

Avaliação fitoquímica de extratos das folhas de *Eugenia uniflora* L.

Phytochemical screening of *Eugenia uniflora* L. leaf extracts

Evaluación fitoquímica de extractos de *Eugenia uniflora* L.

Recebido: 16/03/2023 | Revisado: 29/03/2023 | Aceitado: 30/03/2023 | Publicado: 05/04/2023

Paula Waiss Zanusso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9932-7980>
Centro Universitário da Região da Campanha, Brasil
E-mail: paulawaiss163425@sou.urcamp.edu.br

Patrícia Albano Mariño

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2002-1867>
Centro Universitário da Região da Campanha, Brasil
E-mail: patriciamarino@urcamp.edu.br

Graciela Maldaner

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8353-2306>
Centro Universitário da Região da Campanha, Brasil
E-mail: gracielamaldaner@urcamp.edu.br

Rafael Pintos Gonçalves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9394-5761>
Centro Universitário da Região da Campanha, Brasil
E-mail: rafaelpintosgoncalves@gmail.com

Resumo

A *Eugenia uniflora* L., família Myrtaceae, é conhecida popularmente como pitanga (o fruto) e pitangueira, a árvore. Condições externas e internas são citadas como interferentes no conteúdo final de metabólitos secundários nas plantas medicinais. Este trabalho objetivou realizar o screening fitoquímico quali e quantitativo de diferentes extratos das folhas de *Eugenia uniflora* L. O material vegetal foi coletada no município Bagé/RS em fevereiro de 2021. As análises fitoquímica qualitativas foram realizadas através de reações clássicas de caracterização empregadas em farmacognosia. Para a análise quantitativa foram obtidos três extratos empregando diferentes formas de preparo: infuso e decocto aquoso e macerado etanólico 93%, todos com concentração de 5% (p/v). O teor de polifenóis foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu e o doseamento de flavonoides totais foi realizado de acordo com a metodologia descrita na Farmacopéia Brasileira IV por espectrofotometria. Foram identificados qualitativamente os metabólitos flavonoides, alcaloides, taninos e saponinas. Apenas os glicosídeos cardiotônicos apresentaram resultado negativo. Foi verificado ainda a presença de taninos hidrolisáveis. Entre os extratos testados, o infuso aquoso demonstrou menores valores aos demais tanto no doseamento de polifenóis (5,91 µg/g; decocto 10,69 µg/g e macerado 10,02 µg/g) quanto de flavonoides totais (0,47 mg/g; decocto 1,19 mg/g e macerado 2,59 mg/g) inclusive com variação estatística. Os resultados confirmam a influência de fatores internos (método de extração e solventes empregados) e externos na produção de metabólitos secundários das plantas. Supõe-se que a presença de taninos hidrolisáveis pode estar relacionada ao grande volume de chuva ocorrido.

Palavras-chave: *Eugenia uniflora* L.; Plantas medicinais; Fitoquímica.

Abstract

Eugenia uniflora L., belong to the Myrtaceae Family, is know by popular as pitanga (the fruit) and pitangueira, the tree. External and internal conditions are cited as interfering with the final content of secondary metabolites in medicinal plants.. The purpose of this research was to make a qualitative and quantitative phytochemical screening in different extracts of *Eugenia uniflora* L. The plant was was collected in Bagé/RS in February 2021. The qualitative phytochemical analysis was made thru the classic characterization reactions. For the quantitave analysis, three diferentes extracts were prepared: aqueous infusion, aqueous decoction and maceration in hydroalcoholic solvente (93%), all at 5% (w/v) concentration. The phenolic substances was determined by the Folin-Ciocalteu method and the flavanoids was determined per spectrophotometry by the methodology described in the Brazilian Pharmacopoeia IV. In the qualitative evaluations we could verify a positive reaction for alkaloids, flavonoids, saponins and hydrolysable tannins. tannins and a negative reaction for cardiotonic glucosides. Among the tested extracts, the aqueous infusion showed lower values than the others in the determination of phenolic substances (5,91 µg/g; decoction 10,69 µg/g and maceration 10,02 µg/g) and flavonoids (0,47 mg/g; decoction 1,19 mg/g and maceration 2,59 mg/g) including with statistical variation. The results of this study infer the influence of internal (extraction method and solvents employed) and external factors in the production of secondary metabolities. It is believed that the presence of hydrolysable tannins may be related to the large volume of rainfall that occurred.

Keywords: *Eugenia uniflora* L.; Medicinal plants; Phytochemistry.

Resumen

Eugenia uniflora L., de la familia Myrtaceae, es conocida popularmente como pitanga (el fruto) y pitangueira, el árbol. Se citan condiciones externas e internas como interferentes en el contenido final de metabolitos secundarios en las plantas medicinales. Este trabajo tuvo como objetivo realizar el screening fitoquímico cualitativo y cuantitativo de diferentes extractos de las hojas de *Eugenia uniflora* L. El material vegetal fue recolectado en la ciudad de Bagé/RS en febrero de 2021. Los análisis fitoquímicos cualitativos se realizaron a través de reacciones de caracterización clásicas. Para las análisis cuantitativas se obtuvieron tres diferentes extractos: infusión y decocción acuosas y macerado etanólico (93%), todos con una concentración del 5% (p/v). El contenido de polifenoles se determinó por el método de Folin-Ciocalteu y la determinación de flavonoides totales se realizó según la metodología descrita en la Farmacopea Brasileña IV por espectrofotometría. Se identificaron cualitativamente los metabolitos flavonoides, alcaloides, taninos hidrolizables y saponinas. Solo los glucósidos cardiotónicos mostraron un resultado negativo. Entre los extractos ensayados, la infusión acuosa mostró valores inferiores a los demás tanto en la dosificación de polifenoles (5,91 µg/g; decocción 10,69 µg/g y macerado 10,02 µg/g) como de flavonoides totales (0,47 mg/g; decocción 1,19 mg/g y macerado 2,59 mg/g) incluyendo variación estadística. Los resultados confirman la influencia de factores internos (método de extracción y solventes utilizados) y factores externos en la producción de metabolitos secundarios en las plantas. Se supone que la presencia de taninos hidrolizables puede estar relacionada con el gran volumen de lluvia que se produjo.

Palabras clave: *Eugenia uniflora* L.; Plantas medicinales; Fitoquímica.

1. Introdução

A *Eugenia uniflora* L. pertence à família Myrtaceae é conhecida popularmente como pitanga (o fruto) e pitangueira, a árvore (Abdelfattah et al., 2021). Segundo Auricchio et al. (2007), além destes, demais nomes para os frutos podem ser encontrados como Ibitanga, Pitangatuba e Pitanga (no Brasil) e “Brazil Cherry”, “Surinam Cherry” na América de língua inglesa. É uma planta nativa do Brasil facilmente encontrada em regiões do Bioma Pampa (no sul do país), como em outros países das Américas, Ásia, África e Europa (Brasil, 2015; Silva e Lima, 2016; Meira et al., 2020; Fidelis et al., 2022).

São plantas encontradas em formas de arbustos ou árvores, que se mantem verdes durante todo o ano, são características frequentes desta família suas folhas opostas com nervuras marginais (Auricchio e Bacchi, 2003). O período de frutificação da *Eugenia uniflora* L., acontece entre outubro e janeiro, o seu fruto (pitanga) possui uma coloração que varia entre o laranja ao roxo intenso (Pereira et al., 2020).

A espécie tem uma vasta utilidade, desde planta ornamental, frutífera a medicinal. A pitanga é utilizada na cosmetologia e na produção de alimentos, como, geleias, doces, refrescos, sorvetes, licores e vinhos (Silva e Lima, 2016). Na medicina popular suas folhas possuem propriedades anti-hipertensiva e diurética, antirreumática e anti-inflamatória, hipolipidêmica e hipercolesterolemiantes, antioxidante, antifúngica e antibacteriana e para o tratamento de doenças de pele e do trato digestório (Brasil, 2015; Queiroz et al., 2015; Mendonça et al., 2016; Fidelis et al., 2022). É também utilizada para estimular o fluxo menstrual, auxiliar no parto e para tratar sintomas relacionados à depressão e ansiedade. Também ainda é descrita como repelente de insetos (Brasil, 2015). De acordo com Auricchio et al. (2007), as preparações feitas com extrato alcoólico são utilizadas em bronquites, tosses e estados febris.

Triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *Eugenia uniflora* L. realizada por Silva e Lima (2016) descreve os metabólitos secundários alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, taninos e triterpenos. Brasil (2015) descreve ainda os metabólitos flavonoides, cumarinas, antraquinonas e saponinas quando avaliado extratos com variação de solventes das folhas da pitangueira. Na fração butanólica das folhas da *Eugenia uniflora* L. apresentou os compostos quercetina e miricetina como compostos majoritários, já na fração diclorometano foram observadas reações positivas para esteroides e triterpenos, em fração acetato de atila apresentou os compostos fenólicos e flavonoides e na fração aquosa foram detectados os elagitaninos.

Gobbo-Neto e Lopes (2007) e Fidelis et al. (2022) citam condições externas como sazonalidade, idade da planta, índice pluviométrico, composição atmosférica, altitude, entre outros, como interferentes no conteúdo final de metabólitos secundários nas plantas medicinais. Associado a isso, fatores como condições de coleta, secagem, estocagem e métodos de preparo, igualmente demonstram ter grande influência na qualidade e, conseqüentemente no valor terapêutico de preparados

com plantas medicinais. Auricchio e Bacchi (2003) relatam que estudos realizados com plantas medicinais demonstram grande variação nos resultados, uma vez que há grande variação nos protocolos seguidos nos experimentos, nas variáveis climáticas, no desenvolvimento vegetal, época de coleta e métodos de extração de constituintes e parte da planta pesquisada.

Assim, este trabalho tem como objetivo realizar o screening fitoquímico quali e quantitativo de diferentes extratos das folhas de *Eugenia uniflora* L., mostrando os metabolitos secundários obtidos em diferentes métodos de extração.

2. Metodologia

2.1 Amostra do material vegetal

A amostra do material vegetal foi coletada no município Bagé/RS no mês de fevereiro de 2021, seguindo a metodologia de Fiuza et al. (2008). As coordenadas do local de coleta foram monitoradas por *Global Positioning System* – GPS (31°19'53.135'' S; 54°6'2261'' W). Os ramos de pitangueira após a coleta, foram armazenados em formas forradas com papel e cobertos por um véu, na sombra em temperatura ambiente, em local seco e livre de possíveis contaminantes por 2 semanas até a secagem completa das folhas. Posteriormente, as folhas foram rasuradas manualmente de forma grosseira em pequenos pedaços e armazenadas em vidro âmbar para posteriores análises.

2.2 Avaliação Fitoquímica Qualitativa

As análises fitoquímica qualitativas dos extratos foram realizadas através de reações clássicas de caracterização empregadas em farmacognosia para alcalóides, flavonoides, glicosídeos antraquinônicos, saponinas e taninos. Os testes foram realizados em triplicata para cada amostra avaliada em diferentes dias, pois uma das limitações destes ensaios é a possibilidade da ocorrência de reações inespecíficas, podendo gerar resultados falso-negativos ou falso-positivos (SIMÕES et al., 2017). Os resultados foram expressos pelo símbolo (+) como indicativo de presença de cada metabólito avaliado e (-) como indicativo de ausência.

Para identificação de alcalóides nas folhas da pitangueira foram utilizados os Reagentes de Dragendorff e Wagner, seguidos da observação de precipitado específico para cada reagente (alaranjado e marrom respectivamente) comparando-os com o branco, conforme descreve Simões et al. (2017).

Os flavonóides foram identificados pela realização dos testes de Shinoda, Cloreto Férrico e Hidróxido de Sódio, seguindo metodologia de Mouco, Bernardino e Cornélio (2003). A formação respectivamente de precipitados rosa avermelhado, amarelo e verde acastanhado ou violeta indica a presença de flavonoides nas amostras pesquisadas.

A presença dos Glicosídeos Antraquinônicos foi confirmada através da Reação de Bornträger com solução de hidróxido de sódio, onde a formação de coloração rósea, vermelha ou violeta indica resultado positivo (Simões et al., 2017).

O Teste Qualitativo de espuma seguido da adição de ácido clorídrico foi utilizado para verificação da presença de saponinas nas folhas de *Eugenia uniflora* L. segundo indicações de Simões et al. (2017).

Já os taninos foram avaliados pela reação de gelatina a 2,5% de acordo com a metodologia descrita por Mouco, Bernardino e Cornélio (2003). Avaliando-se a formação de precipitado branco. Para a diferenciação de taninos, foi utilizado o teste de Reação com Cloreto Férrico 2% e Reação de Acetato de Chumbo e Acetato de Etila (Mouco, Bernardino e Cornélio, 2003).

2.3 Avaliação Fitoquímica Quantitativa

Para a avaliação fitoquímica quantitativa foram obtidos três extratos empregando diferentes formas de preparo: infuso e decocto aquoso e macerado etanólico 93%, todos com concentração de 5% (p/v) (Auricchio e Bachi, 2003). Tanto a infusão quanto a decoção foram preparadas de acordo com Schulz, Hansel e Tyler (2002), deixando-se a planta em contato com a

água por 7 minutos. A maceração foi preparada seguindo a metodologia de Fiuza et al. (2008) com adaptações, permanecendo por 15 dias à temperatura ambiente, sob agitação diária em frasco âmbar, mantendo a planta protegida da luz.

O teor de polifenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu adaptado de Singleton e Rossi (1965). Em um tubo de ensaio foram adicionados 5 mL de água destilada, 1000 µL de amostra e 500 µL do reativo de Folin-Ciocalteu. Após três minutos de reação foram adicionados 1 mL de carbonato de sódio 5% em cada tubo seguidos de agitação. Após trinta minutos foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 725 nanômetros (nm), tendo como branco uma solução contendo os reativos da análise. Os resultados foram expressos em µg de ácido gálico por grama de amostra. Foi construída uma curva padrão com concentrações conhecidas de ácido gálico.

O doseamento de flavonoides totais foi realizado de acordo com a metodologia descrita na Farmacopéia Brasileira IV (Brasil, 2002) para calêndula, com modificações. Frações de 5 mL dos chás foram adicionadas em balões volumétricos de 10 mL, adicionando-se 500 µL de solução metanólica de cloreto de alumínio a 2% (m.v⁻¹) e completando o volume com solução metanólica de ácido acético a 5% (v.v⁻¹). Os preparados foram colocados em vidro âmbar sob repouso de 30 minutos, para posterior leitura em espectrofotômetro em 425 nm. Para cada amostra foi preparado um branco, transportando-se uma fração de 5 mL da amostra e ajustando-se o volume para 10 mL com solução metanólica de ácido acético a 5% (v.v⁻¹). Os cálculos dos teores de flavonoides foram realizados através da construção de curva de calibração com quercetina submetida à regressão linear, sendo que os resultados foram expressos em mg de quercetina por grama de folha seca.

Os resultados das análises quantitativas, as médias e os desvios padrões foram avaliados pelo programa estatístico PrismaPad 5.01.

3. Resultados e Discussão

3.1 Análise Fitoquímica Qualitativa

Nesta pesquisa foram utilizados testes clássicos para verificar a presença de metabolitos secundários nos quais foram analisados os alcaloides, flavonoides, glicosídeos antraquinônicos, saponinas e taninos. Para os metabolitos já citados, apenas o teste de verificação de glicosídeos antraquinônicos obteve resultado negativo, como exposto na Tabela 1. Diversos autores estão em concordância a estes achados, como Lorenzi e Matos (2008), Brasil (2015), Silva e Lima (2016) e Meira et al. (2020) ao relatarem a presença de flavonoides, alcaloides, taninos e saponinas, além de glicosídeos cardiotônicos e triterpenos.

Tabela 1 - Análise das reações fitoquímica qualitativa das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Urcamp, Bagé/RS).

METABÓLITOS	REAÇÕES	RESULTADOS
Alcaloides	Dragendorf	+
	Wagner	+
	Shinoda	+
Flavonoides	Cloreto Férrico	+
	Hidróxido de Sódio	+
Glicosídeos Antraquinônicos	Bornträger	-
Taninos	Gelatina 2,5%	+
Saponinas	Teste de espuma	+

Legenda: (+) indicativo de presença; (-) indicativo de ausência. Fonte: Autores (2021).

Os flavonoides são divididos em classes, de acordo com variações estruturais ocorridas no anel C (Simões et al., 2017). As principais classes de flavonoides são as flavonas, flavonóis, chalconas, auronas, flavanonas, flavanas, antocianidinas, leucoantocianidinas, proantocianidinas, isoflavonas e neoflavonóides (Dornas et al., 2008). Na análise qualitativa para os flavonoides foram obtidos aqui resultados positivos em reações de Shinoda, Cloreto Férrico e Hidróxido de Sódio caracterizando dentre as classes de flavonoides presentes no extrato das folhas de pitangueira, as flavanonas e flavonóis,

através da obtenção de coloração violeta no Teste de Shinoda, de verde acastanhado escuro na Reação de Cloreto Férrico e de amarelo escuro no Teste de Hidróxido de Sódio, conforme demonstra a Figura 1. Entretanto, a classe de flavonoides encontrada no teste preliminar qualitativo “flavanonas”, não foi mencionada em estudos fitoquímicos na literatura consultada da referida planta. Segundo Pereira, Monteiro e Siqueira (2020) estudos feitos com o extrato hidroalcoólico das folhas de pitangueira permitiram a identificação de flavonoides da classe dos flavonóis, miricetina e quercetina. Em determinações colorimétricas, Brasil (2015), confirmou a presença de flavonoides da classe dos flavonóis.

Figura 1 - Testes qualitativo para verificação de flavonoides (Urcamp, Bagé/RS).



Legenda: Tubo B (Branco): Verde Claro; Tubo SH (Reação de Shinoda): Violeta; Tubo CFe (Reação de Cloreto Férrico): Verde Acastanhado Escuro e Tubo NaOH (Reação de Hidróxido de Sódio): Amarelo Escuro. Fonte: Autores (2021).

Os taninos podem ser encontrados como taninos hidrolisáveis e condensados de acordo com sua estrutura química. Nos testes de diferenciação de taninos se obteve resultado positivo para taninos hidrolisáveis, através da formação de coloração azul na reação empregando Cloreto Férrico 2% e na Reação de Acetato de chumbo e acetato de etila foi confirmada a presença de taninos hidrolisáveis com a formação de precipitado branco.

As amostras de pitangueira da referida pesquisa foram coletadas no mês de fevereiro de 2021 no município de Bagé, onde o fator climático pode ter influenciado nos dados resultantes das análises. De acordo com os veículos de comunicação locais, o mês de fevereiro teve o dobro do volume de chuva esperado para o período (Jornal Folha do Sul, 2021; Jornal Mínuano, 2021). Segundo Brasil (2015), estações chuvosas influenciam nos altos teores de taninos hidrolisáveis, assim se justifica o resultado encontrado na análise qualitativa preliminar, mostrando que o fator climático tem influência nas concentrações de fenóis da *Eugenia uniflora* L.

3.2 Análise de Fenóis totais

A dosagem de fenóis totais foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu adaptado de Singleton e Rossi (1965) em triplicata, em dias diferentes, utilizando o método espectrofotométrico de leitura da absorbância a 725 nanômetros. Os resultados destas análises foram expressos em $\mu\text{g/g}$ de folhas secas demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Doseamento de fenóis totais em diferentes extratos das folhas secas de *Eugenia uniflora* L. (µg/g).

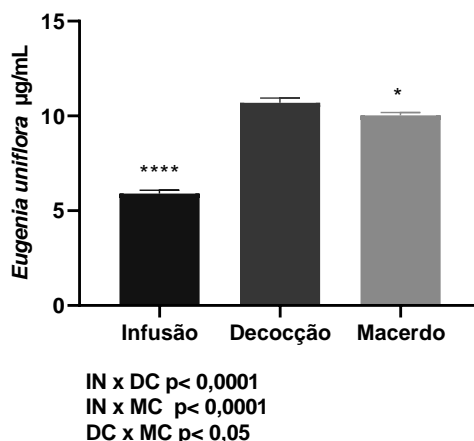
DIA	AMOSTRAS	INFUSÃO	DECOCÇÃO	MACERADO
1°	1	5,716	10,325	9,862
	2	5,723	10,352	9,860
	3	5,771	10,632	9,880
2°	1	5,819	10,701	9,948
	2	5,839	10,701	10,034
	3	6,078	10,735	10,085
3°	1	6,078	10,786	10,119
	2	6,085	10,991	10,239
	3	6,085	11,059	10,239
Desvio padrão		0,166937	0,247109	0,151933
Média		5,910444	10,698	10,02956

Fonte: Autores (2021).

Pode ser observado que o método de preparo por infusão obteve a menor média da dosagem dos fenóis totais. Já os métodos de decocção aquosa e macerado hidroalcoólico obtiveram uma média maior, confirmando que o método de preparo do extrato, tipo de solvente extrator, tempo de contato do solvente com a droga, pode ter influência nos resultados aqui demonstrados. Rodrigues et al., (2010) afirmam que os extratos obtidos das folhas da pitangueira têm mostrado inibição do aumento da glicose e de triglicerídeos no plasma, possuindo também atividade antimicrobiana e atividade antifúngica e dentre os compostos responsáveis por estas atividades farmacológicas, estão os compostos fenólicos. Igualmente, Auricchio e Bacchi (2003) citam que a infusão formada a partir de folhas frescas apresenta efeito anti-inflamatório, que pode ser decorrente da presença de compostos fenólicos. Em análise dos constituintes fenólicos das folhas de pitangueira, foi observado a presença de eugeniflorina D1 (C75H52O48) e eugeniflorina D2 (C68H48O45), dois taninos macrocíclicos hidrolisáveis, obtidos do extrato metanólico das folhas.

Ao analisar a variação estatística explanada na Figura 2, podemos observar uma pequena variação significativa ao comparar o método de maceração hidroalcoólica ao método de decocção aquosa, demonstrado por $p < 0,05$. Entretanto, comparando o método de infusão com o método de decocção e macerado, pode ser observado que a preparação feita por decocto e macerado apresentaram uma variação estatística significativa, representada pelo $p < 0,0001$, em relação à infusão. Esta variação também pode ser observada nos valores numéricos dos teores de fenóis totais, onde obtivemos para o decocto e para macerado, 10,698 e 10,029 µg/g de fenóis totais, respectivamente, ou seja, mais ou menos o dobro do teor de fenóis em relação ao infuso, resultado este que pode se justificado ao tempo que estes foram submetidos a extração para o macerado e temperatura mais elevada para o decocto.

Figura 2 - Análise estatística de fenóis totais das folhas de *Eugenia uniflora* L.



Fonte: Autores (2021).

Núñez et al. (2018) relatam a importância dos compostos derivados de plantas como fonte para descoberta de vários agentes anticancerígenos clinicamente benéficos. Em um estudo realizado por Núñez et al. (2018), foi observado que o tratamento com a solução aquosa do extrato bruto obtido a partir das folhas de *Eugenia uniflora* L. foi capaz de alterar muitos parâmetros celulares relevantes para o crescimento, expansão e sobrevivência das células cancerosas do colo do útero humano, pelo qual dados indicam um aumento no risco para câncer cervical invasivo em mulheres após tratamento da neoplasia.

De acordo com Cirqueira e Alves (2005) em suas análises, após colher folhas de pitangueira no mês junho, as mesmas foram secas para elaboração de extratos aquosos seguidos pelo método de decocção formulando extratos de diferentes concentrações que foram administrados em ratos normotensos anestesiados, os resultados mostraram que extratos aquosos obtidos a partir das folhas de *Eugenia uniflora* L. possuem efeitos hipotensivo e diuréticos nestes animais.

Extratos elaborados com as folhas de *Eugenia uniflora* L. por extração a álcool, pelos métodos de maceração, decocção, infusão e óleo essencial obtiveram resultado positivos como agentes inseticidas sobre determinadas formigas (Jung et al., 2013).

O método de maceração produzida com álcool etanólico a 95% se mostraram eficazes em estudos realizados por Santos et al. (2012) frente a doença de Chagas, que é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, onde, as folhas de *Eugenia uniflora* L. foram coletadas em estação chuvosa no mês de abril para a respectiva preparação. Abdelfattah et al. (2021) citam que compostos fenólicos identificados nas folhas da pitangueira demonstraram ligação *in silico* ao mesmo sítio de ligação de sete drogas validadas alvos em *Trypanosoma brucei*, validando esta planta com potencial para tratar infecções por tripanossomas. Afirmam Santos et al. (2012) que espécie *Eugenia uniflora* L. se mostra promissora no desenvolvimento de terapias, principalmente devido à baixa toxicidade *in vitro*, o que permite prosseguir com estudos *in vivo*.

3.3 Doseamento de Flavonóides

O doseamento de flavonoides totais foi realizado de acordo com a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira IV (Brasil, 2002) para calêndula, com a leitura em espectrofotômetro em 425 nm. As análises foram executadas em triplicadas, em dias diferentes. Os cálculos dos teores de flavonoides foram realizados através da construção de curva de calibração com quercetina submetida à regressão linear, os resultados destas análises foram expressos em mg/g de folhas secas (Tabela 3).

Tabela 3 - Doseamento de flavonoides em diferentes extratos das folhas secas de *Eugenia uniflora* L. (mg/g).

DIA	AMOSTRAS	INFUSÃO	DECOCÇÃO	MACERADO
1°	1	0,409	1,124	2,449
	2	0,412	1,130	2,449
	3	0,417	1,142	2,582
2°	1	0,429	1,182	2,599
	2	0,447	1,197	2,678
	3	0,517	1,212	2,695
3°	1	0,524	1,227	2,703
	2	0,539	1,249	2,712
	3	0,544	1,299	2,449
Desvio padrão		0,058586	0,058403	0,11522
Média		0,470889	1,195778	2,590667

Fonte: Autores (2021).

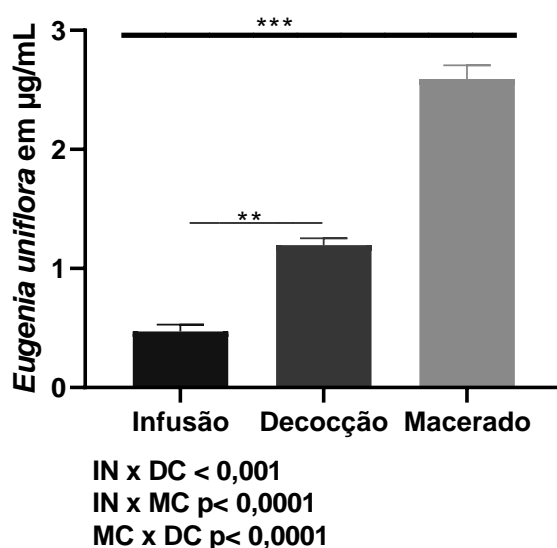
Da mesma forma que na dosagem de fenóis totais, a infusão obteve a menor média comparada com a decocção e maceração. O macerado hidroalcoólico obteve a maior média, assim se confirma que os métodos de extração e fatores intrínsecos (cultivo, variedade, estágio de maturação) e extrínsecos (condições climáticas e edáficas), podem contribuir nas variações qualitativas e quantitativas desses metabolitos. Huber e Rodriguez-Amaya (2018) relatam que há um grande interesse nos flavonoides, em estudos epidemiológicos que mostraram que uma dieta rica nestes compostos está associada ao

baixo risco de doenças cardiovasculares e algumas formas de câncer. Mais especificamente, Fidelis et al. (2022) afirmam que ações antioxidantes de *Eugenia uniflora* L. estão sendo avaliadas através de ensaios in vitro e in vivo. Extrato metanólico das folhas da pitangueira com alto teor de flavonóides (42,46 mg/g) demonstrou atividade sequestrante do radical DPPH, além de reduzir os níveis de peroxidação lipídica (Sobral-Souza et al., 2014).

Analisando a variação estatística expressa na Figura 3, pode ser observado que o macerado etanólico obteve uma variação superior comparada com os métodos de infusão e decocção. No entanto, nessa preparação foi utilizado álcool 93% como veículo de extração, justificando assim a variação estatística nesse método para o doseamento de flavonoides das folhas de *Eugenia uniflora* L.

Segundo Núñez et al. (2018), os compostos polifenólicos como os flavonoides têm uma gama enorme de ações farmacológicas que compreendem ações como anti-inflamatórias, antialérgicas, antivirais, antibacteriano, antifúngico, antitumoral e anti-hemorrágico. Pereira, Monteiro e Siqueira (2020) relatam que o extrato hidroalcoólico constituído das folhas da pitangueira permitiram a identificação de compostos fenólicos flavonídicos como a miricitrina, quercitrina, miricetina e quercetina, os quais são citados como responsáveis por parte das atividades terapêuticas desta planta.

Figura 3 - Análise estatística de Flavonoides presentes nas folhas de *Eugenia uniflora* L.



Fonte: Autores (2021).

4. Considerações Finais

As folhas da *Eugenia uniflora* L. (pitangueira) apresentam uma diversidade de propriedades com ações em várias doenças e, assim, são bastante utilizadas na medicina popular. Entretanto, para que a planta desenvolva sua atividade terapêutica é preciso que os metabólitos secundários estejam contidos nas partes utilizadas da mesma.

Os resultados obtidos nesta pesquisa mostraram que fatores externos influenciam na produção de metabólitos secundários das plantas, uma vez que os taninos hidrolisáveis que foram encontrados podem estar relacionados ao grande volume de chuva ocorrido. Igualmente aos fatores internos, como método de extração empregado e solvente utilizado, influenciaram nos resultados obtidos aqui. Além disso, a classe de flavonoides encontrada no teste preliminar qualitativo flavanonas, não foi mencionada em estudos fitoquímicos na literatura consultada da referida planta. Assim, novos testes empregando diferentes metodologias (HPLC - *High-performance liquid chromatography* – com espectrometria de massas e espectroscopia por ressonância magnética nuclear - RMN) podem ser realizados para a confirmação destes achados.

Referências

- Abdelfattah, M. A. O. et al. (2021). *Eugenia uniflora* and *Syzygium samarangense* extracts exhibit anti-trypanosomal activity: Evidence from in-silico molecular modelling, in vitro and in vivo studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 1-12.
- Auricchio, M. T. et al. (2007). Atividades Antimicrobiana e Antioxidante e Toxicidade de *Eugenia uniflora* L. *Am. J. Pharm.*, 26 (1), 76-81.
- Auricchio, M. T., & Bacchi, E. M. (2003) Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. *Rev.Inst. Adolfo Lutz*, 62 (1), 55-61.
- Brasil. (2002). Farmacopeia Brasileira. Atheneu.
- Brasil. (2015) Monografia da espécie *Eugenia uniflora* L. (pitangueira). Brasília, Disponível em <<https://www.gov.br/saude/pt-br/acao-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/2017/arquivos/MonografiaEugeniauniflora.pdf>> Acesso em: set 2021.
- Cirqueira, R. T., & Alves, M. J. Q. F. (2005). Efeitos hipotensivo e diuréticos dos extratos aquosos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e jambolana Lam. em ratos normotensos anestesiados. *Rev. Bras. Pl. Med.*, 7 (2), 86-91.
- Dornas, W.C. et al. (2008). Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, 28 (3), 41- 249.
- Fidelis, E. M. et al. (2022). Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) as a source of bioactive compounds for health benefits: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 15, 1-22.
- Fiuza, T. S. et al. (2008). Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). *Revista Eletrônica de Farmácia*, 5 (2), 21-31.
- Folha do Sul. (2021). Volume de chuva ultrapassa o dobro da média histórica do mês. <<https://www.jornalfolhadosul.com.br/noticia/17/02/2021/volume-de-chuva-ultrapassa-o-dobro-da-media-historica-do-mes>>
- Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova*, 30 (2), 374-381.
- Huber, L. S., & Rodriguez-Amaya, D. B. (2018). Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. *Alim. Nutr.*, 19 (1), 97-108.
- Jornal Minuano. (2021) Após chuva, Defesa Civil atende cerca de 16 pontos de alagamento em Bagé. <https://www.jornalminuano.com.br/noticia/2021/02/13/apos-chuva-defesa-civil-atende-cerca-de-16-pontos-de-alagamento-em-bage>
- Jung, P. H. et al. (2013). Atividade Inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. *Floresta e Ambiente*, 20 (2), 191-196.
- Lorenzi, H., & Matos, F. J. A. (2008). *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Instituto Plantarum
- Núñez, J. G. et al. (2018). Antineoplastic potential of the aqueous crude extract of *Eugenia uniflora* L. in human cervical câncer. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 54 (2), 1-10
- Meira, E. F. et al. (2020). *Eugenia uniflora* (pitanga) leaf extract prevents the progression of experimental acute kidney injury. *Journal of Functional Foods*, 66, 1-9
- Mendonça, A. T. et al. (2016). A utilização dos extratos hidroalcoólico e alcoólico de *Eugenia uniflora* L. como agente antibacteriano. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, 14 (1), 826-833.
- Mouco, G., Bernardino, M. J., & Cornélio, M. (2003). Controle de qualidade de ervas medicinais. *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*. 31, 68-73.
- Pereira, D. M. et al. (2020). Caracterização da composição nutricional e do teor de pigmentos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) nas variedades vermelha e roxa. *Braz. J. of Develop.*, 6 (8), 58026-58038.
- Pereira, I. R. S., Monteiro, I. G., & Siqueira, L. P. (2020). Extrato da *Eugenia uniflora* L. (pitangueira) e sua ação anti-inflamatória em afecções dermatológicas – Uma revisão da literatura. *Braz. J. of Develop.*, 6 (6), 33630-33645.
- Queiroz, J. M. G. et al. (2015). Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. *Revista Fitos*, 9 (2), 87-100.
- Rodrigues, N. M., Sandini, T. M., Perez, E. (2010). Avaliação farmacognóstica de folhas de *Eugenia uniflora* L., Myrtaceae (Pitangueira), advindas da cidade de Guarapuava, PR. *Biosaúde*, 12 (1), 1-13.
- Santos, K. K. A. et al. (2012). Anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of *Eugenia uniflora* L. *Experimental Parasitology*, 131 (1), 130-132.
- Schulz, V., Hänsel, R., & Tyler, V. E. (2002). *Fitoterapia racional: Um Guia De Fitoterapia Para as Ciências Da Saúde*. Editora Manole Ltda.
- Silva A, C. O., & Lima R. A. (2016). Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental Santa Maria*, 20 (1), 381-388.
- Simões, C. et al. (Org.). (2017). *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Editora UFRGS
- Singleton, V., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *American Society for Enology and Viticulture*, 16(3), 144-58.
- Sobral-Souza, C. E. et al. (2014). Avaliação da atividade antioxidante e citoprotetora dos extratos de *Eugenia uniflora* Lineau e *Psidium soblealeanum* Proença & landrum contra metais pesados. *Rev. Cienc. Salud.*, 12 (3): 401-409.