetora e anti-inflamatória.

Os resultados detectados são corroborados os de Moura *et al* (2015) que ao estudarem a capacidade do extrato aquoso de *B. dichotoma* como antiofídico, também detectaram a presença de substâncias fenólicas e flavonoides, acrescentando a classe de taninos.

Na análise de varredura do radical foi possível detectar a presença ou ausência de capacidade antioxidante na amostra. A **Figura 2** apresenta a placa com a amostra vegetal e o resultado da análise, sendo possível observar resultado positivo para atividade antioxidante no extrato em metanol e negativo para o extrato em hexano.

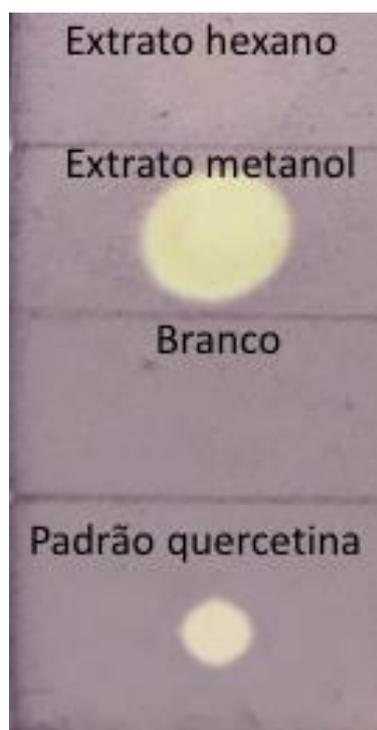


Figura 2. Avaliação antioxidante qualitativa do extrato de *Bellucia dichotoma*.

Sá (2008) cita que um produto natural, quando possui esse tipo de atividade farmacológica (antioxidante), forma um conjunto heterogêneo de substâncias compostas por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais e, ainda, enzimas, que bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres, formados nas reações metabólicas ou por fatores exógenos ao organismo, indicando assim um benefício ao se consumir o fruto.

Nas espécies do gênero *Bellucia*, *B. grossularioides* e *B. pentamera* foram detectados compostos de média polaridade, corroborando com os achados desta pesquisa. Em *B. pentamera*, foi identificado o esqualeno como substância majoritária (Isaza *et al.* 2007). No estudo fitoquímico do extrato aquoso de *Bellucia dichotoma*, realizado por Moura *et al.* (2013), foram detectadas as presenças de ácidos graxos, flavonóides, terpenos, taninos condensados e hidrolisáveis, além da capacidade deste extrato de atuar com antiofídico.

Estudos sobre a detecção e identificação de classes de substâncias bioativas têm incentivado a pesquisas de produtos naturais para a elaboração de produtos na área. Sabe-se que ainda há muito a ser pesquisado, mas os resultados preliminares incentivam a continuação da pesquisa com esse fruto.

Conclusões

Este trabalho mostrou que o extrato em metanol dos frutos de *Bellucia dichotoma* preparados por maceração apresentaram capacidade antioxidante e a presença de metabólitos bioativos como fenólicos, antocianidinas, chalconas e catequinas. O presente trabalho contribuiu com a elucidação de características desse fruto amazônico ainda pouco estudado, mas com grande potencial, abrindo assim, possibilidades e informações para novas pesquisas na identificação e quantificação dos achados descritos.

Referências

- Azevedo C.P., Souza C.R., Cordeiro Neto J. & Lima R.M.B. (2018) Potencial energético da goiaba-de-anta (*Bellucia dichotoma* Cogn.) em vegetação de sub-bosque em plantios comerciais de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H&B). Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental. 21 p.
- Barreto G.P.M., Benassi M.T. & Mercadante A.Z. (2009) Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(10): 1856–1861. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532009001000013>
- Boeck P., Leal P.C., Yunes R.A., Cechinel Filho V., Sortino S.L.M., Escalante A., Furlán R.L.E. & Zacchino S. (2005) Antifungal Activity and Studies on Mode of Action of Novel Xanthoxylone-Derived Chalcones. *Archiv der Pharmazie - Chemistry in Life Sciences*, 338: 87–95. <https://doi.org/10.1002/ardp.200400929>
- Cavalcante P.B. (1991) Frutas comestíveis da Amazônia. 3ª edição. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi Coleção Adolfo Ducke. 279 p.
- Cavalcante P.B. (1996) Frutas comestíveis da Amazônia. 6ª edição. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi. 220 p.
- Cruz A.V.M. & Kaplan M.A.C. (2004) Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. *Revista Floresta Ambiente*, 11(1): 47–52.
- Infinity Pharma (2012) Leucoantocianidinas. Potente protetor contra danos vasculares. Disponível em: http://infinitypharma.com.br/uploads/insumos/pdf/1/Leucoantocianidina_2.pdf (acesso em: 07/08/2019).
- Isaza M., Hipólito J., Orozco L.M., Rivera D.A., Tapias L.J., Ramírez A., Stella L., Veloza C., Angela L. & Zuleta L.M. (2007) Perfis cromatográficos preliminares por GC-MS de algumas espécies de plantas melastomatáceas. *Scientia et Technica*, 13(33): 359–362.
- Kinupp V.F. & Lorenzi H. (2014) Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 768 p.

- Lamarão C.V., Gomes M.L.S., Martins G.A.S., Rolim C.S.S., Yamaguchi K.K.L., Saraiva-Bonato E.C., Silva C.C. & Veiga Júnior V.F. (2020) Antioxidantes inorgânicos em frutos amazônicos. *Brazilian Journal of Development*, 6(3): 12237–12253. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n3-184>
- Lima P.G.C., Coelho-Ferreira M. & Oliveira R. (2011) Medicinal plants on public fairs and markets of sustainable forest district of BR-163, state of Pará, Brazil. *Acta Botanica Brasileira*, 25(2): 422–434. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062011000200018>
- Marins A.K., Vieira D.F., Quadros I.P.S., Pinheiro P.F., Queiroz V.T. & Costa A.V. (2011) Prospecção fitoquímica das partes aéreas da erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides* L.). XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica/XI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação/V Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Jr. São José dos Campos, São Paulo.
- Moura V.M., Mourão R.H.V. & Dos-Santos M.C. (2015) Acidentes offídicos na Região Norte do Brasil e o uso de espécies vegetais como tratamento alternativo e complementar à soroterapia. *Science Amazon*, 4(1): 73–84. <https://doi.org/10.19178/Sci.Amazon.v4i1.73-84>
- Moura V.M., Sousa L.A.F., Oliveira R.B., Silva A.M.M., Chalkidis H.M., Silva M.N., Pacheco S. & Moura R.H.V. (2013) Inhibition of the principal enzymatic and biological effects of the crude venom of *Bothrops atrox* by plant extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7: 2330–2337. <https://doi.org/10.5897/JMPR2013.5148>
- Onofre S.B., Santos Z.M.Q., Kagimura F.Y. & Matiello S.P. (2015) Antifungal activity of the aqueous extract of *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl. (Verbenaceae) on oral candida species. *Journal Medicine Plant Research*. 9(2): 42–47. <https://doi.org/10.5897/JMPR2014.5667>
- Rabelo A. (2012) Frutos nativos da Amazônia: comercialização nas feiras de Manaus-AM. Belém: INPA. 235 p.
- Sá A.P.C.S. (2008) Potencial antioxidante e aspectos químicos e físicos das frações comestíveis (polpa e cascas) e sementes de Jamelão (*Syzygiumcumini*, L. Skeels). Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.
- Sánchez-Moreno C., Larrauri J.A. & Saura-Calixto F. (1998) A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2): 270–276. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199802\)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9)
- Schmitz W., Saito Y., Estevão D. & Saridakis O.H. (2005) Chá verde como quimioprotetor. *Ciências Biológicas e da Saúde*, 26(2): 119–130. <https://doi.org/10.5433/1679-0367.2005v26n2p119>
- Sousa M.S.B., Vieira L.M., Silva M.J.M. & Lima A. (2011) Caracterização nutricional de compostos antioxidantes em resíduos de polpas tropicais. *Ciências e agrotecnologia*, 35(3): 554–559. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000300017>
- Souza G. (2011) Fatores de Qualidade de frutos. *Coletânea Institucional de Tecnologia de Alimentos*, 21(1): 20–27.
- Wagner H. & Bladt S. (1996) Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. Berlin: Springer. 384 p.