



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA**



LETÍCIA PONTES LEITE

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E
FRAÇÕES DA FOLHA DE *MANGIFERA INDICA***

**OURO PRETO
2023**

LETÍCIA PONTES LEITE

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E
FRAÇÕES DA FOLHA DE *MANGIFERA INDICA***

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto. Como parte das exigências para obtenção do título de Farmacêutica.

**OURO PRETO
2023**

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

L533a Leite, Leticia Pontes.

Avaliação da função antioxidante do extrato etanólico bruto e frações da folha de Mangifera indica. [manuscrito] / Leticia Pontes Leite. - 2023. 35 f.

Orientador: Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos.

Coorientadora: Ma. Luciana Miranda Silva.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Antioxidantes. 2. Compostos fenólicos. 3. Mangifera. I. dos Santos, Orlando David Henrique. II. Silva, Luciana Miranda. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 615.3



FOLHA DE APROVAÇÃO

Letícia Pontes Leite

Avaliação da função antioxidante do extrato etanólico bruto e frações da folha de *Mangifera indica*

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de farmacêutica

Aprovada em 08 de agosto de 2023

Membros da banca

Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos - Orientador(a) Universidade Federal de Ouro Preto
Prof. Dr. Wander de Jesus Jeremias - Universidade Federal de Ouro Preto
MSc. Lucas Resende Dutra Sousa - Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 15/08/2023



Documento assinado eletronicamente por **Orlando David Henrique dos Santos, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 15/08/2023, às 11:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0573776** e o código CRC **A0EBFDCE**.

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais Cizaneide e José da Guia, cujo empenho em me educar sempre veio em primeiro lugar. Aqui estão os resultados dos seus esforços. Com muita gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado saúde e força para superar todos os obstáculos, e pelos seus planos para minha vida, pois sempre foram maiores que meus próprios sonhos.

Aos meus pais José da Guia e Cizaneide, pelo amor inexplicável, incentivo e apoio nas horas difíceis de desânimo e cansaço.

Ao meu esposo Talysson, pelo apoio incondicional, por estar ao meu lado em inúmeros momentos de ansiedade e estresse, por todos os conselhos, por toda a contribuição neste trabalho e pela presença em minha vida.

Aos meus padrinhos, Manoel e Maria Auxiliadora, pela presença e apoio incondicional.

Ao meu irmão Raí, por todo os ensinamentos e por estar ao meu lado em todos os momentos.

A minha querida Tia Gracineide (in memoriam) que sempre me apoiou nos meus sonhos e projetos.

As minhas amigas Giovanna e Rafaela, grandes companheiras de jornada, pelo excepcional apoio e incentivo que me deram durante a faculdade.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos, pelo apoio de sempre, incentivo e dedicação. É com muita admiração e carinho que agradeço por tudo que você fez por mim.

A minha coorientadora MSc. Luciana Miranda Silva, pelo compartilhamento de seu conhecimento e tempo.

Por fim, ao laboratório de Fitotecnologia e às instituições UFOP e EFAR.

RESUMO

Os antioxidantes são compostos associados a prevenção de diversas doenças, pois possuem a capacidade de evitar danos oxidativos por meio da eliminação dos radicais livres. Desse modo, a busca por antioxidantes naturais encontrados em plantas está aumentando ao longo dos anos. Os compostos fenólicos encontrados nas folhas de *Mangifera indica* como a mangiferina, apresentam uma potente atividade antioxidante capaz de reduzir os riscos de doenças relacionadas ao envelhecimento como doenças inflamatórias crônicas, doenças neurológicas, doenças cardiovasculares, diabetes e câncer. Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antioxidante do extrato etanólico bruto (EEB) e suas frações hexânica (FH), aquosa (FAQ) e butanólica (FB), de modo a averiguar qual amostra apresenta melhor atividade antioxidante. Na avaliação antioxidante *in vitro* pelo método *in vitro* da atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), a FB, FH e EEB apresentaram atividade antioxidante importantes, com valores de Cl_{50} de 5,60, 9,06 e 9,91 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Desse modo, a *Mangifera indica* é uma planta que possui potencial de aplicação em diversos produtos farmacológicos, o extrato das folhas e suas frações apresentaram uma boa atividade antioxidante, pois, neutralizaram o radical DPPH. A FB apresentou-se mais vantajosa pelo ótimo valor de Cl_{50} comparada com as outras amostras.

Palavras- chave: antioxidantes; compostos fenólicos; *Mangifera indica*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mangueira (<i>Mangifera indica</i>).....	13
Figura 2 : Estrutura da mangiferina.....	15
Figura 3: Estabilização de um composto fenólico por ressonância.....	16
Figura 4: Etapas do processo de extração e fracionamento.....	19
Figura 5: Curva da atividade antioxidante DPPH do padrão AG ET.....	24
Figura 6: Curva da atividade antioxidante DPPH do padrão AG MET.....	24
Figura 7: Curva da atividade antioxidante DPPH do EEB.....	25
Figura 8: Curva da atividade antioxidante de DPPH da FB.	25
Figura 9: Curva da atividade antioxidante DPPH da FH.....	26
Figura 10: Curva da atividade antioxidante DPPH da FAQ.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentração das amostras.....	20
Tabela 2: CI_{50} da atividade antioxidante pelo radical DPPH das amostras ácido gálico, extrato etanólico bruto, fração hexânica, fração aquosa e fração butanólica.	27
Tabela 3: Diferença significativa avaliada para as amostras analisadas em relação às diferentes amostras.....	28

LISTA DE ABREVIações

- ± – mais ou menos
- µg – micrograma
- µL – microlitro
- mg – miligrama
- mL – mililitro
- g – grama
- Abs – absorvância
- nm – nanometro
- v/v – volume-volume
- °GL – graus Gay-Lussac
- °C – graus Celsius
- EEB – extrato etanólico bruto
- FH – Fração Hexânica
- FAQ – Fração Aquosa
- FB – Fração Butanólica
- DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
- Cl₅₀ – Concentração inibitória de 50%
- AG ET – Ácido Gálico em Etanol
- AG MET – Ácido Gálico em Metanol

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
2.1. Objetivos Gerais.....	12
2.2. Objetivos específicos	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3.1. <i>A Mangifera indica</i>	13
3.2. Propriedades.....	14
3.3. Antioxidantes.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1. Coleta da matéria-prima.....	18
4.2. Obtenção do extrato etanólico bruto	18
4.3. Fracionamento do extrato etanólico bruto	18
4.4. Avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i>	20
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6.1. Rendimento.....	23
6.2. Curvas obtidas pelo método DPPH.....	23
6.3. Discussão.....	27
7. CONCLUSÃO	31
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

A *Mangifera indica*, conhecida popularmente como mangueira é uma planta que possui uma grande riqueza fitoquímica e por isso é amplamente utilizada no âmbito medicinal (COELHO *et al.* 2021). Todas as suas partes, folhas, fruto e cascas possuem variadas atividades farmacológicas, em especial a atividade antioxidante associada a presença de compostos fenólicos (SANTOS, 2013). Na medicina popular, as folhas da mangueira têm sido muito utilizadas devido as suas propriedades antineoplásicas, antiinflamatórias, imunomoduladoras, analgésicas e antioxidantes (MOHAN *et al.* 2013).

A *Mangifera indica* é uma angiosperma pertencente à família *Acanthaceae* e é comumente cultivada em regiões subtropicais e tropicais (GARCIA, ORLANDA, 2014). Sua origem é asiática, originária da Índia, e os portugueses a inseriram no Brasil no século XVI (ARAÚJO, 2014).

Seu fruto é um alimento que possui um elevado valor no mercado brasileiro e internacional (SILVA, 2018). Dentre as vantagens que a fruta possui, a manga é considerada uma fonte de compostos bioativos como: catequinas, quercetina, kaempferol, ácido gálico, ácido benzoico e a mangiferina. Estes compostos estão associados à prevenção de doenças degenerativas, cardiovasculares e diabetes (COELHO *et al.* 2019).

As folhas de *Mangifera indica* também manifestam propriedades farmacológicas por ser uma significativa fonte de polifenóis. O extrato da folha tem como principal componente a mangiferina, um composto fenólico que se destaca pela capacidade de reduzir o estresse oxidativo (PINTO, 2017; ARAÚJO, 2014). Estudos *in vitro* demonstraram que a mangiferina possui uma atividade antioxidante potente, a qual supera outros compostos antioxidantes, como: vitamina E, ácido ascórbico, compostos fenólicos como metil galato, quercetina e penta-O-galoil-glicosídeo (BARRETO *et al.* 2008; STOLOIVA *et al.* 2008).

Os antioxidantes podem evitar ou desacelerar uma reação oxidativa, em função disso, aumentam a resistência contra o estresse oxidativo por meio da eliminação dos radicais livres de modo a prevenir diversas doenças (GOMES *et al* 2020). As plantas medicinais como a *Mangifera indica* apresentam uma rica fonte compostos fenólicos com atividades antioxidantes, anti-inflamatória, aterosclerótica e anticancerígenas. Esses antioxidantes fenólicos impedem a formação de espécies reativas de oxigênio quando doam hidrogênio para forma radicais livres estáveis (SANTOS, 2013).

Desse modo, a procura por antioxidantes em plantas tem crescido com o intuito de buscar alternativas que auxiliam na redução do estresse oxidativo, e conseqüentemente, o envelhecimento (KUMAWAT *et al.* 2017). Portanto, objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante das folhas de *Mangifera indica*, uma vez que, há a possibilidade de sua aplicação em diversos produtos farmacêuticos para a prevenção de diversas doenças como já mencionadas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

Avaliar a atividade antioxidante do extrato etanólico bruto e frações da folha de *Mangifera indica*.

2.2. Objetivos específicos

1. Realizar a extração etanólica da folha de *Mangifera indica* pelo método de percolação até a exaustão;
2. Efetuar o fracionamento do extrato etanólico bruto em frações hexânica, aquosa e butanólica;
3. Avaliar o potencial antioxidante do extrato etanólico bruto e frações hexânica, aquosa e butanólica da folha de *Mangifera indica*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. *A Mangifera indica*

A *Mangifera indica* conhecida popularmente como mangueira é uma planta perene, ou seja, apresenta ciclo de vida longa (Figura 1). Pertence à família *Anacardiaceae* na ordem de *Sapindales*, é originária da Índia e seu fruto é muito valorizado pelo seu país de origem. O cultivo ocorre em diversas partes do mundo, mas é predominante em países tropicais, onde os períodos de seca e chuva são bem definidos, o que favorece a sua cultura. Além disso, existem mais de mil variedades de manga distribuídas pelo mundo (MIRZA *et al.* 2020; JAHURUL, 2015).

Figura 1: Mangueira (*Mangifera indica*).



Fonte: Embrapa, 2023.

A Mangueira se introduziu no Brasil, no século XVI, através dos portugueses. Seu cultivo iniciou-se no Estado de São Paulo, que a partir dos primeiros estudos de plantio e o surgimento de variedades, se difundiu para outras regiões do país, como no Nordeste, em destaque, no Vale do São Francisco e áreas irrigadas como Açu-Mossoró, Vale do Jaguaribe, Platô de Neópolis e Parnaíba e em Minas Gerais (VALADARES, LANDAU, 2020).

A importação e a exportação da manga têm crescido significativamente, sendo um produto comercializado em mais de 103 países. O Brasil, com a crescente área cultivada e a evolução das técnicas de plantio, está entre os países que mais exporta a manga no mundo, ocupando a sétima posição (JAHURUL *et al.* 2015; SILVA, 2021). Em 2021, foram produzidas 1.505.372 toneladas de manga, além disso, o país possui mais de 75 mil hectares de área colhida com rendimento médio de 19.292 kg por hectare, atualmente o estado da Bahia é o maior produtor do país (IBGE, 2021).

3.2. Propriedades

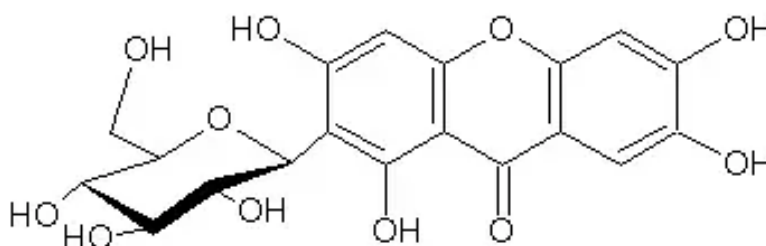
A *Mangifera indica* é uma planta que exibe riqueza fitoquímica e por isto, é explorada também como uma planta medicinal. Os extratos feitos a partir das diversas partes da mangueira, como as cascas da árvore, a polpa do fruto, as folhas e o caroço possuem atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias, anticancerígenas e imunomoduladoras (YAP *et al.* 2022).

O fruto é considerado um alimento benéfico, pois apresenta níveis significativos de antioxidantes, como vitaminas A e C e outros bioativos como: catequinas, quercetina, kaempferol, ácido gálico, ácido benzoico e a mangiferina. Esses compostos são de grande relevância para a área da saúde, pois apresentam atividade antioxidante, anticancerígena e anti-inflamatória, estão também associados a prevenção de doenças degenerativas, cardiovasculares e diabetes (COELHO *et al.* 2019; MALDONATO-CELIS 2019).

A casca de *Mangifera indica* em Cuba é utilizada em escala industrial para a fabricação de um suplemento alimentar chamado Vimang, o extrato aquoso da casca consiste em ácidos graxos, terpenóides, esteróides e polifenóis como a mangiferina. O Vimang demonstra também diversas atividades farmacológicas, como atividades anti-inflamatórias, analgésicas, anticancerígenas, antioxidantes e imunomodulatórias (YAP *et al.* 2022, ARAÚJO, 2014).

Outra parte da planta que apresenta atividades farmacológicas relevantes são as folhas de *Mangifera indica*, devido a um composto chamado mangiferina, uma glicosilxantona, denominada quimicamente pela IUPAC por 2-C-β-D-glicopiranosil-1,3,6,7-tetraidroxixantona (Figura 2). As folhas possuem uma das mais importantes fontes de mangiferina e outros compostos fenólicos, como ácidos fenólicos, benzofenonas, xantonas, terpenóides, taninos e flavonóides. De acordo com uma averiguação fitoquímica de diferentes cultivares produzidos no Brasil, estes compostos fenólicos estão presentes em maior quantidade nas folhas do que em outras partes da árvore, como por exemplo a casca (PINTO, 2017; ARAÚJO, 2014; BARRETO, 2008).

Figura 2 : Estrutura da mangiferina.



Fonte: ARAÚJO *et al.* 2014.

As folhas de *Mangifera indica* em estudos de bioatividade *in vitro* apresentaram atividades anti-apoptóticas, antibacterianas e antioxidantes (BBOSA *et al.* 2007; OLANBINRI *et al.* 2009; BADMUS *et al.* 2011), e *in vivo* foi evidenciado propriedades hipoglicemiantes e gastroprotetoras (SEVERI *et al.* 2009; SHARMA *et al.* 1997; ADERIBIGBE *et al.* 1999; BHOWMIK *et al.* 2009).

Quanto a mangiferina, em estudo *in vivo* e *in vitro* mostraram inúmeras propriedades medicinais, como hipolipemiante, antidiabética, anti-obesidade, anti-inflamatória, hepatoprotetora, antitumoral, imunomodulatória e antioxidante. As variadas propriedades farmacológicas da mangiferina trazem destaque para o extrato na folha da mangueira na tentativa de surgir novos tratamentos para essas doenças (FARIA *et al.* 2021; TOLEDO *et al.* 2019).

A mangiferina é um composto que se torna atrativo devido a sua capacidade de reduzir o estresse oxidativo, desse modo, se torna um antioxidante interessante para aplicação na área da saúde, estudos *in vitro*, que utilizaram testes do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), da HX/XO (hipoxantina/xantina oxidase), da FRAP (habilidade ferro-redutora plasmática) e da ORAC (capacidade de absorvância de

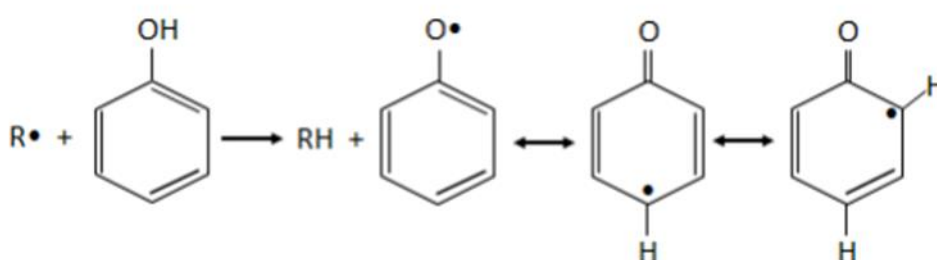
radicais de oxigênio) mostraram que a mangiferina manifesta um elevado potencial antioxidante que supera outros compostos antioxidantes: vitamina E, ácido ascórbico, compostos fenólicos como metil galato, quercetina e penta-O-galoil-glicosídeo (BARRETO *et al.* 2008; STOLOIVA *et al.* 2008).

3.3. Antioxidantes

Os antioxidantes são compostos associados à prevenção de diversas doenças, pois, eles possuem a capacidade de evitar ou desacelerar um dano oxidativo através da eliminação dos radicais livres. Os radicais livres são pequenas moléculas instáveis que são produzidas por meio das reações de óxido-redução que ocorrem no organismo. A maior parte dos radicais livres formado no organismo é de origem metabólica normal do oxigênio, entretanto, há outros fatores que podem contribuir para sua formação, como bebidas alcoólicas, tabagismo, dieta, estresse, medicamentos antitumorais e o efeito do sol (GOMES *et al.* 2020).

Compostos fenólicos são moléculas que possuem um ou mais anéis aromáticos, com pelo menos um grupo hidroxila. A atividade antioxidante destes compostos está relacionada diretamente com a ressonância do anel aromático. Quando o grupo hidroxila doa um átomo de hidrogênio para o radical livre, esse radical é estabilizado pela ressonância do anel (Figura 3) (SANTOS, 2013).

Figura 3: Estabilização de um composto fenólico por ressonância.



Fonte: SANTOS, 2013.

Deste modo, a busca por antioxidantes fenólicos como os presentes nas folhas de *Mangifera indica* tem crescido de modo significativo, pois, os antioxidantes naturais possuem a capacidade de reduzir os riscos de doenças relacionadas ao envelhecimento, doenças inflamatórias crônicas, doenças neurológicas, doenças cardiovasculares, diabetes e o câncer. Para mais, esses compostos antioxidantes

encontrados em plantas têm se tornado uma alternativa para a quimioprevenção do câncer, dando origem a novos estudos (KUMAR *et al.* 2021; KUMAWAT *et al.* 2017).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta da matéria-prima

A coleta das folhas de *Mangifera indica* ocorreu no distrito de Itatiaiuçu-MG, localização geográfica: Lat - 20° 11'50" S, Long: - 44° 25' 05" O e Alt: 887m. As folhas foram submetidas a secagem em estufa a 40°C por um período de 10 horas e pulverizadas em moinho de facas (BARRETO *et al.* 2008).

4.2. Obtenção do extrato etanólico bruto

Após a obtenção das folhas pulverizadas, 348,63g foram colocados em um percolador e em seguida adicionado álcool comercial (92,8°GL) até cobrir a amostra completamente, que ficou em repouso por 24 horas. Conforme a necessidade, mais solvente foi acrescentado, ao longo do método. Após esse processo, o conteúdo foi retirado pela torneira do percolador. Este procedimento foi repetido, até obter à exaustão.

O conteúdo retirado do percolador foi submetido a evaporação rotativa a temperatura de 40°C sob pressão reduzida. Após a evaporação do solvente o conteúdo foi levado para um dessecador para que o solvente fosse evaporado completamente. Para confirmar a evaporação completa, o extrato foi pesado diariamente, até obter três pesagens constantes e consecutivas. O cálculo de rendimento foi feito a partir de uma regra de três, a massa inicial de folhas secas foi representada como 100% da amostra (GARCIA, ORLANDA, 2014; TOLEDO, 2015; RODRIGUES *et al.* 2016).

4.3. Fracionamento do extrato etanólico bruto

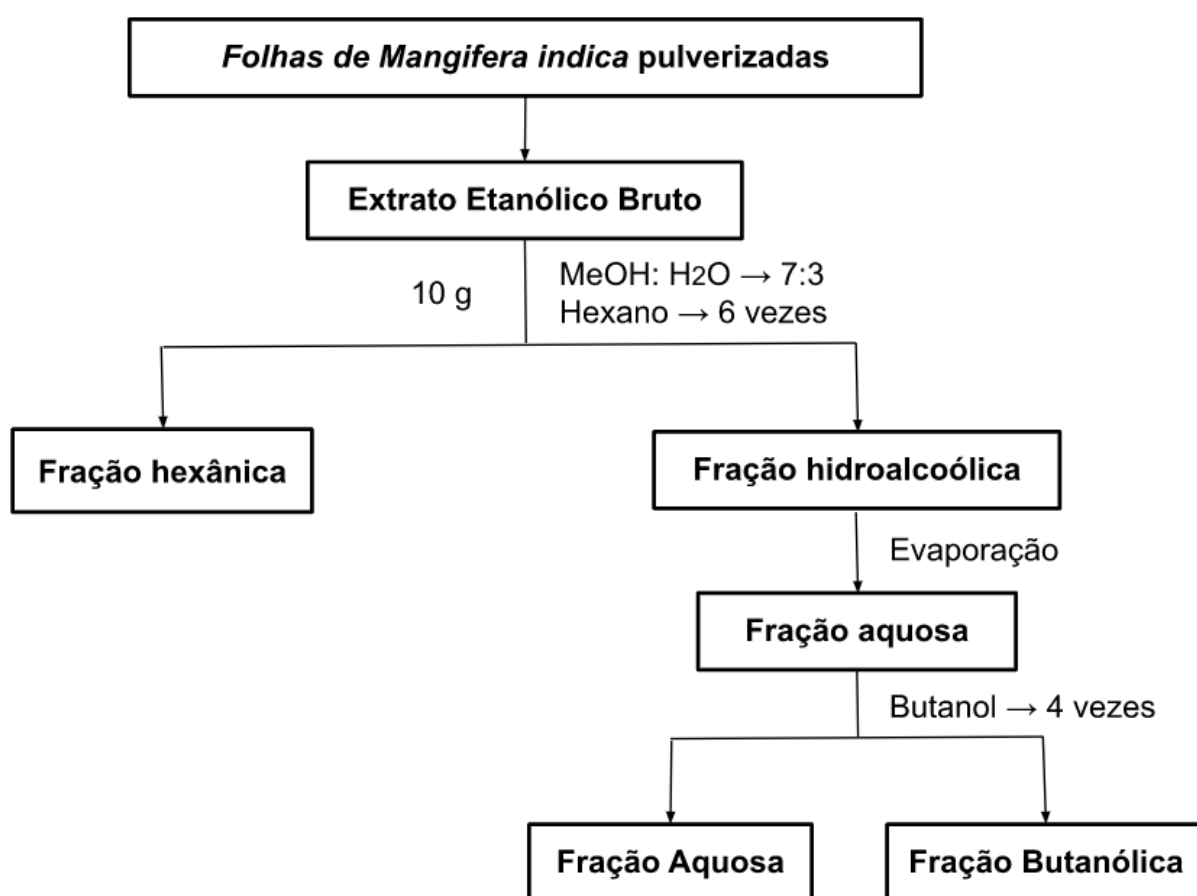
A etapa de fracionamento foi realizada conforme o procedimento indicado na figura 4. Foram pesados 10 (dez) gramas do extrato etanólico bruto e o mesmo foi solubilizado em metanol e água nas proporções (7:3 v/v). A solução obtida foi colocada em um funil de separação e lavada com hexano por seis vezes com cerca de 50 mL cada lavagem. Após este procedimento, foi realizado a separação da fração hexânica da fração hidroalcóolica.

A fração hidroalcóolica obtida da separação anterior foi submetida a evaporação rotativa a temperatura de 40°C sob pressão reduzida para a evaporação do metanol, desse modo, foi obtido a fração aquosa.

A fração aquosa foi levada para um funil de separação e saturada com 50 mL água, e foi acrescentado álcool (N) butílico. Esta solução foi lavada quatro vezes com 50 mL de butanol. A solução ficou mantida em repouso até a formação de duas fases. Após este processo, foi separado a fração butanólica da fração aquosa.

Todas as frações foram levadas ao dessecador e pesadas frequentemente para confirmar a evaporação completa com a obtenção de 3 pesagens consecutivas constantes (SAMPAIO, 2022).

Figura 4: Etapas do processo de extração e fracionamento.



Fonte: autoria própria, 2023.

4.4. Avaliação da atividade antioxidante *in vitro*

A avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico bruto e suas frações aquosa, hexânica e butanólica foram realizadas segundo o método fotocolorimétrico *in vitro* descrito por RUFINO *et al.* 2009, com alterações. Este, é um o método fotocolorimétrico *in vitro* do radical livre DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazila).

Foram preparadas as soluções estoques do padrão ácido gálico em metanol (AG MET) e ácido gálico em etanol (AG ET), do extrato etanólico bruto (EEB) e da fração butanólica (FB) em etanol, a fração aquosa (FAQ) em metanol e a fração hexânica (FH) em metanol. A tabela 1 mostra as concentrações utilizadas para cada amostra.

Tabela 1: Concentração das amostras.

Amostras/Solução	Concentração(µg/µL)
Ácido Gálico	0,1 a 2,8
Extrato Etanólico Bruto	0,5 a 28,0
Fração Butanólica	0,5 a 28,0
Fração Aquosa	5,6 a 112,0
Fração Hexânica	3,0 a 42,0

Alíquotas das soluções preparadas foram pipetadas em uma placa de 96 poços, onde adicionou-se 140 µL de solução das amostras juntamente com 100 µL de DPPH. O branco foi feito para todas as concentrações da fração hexânica para descontar a absorbância da coloração verde da fração, adicionou-se 140 µL de solução juntamente com 100 µL de solvente. O controle foi feito com 140 µL de solvente e 100 µL de DPPH.

A curva padrão do AG MET e AG ET foram feitas em nove pontos com as concentrações de 0,1; 0,2; 0,35; 0,5; 0,7; 1,0; 1,4; 2,0 e 2,8 µg/µL. As curvas do EEB e da FB foram realizadas em doze pontos com as concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 10,0; 12,0; 14,0; 16,0; 18,0; 20,0 e 28,0 µg/µL. A curva da FAQ foi executada em sete pontos com as concentrações de 5,6; 12,0; 28,0; 48,0; 56,0; 84,0 e 112,0 µg/µL. Por fim, a curva da FH foi feita em dez pontos com as concentrações de 3,0; 6,0; 9,0; 12,0; 15,0; 18,0; 24,0; 30,0; 36,0 e 42,0 µg/µL.

Após adição das amostras e do DPPH• 0,004% p/v em etanol. As placas foram incubadas por 30 minutos, ao abrigo de luz e calor a fim de evitar a degradação de compostos bioativos e o consumo do DPPH, e então realizou-se a leitura das absorbâncias em leitor de microplacas a 517 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata e a confecção dos gráficos da curva e da curva do padrão, equação da reta e R² foram feitos em Excel.

A atividade antioxidante da amostra, em porcentagem de captação do DPPH (%AA) é calculada através da equação:

$$\%AA = \frac{ABS \text{ do controle} - (ABS \text{ da amostra} - ABS \text{ do branco})}{ABS \text{ do controle}} \times 100$$

Onde Abs_{controle} é a absorbância do controle e Abs_{amostra} é a absorbância dos extratos, formulações ou padrão. Os resultados serão expressos em CI₅₀, concentração necessária do antioxidante para consumir 50% o radical DPPH.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise foi realizada em triplicata das amostras. A análise estatística foi realizada primeiramente utilizando o teste ANOVA (Análise de Variância) que é um método utilizado para analisar as diferenças entre as médias de 3 ou mais grupos. O teste permite determinar se as diferenças observadas entre os grupos são estatisticamente significativas. Há diferença estatística significativa quando $P < 0,05$, o valor de P encontrado na análise foi de $P = 5,89e^{-14}$, portanto, houve diferença estatística significativa (CHANDRAKANTHA, 2014).

Dado que o ANOVA apresenta diferença estatisticamente significativa, o teste post hoc de *Tukey* pode ser usado para fazer comparações pareadas entre as médias de cada grupo para descobrir exatamente quais grupos são diferentes entre si. Desse modo, utilizou-se o teste de TUKEY'S post hoc para fazer a comparação de valores por amostra (SCHLATTMANN, 2010).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Rendimento

Foram utilizados 348,63g da massa da folha seca de *Mangifera indica* para o preparo do EEB, foi gerado 77,73 g de extrato, totalizando 22,3% de rendimento. Este valor de rendimento pelo método de percolação até a exaustão com etanol está próximo ao rendimento demonstrado por Toledo e colaboradores (2019). No fracionamento do EEB foram obtidos rendimentos de 2,15% para as FH e FAQ e para a FB 8,18%.

6.2. Curvas obtidas pelo método DPPH

Os resultados das curvas realizadas no método de DPPH foram calculados com base em um padrão conhecido como ácido gálico. Este, é um potente antioxidante, que apresenta compostos fenólicos em sua estrutura, capazes de doar elétrons para o radical DPPH de modo a reduzir e neutralizar sua atividade (PIRES, 2017).

Os gráficos das curvas do padrão e das amostras foram plotados a partir dos valores de concentração calculados para realizar a curva (eixo x) e os valores obtidos pelo cálculo de porcentagem de captação do DPPH ou conhecido também como percentual de inibição (eixo y), a partir desses valores é feito a interpolação na curva da reta, para a obtenção da concentração inibitória de 50% (figuras 5,6,7,8,9 e 10).

O R^2 representa a aderência do modelo aos dados, ou seja, da equação da reta construída a partir dos dados. Desse modo, representa o quanto essa equação criada é fidedigna aos dados, quanto mais próximo de 1, mais bem representado são os dados, com isso, observa-se que todas as curvas obtiveram bons resultados de R^2 .

Figura 5: Curva da atividade antioxidante DPPH do padrão AG ET.

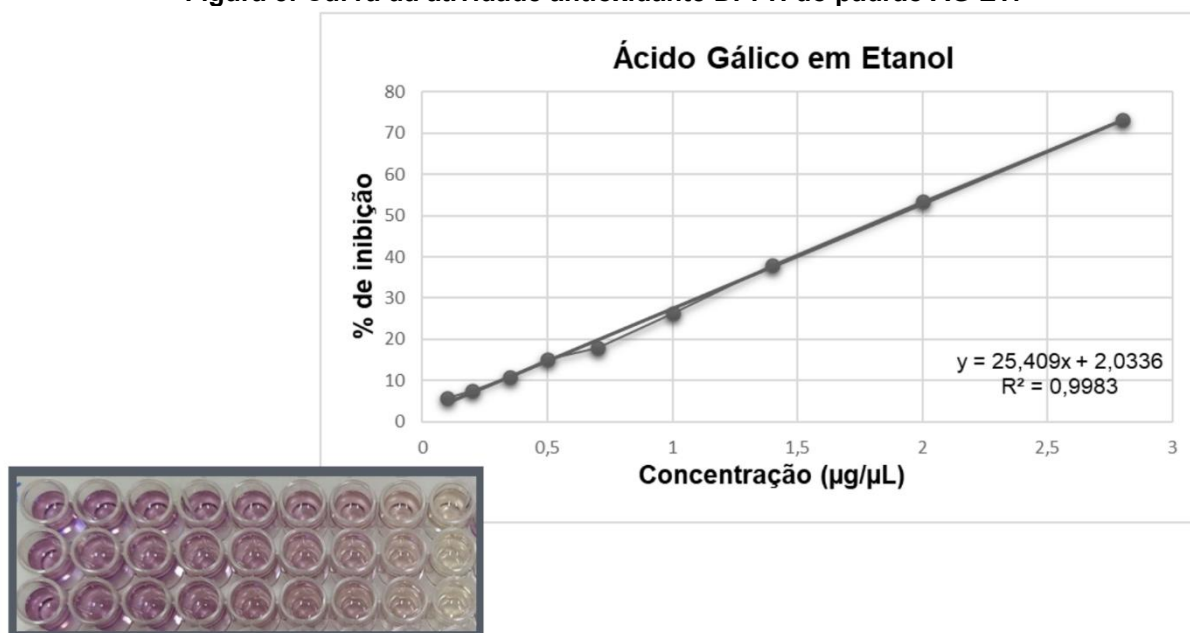


Figura 6: Curva da atividade antioxidante DPPH do padrão AG MET.

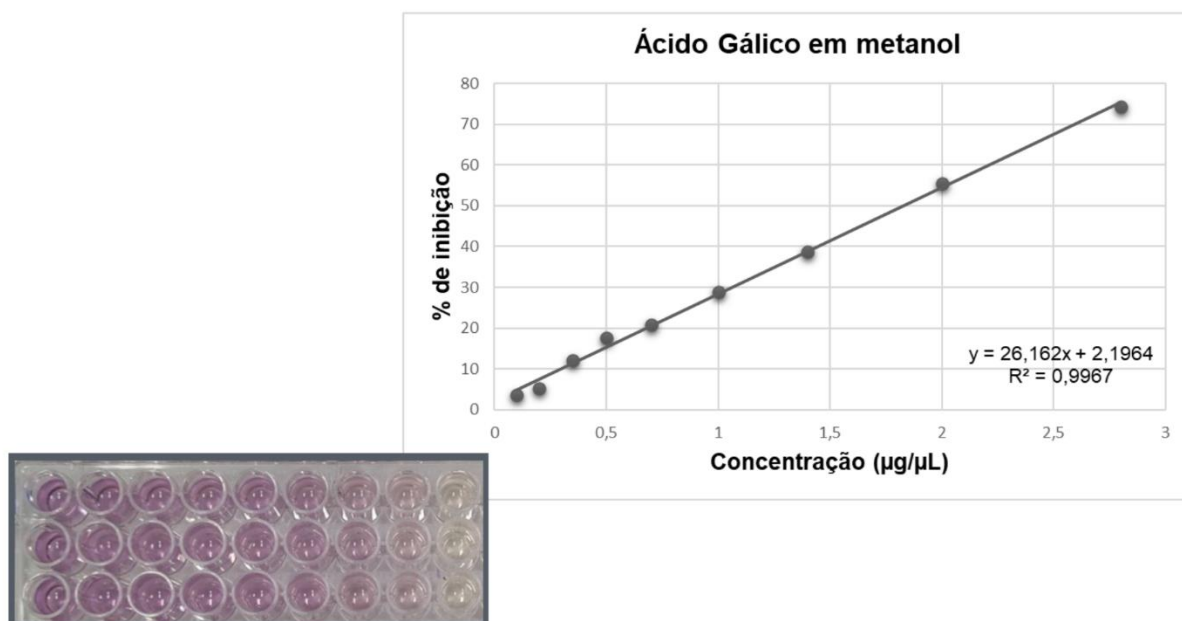


Figura 7: Curva da atividade antioxidante DPPH do EEB.

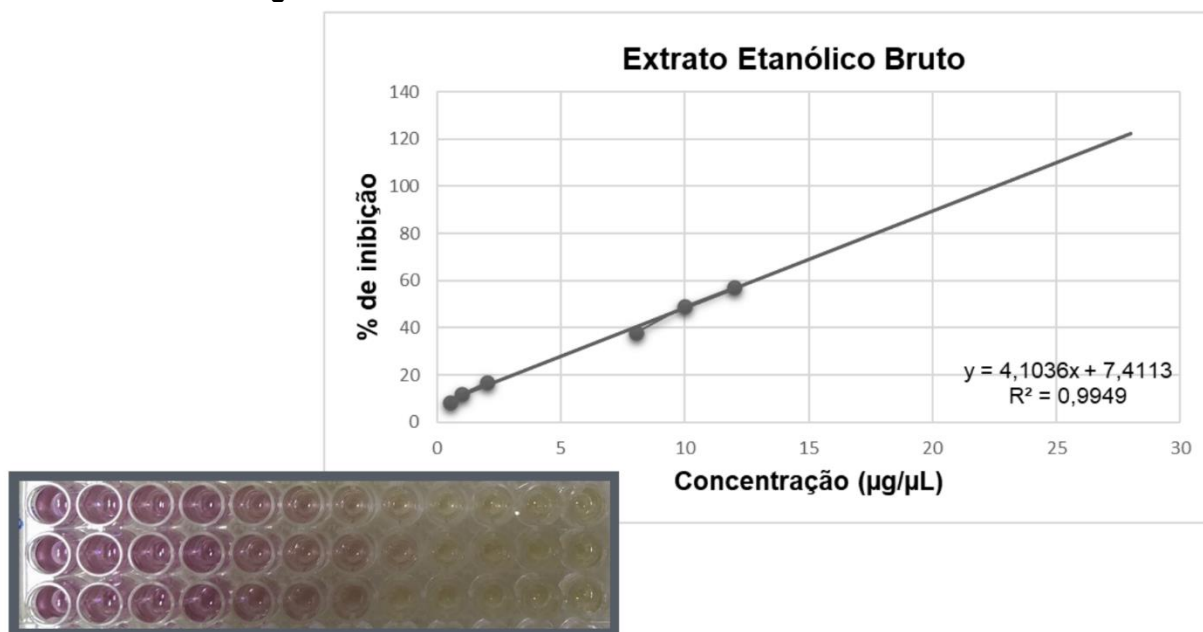


Figura 8: Curva da atividade antioxidante de DPPH da FB.

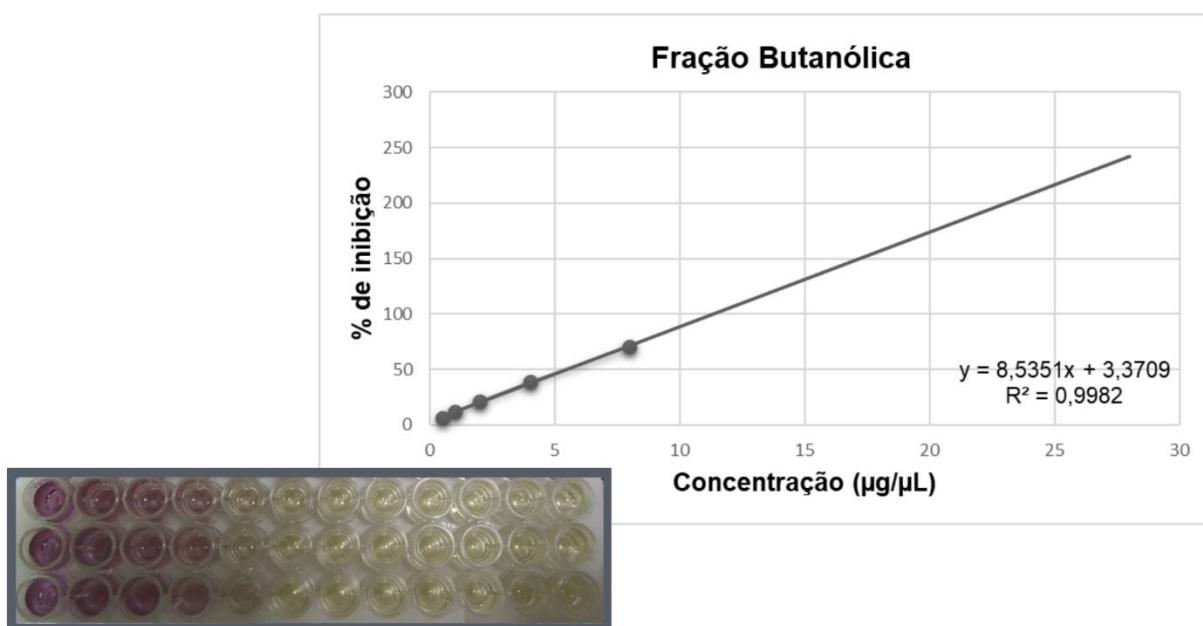


Figura 9: Curva da atividade antioxidante DPPH da FH.

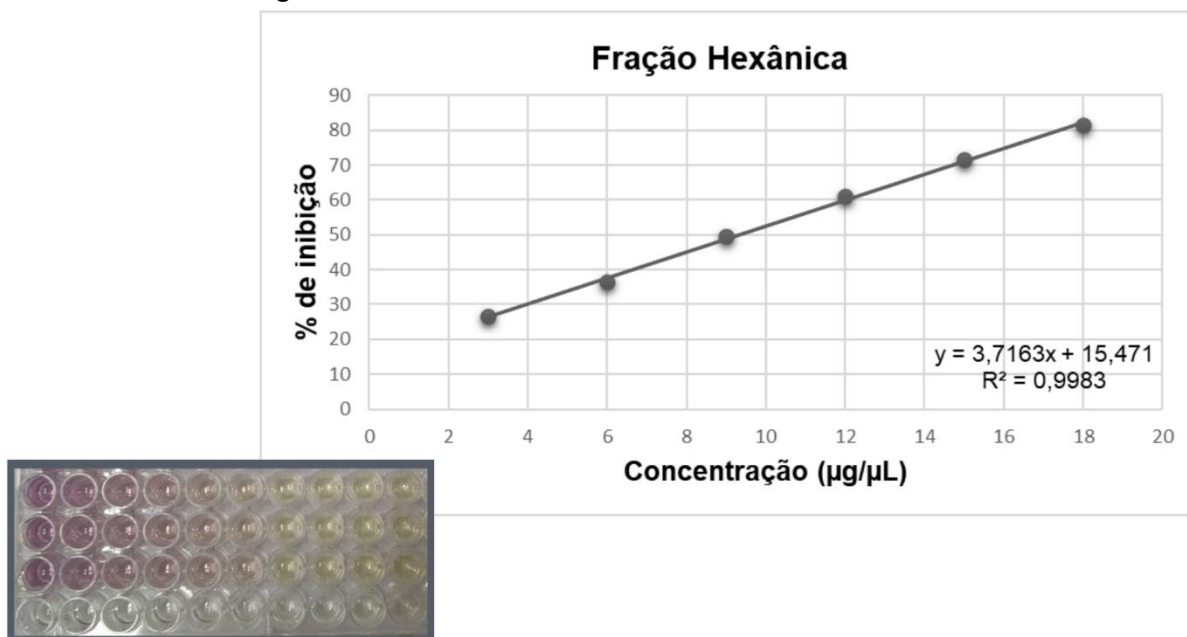
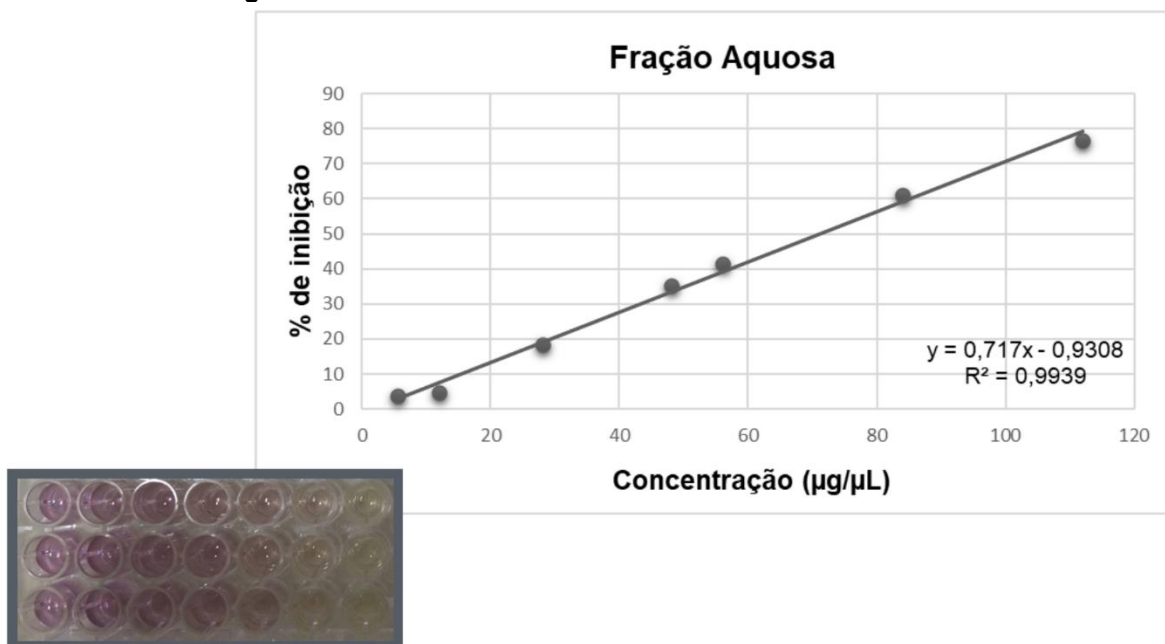


Figura 10: Curva da atividade antioxidante DPPH da FAQ.



6.3. Discussão

A fisiologia do corpo humano produz radicais livres, porém, o estresse oxidativo ocorre devido a produção exacerbada desses radicais, o que ocasiona em danos ao DNA, proteínas, lipídios, lesão tecidual que leva ao surgimento de doenças degenerativas, envelhecimento e câncer (IBRAHIM *et al.* 2020; WEDEL *et al.* 2020).

O ensaio utilizando o radical livre DPPH é usado para medir o declínio do radical livre estável α , α -difenil- β -picrilhidrazil. Esse declínio ocasiona a mudança da coloração e na redução da absorvância a 517 nm (SAMPAIO, 2022). A solução de DPPH apresenta uma cor roxa, quando recebe elétrons muda de cor para uma solução desbotada, essa descoloração indica que está ocorrendo a eliminação de radicais livres e a capacidade da amostra em doar elétrons. Este ensaio não possui especificidade para classes de antioxidantes, logo, fornece apenas a capacidade antioxidante geral das amostras (MAHARAJ *et al.* 2022). A avaliação da atividade antioxidante por DPPH apresenta elevada sensibilidade e é a mais utilizada, uma boa atividade antioxidante é caracterizada por apresentar um CI_{50} baixo, o CI_{50} é a concentração inibitória de 50%, ou seja, é utilizado para determinar a concentração necessária da amostra para reduzir a atividade do radical DPPH pela metade (SINGH *et al.* 2017).

Na determinação da atividade antioxidante do EEB e frações das folhas de *Mangifera indica* pelo método DPPH foram obtidos os seguintes resultados expressos como média \pm desvio padrão em triplicata das amostras, representados na Tabela 2.

Tabela 2: CI_{50} da atividade antioxidante pelo radical DPPH das amostras ácido gálico, extrato etanólico bruto, fração hexânica, fração aquosa e fração butanólica.

DPPH	AG ET	AG MET	EEB	FH	FAQ	FB
CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	1,87* \pm 0,06	1,82** \pm 0,01	9,91* \pm 0,40	9,06** \pm 0,50	66,12** \pm 4,26	5,60 \pm 0,26

AG ET: ácido gálico em etanol; AG MET: ácido gálico em metanol; EEB: extrato etanólico bruto; FH: fração hexânica; FAQ: fração aquosa; FB: fração butanólica; * e ** que indicam que há diferença estatística da análise de variância (ANOVA), com pós-teste *Tukey*, com $p < 0,05$; CI_{50} : capacidade de inibição de 50%; resultados apresentados com média \pm desvio padrão do CI_{50} das amostras em triplicata.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste *One way* ANOVA e foram observadas diferenças estatísticas entre as amostras, em seguida as amostras foram avaliadas pelos pós teste de *Tukey*, foram avaliadas as diferenças significativas, a nível de 5% entre as amostras, conforme demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3: Diferença significativa avaliada para as amostras analisadas em relação às diferentes amostras.

Diferença significativa (P < 0,05)		
EEB versus	9,91 ± 0,40	
FH	9,06 ± 0,50	Não
FAQ	66,12 ± 4,26	Sim
FB	5,60 ± 0,26	Não
AG ET	1,87 ± 0,06	Sim
FAQ versus	66,12 ± 4,26	
EEB	9,91 ± 0,40	Sim
FH	9,06 ± 0,50	Sim
FB	5,60 ± 0,26	Sim
AG MET	1,82 ± 0,01	Sim
FH versus	9,06 ± 0,50	
EEB	9,91 ± 0,40	Não
FAQ	66,12 ± 4,26	Sim
FB	5,60 ± 0,26	Não
AG MET	1,82 ± 0,01	Sim
FB	5,60 ± 0,26	
EEB	9,91 ± 0,40	Não
FAQ	66,12 ± 4,26	Sim
FH	9,06 ± 0,50	Não
AG ET	1,87 ± 0,06	Não

AG ET: ácido gálico em etanol; AG MET: ácido gálico em metanol; EEB: extrato etanólico bruto; FH: fração hexânica; FAQ: fração aquosa; FB: fração butanólica; 6; Cl₅₀: capacidade de inibição de 50%; Resultados apresentados com média ± desvio padrão do Cl₅₀ das amostras em triplicata.

Nota-se que houve diferença significativa entre os valores de CI_{50} do extrato etanólico bruto (EEB) e fração aquosa (FAQ). A fração aquosa (FAQ) apresentou diferença estatística significativa com todas as amostras. A fração hexânica (FH) teve diferença significativa com a fração aquosa (FAQ). Essas diferenças estatísticas entre as amostras afirmam que suas atividades antioxidantes não são semelhantes. O EEB apresentou diferença estatística com o padrão AG ET, e as frações FAQ e FH apresentaram diferença estatística com o padrão AG MET, indicando assim, uma menor capacidade de reduzir o DPPH e menor atividade antioxidante quando comparada com o padrão.

Diferentemente, observa-se que não houve diferença estatística significativa entre o extrato etanólico bruto (EEB), a fração hexânica (FH) e a fração butanólica (FB), portanto, essas frações possuem atividade antioxidante parecidas. A fração butanólica (FB) e o padrão ácido gálico em etanol (AG ET) também não apresentaram diferença estatística significativa, indicando atividade antioxidante semelhante entre eles.

Neste estudo, encontrou-se valor de CI_{50} igual a 9,9 $\mu\text{g/mL}$ para o EEB. No estudo de ARAÚJO *et al.* 2014, que avaliou o potencial antioxidante do extrato etanólico da folha de *Mangifera indica*, encontrou-se o valor de CI_{50} igual a 5,2 $\mu\text{g/mL}$. KUMAR *et al.* 2021 relatou valores de CI_{50} de ~ 9 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato da folha de mangueira e o extrato metanólico forneceu valor de CI_{50} de 13,37 $\mu\text{g/mL}$. Os valores de CI_{50} encontrados na literatura são próximos ao valor alcançado nesta investigação.

O extrato etanólico bruto das folhas de *Mangifera indica* apresenta boa atividade antioxidante devido à presença em alta concentração de compostos fenólicos. O composto fenólico mais abundante nas folhas é mangiferina e é responsável pelas diversas atividades biológicas (SAMPAIO, 2022).

A FAQ apresentou menor atividade antioxidante comparada as outras amostras, seu CI_{50} foi de 66,12 $\mu\text{g/mL}$ sendo próximo ao valor encontrado no estudo de MOHAN *et al.* 2013, onde o valor alcançado para essa fração partindo do extrato metanólico bruto foi de 96,26 $\mu\text{g/mL}$.

A FB apresentou Cl_{50} igual a 5,60 $\mu\text{g/mL}$, foi o menor Cl_{50} , portanto, é a fração que demonstrou maior potencial antioxidante. No estudo de MOHAN *et al.* 2013, a fração butánolica oriunda do fracionamento do extrato metanólico bruto apresentou o valor de Cl_{50} de 14,19 $\mu\text{g/mL}$. A fração butanólica apresenta uma boa atividade antioxidante devido a provável predominância de mangiferina, um composto fenólico que possui boa atividade antioxidante (KITBUMRUNGSART *et al.* 2011). Além disso, os compostos fenólicos são encontrados nas frações que possuem polaridade média a alta e por isso, estão em maior quantidade na fração butanólica (SAMPAIO, 2022).

7. CONCLUSÃO

A *Mangifera indica* é uma planta que apresenta um grande potencial de utilização para a fabricação de diversos produtos farmacológicos. O extrato das folhas e suas frações apresentam boa atividade antioxidante, pois, são capazes de neutralizar o radical DPPH.

A FB apresentou-se mais vantajosa pelo ótimo valor de CI_{50} comparada com as outras amostras. A provável predominância de mangiferina, um dos compostos fenólicos encontrado em maior quantidade nas folhas de *Mangifera indica* pode justificar a potencial atividade antioxidante manifestada pela FB.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADERIBIGBE A. O.; EMUDIANUGHE T. S.; LAWAL B. A. S. Antihyperglycaemic effect of *Mangifera indica* in rat. **Phytotherapy Research**. 13; 505-507, 1999.

ANDRADE, J. O. Aproveitamento do resíduo de manga no desenvolvimento de barra de cereal: atividade antioxidante *in vitro* e avaliação sensorial. 2019. (Trabalho de Conclusão de Curso – Monografia), Curso de Bacharelado em Nutrição, Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité – Paraíba – Brasil, 2019.

ARAÚJO B. M. *et al.* Use of *Mangifera indica* L. leaves extract and mangiferin on the atherosclerotic lesion in apoe^{-/-} mice. **Biosci**. 30;6, 1873-1881, 2014.

BADMUS J. A.; ADEDOSU T. O.; ADEGBITE V. A.; ODUNOLA O. Lipid peroxidation inhibition and antiradical activities of some leaf fractions of *Mangifera indica*. **Acta Poloniae Pharmaceutica**. 68;1, 23-9, 2011.

BARRETO J. C. *et al.* Caracterização e quantificação de compostos polifenólicos em casca, caroço, folhas e casca de manga (*Mangifera indica* L.). **Journal of Agricultura and Food Chemistry**. 114;2, 693-695, 2008.

BBOSA G. S. *et al.* Vascular effects of the *Mangifera indica* L. extract (Vimang). **European Journal of Pharmacology**. 499; 297-305, 2004.

BHOWMIKA.; KHAN L. A.; ROKEYA B. Studies on the antidiabetic effects of *Mangifera indica* stem-barks and leaves on nondiabetic, type 1 and type 2 diabetic model rats. **Bangladesh Journal of Pharmacology**. 4; 110-14, 2009.

CHANDRAKANTHA L. Aprendendo conceitos de ANOVA usando simulação. **IEEE Explore**. 1- 5, 2014.

COELHO A. C. B.; BORGES B. F.; PINHEIRO E. C. C.; NUNES V. L. N. D.; KHAN A.; FERNANDES R. M. T. Análise dos metabólitos secundários da *Mangifera indica* Linnaeus como possibilidade de tratamento alternativo para a síndrome pós covid-19. **Brazilian Journal of Development**. 7; 10, 95673-95692, 2021.

COELHO E. M.; SOUZA M. E. A. O.; CORRÊA L. C.; VIANA A. C.; AZEVÊDO L. C.; LIMA M. S. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Mango Peel Liqueurs (*Mangifera indica* L.) Produced by Different Methods of Maceration. **MDPI journals antioxidants**. 8; 102, 2019.

Evolução da produção de manga (*Mangifera indica*, Anacardiaceae). - Portal Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1122687/evolucao-da-producao-de-manga-mangifera-indica-anacardiaceae>>. Acesso em: 13 jun. 2023.

FARIAS, N. N. P. *et al.* Ethanolic extract of mango seed in broiler feed: Effect on productive performance, segments of the digestive tract and blood parameters. **Animal Feed Science and Technology**. 279; 114999, 2021.

GARCIA A. P. M.; ORLANDA J. F. F. Evaluation of in vitro antimicrobial activity of a crude hydroalcoholic extract from *Mangifera indica* Linneau. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. 19; 3, 2014.

GOMES B. C. R. *et al.* Antioxidantes como forma de prevenção contra a ação dos radicais livres no processo de envelhecimento cutâneo. **ÚNICA Cadernos Acadêmicos**. 3; 1, 2020.

IBRAHIM, N. I. *et al.* The Potential Mechanisms of the Neuroprotective Actions of Oil Palm Phenolics: Implications for Neurodegenerative Diseases. **Molecules (Basel, Switzerland)**. 25; 21, 2020.

JAHURUL, M. H. A. *et al.* Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. **Food Chemistry**. 183; 173–180, 2015.

KITBUMRUNGSART, P. *et al.* Mangiferina e capacidade antioxidante de extratos de folhas de manga (*Mangifera indica* L.). **Thai J. Agric. Sci.** 44; 62-66, 2011.

KUMAR, M. *et al.* Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves: Nutritional Composition, Phytochemical Profile, and Health-Promoting Bioactivities. **Antioxidants**. 10; 2; 299, 2021.

KUMAWAT M. K.; THAKUR M.; GURUNG R. B.; SRIVASTAVA R. Graphene Quantum Dots from *Mangifera indica*: Application in Near-Infrared Bioimaging and Intracellular Nanothermometry. **ACS Publications**. 5; 2; 1382–1391, 2017.

MALDONATO-CELIS M. E. *et al.* Chemical Composition of Mango (*Mangifera indica* L.) Fruit: Nutritional and Phytochemical Compounds. **Frontiers in Plant Science**. 10, 2019.

Manga - Portal Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/manga>>. Acesso em: 15 jun. 2023.

MAHARAJ, A. *et al.* Phytochemical Screening, and Antibacterial and Antioxidant Activities of *Mangifera indica* L. Leaves. **Horticulturae**. 8; 10; 909,2022.

MIRZA B. *et al.* Mango (*Mangifera indica* L.): a magnificent plant with cancer preventive and anticancer therapeutic potential. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 1–27, 2020.

MOHAN, C. *et al.* Anti-oxidant and anti-inflammatory activity of leaf extracts and fractions of *Mangifera indica*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. 6; 4; 311–314, 2013.

MURUGANANDAN, S.; GUPTA, S.; KATARINA, M.; LAL, J; GUPTA, P.K. Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats. **Toxicology**. 176;165–173, 2002.

OLANBINRI B. M.; ODESOMI O. F.; OLANBINRI P. F.; ADELEKE G. E. Experimental classification of the antioxidant capacity of the leaf, stem and root barks of *Magnifera indica* and *Azadirachta indica*. **African jornal of Biotechnology**. 8; 13,2968-72, 2009.

PINTO D. C. A. Isolamento e estudo da interação da mangiferina e derivados sintéticos com albumina sérica humana. 2017. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2018.

PIRES J.; TORRES P. B.; SANTOS D. Y. AC.; CHOW F. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**. 2017.

Produção Agropecuária | IBGE. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/manga/br>>. Acesso em: 13 jun. 2023.

RODRIGUES F. A.; PIMENTA V. S. C.; BRAGA K. M. S.; ARAÚJO E. G. Obtenção de extratos de plantas do cerrado. **Enciclopédia Biosfera**. Centro Científico Conhecer – Goiânia. 2016.

RUFINO M. S. M. *et al.* Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Metodologia Científica. **EMBRAPA**, 2007.

RUFINO M. S. M.; FERNANDES F. A. N.; ALVES R. E.; BRITO E. S. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH{radical dot} system. **Food Chemistry**. 114; 2; 693–695, 2009.

SANGEETHA K. N. *et al.* 3 β -taraxerol of *Mangifera indica*, a PI3K dependent dual activator of glucose transport and glycogen synthesis in 3T3-L1 adipocytes. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1800; 359-366, 2010.

SANTOS W. J. Extração de compostos antioxidantes da folha de mangueira (*Mangifera indica* L.) utilizando CO₂ supercrítico, água e etanol. 2013. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, 2013.

SAMPAIO J. S. Análise do potencial fotoprotetor dos extratos de *Humulus lupulus* e formulação de protetor solar de amplo espectro. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2022.

^aSAMPAIO, L. S. Avaliação da microbiota facial humana e propriedades prebióticas dos extratos vegetais da *Annona crassiflora* e *Mangifera indica* e incorporação dos extratos em um produto cosmético. 2022. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2022.

SEVERI J. A. *et al.* Polyphenols with Antiulcerogenic Action from Aqueous Decoction of Mango Leaves (*Mangifera indica* L.). **Molecules**. 14;1098-110, 2009.

SCHLATTMANN, P.; DIRNAGL, U. Statistics in experimental cerebrovascular research: comparison of more than two groups with a continuous outcome variable. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, 30; 9; 1558–1563,2010.

SHARMA S. R.; DWIVEDI S. K.; SWARUP, D. Hypoglycemic potential of *Mangifera indica* leaves in rats. **International Journal of Pharmacology**. 35; 2; 130-3, 1997.

SINGH, A. *et al.* Lipid Based nanoformulation of lycopene improves oral delivery: formulation optimization, ex vivo assessment and its efficacy against breast cancer. **Journal of Microencapsulation**.34; 4; 416–429, 2017.

SOMARIS E QUITANA; SALAS S.; GARCÍA-ZAPATEIRO L. A. Compostos bioativos da manga (*Mangifera indica*): uma revisão das tecnologias de extração e componentes químicos. **Revista da Ciência da Alimentação e agricultura**. 101; 15; 6186-6192, 2021.

STOILOVA *et al.*Antioxidant activity of the polyphenol mangiferin. **Electronic jornal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**. 7;13; 2706-16, 2008.

TOLEDO, R. C. L. *et al.* Acute treatment with: *Mangifera indica* L. leaf extract attenuates liver inflammation in rats fed a cafeteria diet. **Food and Function**.10; 8; 4861–4867, 2019.

WEDEL, S. *et al.* tBHP treatment as a model for cellular senescence and pollution-induced skin aging. **Mechanisms of Ageing and Development**. 190; 111318, 2020.