

## Atividade antioxidante (ROO<sup>•</sup>, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> e DPPH) e composta fenólicos majoritária para folha, flor, ramo e inflorescência da *Achillea millefolium*.

Antioxidant activity (ROO<sup>•</sup>, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> and DPPH) and phenolic compounds for leaf, flower, twig and inflorescence of *Achillea millefolium*.

Carolina Bolssoni Dolwitsch<sup>1</sup>, Fernanda Brum Pires<sup>1</sup>, Roberta Fabricio Loose<sup>2</sup>, Valéria Dal Prá<sup>1</sup>, Viviane Maria Schneider<sup>2</sup>, Marcella Emilia Petra Schmidt<sup>2</sup>, Debora Luana Monego<sup>2</sup>, Camilo Amaro Carvalho<sup>3</sup>, Adriano Alves Fernandes<sup>4</sup>, Marcio Antônio Mazutti<sup>5</sup> e Marcelo Barcellos da Rosa<sup>1-2</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil; vdpdalpra@gmail.com; caroldol@gmail.com; fernandabrumpires@gmail.com; marcelobdarosa@gmail.com;

<sup>2</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil; roberta\_loose@hotmail.com; vivimsch@gmail.com; marcellaeps@gmail.com; debora.monego@gmail.com

<sup>3</sup>Departamento de Medicina e Enfermagem, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil; camiloamaro@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Departamento de Ciências Agrárias e Bilógicas, Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, Brasil; afernandesufes@gmail.com;

<sup>5</sup>Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil. marciomazutti@gmail.com

### Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante (ROO<sup>•</sup>, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> e DPPH) e o perfil cromatográfico de compostos fenólicos da folha, flor, ramo e inflorescência da *Achillea millefolium*. Os extratos etanólicos das diferentes partes da planta obtidos através de extração por ultrassom foram caracterizados por cromatografia líquida acoplada a um detector UV-HPLC-UV. Além disso, avaliou-se a atividade antioxidante frente aos radicais DPPH, superóxido e peróxil. Como resultado, a maioria dos extratos apresentou atividade antioxidante frente aos radicais investigados, além de que foram identificados os compostos quercetina, quercetrina, flavona, ácido cafeico e canferol nas partes investigadas da planta. Por fim, o estudo demonstrou que é de extrema importância se saber qual parte da planta está sendo avaliada, visto que estas apresentam diferenças na atividade antioxidante e na composição química.

**Palavras-chave:** *Achillea*; atividade antioxidante; perfil cromatográfico.

### Abstract

The aim of the present work was to evaluate the antioxidant activity (ROO<sup>•</sup>, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> and DPPH) and the chromatographic profile of phenolic compounds of the leaf, flower, twig and inflorescence of *Achillea millefolium*. The ethanolic extracts from different parts of the plant, obtained by ultrasound extraction, were characterized by liquid chromatography with UV (HPLC-UV) detection. Moreover, the antioxidant activity of the extracts was evaluated in different systems, namely, radical scavenging activity of DPPH reduction, superoxide and peroxy radicals. Most extracts showed antioxidant activity in the investigated systems. Furthermore, quercetin, quercetrin, flavone, caffeic acid and kaempferol were identified on the investigated parts of the plant. Finally, this study demonstrated that it is paramount to know which part of the plant is under assessment, as they present differences in the antioxidant activity and chemical composition.

**Keywords:** *Achillea*; antioxidant activity; chromatographic profile.

Recebido: 07/05/2016 Aceito: 07/05/2016

## Introdução

Na busca de espécies vegetais como fonte de antioxidantes naturais, algumas plantas medicinais e frutas têm sido extensivamente estudadas por sua atividade antioxidante (SINGH, MURTHY, & JAYAPRAKASHA, 2002). Dentre elas destaca-se a *Achillea millefolium* L., uma espécie pertencente à família Asteraceae, do gênero *Achillea*, representado por cerca de 85 espécies encontradas principalmente na Europa, na Ásia e em grande parte da América do Norte (Könemann, 1999).

Davis (1982) em seus trabalhos relatou um total de quarenta espécies do gênero *Achillea* largamente distribuídas na Turquia. Na Lituânia, *Achillea millefolium* L. é mais conhecida como milefólio, e está entre as espécies de plantas mais utilizadas na medicina popular há mais de 3000 anos (RADUŠIENE & GUDAITYTE, 2005; CANDANA ET AL., 2003; MITICH, 1990). No Brasil ela é considerada como uma espécie adaptada ao clima brasileiro.

Dentre as indicações medicinais, a espécie *Achillea millefolium* L. tem sido utilizada popularmente como agente de cicatrizante de feridas, aperitivo, diurético e regulador carminativo (BAYTOP, 1999). Segundo Rosa et al. (2008), a *A. millefolium* L. é considerada como antibacterianas, antifúngica, antitumoral, cicatrizante, anti-oxidante, anti-edematosa, e indicada com grande potencial para o emprego em preparações fotoprotetoras de uso tópico. Além destas indicações, a espécie é reconhecida por sua produção de óleos essenciais compostos por borneol, azuleno,  $\alpha$  e  $\beta$  pineno, transnerolidol, cineol, cânfora,  $\beta$ -cariofileno, guaiol, proazuleno, eucaliptol e compostos fenólicos como taninos, cumarinas (TRUMBECALITE ET AL., 2011; SI ET AL., 2006), sendo os flavonóides e ácidos fenólicos os constituintes mais importantes farmacologicamente (TUMBECALITE ET AL., 2011).

Corroborando com estes dados Kocevar et al. (2008) relatam que as ações farmacológicas de *A. millefolium* L. são atribuídas à presença de lactonassessquiterpênicas, azuleno (principal constituinte do óleo essencial) e flavonoides (ações espasmolítica, colorética, antimicrobiana e antioxidativa). Algumas flavonas e flavonóides já foram isoladas e ocorrem como mono e diglicosídeos de apigenina, luteolina, quercetina e rutina (KOCEVAR, ET AL., 2008; BENEDEK E KOOP, 2007).

Muitos compostos antioxidantes que ocorrem naturalmente, a partir de fontes vegetais, têm sido identificados como eliminadores de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (KUMARAN & KARUNAKARAN, 2007; ZHENG & WANG, 2001). Recentemente, o interesse tem aumentado consideravelmente na busca por antioxidantes de ocorrência natural para utilização em alimentos ou medicamentos, com o objetivo de substituir os materiais antioxidantes sintéticos, de uso restrito devido aos seus efeitos secundários, tais como a carcinogenicidade (KUMARAN & KARUNAKARAN, 2007; ITO ET AL., 1983). Pesquisas científicas têm revelado que a ingestão de

antioxidantes como polifenóis possuem grande eficácia na prevenção de várias doenças (KUMARAN & KARUNAKARAN, 2007; CAO, 1997; VINSON ET AL., 1995).

Os radicais livres, na forma de espécies reativas de oxigênio (Eros) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), são uma parte integrante da fisiologia normal (DAVID ET AL., 2007). No entanto, as Eros exercem um papel importante nos processos degenerativos ou patológicos em várias doenças humanas, como o envelhecimento (HALLIWELL, 1989), câncer, doenças coronarianas, doença de Alzheimer (BURNS ET AL., 2007), desordens neurodegenerativas, aterosclerose e inflamação (DIAZ ET AL., 2007).

Espécies reativas de oxigênio (Eros), tais como radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), ânion radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) e hidroperoxila ( $\text{ROO}^{\cdot}$ ), causam danos ao DNA ou podem oxidar lipídios e proteínas. O Eros atacam as cadeias de ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolipídios e do colesterol, abstraindo um hidrogênio do grupo metileno bis-álíico, iniciando assim o processo de peroxidação lipídica nas membranas celulares. Os radicais de carbono formados podem reagir com oxigênio originando radicais peroxila, que por sua vez podem atacar novas cadeias de ácidos graxos poliinsaturados, propagando a reação. O resultado deste processo é a oxidação de várias moléculas de ácidos graxos (GALLICE ET AL., 2011; SOUSA ET AL., 2007; VALKO ET AL., 2004; EL-AGAMEYET AL., 2004; OMONI & ALUKO, 2005; HASLAM, 1996).

Os hidroperóxidos formados na peroxidação lipídica têm vida curta e, quando reagem com metais, formam aldeídos (malonaldeído, acroleína, crotonaldeído) e epóxidos, os quais são reativos e causam danos de novo ao DNA (GALLICE ET AL., 2011; SOUSA ET AL., 2007; VALKO ET AL., 2004; EL-AGAMEYET AL., 2004; OMONI & ALUKO, 2005; HASLAM, 1996). Já as substâncias antioxidantes em sistemas biológicos têm múltiplas funções, que incluem proteção contra danos oxidativos e prevenção dos danos causados pelas Eros (ARUOMA, 1998). As plantas podem ser uma fonte de ampla variedade de moléculas sequestradoras de radicais livres, como compostos fenólicos (ex.: flavonoides, cumarinas, quinonas etc.), compostos nitrogenados (alcaloides), terpenoides e alguns outros metabólitos (KANNAN ET AL, 2010; LARSON, 1998). Neste sentido, este trabalho tem por objetivo avaliar a atividade antioxidante ( $\text{ROO}^{\cdot}$ ,  $\text{O}_2^{\cdot-}$  e DPPH) e o perfil cromatográfico para compostos fenólicos da folha, flor, ramo e inflorescência da *Achillea millefolium*.

## Materiais e Métodos

### Obtenção dos extratos

As amostras (folha, flor, ramo e inflorescência) de *Achillea millefolium* L. foram obtidas da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Os extratos foram

preparados pesando-se 1g de amostra e dissolvendo-se em 10 mL de etanol (10% m/v). Em seguida, sonicou-se em banho ultrasônico-UNIQUE por 60 minutos a 30°C, filtrados em filtro de papel 12,5 mm e membrana de 0,45 µm, antes da análise cromatográfica. Os extratos foram mantidos a 5°C até o momento das análises.

### Perfil Cromatográfico

Para determinar o perfil constitucional de compostos fenólicos nas diferentes partes da *Achillea millefolium* L., utilizou-se o método proposto por Lima (2012), o qual se utilizou de um sistema de cromatografia em fase reversa cromatógrafo (Knauer) acoplado a detector de Arranjo de Fotodiodos (DAD) com sistema de separação por gradiente. As análises cromatográficas foram realizadas à temperatura ambiente ( $21 \pm 2$  °C), utilizando uma coluna C18(4,6 mm ID X 250 mm, tamanho de partícula 5 µm). O gradiente de eluição era composto por ácido ortofosfórico (0,1%, v/v) como solvente A e acetonitrila como solvente B. As condições de eluição de gradiente foram: 90-80% de A e 10-20% B (0 - 5 min); 80-75% de A e B de 20-25% (5-35 min); 75-0% A e 25-100% B (35-55 min). O fluxo utilizado foi de: 0,8 ml/min (0-35 min); 0,8-1,0 ml/min (35-55 min). A identificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos das plantas em estudo foi baseada na comparação entre os picos cromatográficos dos extratos e dos padrões analíticos, através dos tempos de retenção. Além disso, fez-se adição de padrões, os quais haviam sido previamente identificados nos extratos pelo tempo de retenção, e observou-se se haveria ou não aumento de área cromatográfica.

### Atividade antioxidante

#### Método do radical ânion superóxido

A avaliação da capacidade de sequestrar radicais livres em relação ao radical superóxido, foi baseada na geração do radical  $O_2^{\cdot-}$  através do sistema enzimático pela reação da hipoxantina catalisada pela enzima xantina oxidase proposto por Zhao et al. (2006). Foram adicionados 100 µL de amostra à solução de reação, que consiste em 100 µL de uma solução de EDTA 30 mM; 100 µL de uma solução 3 mM de hipoxantina e 200 µL de uma solução 1,42 mM de Nitro Blue Tetrazolium (NBT). Após a mistura foi pré-incubada a temperatura ambiente por três minutos, foi adicionado 100 µL de uma solução de xantina oxidase com concentração 0,75 U/ml e o volume foi completado até 3 ml com tampão fosfato 0,05 M (pH 7,4). A solução final foi então incubada em temperatura ambiente por 40 minutos e a absorbância foi medida em 560 nm. A atividade de sequestro do radical superóxido foi calculada utilizando a equação (1)

$$O_2^{\cdot-} \text{ atividade antioxidante (\%)} = \left[ 1 - \frac{(S-S_B)}{(C-C_B)} \right] \times 100 \quad (1)$$

Onde  $S$ ,  $S_B$ ,  $C$  e  $C_B$  são as absorvências da amostra, do branco da amostra, do controle e do branco do controle respectivamente.

#### Método do radical peroxila (ROO•)

A avaliação da atividade antirradicalar das amostras frente ao  $ROO^{\cdot}$ , foi realizada pelo método fluorimétrico, no qual emprega-se o diacetato de 2,7-diclorofluoresceína (DCFH2-DA) como substrato (AMADO et al., 2009). Para a montagem da placa de análise contendo 96 poças, a mesma foi dividida em duas regiões, sendo que a região 1 (branco das medidas) corresponde as linhas A, B, C e D, e a região 2 corresponde as linhas E, F, G e H. As 3 primeiras poças, tanto na região 1 quanto na 2, são reservadas para o solvente, em que foi adicionado 10 µL do solvente utilizado nas amostras. No restante da placa, foram adicionados 10 µL de amostra em triplicata (3 poças) na região 1 e na região 2. Após foi adicionado o tampão de reação (127,5 µL), em todas as poças da placa. Por fim, adicionou-se 7,5 µL de água ultrapura na região 1 e 7,5 µL da solução de ABAP (4 mmol · L<sup>-1</sup>) na região 2. Imediatamente antes da análise da placa, no fluorímetro, foi adicionado 10 µL de DCFH2-DA (16 µmol · L<sup>-1</sup>), previamente desacetilado. O fluorímetro foi programado para manter a temperatura a 37°C e medir a fluorescência nos comprimentos de onda de 485 nm (excitação) e 520 nm (emissão) a cada 5 minutos, num intervalo total de 30 minutos. O tampão de reação utilizado nesta determinação é composto de HEPES (30 mmol · L<sup>-1</sup>), KCl (200 mmol · L<sup>-1</sup>) e MgCl<sub>2</sub> (1 mmol · L<sup>-1</sup>). A desacetilação química do DCFH2-DA, gerando o composto DCFH2, foi realizada com a adição de 2,0 ml de NaOH (0,01 mol · L<sup>-1</sup>) em uma solução etanólica de (5 mmol · L<sup>-1</sup>) de DCFH2-DA, em temperatura ambiente e ao abrigo de luz. Após 30 minutos, adicionou-se 10 ml de tampão fosfato 25 mmol L<sup>-1</sup> (PH 7,4), composto de fosfato mono e dibásico, armazenando-se a solução em gelo até o momento do uso. A atividade antirradicalar contra o radical peroxil ( $AA_{ROO^{\cdot}}$ ) das amostras foi determinada com base na medida referente ao tempo de 30 minutos de reação, e calculada conforme equação (2) abaixo:

Onde  $F_A$  é a fluorescência da amostra, com ABAP,

$$AA_{ROO^{\cdot}} = \left( 1 - \frac{(F_A - F_{AB})}{(F_S - F_{SB})} \right) \times 100 \quad (2)$$

$F_{AB}$  é a fluorescência do branco da amostra, sem ABAP,  $F_S$  é a fluorescência do solvente utilizado nas amostras, com ABAP, e  $F_{SB}$  é a fluorescência do branco do solvente, sem ABAP.

#### Método do radical DPPH

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada da seguinte forma: 1500 µL da amostra será adicionada a 1480 µL da solução de DPPH e 20 µL da solução de

trabalho. Paralelamente conduziu-se um branco para cada amostra contendo 1500  $\mu\text{L}$  da amostra e 1500  $\mu\text{L}$  de solução de trabalho. Foi necessário conduzir um branco para o DPPH para o cálculo da atividade antioxidante, dessa forma 1480  $\mu\text{L}$  de DPPH foram adicionados a 1520  $\mu\text{L}$  de solução de trabalho. Após 30 minutos de reação sob abrigo da luz as absorvências foram medidas em 522 nm. A porcentagem da atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi calculada conforme equação(3):

Onde  $A_{\text{DPPH}}$  é a absorvência da solução de DPPH,  $A$

$$AA_{\text{DPPH}} = \left( \frac{A_{\text{DPPH}} - (A - A_B)}{A_{\text{DPPH}}} \right) \times 100 \quad (3)$$

e  $A_B$  são as absorvências da amostra e branco, respectivamente.

## Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os dados do teor de fenólicos totais para diferentes partes de *Achillea millefolium*. Os teores variaram de 2,42 mg/g à 6,87mg/g de fenólicos totais por grama de extrato na concentração de 10% etanol. Verificou-se que para as diferentes partes da planta houve um aumento crescente na concentração de fenólicos totais, sendo que a menor concentração encontrada foi para folha e maior para flor. Resultado que está de acordo com os dados encontrados por Queires e Rodrigues (1998), os quais dosaram o teor de fenólicos totais em diferentes órgãos da *Schinus Terebenthifolius*,

popularmente conhecida como aroeira, e a flor foi o órgão estudado que apresentou maior teor desses compostos. Kraujaliet al. (2013) avaliaram o teor de fenólicos totais em diferentes partes de *Amaranthus spp.*, sendo que os valores encontrados para folhas foram seis vezes superiores em relação aos ramos e similares as flores. Esses

Tabela 1. Teor de fenólicos totais em mg de ácido gálico por grama extrato etanólico de diferentes órgãos da planta *Achillea millefolium* L.

Extrato etanólico	Fenólicos totais mg/g
<i>Achillea millefolium</i> L - ramos	2,42
<i>Achillea millefolium</i> L - folha	2,76
<i>Achillea millefolium</i> L - inflorescência	4,67
<i>Achillea millefolium</i> L - flores	6,87

dados foram estatisticamente analisados pelo teste de Tukey, onde pode-se observar que o teor de fenólicos totais na folha e inflorescência não apresentam diferenças estatisticamente significativas, já o ramo não apresenta diferença significativa em relação a folha e inflorescência, porém a flor é estatisticamente diferente dos demais.

Para identificação dos prováveis compostos fenólicos presentes nas diferentes partes de *Achillea millefolium*, os extratos foram submetidos à análise cromatográfica por HPLC utilizando o método de Lima (2012). As figuras 1(a), 1(b), 1(c) e 1(d) apresentam o perfil cromatográfico dos extratos, bem como a sobreposição dos padrões

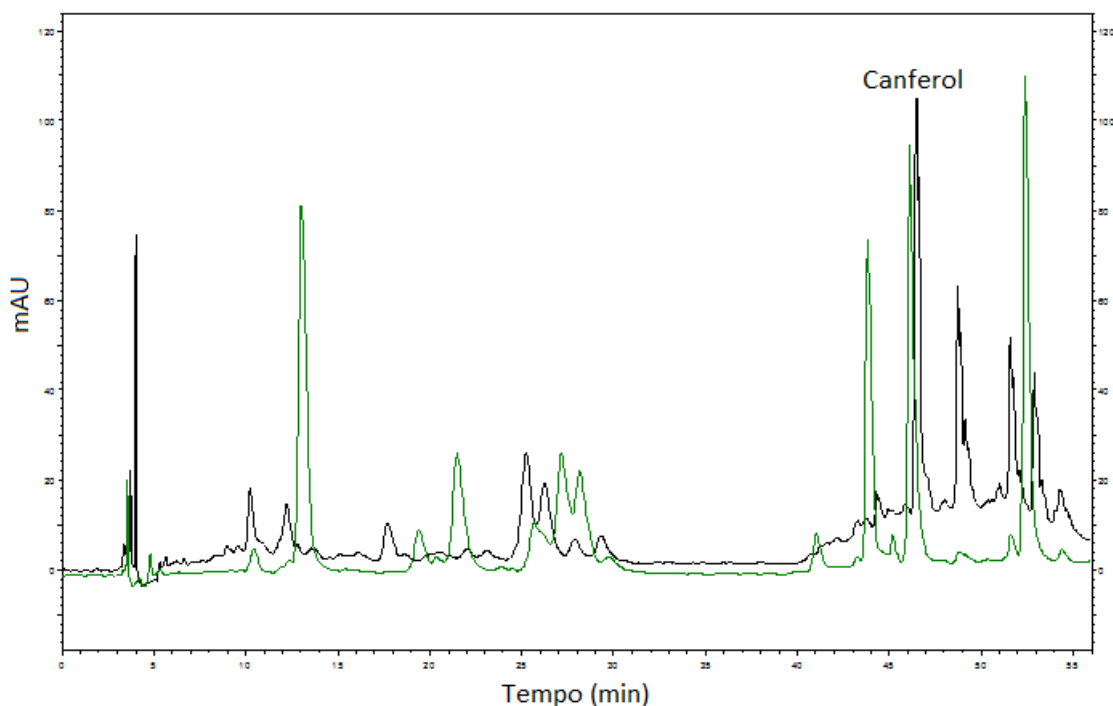


Figura 1(a). Cromatograma do extrato etanólico (10% m/v) da flor de *A. millefolium*, com sobreposição do cromatograma contendo, além do extrato (10% m/v), 0,75g/L da solução da mistura de padrões



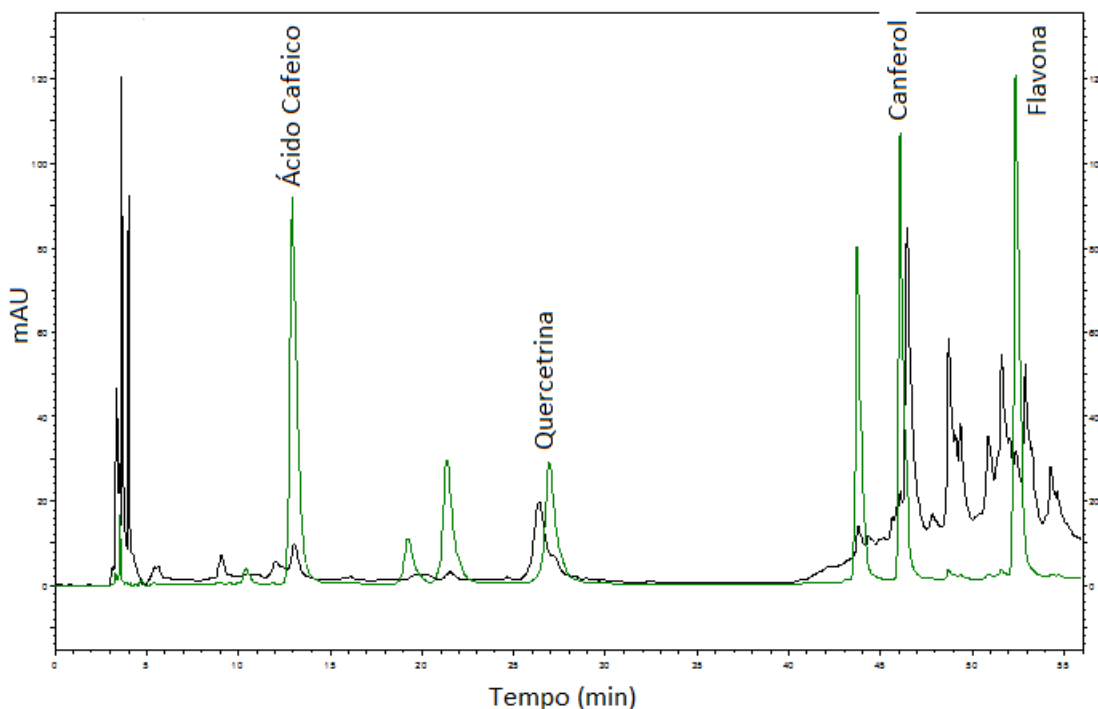


Figura 1(b). Cromatograma do extrato etanólico (10% m/v) puro da folha de *A. millefolium*, com sobreposição do cromatograma contendo, além do extrato (10% m/v), 0,75g/L da solução da mistura de padrões

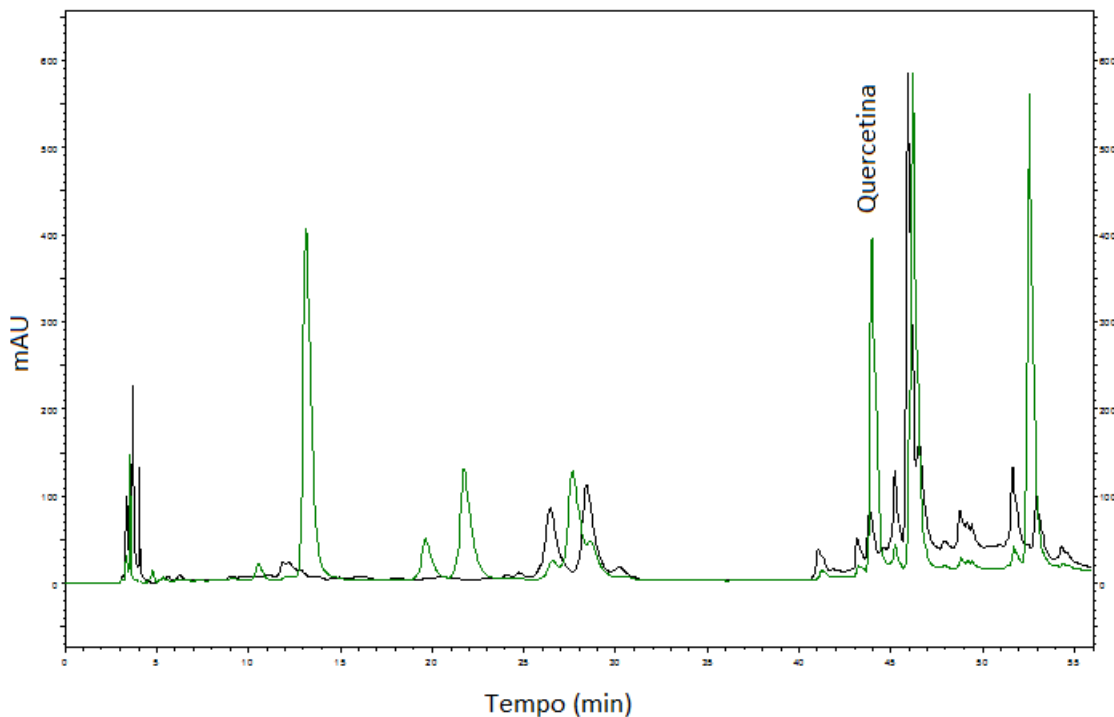


Figura 1(c). Cromatograma do extrato etanólico (10% m/v) puro da inflorescência da *A. millefolium*, com sobreposição do cromatograma contendo, além do extrato (10% m/v), 0,75g/L da solução da mistura de padrões

analíticos de compostos fenólicos. O composto canferol foi identificado nas flores, folhas e ramo, quercetrina na inflorescência, enquanto ácido cafeico, quercitrina e flavona apareceram apenas nas folhas. Resultados que corroboram com aqueles encontrados por Bendeck et al.

(2007), que analisaram a composição química da *Achillea millefolium* encontrando compostos como quercetina, flavona e ácido cafeico. Huo et al. (2013) encontraram o composto quercetina na espécie *Achillea millefolium*. Dias et al. (2013) encontraram canferol, quercetina e ácido cafeico

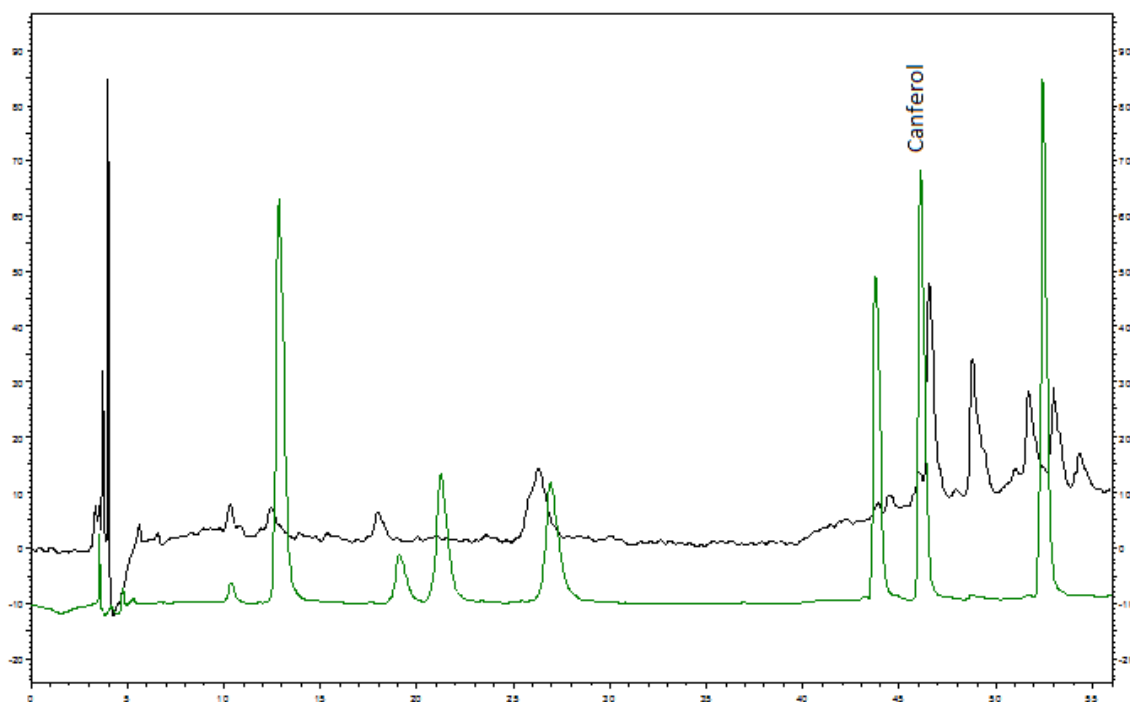


Figura 1(d). Cromatograma do extrato etanólico (10% m/v) puro do ramo da *A. millefolium*, com sobreposição do cromatograma contendo, além do extrato (10% m/v), 0,75g/L da solução da mistura de padrões

na espécie em estudo, confirmando a composição química encontrada nas análises realizadas no presente estudo.

Os extratos obtidos das diferentes partes da planta apresentaram atividade antioxidante frente ao radical DPPH, variando de  $21.0 \pm 0.5\%$  (folha) à  $67.0 \pm 0.1\%$  (flor). Em relação ao radical peroxil, todos os extratos apresentaram ação inibitória variando de  $65.10 \pm 2.5\%$  (folha) à  $99.30 \pm 0.1$  (flor). Esses dados foram estatisticamente analisados pelo teste de Tukey, onde pode-se observar que a atividade inibitória obtida pelos ramos e inflorescência não

apresentam diferenças estatisticamente significativas, já a flor e a folha são estatisticamente diferentes entre si e dos demais órgãos da planta. Já frente ao radical superóxido, apenas inflorescência e flor apresentaram atividade inibitória variando de  $25.40 \pm 0.1\%$  à  $52.30 \pm 0.1\%$ , respectivamente. Sendo que estes foram analisados estatisticamente, e assim, apresentaram diferenças significativas entre si. Estes dados podem ser melhor observados na Tabela 2.

Keseret al. (2011) avaliou a atividade antioxidante de

Tabela 2. Atividade antioxidante frente aos radicais superóxido, DPPH e peroxil para extratos etanólicos obtidos a partir de diferentes órgãos de *Achillea millefolium*.

Extrato etanólico 10%(m/v)	Radical Superóxido	Radical DPPH	Radical Peroxil
Aquiléia - Folha	$-37.10 \pm 0.2$	$21.0 \pm 0.5$	$65.10 \pm 2.5$
Aquiléia - Ramo	$-9.30 \pm 0.5$	$64.0 \pm 0.1$	$81.6 \pm 0.8$
Aquiléia - Inflorescência	$25.40 \pm 0.1$	$66.0 \pm 0.3$	$81.20 \pm 1.2$
Aquiléia - Flor	$52.30 \pm 0.3$	$67.0 \pm 0.6$	$99.30 \pm 0.1$

extratos de flores, folhas e sementes da espécie vegetal em questão frente aos radicais DPPH e superóxido, sendo que todos os órgãos vegetais estudados apresentaram ação inibitória. Resultados que dão suporte aos encontrados no presente estudo. Trumbeckaitea et al. (2011) avaliaram as propriedades antioxidantes dos

extratos de *A. millefolium* frente ao radical DPPH, o ensaio revelou que a espécie apresenta atividade anti-radicalar significativa, que foi atribuído a presença de compostos fenólicos na planta. Os dados de atividade frente ao radical DPPH também foram estatisticamente analisados pelo teste de tuckey, onde pode-se observar

que a atividade inibitória obtida nas flores e inflorescência não apresentam diferenças estatisticamente significativas, já o ramo e a folha são estatisticamente diferentes entre si e dos demais órgãos da planta.

Já os extratos obtidos dos ramos e folhas, apresentaram atividade pro-oxidante, variando de  $-37.10 \pm 0.1$  à  $-9.30 \pm 0.1$ , respectivamente. Resultado que está de acordo com o encontrado com por Zhao et al. (2006), em que a atividade antioxidante de extratos etanólicos de cevada foi avaliada frente ao radical superóxido, encontrando atividades prooxidantes. Ainda segundo o mesmo autor, alguns compostos fenólicos em determinadas faixas de concentrações podem apresentar ação prooxidante ao invés de atioxidante. Conclusão

Neste trabalho avaliou-se a composição química em nível de compostos fenólicos para diferentes órgãos da *Achillea millefolium*, bem como a atividade antioxidante frente aos radicais DPPH, superóxido e peroxil. Pode-se observar que as diferentes partes das plantas apresentam compostos como canferol, ácido cafeico, quercitrina, flavona e quercetina. Além disso, observou-se que a espécie em questão apresenta considerável atividade antioxidante frente aos radicais avaliados. Este trabalho demonstra que é de extrema importância que se saiba qual órgão da planta se está avaliando, pois além de os mesmos terem apresentando diferenças na atividade antioxidante, também apresentaram diferenças na composição química.

## Referências

- AMADO, L. L., et al. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radical in aquatic organisms: Application to evaluate microcystins toxicity. (2009). *Science of the Total Environment*, Filadélfia, v. 407(6), pp. 2115-212.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. (2007) *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*, São Paulo, v. 66(1), pp. 01-09.
- ARUOMA, O. I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. (1998). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Berlim, v. 75(2), p. 199-212.
- BAYTOP, T. Turkiye' de Bitkiler ile Tedavi Gemisten Bugune (Therapy with Medicinal Plants in Turkey. Past and Present). (1999). Nobel Tip Basimevi, Istambul, pp. 373.
- BENEDEK, B. et al. Distribution of phenolic compounds in Middle european taxa of the *Achillea millefolium* L. aggregate. (2007) *Chemistry & biodiversity*, Hoboken, v. 4(5), pp. 849-857.
- BENEDEK, B.; KOPP, B. *Achillea millefolium* L. sl revisited: recent findings confirm the traditional use. (2007). *Wiener Medizinische Wochenschrift*, Berlim, v. 157(13-14), pp. 312-314.
- BURNS, J. et al. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. (2001). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 49(12), pp. 5797-5808.
- CANDAN, F. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). (2003). *Journal of Ethnopharmacology*, Filadélfia, v. 87(2), pp. 215-220.
- CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. (1997). *Free Radical Biology and Medicine*, Filadélfia, v. 22(5), pp. 749-760.
- DAVID, J. P. et al. Radical scavenging, antioxidant and cytotoxic activity of Brazilian Caatinga plants. (2007). *Fitoterapia*, São Paulo, v. 78(3), pp. 215-218.
- DAVIS, P. H. *Flora of Turkey and the east Aegean islands*. (1985). Edinburgh University Press, Edimburgo, v. 9.
- DIAS, M. I. et al. Chemical composition of wild and commercial *Achillea millefolium* L. and bioactivity of the methanolic extract, infusion and decoction. (2013). *Food chemistry*, Filadélfia, v. 141(4), pp. 4152-4160.
- DIAZ, M. N. et al. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. (1997). *New England Journal of Medicine*, Waltham, v. 337(6), pp. 408-416.
- EL-AGAMEY, A. et al. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. (2004). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Filadélfia, v. 430(1), pp. 37-48.
- GALLICE, W. C.; MESSERSCHMIDT, I.; PERALTA-ZAMORA, P. Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos. (2011). *Química Nova*, São Paulo, v. 34(3), pp. 397-403.
- HALLIWELL, B. Protection against tissue damage in vivo by desferrioxamine: what is its mechanism of action?. (1989). *Free Radical Biology and Medicine*, Filadélfia, v. 7(6), pp. 645-651.
- HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. (1996). *Journal of natural products*, Washington, v. 59(2), pp. 205-215.

- HERNÁNDEZ ÁNGEL, M.; PRIETO GONZÁLEZ, E. A.. Plantas que contienen polifenoles: Antioxidantes dentro del estilo de vida. (1999). *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, São Paulo, v. 18(1), pp. 12-12.
- HUO, C. et al. Cytotoxic flavonoids from the flowers of *Achillea millefolium*. (2013). *Chemistry of Natural Compounds*, Berlim, v. 48(6), pp. 958-962.
- ITO, N. et al. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. (1983). *Journal of the National Cancer Institute*, Oxford, v. 70(2), pp. 343-352.
- KÄHKÖNEN, M. P. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. (1999). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 47(10), pp. 3954-3962.
- KANNAN, R. R. R.; ARUMUGAM, R.; ANANTHARAMAN, P. In vitro antioxidant activities of ethanol extract from *Enhalus acoroides* (LF) Royle. (2010). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 3(11), pp. 898-901.
- KESER, S., et al. Determination of antioxidant properties of ethanol and water extracts of *Achillea millefolium* L. (Yarrow). (2011). *Asian Journal of Chemistry*, Ghaziabad, v. 23(7), pp. 3172.
- KOČEVAR, N., et al. Comparison of capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography for determination of flavonoids in *Achillea millefolium*. (2008). *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, Filadélfia, v. 46(3), pp. 609-614.
- FOULIS, L. *Botanica: The illustrated AZ of over 10,000 garden plants and how to cultivate them.* (2004). Könemann, New York.
- KUMARAN, A.; KARUNAKARAN, R. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. (2007). *LWT-Food Science and Technology*, São Paulo, v. 40(2), pp. 344-352.
- LARSON, R. A. The antioxidants of higher plants. (1988). *Phytochemistry*, Filadélfia, v. 27(4), pp. 969-978.
- MAILLARD, M. N. et al. Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. (1996). *LWT-Food Science and Technology*, São Paulo, v. 29(3), pp. 238-244.
- MITICH, L. W. et al. Yarrow-the herb of Achilles. (1990). *Weed Technology*, Lawrence, v. 4(2), pp. 451-453.
- DE OLIVEIRA, D. B. et al. Extrato dos frutos de *Cereus Fernambucensis*: Atividade Antioxidante e Inibição da Produção de Óxido Nítrico (NO) por Macrófagos. (2015). *InterSciencePlace*, Campo dos Goytacazes, v. 1(7).
- OMONI, A. O.; ALUKO, R. E. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. (2005). *Trends in Food Science & Technology*, Filadélfia, v. 16(8), pp. 344-350.
- CHANDLER, R. F.; HOOPER, S. N.; HARVEY, M. J. Ethnobotany and phytochemistry of yarrow, *Achillea millefolium*, Compositae. (1982). *Economic Botany*, Berlim, v. 36(2), pp. 203-223.
- RAMARATHNAM, N.; OCHI, H.; TAKEUCHI, M. Antioxidant defense system in vegetable extracts. (1997). In *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications*. American Oil Chemists' Society, Boulder, pp. 76-87.
- ROSA M. B. da, et al. Spectrophotometric study of the photoprotection activity of the *Achillea millefolium*, *Brassica oleracea* var. capitata, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* (jacq.) Cassand *Sonchus oleraceus* Aqueous extracts. (2008). *Revista Eletrônica de Farmácia*, Goiânia, v. 5(1), pp. 101-110.
- ZHAO, Y. et al. Chemical constituents of plants from the genus *Inula*. (2006). *Chemistry & biodiversity*, Hoboken, v. 3(4), pp. 371-384.
- SINGH, R. P.; CHIDAMBARA, K. N. M.; JAYAPRAKASHA, G. K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. (2002). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 50(1), pp. 81-86.
- SOUSA, CM de M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. (2007). *Química nova*, São Paulo, v. 30(2), pp. 351-355.
- TRUMBECKAITE, S. et al. *Achillea millefolium* L. sl herb extract: Antioxidant activity and effect on the rat heart mitochondrial functions. (2011). *Food Chemistry*, Filadélfia, v. 127(4), pp. 1540-1548.
- VALKO, M., et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. (2004). *Molecular and cellular biochemistry*, Berlim, v. 266(1-2), pp. 37-56.
- VINSON, J. A. et al. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. (1995). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 43(11), pp. 2800-2802.



ZHAO, H., et al. Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare*