



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JÉSSICA APARECIDA COELHO

**AVALIAÇÃO *in vitro* DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E
CITOTÓXICA DE EXTRATOS ORGÂNICOS DAS CASCAS DO FRUTO DA
JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora* Berg)**

CASCADEL - PR

2017

JÉSSICA APARECIDA COELHO

**AVALIAÇÃO *in vitro* DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E
CITOTÓXICA DE EXTRATOS ORGÂNICOS DAS CASCAS DA DO FRUTO
JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora* Berg)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração Fármacos e Medicamentos, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Ferreira da Rosa

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Inara Staub Prochnau

CASCADEL - PR

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C617a Coelho, Jéssica Aparecida
Avaliação in vitro das atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica de extratos orgânicos das cascas do fruto da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg). / Jéssica Aparecida Coelho.— Cascavel, 2017.
56 f.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Ferreira da Rosa

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2017
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

1. Farmacologia. 2. Plantas medicinais. I. Rosa, Maurício Ferreira da. II. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título.

CDD 21.ed. 615.7
CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

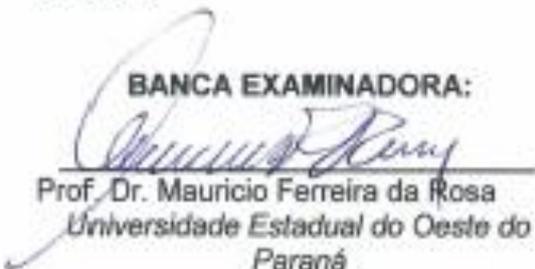
JÉSSICA APARECIDA COELHO

**AVALIAÇÃO *in vitro* DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E
CITOTÓXICA DE EXTRATOS ORGÂNICOS DAS CASCAS DO FRUTO DA
JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora* Berg)**

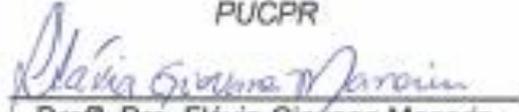
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná como pré-requisito para obtenção do título de Mestre(a) em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Ferreira da Rosa

BANCA EXAMINADORA:


Prof. Dr. Mauricio Ferreira da Rosa
Universidade Estadual do Oeste do
Paraná
UNIOESTE
Orientador


Prof. Dra. Jaqueline Hoscheid
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
PUCPR


Prof. Dra. Flávia Giovana Manarin
Universidade Estadual do Oeste do
Paraná
UNIOESTE

CASCAVEL - PR

2017

BIOGRAFIA

Jéssica Aparecida Coelho, natural de Toledo/PR, nascida em 18 de fevereiro de 1993, às *dezessete horas e quinze minutos* de uma quinta-feira ensolarada. Filha dos comerciantes Edson Luiz Ferreira Coelho e Tereza Aparecida Ferri Coelho, irmã de Thais Cristina Coelho, a família tem descendência de Italianos e Portugueses.

Residente em Toledo e formada em Farmácia pela instituição de ensino Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), no ano de 2014. Durante a graduação desenvolveu projetos de pesquisa e de extensão, além dos estágios não curriculares, desenvolvidos em órgãos municipais e estaduais.

Apresenta experiência profissional em indústria farmacêutica, no setor da garantia da qualidade. Atualmente, trabalha como farmacêutica na empresa Rede Mega Farma e segue com o objetivo de se tornar mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE).

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei, se não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mas as críticas nos auxiliam muito”.

(Chico Xavier, 2000)

Dedico este trabalho à minha família, em especial a meus pais e minha irmã, e a todas as pessoas que de alguma forma tenham me acompanhado e me incentivado nesta longa jornada para que este sonho se tornasse realidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser o autor da minha vida. Que esteve comigo em todos os momentos, me protegendo, me amparando e derramando graças a todo instante.

Ao que digo ser essencial em minha vida, meu maior tesouro, a minha família. Meus pais Edson e Tereza, os quais tenho como exemplo de seres dignos e que me ensinaram a ser a mulher que hoje sou, e minha irmã querida, Thais, amorosa, inteligente e dedicada. A vocês que independente de qualquer situação, sempre me apoiaram, me deram forças, foram pacientes e carinhosos.

À todos os meus amigos e familiares que sempre estiveram presentes, tanto na minha vida pessoal quanto na trajetória da vida acadêmica.

Em especial aos laboratoristas da Pontifícia Universidade Católica, pelo auxílio, paciência e bom assessoramento em tudo que precisei durante o projeto de mestrado.

Agradeço imensamente aos meus orientadores Mauricio e Inara, os quais foram essenciais na elaboração e execução deste trabalho, sendo sempre muito atenciosos.

À CAPES pelo apoio financeiro, ao PCF-UNIOESTE e as Universidades UNIOESTE e Pontifícia Universidade Católica do Paraná por todo o suporte concedido.

Obrigada a todas as pessoas que contribuíram de alguma maneira neste projeto, pois, o que conquistei até o momento, é o resultado da confiança e da força de cada um de vocês.

AVALIAÇÃO *in vitro* DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E CITOTÓXICA DE EXTRATOS ORGÂNICOS DAS CASCAS DO FRUTO DA JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora* Berg)

RESUMO

Atualmente as pesquisas relacionadas aos produtos naturais, principalmente os de origem vegetal, têm sido incentivadas fortemente pela Organização Mundial da Saúde (OMS), visto que o uso de plantas com propriedades medicinais, comprovadas ou não, são de grande influência na saúde pública. Dentre as plantas com um alto potencial medicinal, destaca-se a espécie vegetal *Myrciaria cauliflora* Berg, pertencente à família Myrtaceae, conhecida popularmente como jabuticaba, fruta tipicamente brasileira, utilizada na medicina popular para tratar anginas do peito, disenterias, inflamações e asma. Visando ressaltar a importância do uso de plantas para o tratamento de diversos males, o intuito desse trabalho foi realizar a identificação dos compostos bioativos presentes nas cascas da jabuticaba, além, de realizar testes *in vitro* de ação antioxidante, potencial antimicrobiano e efeito citotóxico frente a hemácias humanas. Os testes foram realizados com o intuito de obter resultados que comprovassem as possíveis atividades farmacológicas dos extratos orgânicos, para posterior desenvolvimento de formulação com o uso de tecnologia farmacêutica. Estudos de bioprospecção a partir da flora brasileira, representam possibilidades concretas na descoberta de novos agentes antimicrobianos, assim como o aprimoramento e descobrimento de novas tecnologias nos mais diversos ramos industriais, com ênfase no setor da saúde.

Palavras-chave: extratos vegetais, plantas medicinais, atividade antioxidante.

***In vitro* EVALUATION OF ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL AND CYTOTOXIC
ACTIVITIES FROM ORGANIC EXTRACTS OF THE JABUTICABA FRUIT'S PEEL
(*Myrciaria cauliflora* Berg)**

ABSTRACT

Currently, research related to natural products, mainly those of plant origin, has been strongly encouraged by the World Health Organization (WHO), once the use of plants with proven or unproven medicinal properties are of great influence on public health. Among the high medicinal potential plants, the species *Myrciaria cauliflora* Berg, which belongs to the Myrtaceae family, popularly known as `Jaboticaba`, a typical Brazilian fruit, is used in popular medicine to treat angina pectoris, dysentery, inflammation and asthma. Aiming to highlight the importance of the use of plants for the treatment of various diseases, the aim of this work was to identify the bioactive compounds present in Jaboticaba peel, and to perform *in vitro* tests of antioxidant action, antimicrobial potential and cytotoxic effect against red blood cells. The tests were carried out with the aim of obtaining results that could prove the possible pharmacological activities of the organic extracts, for further development of formulation with the use of pharmaceutical technology. Bioprospecting studies from the Brazilian flora represent concrete possibilities in the discovery of new antimicrobial agents, as well as the improvement and the discovery of new technologies in the most diverse industrial branches, with emphasis in the health sector.

Key words: plant extracts, medicinal plants, antioxidant activity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição das partes das plantas analisadas frente a doenças e tratamentos, as clases fitoquímicas identificadas e ações farmacológicas desenvolvidas pelos respectivos vegetais.....	10
Tabela 2 - Tempo de extração, rendimento em gramas (g) e em porcentagem (%), dos extratos acetato de etila, metanólico e hexânico, das cascas da <i>Myrciaria cauliflora</i> Berg, na proporção de 1:6 (planta: solvente), obtidos pela técnica de Soxhlet.....	31
Tabela 3 - Resultados dos testes fitoquímicos de identificação/avaliação dos compostos presentes nas cascas da <i>Myrciaria cauliflora</i> Berg, a partir dos extratos acetato de etila, metanólico e hexânico, seguindo metodologia descrita por Goyal et al. (2010).....	31
Tabela 4 - Média das absorvâncias (Abs), desvio padrão e porcentagens da atividade antioxidante calculadas para a concentração de 1 mg/mL dos extratos acetato de etila, metanólico e hexânico das cascas da <i>Myrciaria cauliflora</i> Berg.....	34
Tabela 5 - Média das absorvâncias (Abs), desvio padrão e porcentagens da ação citotóxica, calculadas para as sete concentrações analisadas, do extrato metanólico (EM) das cascas da <i>Myrciaria cauliflora</i> Berg	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Árvore frutífera da espécie <i>Myrciaria cauliflora</i> Berg	5
Figura 2 - Estrutura dos flavonoides	7
Figura 3 - Flor e fruto da espécie vegetal <i>Myrciaria cauliflora</i> Berg	25
Figura 4 - Representação gráfica da curva padrão do DPPH e sua respectiva equação da reta, obtida através de espectrofotometria na região UV com λ de 515 nm	33
Figura 5 - Fotografia mostrando o halo de inibição de crescimento das cepas de <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> , frente ao controle positivo (amoxicilina 10 μ g), e ausência de halo de inibição através do uso do extrato metanólico em quatro concentrações (16, 12, 8 e 4 mg/mL)	36
Figura 6 - Fotografia mostrando o halo de inibição de crescimento das cepas de <i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i> , frente ao controle positivo (cetoconazol 10 μ g), e ausência de halo de inibição através do uso do extrato metanólico em quatro concentrações (16, 12, 8 e 4 mg/mL)	36

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AAT	Atividade Antioxidante Total
Abs	Absorbância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CIM	Concentração inibitória mínima
EAE	Extrato acetato de etila
EH	Extrato hexânico
EM	Extrato metanólico
g	Gramma
mg	Miligrama
mg/mL	Miligrama por mililitro
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
O/A	Óleo em água
OMS	Organização Mundial da Saúde
rpm	Rotação por minuto
µg	Micrograma
µl	Microlitro
µM	Micrômetro
λ	Comprimento de onda
±	Mais ou menos
°C	Graus Celsius
%	Porcentagem

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	v
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 PLANTAS MEDICINAIS.....	4
3.1.1 Família Myrtaceae.....	4
3.1.1.1 <i>Myrciaria cauliflora</i> Berg.....	5
3.2 CONSTITUINTES QUÍMICOS BIOATIVOS.....	6
3.3 EXTRATOS VEGETAIS.....	7
3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	11
3.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	12
3.6 AGENTES ANTIMICROBIANOS.....	12
3.7 NANOTECNOLOGIA.....	14
REFERÊNCIAS.....	16
CAPÍTULO I – ARTIGO: AVALIAÇÃO <i>in vitro</i> DAS PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DA JABUTICABA E OBTENÇÃO DE UM SISTEMA FARMACÊUTICO EMULSIONADO.....	21

1 INTRODUÇÃO

Pesquisas demonstram que aproximadamente 25% dos fármacos utilizados são de origem vegetal, enquanto que 50% são de origem sintética, porém, relacionados aos princípios ativos de plantas naturais. Alguns fatores que têm contribuído para o aumento da utilização de plantas medicinais são o alto custo dos medicamentos industrializados e o difícil acesso à assistência médica e farmacêutica na rede pública.

A jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*), pertencente a família Myrtaceae, é uma planta nativa originária da região centro-sul (subtropical), vegeta diversos tipos de solos e climas variados. É uma árvore de tamanho médio, suas flores são brancas e seus frutos são globosos e comestíveis. Floresce geralmente duas vezes ao ano, julho-agosto e novembro-dezembro, e seus frutos ficam maduros entre agosto-setembro e janeiro.

Os frutos produzidos pela jabuticabeira apresentam um elevado teor de fibras alimentares, são considerados fonte de minerais essenciais, entre os quais destacam-se o zinco, o cobre, o fósforo e o ferro, encontrados em maiores quantidades tanto nos frutos quanto nas cascas da jabuticaba. Vale ressaltar, que o cultivo deste fruto, em condições diferenciadas de clima e solo, impacta diretamente nas proporções destes minerais em uma mesma variedade de fruto.

As plantas da família Myrtaceae são reconhecidas pela produção de óleos essenciais, os quais são considerados misturas complexas de substâncias voláteis, que contribuem para a fragrância das plantas que os produzem. Os óleos essenciais constituem uma grande variedade de substâncias, entre elas, destaca-se a presença de terpenoides, hidrocarbonetos, cetonas, ácidos orgânicos e cumarinas.

Diversos estudos com plantas vêm sendo realizados de forma intensificada e o uso de óleos essenciais como agentes medicinais tem sido estudado e descrito frente as suas atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias apresentadas. Esses estudos têm por objetivo obter dados que comprovem os mecanismos de ação das plantas e seus potenciais fins terapêuticos, além de fornecer dados de possíveis complicações ou danos à saúde.

Conforme o desenvolvimento de novos produtos, os extratos vegetais desempenham um papel de extrema importância em diversos segmentos do setor industrial. Dentre eles, destacam-se as indústrias farmacêuticas, cosmética,

alimentícia e têxtil. Por apresentarem diferentes aplicabilidades e funções, podem ser utilizados como corantes naturais, na produção de alimentos funcionais, como agentes conservantes e aromatizantes, assim como na produção de medicamento.

Estudos dessa natureza reafirmam a importância de dados etnofarmacológicos na seleção de plantas para triagem de bioatividade, uma vez que os resultados contribuem para a identificação de atividades biológicas de extratos vegetais da flora brasileira utilizados na medicina popular.

Visto que a *Myrciaria cauliflora* é uma planta nativa e de ampla distribuição, e que já apresenta alguns resultados significativos quanto sua composição e ação farmacológica frente a alguns testes, o objetivo do trabalho foi trabalhar com as cascas do fruto, já que este material vegetal costuma ser descartado sem apresentar nenhuma finalidade, e a partir dos resultados encontrados tornou-se importante dar seguimento ao trabalho na área de nanotecnologia.

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Analisar o potencial de ação *in vitro* de extratos orgânicos das cascas da *Myrciaria cauliflora*.

Objetivos Específicos

- Obtenção do extrato metanólico, acetato de etila e hexânico;
- Avaliação preliminar do perfil fitoquímico, através de testes colorimétricos e de precipitação;
- Avaliação da atividade antioxidante;
- Determinação da atividade antimicrobiana;
- Avaliação da toxicidade frente a hemácias humanas;
- Desenvolvimento de uma formulação empregando nanotecnologia.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

Segundo Martins e colaboradores (1998), a utilização de plantas como medicamentos, provavelmente seja tão antiga quanto à própria existência do homem na terra, remonta ao início da civilização. As plantas adquiriram grande importância na medicina popular devido às suas propriedades terapêuticas e até mesmo pela toxicidade apresentada.

No Brasil, a utilização de plantas para fins terapêuticos apresenta grande influência da cultura indígena. Apesar de muitos vegetais não possuírem seus compostos químicos conhecidos, os mesmos são prescritos com frequência, de acordo com as observações terapêuticas conhecidas por crenças e costumes (MACIEL et al., 2002).

As substâncias com propriedades biológicas, desejáveis ao metabolismo da planta, podem ser distintas de duas formas: os metabólitos primários, presentes em todas as plantas, sendo estes essenciais para seu crescimento, e os metabólitos secundários, presentes em metabolismos específicos e resultantes de processos adaptativos (BARRACA, 1999; BASILE et al., 2000).

3.1.1 Família Myrtaceae

Entre as diversas famílias que fazem parte do arsenal de plantas que apresentam alguma propriedade terapêutica, a família Myrtaceae é de grande relevância, pois abrange cerca de 159 gêneros, tendo aproximadamente 3.600 espécies. Embora sejam encontradas em todo o mundo, os grandes centros de dispersão são as regiões subtropicais e tropicais (LUNARDI et al., 1998).

Joly (1998) descreve as plantas pertencentes à família Myrtaceae, como sendo aquelas que apresentam a característica de serem lenhosas, arbóreas ou arbustivas, com folhas inteiras com dispersão alternada ou oposta, além de apresentarem estípulas muito pequenas. Folhas com pontos conhecidos como glândulas oleíferas, as flores no geral são brancas ou avermelhadas, efêmeras e hermafroditas, com simetria radial e geralmente pentâmeras, sendo mono ou diclamídeas, com receptáculo bem desenvolvido. Seu fruto é baciforme e suas

sementes muitas vezes mostram poliembrionia. As Myrtaceae brasileiras apresentam, ainda, troncos com casca lisa que se renova a cada estação de crescimento e florescem sempre no início da primavera.

3.1.1.1 *Myrciaria cauliflora* Berg

A espécie vegetal *Myrciaria cauliflora* (Figura 1), representante da família Myrtaceae, pertence ao gênero *Eugeniae*, mais comumente conhecida como jabuticabeira, era comumente chamada pelos tupis de “iapotikaba”, que significa fruto em botão, por seus frutos apresentarem o formato arredondado (DANNER et al., 2006).



Figura 1 - Árvore frutífera da espécie *Myrciaria cauliflora* Berg. Fonte: Fanale, 2009.

A jabuticabeira é uma planta frutífera nativa brasileira, originária da região centro sul, a qual demonstra exercer atividade antimicrobiana, antioxidante e antiviral (LEGRAND; KLEIN, 1969), além de ser empregada na medicina popular como antidiarreico, contra inflamações de garganta, anginas do peito, asma e erisipela (CRUZ, 1982).

Desenvolve-se em uma variedade de solos, embora se adapte melhor em solos sílicoargilosos e os argilossilicosos profundos, férteis e bem drenados (ANDERSEN; ANDERSEN, 1989). É uma árvore de tamanho médio, ornamental, cujas flores são brancas e com folhas opostas, possui frutos globosos carnudos e comestíveis de cor roxa escura. Floresce geralmente duas vezes ao ano, em julho-agosto e novembro-dezembro, e os frutos maduros ocorrem em agosto-setembro e janeiro (LORENZI, 2002).

A importância industrial dos frutos da jabuticabeira tem sido relatada por diversos autores. Seu consumo *in natura*, na forma de geleias, licores, sucos, vinhos e diversas sobremesas, apresentam uma grande aceitação, já que seus frutos são doces e saborosos (ANDERSEN; ANDERSEN, 1989). Outras características importantes sobre esta espécie frutífera é o seu alto valor paisagístico e por demonstrar uma madeira de excelente qualidade (LORENZI, 1992). A casca do caule, pelo seu poder adstringente, é utilizada para problemas intestinais e a madeira é usada para obras internas, lenha e carvão (CORREIA, 1984).

Na industrialização deste vegetal, as cascas e sementes da jabuticaba são desprezadas, representando aproximadamente uma perda de 50% do fruto. Parte desse resíduo é utilizada usualmente *in natura* como alimentação animal, porém, a maior parte é descartada ou usada em compostagem. Devido à perecibilidade do fruto, a matéria-prima talvez ainda sofra certa limitação no comércio (OLIVEIRA et al., 2003).

3.2 CONSTITUINTES QUÍMICOS BIOATIVOS

Conforme relatos de Podsedek (2007), as jabuticabas apresentam em sua composição uma maior quantidade de compostos fenólicos do que outros vegetais. As principais fontes de compostos fenólicos como as antocianidinas e antocianinas são as frutas cítricas e frutas de cor escura como a uva, cereja, ameixa e a jabuticaba, sendo que nesta última espécie são encontrados em maior quantidade no epicarpo.

Segundo Silva (2008) e Terci (2004), os frutos produzidos pela jabuticabeira apresentam um elevado teor de fibras, vitaminas, carboidratos, sais minerais como o fósforo, cálcio e ferro, além dos flavonoides, conhecidos como compostos fenólicos, os quais demonstram potencial antioxidante, prevenindo doenças oxidativas e inflamatórias, além da presença das antocianinas, responsáveis pela coloração característica do fruto.

Os frutos da jabuticabeira apresentam em sua composição três tipos de polifenóis: taninos, flavonoides (Figura 2) e antocianinas. Os dois primeiros estão presentes em maiores quantidades nas cascas e sementes dos frutos, e o último é encontrado apenas nas cascas. Estes três tipos de fenóis, interagem entre si, e são responsáveis pelo sabor e coloração das bebidas como os vinhos e os licores (LIMA et al., 2008).

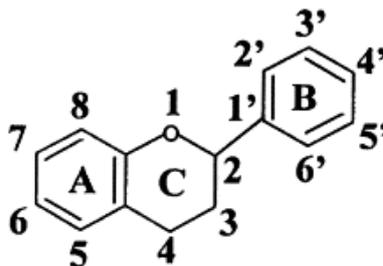


Figura 2 - Estrutura dos flavonoides. Fonte: Hein et al., 2002.

Estudos realizados com os frutos de *Myrciaria cauliflora* apontam diversas atividades biológicas. Dentre as ações destacam-se a atividade antioxidante, que pode ser atribuída principalmente às antocianinas presentes na casca do fruto (LEITE et al., 2011; REYNERTSON; BASILE; KENNELLY, 2005), potencial antiviral (KAPADIA et al., 1997), efeitos hipoglicemiantes e hipolipemiantes (LENQUISTE et al., 2012), atividade anti-inflamatória (REYNERTSON et al., 2006) e atividade anticarcinogênica (HAGIWARA et al., 2001).

As antocianinas são consideradas o maior e mais importante grupo de pigmentos hidrossolúveis, exercem capacidade colorífica desde o tom laranja até o violeta e azul de diversas flores, folhas e frutos (CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES, 2011; REYNERTSON et al., 2006). Além disso, tais compostos podem atuar na inibição de enzimas oxidativas e inflamatórias, demonstrando ação antialérgica, bactericida, fungicida, antitumoral e anti-hemorrágica (EINBOND et al., 2004; REYNERTSON et al., 2008).

A classe dos taninos apresentam propriedades antimicrobianas e atuam também como sequestradores de radicais livres (ação antioxidante), auxiliando na prevenção de danos celulares oxidativos. Essas propriedades podem estar diretamente relacionadas com seu potencial anticancerígeno e antimutagênico, já observados (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; SANCHES et al., 2005; SOARES, 2002).

3.3 EXTRATOS VEGETAIS

Historicamente os compostos produzidos pelas plantas têm sido separados em metabólitos primários e secundários. Os primários são moléculas que se encontram em todas as células vegetais e são necessários para a vida da planta. São os açúcares, aminoácidos, proteínas e os ácidos nucleicos (RAVEN; EVERT;

CURTIS, 2007). Os secundários são restritos em sua distribuição, tanto dentro da planta quanto entre suas diferentes espécies. São importantes para a sobrevivência e a propagação das plantas que os produzem. Além disso, estes compostos são os responsáveis pelos efeitos medicinais, ou tóxicos, das plantas e apresentam grande importância ecológica, uma vez que podem atuar na atração de polinizadores ou representar uma defesa química contra o estresse ambiental (LÓPEZ, 2006).

A fitoquímica é a área responsável pelo estudo dos princípios ativos presentes nas drogas vegetais. Tem como objetivo a extração, isolamento, purificação e determinação da estrutura química dos constituintes presentes em extratos de plantas com atividade biológica (SARTORELLI et al., 2012).

Existem várias metodologias descritas para a preparação de extratos vegetais, visando ao isolamento de seus constituintes químicos. Segundo Martins et al. (1998), extratos são conhecidos como preparações concentradas, de diversas consistências (líquida, sólida ou pastosa) obtidas a partir de matérias primas vegetais secas, que passam, ou não, por tratamento prévio, seja ele de inativação enzimática, de moagem, de maceração e preparadas por processos que envolvam um solvente.

O processo de obtenção do extrato é realizado basicamente em duas etapas: a primeira é a separação dos compostos específicos de um meio complexo (a droga, ou parte da planta utilizada, raiz, caule, folha, flores e frutos) com a utilização de um solvente pré-determinado, e a segunda consiste na concentração dos extratos, por eliminação completa dos solventes utilizados na extração (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2010).

Os extratos secos vegetais devem ser padronizados, o que assegura a uniformidade do teor dos ativos em cada dose, além de terem um maior período de estabilidade (SHARAPIN, 2000). O fitoterápico padronizado é o que apresenta teor conhecido dos princípios ativos e segue critérios estabelecidos para a planta medicinal em questão (VILEGAS; CARDOSO, 2007). A padronização de obtenção de extratos vegetais melhora o rendimento da operação, assegura a alta qualidade do produto final e a eficácia e segurança do medicamento natural (VASCONCELOS et al., 2005).

As técnicas de extração têm por objetivo extrair das plantas moléculas, as quais apresentem alguma atividade, seja ela ação terapêutica, antioxidante e até mesmo podendo apresentar toxicidade. Para tanto, torna-se importante utilizar vários

tipos de solventes diferentes (polares e apolares), diante do fato de que cada solvente é capaz de extrair certos compostos presentes na planta (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2010). As condições de obtenção da matéria-prima devem ser levadas em consideração, uma vez que fatores tais como, temperatura, tipo do solo, luminosidade e umidade podem interferir no processo (RODRIGUES; CARVALHO, 2001).

A prospecção dos constituintes presentes na planta pode ser realizada por meio da triagem fitoquímica preliminar, a qual procura rastrear os principais grupos de constituintes químicos que compõem um determinado extrato vegetal. É uma metodologia rápida e superficial, por meio do uso de reagentes de coloração ou precipitação, que irão revelar ou não a presença de metabólitos secundários em um extrato (SARTORELLI et al., 2012).

Como a constituição química, na maioria dos casos, difere significativamente em relação às distintas partes da planta, parece mais viável estudar inicialmente aquela empregada na medicina popular e, posteriormente, as outras partes da planta, que também podem conter princípios ativos (CECHINEL FILHO et al., 1995). As principais classes de constituintes químicos de plantas que podem ser detectadas com a aplicação de testes analíticos padrões são: ácidos graxos, terpenoides, esteroides, fenóis, alcaloides, cumarinas e flavonoides (MACIEL et al., 2002).

Classes fitoquímicas de plantas e vegetais, de natureza química diversificada, têm demonstrado algum tipo de propriedade farmacológica frente a diversas doenças e tratamentos. Os dados bibliográficos levantados referente a classe fitoquímica e atividades biológicas, estão descritos na Tabela 1.

Grande atenção tem sido dada ao potencial antioxidante dos flavonoides (HANASAKI et al., 1994), contribuindo na redução de doenças cardiovasculares (HERTOG et al., 1993), no câncer (HAVSTEEN, 2002; HERTOOG; HOLLMAN; KATAN, 1992) e no envelhecimento precoce (YAMAMOTO, 2001). Além disso, apresentam ação anti-inflamatória, antiviral, ação antimicrobiana e hipolipidêmica (NEWALL; ANDERSON; PHILLIPSON, 1996) e atividade anticolinesterásica (TREVISAN et al., 2006).

Tabela 1 - Descrição das partes das plantas analisadas frente a doenças e tratamentos, as classes fitoquímicas identificadas e ações farmacológicas desenvolvidas pelos respectivos vegetais.

Partes da planta	Classe fitoquímica	Ação farmacológica	Autores
Folhas e raízes	Taninos	Anticarcinogênica Anti-inflamatória e cicatrizante Ação bactericida e fungicida	CHUNG; WEI; JOHNSON, 1998 MELLO; SANTOS, 2001 SCALBERT, 1991
Flores e frutos	Cumarinas	Atividade antidepressiva Hepatoprotetora Anti-inflamatória e antiúlcero-gênica	SINGH et al., 1992 OKAMOTO et al., 2001; PARK et al., 2004 IVANOVSKA et al., 1994 BIGHETTI et al., 2005
Folhas, flores e cascas	Antraquinonas	Atividade antifúngica Anti-inflamatória Antitumoral e antioxidante Larvicida contra <i>Aedes aegypti</i>	GOTTIPATI; MISHRA, 2010 RAVEENDRAN; VIJAYAN; PADIKKALA, 2012 MORAIS et al., 2006 COSTA et al., 2005
Flores e folhas	Saponinas	Imunogênica Antiviral, antitumoral, anti-inflamatória, hipocolesterolêmica, antifúngica, sedativa e inseticida	SUN; PAN, 2006 AUGUSTIN et al., 2011; HOSTETTMANN; MARSTONM, 1995; KENSIL, 1996; SCHENKEL et al., 2003
Folhas, flores, frutos, caules e raízes	Terpenoides	Atividade antifúngica Anti-inflamatória Antiúlcero-gênica, antihiper-glicêmica, anti-HIV e no tratamento de artrite	VIRIATO, 2014 YOSHIKAWA et al., 2005 HEITZMAN et al., 2005; SAFAYHI; SAILER, 1997

Fonte: a autora, 2017.

3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), antioxidante é designado como sendo uma substância que retarda o aparecimento de alterações oxidativas. Do ponto de vista químico, são substâncias que apresentam em sua estrutura compostos aromáticos, contendo no mínimo uma hidroxila. De origem sintética ou natural, são ainda um conjunto heterogêneo de substâncias formadas por vitaminas, minerais, pigmentos naturais, compostos vegetais e, ainda, constituídos por enzimas, as quais bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

Bianchi e Antunes (1999), descrevem que os agentes antioxidantes atuam de diferentes maneiras na proteção do organismo: o primeiro mecanismo de defesa descrito é a não formação dos radicais livres pela inibição das reações em cadeia, principalmente com o cobre e o ferro; no segundo mecanismo os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular, impedindo o ataque a certos compostos como os lipídeos e aminoácidos, evitando assim a formação de lesões e até mesmo a perda da integridade celular; o terceiro mecanismo de proteção é a partir do reparo das lesões causadas pelos radicais livres, acontece através da remoção dos danos e posterior reconstituição das membranas celulares que foram danificadas; já no quarto e último mecanismo, a geração de radicais livres pode sofrer uma adaptação do organismo em questão, pelo aumento da síntese de enzimas antioxidantes.

Devido às descobertas sobre os efeitos dos radicais livres no organismo e pelo aparente papel desencadeado por estas substâncias nas mais diversas doenças, o interesse em estudos com estes produtos são de extrema importância. Essas evidências têm conduzido ao desenvolvimento de um grande número de métodos para a determinação da atividade antioxidante (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURACALIXTO, 2006).

Os métodos para a determinação da atividade antioxidante podem ser baseados na captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), pelo poder de redução do metal (FRAP; CUPRAC), captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), captura do radical orgânico (ABTS, DPPH), quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídeos (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do β -caroteno) (FRANKEL; MEYER, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, 2002; ARUOMA, 2003).

3.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As pesquisas de novas substâncias antimicrobianas se fazem necessárias, em virtude do reaparecimento de várias infecções que pareciam terem sido controladas e também em função do aumento da resistência bacteriana. Os fitoterápicos são uma grande alternativa para o desenvolvimento de novos antimicrobianos (VALGAS et al., 2007).

A atividade antimicrobiana é medida *in vitro*, e visa determinar a sensibilidade de um microrganismo frente a concentrações conhecidas de um determinado agente antimicrobiano. O teste é realizado para analisar possíveis efeitos bactericidas ou bacteriostáticos sobre patógenos, bem como, para a demonstração de certas drogas que exerçam este potencial sobre fungos ou bactérias (JORGE, 1997).

O antibiograma consiste na metodologia de cultivo de microrganismos, na qual se tem por objetivo avaliar sua sensibilidade, na presença de um ou mais agentes antimicrobianos, verificando-se a ausência de desenvolvimento dos microrganismos, por meio dos halos de inibição formados no meio de cultura, onde estão presentes as substâncias ativas (TAVARES, 1996).

As propriedades microbiostáticas e microbicidas, a partir de produtos vegetais têm sido comprovadas através de diversas pesquisas, as quais, primeiramente, são estudadas, passam por avaliações e posteriormente são confirmadas por meio de ensaios biológicos *in vitro*, testes de susceptibilidade ou de sensibilidade (MIMS et al., 1999; MURRAY et al., 2000).

3.6 AGENTES ANTIMICROBIANOS

Segundo Souza e colaboradores (2003), os antibióticos são fármacos anti-infecciosos de origem natural, produzidos metabolicamente por microrganismos, possuem a capacidade de inibir o crescimento de microrganismos e são indicados, no tratamento de infecções microbianas sensíveis.

Ao considerar o uso dos antimicrobianos, dois importantes conceitos devem ser lembrados: o espectro de ação e a potência ou concentração inibitória mínima (CIM), que é descrita como sendo a concentração necessária para inibir o crescimento bacteriano, de forma que quanto menor for a CIM, maior a potência do ativo (TAVARES, 1996).

Os agentes antimicrobianos são classificados como específicos ou inespecíficos. Aqueles, que atuam sobre o microrganismo invasor, não afetando de forma significativa o hospedeiro, enquanto que, estes são utilizados somente em uso tópico, visto que *in vitro*, inibem o crescimento dos patógenos por inviabilizarem o local de crescimento, são considerados agentes desinfetantes, antissépticos e não quimioterápicos (SOUZA et al., 2003).

Tavares (1996) descreve as características de um antimicrobiano ideal. Estes precisam apresentar um amplo espectro de atividade sobre diversos microrganismos, ter fácil distribuição pelos tecidos sendo absorvido por via oral e parenteral, não sofrer destruição por certas enzimas, não provocar efeitos tóxicos nem irritantes, não induzir o desenvolvimento de microrganismos resistentes nem provocar a diminuição da resistência do organismo do hospedeiro, de fácil obtenção em escalas industriais, além de apresentarem baixo custo.

O uso racional de medicamentos antibacterianos é essencial não somente para a terapêutica, mas sendo fundamental também na inibição da multirresistência. O uso abusivo e errôneo de antibióticos, tanto a nível ambulatorial quanto hospitalar, é o principal fator associado ao desenvolvimento de resistência (AMARAL et al., 2001).

Apesar dos avanços relacionados à química farmacêutica e à farmacognosia, a terapêutica antimicrobiana necessita sempre de novos fármacos e está se tornando cada vez mais comum a resistência dos microrganismos a certos medicamentos (CORDEIRO, 1998). Segundo Amaral et al. (2001), os microrganismos adquirem resistência por meio de diversos mecanismos, entretanto os clinicamente relevantes e que necessitam de mais atenção são: a síntese de enzimas que inativam o fármaco, a prevenção do acesso ao sítio alvo e a modificação do sítio alvo.

Soares (2001), descreve que a primeira referência relacionada à resistência de antibióticos, surgiu em meados dos anos 40, com as conhecidas penicilinas, surgindo novos antibióticos, somente nos anos 50 e 60. Atualmente, esta resistência causa enormes problemas terapêuticos com implicações extremas na saúde pública de todo o mundo.

Há muito tempo as principais fontes de antibióticos têm sido a partir do uso de bactérias e de fungos, porém, o interesse pelas plantas é crescente, fato que vem contribuindo de forma significativa para a introdução de novos agentes

antimicrobianos (KOSTOVA et al., 1993).

Independente do grande arsenal terapêutico disponível no mercado, novos patógenos, efeitos colaterais e resistência são descobertos a todo o momento, aumentando o interesse pela procura de novas estratégias terapêuticas, ou seja, a criação de fármacos mais efetivos e seletivos com menos efeitos colaterais e, preferencialmente, com custo mais baixo (ZAITZ et al., 1998).

3.7 NANOTECNOLOGIA

Segundo Bushan (2004), a nanotecnologia atrai a cada dia mais investimentos em todo o mundo devido ao seu enorme potencial de aplicação nos mais variados setores industriais, dentre eles, o setor alimentício, cosmético, farmacêutico e eletrônico, e também ao impacto que seus resultados podem dar ao desenvolvimento tecnológico e econômico.

Emulsões fluídas e semi-fluídas estão sendo amplamente utilizadas como veículo em formulações, com destaque as nanoemulsões, as quais apresentam gotículas em tamanhos nanométricos, na faixa de 20-200 nm e que se mostram promissoras na ciência cosmética e farmacêutica, uma vez que apresentam maior estabilidade cinética, melhores propriedades de espalhabilidade, penetração e hidratação quando comparadas às macroemulsões (ECLESTON, 1997; THADROS et al., 2004).

Nanoemulsões são sistemas constituídos de um núcleo oleoso, estabilizado por um sistema tensoativo adequado e disperso numa fase externa aquosa. O interesse crescente pelo uso destes sistemas está diretamente relacionado à melhoria de suas propriedades físicas, na permeação de ativos através das diferentes camadas da pele, no direcionamento de um sítio alvo específico, ou ainda, na estabilidade dos compostos antioxidantes (BENITA, 1999; BOUCHEMAL et al., 2004).

Segundo Morais e colaboradores (2008), as nanoemulsões podem ser obtidas a partir de métodos de alta e baixa energia de emulsificação. Os métodos de alta energia recorrem ao emprego de energia mecânica, através da utilização de homogeneizadores de alta pressão ou geradores de ultrassom, enquanto que os métodos de baixa energia utilizam a energia química armazenada no próprio

sistema, podendo ocorrer à temperatura constante, variando a composição do sistema ou à composição constante, variando a temperatura do sistema.

Extratos vegetais vêm sendo constantemente empregados em formulações cosméticas por apresentarem em sua composição ácidos graxos semelhantes aos existentes na epiderme da pele, além de apresentarem atividade antioxidante, auxiliando no processo antienvhecimento provocado pelos radicais livres. Porém, para o cenário industrial, a obtenção de formas farmacêuticas de uso tópico, geralmente de natureza hidrofílica, contendo extratos vegetais constituídos de moléculas de reduzida hidrossolubilidade, constitui ainda um desafio farmacotécnico (LEONARDI, 2004).

REFERÊNCIAS

- AMARAL, C.F.S. et al. **Antibioticoterapia**. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.
- ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V.U. **As frutas silvestres brasileiras**. Globo, São Paulo, p.130-135, 1989.
- ARUOMA, O.I. Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, v.9-20, p.523-524, 2003.
- BARRACA, S.A. **Manejo e Produção de Plantas Medicinais e Aromáticas**. Piracicaba: Faculdade de São Paulo, 1999.
- BASILE, A. et al. Antibacterial and allelopathic activity of extract from *Castanea sativa* leaves. **Fitoterapia**, v.71, p.110-116, 2000.
- BENITA, S. Prevention of topical and ocular oxidative stress by positively charged submicron emulsion. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.53, n.4, p.193-206, 1999.
- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G.; Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.
- BOUCHEMAL, K. et al. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. **International Journal of Pharmaceutics**, v.280, n.1/2, p.241-251, 2004.
- BUSHAN, B. "**Springer Handbook of Nanotechnology**". 1. Ed. New York: Springer Verlag, 2004.
- CAVALCANTI, R.N.; SANTOS, D.T.; MEIRELES, M.A.A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems – an overview. **Food Research International**, v.44, n.2, p.499-509, 2011.
- CECHINEL FILHO, V. et al. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.75, p.115, 1995.
- CORDEIRO, F. **Atividade Antimicrobiana de Frações Semipurificadas e Compostos Puros de Wedelia paludosa DC. (COMPOSITAE)**. 1998. 81f. Monografia (Graduação do Curso de Farmácia) - Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí, SC, 1998.
- CORREIA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. v.4, p.375, 1984.
- CRUZ, G.L. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1982.
- DANNER, M.A. et al. Enraizamento de jaboticabeira 1 (*Plinia trunciflora*) por mergulhia aérea. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v.28, n.3, p.530-532, 2006.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSCYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v.5, n.1, p.33-40, 2004.

EINBOND, L.S. et al. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v.84, n.1, p.23-28, 2004.

DÔSSIE ANTIOXIDANTES. **Food Ingredients Brasil**, n.6, 31p. 2009.

ECLESTON, G.M. Functions of mixed emulsifiers and emulsifying waxes in dermatological lotions and creams. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.123-124, p.169-182, 1997.

EXTRATOS VEGETAIS. **Food Ingredients Brasil**, n.11, 20p. 2010.

FANALE, C.I. **Comercialização de jabuticabas no ETSP-Entreposto terminal de São Paulo (CEAGESP)**. Disponível em: <<http://docslide.com.br/documents/apresentacao-comercializacao-de-jabuticabas-no-et-sp-entreposto-terminal-de-sao-paulo-ceagesp-outubro-2008-claudio-inforzato-fanale-tecnico-de-mercado.html>>. Acesso em: 20 de abril de 2016.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problem of using onedimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.1925-1941, 2000.

HAGIWARA, A. et al. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple com color, of 2-amino-16-phenylimidazol (4,5-b) pyridine (PhIP) – associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated whit 1,2-dimethylhydrazine. **Cancer Letters**, n.171, p.17-25, 2001.

HANASAKI, Y.; OGAWA, S.; FUKUI, S. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine**, v.16, p.845-850, 1994.

HAVSTEEN, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology and Therapeutics**, v.96, p.67-202, 2002.

HEIN, K.E; TAGLIAFERRO, A.R; BOBILYA, D.J. Flavonoids, antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, n.10, p.572-584, 2002.

HERTOG, M.; HOLLMAN, P.; KATAN, M. Content of potentially nticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, p.2379-2383, 1992.

HERTOG, M.G. et al. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly. Study. **The Lancet**, v.342, p.1007-1011, 1993.

JOLY, A.B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 12. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998.

JORGE, A.O.C. **Microbiologia: atividades práticas**. 1. ed. São Paulo: Santos, 1997.

KAPADIA, G.J. et al. Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced Epstein vírus early antigen activation by natural colorants. **Cancer Letters**, n.115, p.173-178, 1997.

KOSTOVA, T.N.; NIKOLOY, N.M.; CHILPISA, L.N. Antimicrobial properties of some hidroxicoumarins and *Fraxinus ornus* bark extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, n.39, p. 205-208, 1993.

LEGRAND, D.C.; KLEIN, R.M. **Flora ilustrada catarinense: Mirtáceas**. Itajaí: P. Raulino Reitz, 1969.

LEITE, A.V. et al. Antioxidant Potential of Rat Plasma by Administration of Freeze-Dried Jaboticaba Peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.6, p.2277-2283, 2011.

LENQUISTE, S.A. et al. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v.49, n.1, p.153-160, 2012.

LEONARDI, G.R. **Cosmetologia aplicada**. São Paulo: Medifarma, 234p. 2004.

LIMA, A.J.B. et al. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.58, n.4, p.416-421, 2008.

LÓPEZ, C.A.A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, v.1, n.1, p.19-27, 2006.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, São Paulo, 1992.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, São Paulo, 2002.

LUNARDI, I.; PEIXOTO, J.L.B.; VIDOTTI, G.J. Constituintes Químicos das Partes Aéreas da Espécie Vegetal *Eugenia moraviana* Berg (Myrtaceae). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 21, 1998. Poços de Caldas. **Livro de Resumos**. Poços de Caldas, MG, 1998. p.124.

MACIEL, M.A.M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MARTINS, E.R. et al. **Plantas Mediciniais**. Viçosa: UFV, 1998.

MELLO, J.P.C.; SANTOS, S.C. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Florianópolis: Editora UFSC, 2001.

MIMS, C. et al. **Microbiologia Médica**. 2. ed. São Paulo, 1999.

MORAIS, G.C. et al. Attainment of O/w Emulsions Containing Liquid Crystal from Anatto Oil (*Bixa Orellana*), Coffee Oil, and Tea Tree Oil (*Melaleuca alternifolia*) as Oily Phase Using HLB System and Ternary Phase Diagram. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v.29, p.297-306, 2008.

- MURRAY, P.R. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 7. ed. Washington: ASM Press, 2000.
- NEWALL, C.A.; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, D.J. **Herbal medicines: A guide for health-care professional**. Londres: The Pharmaceutical Press, 1996.
- OLIVEIRA, A.L. et al. Caracterização tecnológica de jaboticabas 'sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p.397-400, 2003.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v.39, p.791-800, 2006.
- PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. **Food Science and Technology**, v.40, n.1, p.1-11, 2007.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; CURTIS, H. **Biologia Vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 906p.
- REYNERTSON, K.A.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Antioxidant Potential of seven myrtaceous fruits. **Ethnobotany Research & Applications**, v.3, p.25-35, 2005.
- REYNERTSON, K.A. et al. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v.69, n.8, p.1228-1230, 2006.
- REYNERTSON, K.A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v.109, n.4, p.883-890, 2008.
- RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A.; Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio dos cerrados na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.1, p.102-123, jan./fev. 2001.
- SANCHES, A.C.C. et al. Antioxidant and antifungal activities of extracts and condensed tannins from *Stryphmodendron obovatum* benth. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v.41, n.1, p.101-107, 2005.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v.8, p.121-137, 2002.
- SARTORELLI, P. et al. A new minor dimmeric ester from seeds of *Cassia fistula* L. (Leguminosae). **Natural Product Research**, v.26, n.1, p.36-41, 2012.
- SHARAPIN, N. **Fundamentos de Tecnologia de Produtos Fitoterápicos**. Santafé de Bogotá – Colômbia: CYTED, 2000.
- SILVA, P.H. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*). **Revista Química Nova**, v.15, 2008.
- SOARES, M.A. Resistência antibiótica. **Pharmacia Brasileira**, v.3, n.24, p.6-62, 2001.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, Campinas, v.15, n.1, p.71-81, 2002.

SOUZA, M.M. et al. Métodos de Avaliação de Atividade Biológica de Produtos Naturais e Sintéticos. In: BRESOLIN, T.M.B., CECHINEL FILHO, V. (Orgs.). **Ciências Farmacêuticas: Contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos**. Itajaí: UNIVALI, 2003.

TAVARES, W. **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1996.

TERCI, D.B.L. **Aplicações Analíticas e Didáticas de Antocianinas Extraídas de Frutas**. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 2004.

THADROS, T. et al. Formation and stability of nanoemulsions. **Advances In colloids and Interface Science**, v.108-109, p.303-318, 2004.

TREVISAN, M.T.S. et al. Atividades larvicida e anticolinesterásica de plantas do gênero *Kalanchoe*. **Química Nova**, v.29, n.415-418, 2006.

VALGAS, C. et al. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, n.2, p.369-380, jun., 2007.

VASCONCELOS, E.A.F. et al. Influência do processo extrativo, solvente e tamanho da partícula do material vegetal no teor de sólidos totais da solução extrativa da *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Fitos**, v.1, n.1, p.74-79, 2005.

VILEGAS, W.; CARDOSO, C.AL. Controle químico de qualidade de fototerápicos e plantas medicinais. In: YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. Itajaí: Univali, 2007, cap.7, p.157-182.

YAMAMOTO, Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. **Journal of Dermatological Science**, v.27 Suppl 1, S1-4, 2001.

YOSHIKAWA, K. et al. Lanostane triterpenoids and triterpene glycosides from the fruit body of *Fomitopsis pinicola* and their inhibitory activity against COX-1 and COX-2. **Journal of Natural Products**, v.68, n.1, p.69-73, 2005.

ZAITZ, C. et al. **Micologia Médica**. Rio de Janeiro: Medsi, 1998.

CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO *in vitro* DAS PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DA JABUTICABA E OBTENÇÃO DE UM SISTEMA FARMACÊUTICO EMULSIONADO

Jéssica Aparecida Coelho¹; Mauricio Ferreira da Rosa²; Inara Staub Prochnau³

1 - Discente do Mestrado em Ciências Farmacêuticas. UNIOESTE.
jehsik_coelho@hotmail.com

2 - Docente do Mestrado em Ciências Farmacêuticas. UNIOESTE.

3 - Docente do curso de Farmácia. PUCPR.

RESUMO: A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), fruta tipicamente brasileira, é rica em minerais, vitaminas e compostos fenólicos, sendo que esses últimos são encontrados em maior proporção na casca do fruto e apresentam várias atividades benéficas ao organismo, tais como: ação antioxidante, anticancerígena e anti-inflamatória. Visando ressaltar a importância do uso de plantas para o tratamento de diversos males, o intuito desse trabalho foi realizar análises *in vitro*, a partir do extrato metanólico das cascas da jabuticaba, frente a avaliação do potencial antioxidante, ação antimicrobiana sob cepas de fungos e bactérias, efeito citotóxico em hemácias humanas e ainda a obtenção de uma nanoemulsão, visto que essas formulações apresentam vantagens como melhor espalhabilidade e penetração na pele. Frente ao teste da atividade antioxidante pelo método DPPH, o extrato apresentou ação antioxidante significativa de 87,68% e o extrato metanólico, nas concentrações de 16, 12, 8 e 4 mg/mL não apresentou efeito na inibição do crescimento, frente às cepas dos microorganismos testados, assim como também não demonstrou toxicidade. A partir dos resultados vantajosos da ação antioxidante deste material vegetal, foi possível desenvolver uma nanoemulsão O/A com a incorporação do extrato metanólico. Estudos dessa natureza reafirmam a importância de dados etnofarmacológicos na seleção de plantas para triagem da bioatividade, uma vez que os resultados contribuem para a identificação de atividades biológicas de extratos vegetais da flora brasileira utilizados na medicina popular.

Palavras-chave: compostos bioativos, atividade antioxidante, nanoemulsão.

***In vitro* EVALUATION OF PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF THE METABOLIC EXTRACT OF JABUTICABA PEEL'S AND OBTAINING AN EMULSIONED PHARMACEUTICAL SYSTEM**

ABSTRACT: Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), a Brazilian fruit, is rich in minerals, vitamins and phenolic compounds. The latter are found in greater proportion in the fruit peel and have several beneficial activities to the organism, such as: antioxidant, anticancer and anti-inflammatory action. Aiming at highlighting the importance of the use of plants for the treatment of several diseases, the purpose of this work was to perform *in vitro* analyzes from the methanolic extract of Jabuticaba peels, against the evaluation of the antioxidant potential, antimicrobial action under strains of fungi and bacteria, cytotoxic effect on human red blood cells and nanoemulsion obtainment, as these formulations have advantages, such as better spreadability and penetration in the skin. Compared with the antioxidant activity test by the DPPH method, the extract had a significant antioxidant action of 87,68% and the methanolic extract at the concentrations of 16, 12, 8 and 4 mg/mL had no effect on the inhibition of growth, compared to the strains of the tested microorganisms, nor did it show any toxicity. From the advantageous results of the antioxidant action of this plant material, it was possible to develop an O/A nanoemulsion with the incorporation of the methanolic extract. Studies of this nature reaffirm the importance of ethnopharmacological data in plant selection for bioactivity screening, since the results contribute to the identification of biological activities of plant extracts of Brazilian flora used in folk medicine.

Keywords: bioactive compounds, antioxidant activity, nanoemulsion.

INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o uso de plantas medicinais é uma importante alternativa para o tratamento de doenças, principalmente nos países em desenvolvimento, atendendo aos cuidados primários com a saúde. Desta forma, é inegável que a maioria da população de baixa renda recorra às plantas medicinais para o tratamento dos seus males (BRASIL, 2004).

O uso de extratos vegetais e fitoquímicos com fins medicinais é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. As plantas adquiriram grande importância na medicina popular devido às suas propriedades terapêuticas e até mesmo pela toxicidade apresentada (MARTINS et al., 1998).

Planta medicinal é toda aquela, que apresente em sua composição, algum tipo de substância biologicamente sintetizada, seja ela a partir da água e de nutrientes, os quais possam provocar nos organismos vivos, reações que variem desde a cura até o abrandamento das doenças (FETROW; ÁVILA, 1999).

Essas substâncias com propriedades biológicas desejáveis ao metabolismo da planta, podem ser distintas de duas formas: os metabólitos primários, presentes em todas as plantas, sendo estes essenciais para seu crescimento e, os metabólitos secundários, presentes em metabolismos específicos e resultantes de processos adaptativos (BARRACA, 1999; BASILE *et al.*, 2000).

No Brasil, a utilização de plantas para fins terapêuticos apresenta influência da cultura indígena. Apesar de muitos vegetais não possuírem seus compostos químicos conhecidos, os mesmos são prescritos com frequência, de acordo com as observações terapêuticas conhecidas por crenças e costumes (MACIEL et al., 2002).

Pesquisas demonstram que, aproximadamente 25%, dos fármacos utilizados são de origem vegetal, enquanto que 50% são de origem sintética, porém, relacionados aos princípios de produtos naturais. Alguns fatores que têm contribuído para o aumento da utilização de plantas medicinais são o alto custo dos medicamentos industrializados, e o difícil acesso à assistência médica e farmacêutica na rede pública (SIMÕES; SCHENKEL; GOSMAN, 2002; SIXEL; PECINALLI, 2002).

Existe uma grande variedade de espécies vegetais presentes na flora mundial, mais de 300 mil, sendo que destas, muitas apresentam propriedades

terapêuticas de grande importância na medicina (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998). Entretanto, muitas delas ainda não apresentam estudos científicos do ponto de vista farmacológico, biológico e até mesmo clínico (YUNES; CALIXTO, 2001).

Entre as diversas famílias que fazem parte do arsenal de plantas que apresentem alguma propriedade terapêutica, a família Myrtaceae é de grande relevância, pois abrange cerca de 159 gêneros tendo aproximadamente 3.600 espécies. Embora sejam encontradas em todo o mundo, os grandes centros de dispersão são as regiões subtropicais e tropicais (LUNARDI; PEIXOTO; VIDOTTI, 1998).

A família Myrtaceae é considerada a mais ampla do reino vegetal, do ponto de vista taxonômico, pois apresenta em suas folhas um grande número de constituintes voláteis. As plantas desta família são reconhecidas pela produção de óleos essenciais, os quais são considerados misturas complexas de substâncias voláteis, que contribuem para a fragrância das plantas que os produzem (LEGRAND; KLEIN, 1969).

Conforme o desenvolvimento de novos produtos, os extratos vegetais desempenham um papel de extrema importância em diversos seguimentos do setor industrial, dentre eles, destacam-se as indústrias farmacêuticas, cosméticas, alimentícias e têxteis. Por apresentarem diferentes aplicabilidades e funções, podem ser utilizados como corantes naturais, na produção de alimentos funcionais, como agentes conservantes e aromatizantes, na produção de medicamentos, suplementos vitamínicos, nutracêuticos, entre outras aplicações (HERRERO; CIFUENTES; IBAÑEZ, 2006).

DESCRIÇÃO BOTÂNICA

A espécie vegetal *Myrciaria cauliflora* (*M. cauliflora*), representante da família Myrtaceae, pertence ao gênero *Eugeniae*, mais comumente conhecida como jabuticabeira, é uma planta frutífera nativa brasileira, originária da região centro sul, a qual demonstra exercer atividade antimicrobiana, antioxidante, antiviral e anticancerígena (LEGRAND; KLEIN, 1969), além de ser empregada na medicina popular como antidiarreico, contra inflamações de garganta, anginas do peito, asma e erisipela (CRUZ, 1982).



Figura 3 - Flor e fruto da espécie vegetal *Myrciaria cauliflora* Berg. Fonte: a autora, 2017.

Desenvolve em uma variedade de solos, embora se adapte melhor em solos sílicoargilosos e os argilossilicosos profundos, férteis e bem drenados (ANDERSEN; ANDERSEN, 1989). É uma árvore de tamanho médio, ornamental, cujas flores são brancas e folhas opostas, possui frutos globosos carnudos e comestíveis de cor roxa escura. Floresce geralmente duas vezes ao ano, em julho-agosto e novembro-dezembro, e os frutos maduros ocorrem em agosto-setembro e janeiro (LORENZI, 2002).

A importância industrial dos frutos da jabuticabeira tem sido relatada por diversos autores. Seu consumo *in natura*, na forma de geleias, licores, sucos, vinhos e diversas sobremesas, apresentam uma grande aceitação, já que seus frutos são doces e saborosos (ANDERSEN; ANDERSEN, 1989). Outras características importantes sobre esta espécie frutífera é o seu alto valor paisagístico e por demonstrar uma madeira de excelente qualidade (LORENZI, 1992). A casca do caule pelo seu poder adstringente é utilizada para problemas intestinais e a madeira é usada para obras internas, lenha e carvão (CORREIA, 1984).

Na industrialização deste vegetal, as cascas e sementes da jabuticaba são desprezadas, representando aproximadamente uma perda de 50% do fruto. Parte desse resíduo é utilizada usualmente *in natura* como alimentação animal, porém, a maior parte é descartada ou usada em compostagem. Devido à perecibilidade do fruto, a matéria-prima talvez ainda sofra certa limitação no comércio (OLIVEIRA et al., 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Os frutos da jabuticabeira foram coletados no mês de setembro de 2015 no período da manhã. A planta é oriunda de uma propriedade particular localizada no município de Toledo/PR, conforme coordenadas geográficas: Latitude (S) 24° 73' 31,9", Longitude (W) 53° 73' 63,2". A excicata do material vegetal foi preparada, e a identidade botânica da planta passou por confirmação através da comparação de uma espécie que se encontra depositada no Herbário da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

Os frutos ficaram imersos durante 10 minutos em uma solução de hipoclorito de sódio à 10%, para remoção de qualquer tipo de sujidade presente no material vegetal. As cascas da jabuticaba foram completamente desidratadas em estufa (Nova Ética 420-8D) de ar circulante, a temperatura de 40°C por 4 dias, posteriormente, trituradas em moinho de facas (Tecnal® TE-680) até sua transformação em pó fino. O material vegetal foi conservado em frasco hermeticamente fechado ao abrigo da luz e calor.

OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Os extratos acetato de etila (EAE), metanólico (EM) e hexânico (EH) foram obtidos na proporção de 1:6 (100 gramas planta: 600 mL solvente), através da técnica de Soxhlet (Wimax®). Os extratos assim obtidos foram rotaevaporados em evaporador rotativo (Quimis® Q-355B) em temperatura de 70°C, para eliminação total dos solventes, e então, liofilizados e estocados a 5°C.

AValiação Fitoquímica

A investigação fitoquímica preliminar dos constituintes dos extratos foi realizada por meio de testes colorimétricos e de precipitação, seguindo metodologia para observação da presença (caracterização) de carboidratos, açúcares redutores, taninos, saponinas, flavonoides, esteroides, alcaloides, antraquinonas e glicosídeos, conforme metodologia descrita por Goyal et al. (2010).

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante dos extratos EAE, EM e EH, foi determinada através da metodologia descrita por Rufino et al. (2007), com modificações, para o teste de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil).

A avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH, foi realizada a partir do monitoramento do consumo do radical livre DPPH pelas alíquotas das amostras, através da medida do decréscimo das respectivas medidas de absorvância. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (T80+/UV/VIS SPECTROMETER), no comprimento de onda de 515 nm (SÁNCHEZ-MORENO; LARRAURI; SAURACALIXTO, 1998).

Primeiramente, foi realizada a determinação da curva padrão do DPPH, a partir das soluções de DPPH previamente preparadas em seis concentrações (10 µM, 20 µM, 30 µM, 40 µM, 50 µM e 60 µM). O álcool metílico foi utilizado como branco para calibração do espectrofotômetro. Após a leitura, foi calculada a equação da reta.

Para a determinação da atividade antioxidante total (AAT) dos extratos, pela técnica do radical DPPH realizada em triplicata, uma alíquota de 0,1 mL na concentração de 1 mg/mL do extrato foi transferida para tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH 0,06 mM, e homogeneizada em agitador em tubos. Como controle foi utilizado 0,1 mL da solução controle (álcool metílico, acetona e água), com 3,9 mL do radical DPPH, e o álcool metílico como branco.

A partir dos resultados obtidos na leitura das amostras, determinou-se a porcentagem de atividade antioxidante a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{(\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}) \times 100}{\text{Abs controle}}$$

Em que:

Abs controle = absorvância da solução de DPPH sem amostra;

Abs amostra = absorvância da amostra com o DPPH.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Microrganismos

Para a avaliação do potencial antimicrobiano foram utilizadas cepas catalogadas das bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922) e *Escherichia coli* (ATCC 25923) e dos fungos *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Candida tropicalis* (ATCC 201380), todas fornecidas pelo laboratório de microbiologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná *campus* Toledo.

Preparo do inóculo

Os microrganismos utilizados nos testes foram mantidos em refrigerador, em caldo nutriente e repicados para uma placa de Petri, 24-48 horas antes do ensaio, permanecendo em estufa bacteriológica (Quimis®) a uma temperatura de 37°C (bactérias) e 28°C (fungos). No momento do ensaio, os microrganismos foram transferidos para solução salina 0,9% esterilizada, até obter-se uma suspensão de $25 \pm 2\%$ de transmitância a 580 nm em colorímetro (Micronal B440). A partir desta suspensão, preparou-se o inóculo a 1,0% em ágar, onde foi colocado 1 mL da suspensão em 100 mL de meio Ágar Mueller-Hinton (Biotec®), a temperatura entre 46 e 48°C.

Ensaio microbiológico

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada em triplicata e desenvolvida conforme descrito na F. Bras. V (2010), com adaptações, empregando o método de difusão em ágar por perfusão, também conhecida como técnica dos poços.

Em câmara de fluxo laminar (Veco-BioSeg® 09), foram colocados 21 mL do meio de cultura em placas de Petri e após solidificação, foram acrescentados 4 mL do meio contendo o inóculo à 1%. Após solidificação, foram feitos 6 orifícios no meio de cultura, sendo, quatro poços destinados às soluções previamente preparadas dos extratos, nas concentrações de 16, 12, 8 e 4 mg/mL, e os outros dois poços foram utilizados para controle positivo (amoxicilina 10 µg - bactérias) e (cetoconazol 10 µg

- fungos) e como controle negativo (água estéril).

Após o ensaio, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica (Quimis®), a 37°C por um período de 24 horas para bactérias e a 28°C por 48 horas para fungos, e então procedeu-se a leitura/análise das placas com auxílio de paquímetro. O resultado final foi determinado pela média dos halos de inibição em milímetros (mm), verificando a sensibilidade das cepas, pela presença ou ausência de halos de inibição (BARBOSA; ZANIN, 2007).

AÇÃO CITOTÓXICA

Método baseado em Latoud et al. (1986), com modificações. Eritrócitos humanos, coletados de indivíduo saudável, foram lavados três vezes com tampão fosfato salino (PBS) pH 7,4, por centrifugação a 1500 rpm por 10 minutos. Em tubos contendo 500 µl de eritrócitos humanos a 4% foram adicionados alíquotas do extrato dissolvidos com DMSO (na concentração máxima de 2%) e PBS, para as concentrações de 1, 10, 15, 50, 100, 150 e 175 µl/mL no volume final de 1 mL.

Esse procedimento foi realizado para o extrato obtido com o solvente metanol. Em seguida, as suspensões de eritrócitos a 2% com o extrato foram incubadas a 37°C por 1 hora. Depois da incubação, as células foram sedimentadas a 1500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e a absorbância foi determinada usando espectrofotômetro (T80+/UV/VIS SPECTROMETER) em 450 nm.

Para obtenção do branco foi utilizado o DMSO a 2%, maior concentração utilizada, juntamente com os eritrócitos e o tampão. No controle negativo foi utilizado suspensões de eritrócitos e tampão PBS e para o controle positivo foi usado um tampão de lise (ácido acético 2%) para lisar completamente os eritrócitos.

A porcentagem de hemólise foi calculada e representada graficamente, para determinar os efeitos citotóxicos das doses utilizadas para eritrócitos humanos. O teste foi realizado em triplicata. A porcentagem de eritrócitos intactos e o percentual de hemólise foram calculados usando as seguintes fórmulas:

$$\% \text{ eritrócito intacto} = 1 - \left(\frac{\text{Abs sobrenadante dos extratos} - \text{Abs branco}}{\text{Abs do tampão de lise} - \text{Abs do PBS}} \right) \times 100$$

$$\% \text{ de hemólise} = 100 - (\% \text{ de eritrócitos intactos})$$

DESENVOLVIMENTO DA NANOEMULSÃO

Para se obter uma emulsão, é necessário o uso de água, óleo, um emulsificante também conhecido como tensoativo e o uso de energia, geralmente mecânica. A produção das gotas é de fácil obtenção, mas sua quebra em pequenas gotículas costuma ser mais complicado, e para que isso seja possível, é preciso o uso de energia, a qual geralmente é fornecida através de agitação intensa (SOLANS et al., 2005; FENNEMA, 2010).

A emulsão O/A foi preparada em triplicata através da metodologia clássica descrita por Santos (2006), com adaptações. O tensoativo Tween® 80 primeiramente foi solubilizado na fase aquosa, posteriormente, as fases aquosa e oleosa (lecitina e lanolina) foram aquecidas separadamente à temperatura de $75 \pm 2^\circ\text{C}$, em seguida a fase oleosa foi vertida sobre a fase aquosa sob agitação constante e contínua de 600 rpm por 5 minutos.

Após a agitação, a emulsão foi transferida para o banho de ultrassom à $13 \pm 2^\circ\text{C}$ para a incorporação do extrato metanólico. O extrato vegetal foi adicionado na emulsão na concentração de 1%. A utilização dessa concentração foi definida de acordo com as preparações cosméticas já existentes no mercado, as quais utilizam concentrações de até 15% de extrato, sendo preferencialmente utilizadas as menores concentrações que promovam eficácia, a fim também de diminuir os custos da formulação.

A emulsão ficou mantida no banho de ultrassom por 10 minutos, após este período, o aparelho foi desligado para que a formulação atingisse a temperatura ambiente de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXTRATOS VEGETAIS

Os rendimentos alcançados, a partir, da obtenção dos extratos EAE, EM e EH, na proporção de 1:6 (planta: solvente) pelo uso da técnica de Soxhlet, a qual permite o contato direto do material vegetal e o seu respectivo líquido extrator, estão demonstrados Tabela 2.

Tabela 2 - Tempo de extração, rendimento em gramas (g) e em porcentagem (%), dos extratos acetato de etila, metanólico e hexânico, das cascas da *Myrciaria cauliflora* Berg, na proporção de 1:6 (planta: solvente), obtidos pela técnica de Soxhlet.

Extrato	Tempo de Extração		
	(horas)	Rendimento (g)	Rendimento (%)
Acetato de etila	2	1,57	1,56
Metanólico	3	21,87	21,84
Hexânico	2	0,69	0,69

Fonte: a autora, 2017.

AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA

As espécies vegetais têm sido utilizadas milenarmente como fontes de substâncias que apresentem algum potencial farmacológico. No entanto, uma pequena porcentagem tem sido estudada quanto à sua composição química. Este estudo pode ser realizado por meio de análises fitoquímicas, as quais identificam de forma simples e rápida a presença de certos compostos nas drogas vegetais (SARTORELLI et al., 2012).

Os resultados obtidos nos testes fitoquímicos preliminares, após análise dos três extratos EAE, EM e EH, para a identificação de carboidratos, açúcares redutores, taninos, saponinas, flavonoides, esteroides, alcaloides, antraquinonas e glicosídeos, encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados dos testes fitoquímicos de identificação/avaliação dos compostos presentes nas cascas da *Myrciaria cauliflora* Berg, a partir dos extratos acetato de etila, metanólico e hexânico, seguindo metodologia descrita por Goyal et al. (2010).

Compostos Químicos	Extrato Acetato de Etila	Extrato Metanólico	Extrato Hexânico
Carboidratos	+	-	++
Açúcares redutores	-	+++	-
Taninos	-	-	-
Saponinas	-	++	+++
Flavonoides	-	+	-
Esteroides	+	+++	++
Alcaloides	-	-	-
Antraquinonas	-	-	-
Glicosídeos	+	-	-

Fonte: a autora, 2017.

Nota: Legenda: Reação Positiva: + fraca, ++ média, +++ forte. Reação Negativa: -

Com os testes realizados para a identificação dos compostos presentes nas cascas da *Myrciaria cauliflora*, a partir do EAE verificou-se a presença de carboidratos, esteroides e glicosídeos, enquanto que no EH foi detectado carboidratos, saponinas e esteroides. Já no EM foi detectada a presença de açúcares redutores, saponinas, flavonoides e esteroides. Os demais compostos não foram detectados nos extratos das cascas desta espécie vegetal.

Esteroides foram detectados na fração hexânica pelo aparecimento de cor azul evanescente seguida de verde. Isso ocorre porque os esteroides, são compostos apolares, podendo aparecer, portanto, em solventes apolares, como o hexano, ou, em menor quantidade, em solventes de polaridade intermediária (YUNES; CALIXTO, 2001).

Segundo Silva (2008) e Terzi (2004), os frutos produzidos pela jabuticabeira, apresentam um elevado teor de fibras, vitaminas, carboidratos, sais minerais como o fósforo, cálcio e ferro, além dos flavonoides, conhecidos como compostos fenólicos, os quais demonstram potencial antioxidante, prevenindo doenças oxidativas e inflamatórias, além da presença das antocianinas, responsáveis pela coloração característica do fruto.

As jabuticabas apresentam em sua composição três tipos de polifenóis: taninos, flavonoides e antocianinas. Os dois primeiros estão presentes em maior quantidade nas cascas e sementes dos frutos, e o último é encontrado apenas nas cascas. Estes três tipos de fenóis interagem entre si e são responsáveis pelo sabor e coloração das bebidas como os vinhos e os licores (LIMA et al., 2008).

Os flavonoides, composto detectado no EH das cascas da jabuticaba apresentam ação anti-inflamatória, antiviral, antioxidante, anti-hemorrágica, antimicrobiana e antitumoral, sendo também utilizados no tratamento de hipertensão e de doenças circulatórias (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Além destas propriedades, os flavonoides atuam na inibição de enzimas nas mitocôndrias e estão presentes em folhas verdes podendo também protegê-las contra o excesso de raios ultravioleta, além de proteger contra a invasão de agentes microbianos (HARBORNE; WILLIAMS, 2000).

De acordo com as características de polaridade demonstradas por cada

solvente em específico e até mesmo pelas propriedades dos compostos presentes nas plantas, é que se correlaciona os princípios ativos extraídos a partir de cada extrato, de modo que solventes polares apresentam a capacidade de extrair compostos mais polares. Cabe ressaltar que este método preliminar de avaliação fitoquímica é qualitativo e que concentrações muito baixas de certos compostos podem resultar em falso negativo, visto que até mesmo a cor do extrato (roxo escuro) pode interferir nos resultados finais.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Com a finalidade de avaliar a capacidade dos constituintes dos extratos EAE, EM e EH, das cascas da *Myrciaria cauliflora* em capturar radicais livres (DPPH), foi realizada as análises das soluções destes extratos com DPPH.

O gráfico (Figura 4) obtido, através da equação da reta, para a determinação da curva do DPPH, apresenta a correlação linear $R^2 = 0,9917$. As distorções observadas podem ter sido ocasionadas por erros do operador ou do equipamento. O R^2 , abaixo, mostra que a reta teve uma linearidade de aproximadamente 99%.

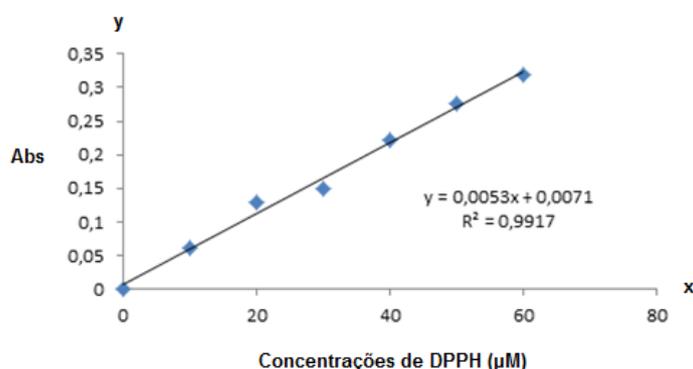


Figura 4 - Representação gráfica da curva padrão do DPPH e sua respectiva equação da reta, obtida através de espectrofotometria na região UV com λ de 515 nm. Fonte: a autora, 2017.

Os resultados da atividade antioxidante das amostras estão expressos em porcentagem de inibição de oxidação, ou seja, a porcentagem de atividade antioxidante é correspondente à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante presente nas sete soluções testadas (Tabela 4).

Tabela 4 - Média das absorvâncias (Abs), desvio padrão e porcentagens da atividade antioxidante calculadas para a concentração de 1 mg/mL dos extratos acetato de etila, metanólico e hexânico das cascas da *Myrciaria cauliflora* Berg.

Extrato	Média das Abs		
	(n=3)	Desvio Padrão (%)	Atividade Antioxidante (%)
Acetato de etila	0,341	0,006658	31,11
Metanólico	0,061	0,000577	87,68
Hexânico	0,456	0,000577	7,88

Fonte: a autora, 2017.

Nota: n= número de repetições.

Frente à atividade antioxidante, o EM foi o que demonstrou maior capacidade em consumir o radical DPPH, esta atividade pode estar relacionada à presença de flavonoides, os quais foram detectados neste extrato vegetal. Os outros dois extratos (EAE e EH), também demonstraram ação antioxidante, porém em níveis mais baixos e não tão significativos.

Nos últimos anos, diferentes espécies vegetais têm sido investigadas como potenciais fontes de moléculas antioxidantes (PINNEL, 2003). A atividade antioxidante dos extratos vegetais obtidos das plantas tem sido correntemente relacionada com a presença de compostos polifenólicos, como exemplo, os flavonoides (LIGGINS et al., 2000; SARTOR et al., 2002).

Antioxidantes são substâncias capazes de neutralizar radicais livres, prevenindo o dano causado por eles. Impedem que as substâncias oxidantes, atinjam seus alvos biológicos, prevenindo que reações em cadeia sejam iniciadas, ou ainda, que outras espécies reativas sejam formadas a partir de oxigênio (HALLIWELL, 2001).

Conforme relatos de Podsedek (2007), as frutas apresentam em sua composição maior quantidade de compostos fenólicos do que os vegetais. As principais fontes de compostos fenólicos como as antocianidinas e antocianinas são as frutas cítricas e frutas de cor escura como a uva, cereja, ameixa e a jabuticaba, sendo que nesta última espécie são encontrados em maior quantidade no epicarpo.

Estudos realizados com os frutos de *M. cauliflora* apontam diversas atividades biológicas exercidas, dentre as ações destaca-se a atividade antioxidante, que pode ser atribuída principalmente às antocianinas presentes na casca do fruto (LEITE et al., 2011; REYNERTSON; BASILE; KENNELLY, 2005).

Geöcze (2007), analisando a atividade antioxidante (método ABTS) de licores das cascas da jabuticaba da variedade Sabará, encontraram valores de TEAC que variaram de 1,88 a 2,88 mmol L⁻¹, calculados após 2 minutos de reação, e de 2,48 a 3,61 mM L⁻¹, após 15 minutos de reação.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A ausência de crescimento ao redor dos discos-testes reflete o potencial inibitório do extrato em relação aos microrganismos testados, portanto, a atividade antibacteriana ou antifúngica do extrato é diretamente proporcional ao diâmetro do halo de inibição formado. Extratos classificados como muito ativos, apresentam halos inibitórios de treze a dezoito milímetros (mm), extratos ativos formam halos entre nove e doze mm e os inativos, halos de nove mm ou menos (ALVES et al., 2000).

Após o ensaio de difusão em ágar, foi possível observar que os extratos EAE, EM e EH, das cascas da *M. cauliflora*, testados em quatro concentrações (16, 12, 8 e 4 mg/mL), não foram capazes de inibir o crescimento bacteriano das cepas de *S. aureus* e *E. coli.*, assim como também não houve inibição do crescimento dos fungos *C. albicans* e *C. tropicalis*.

A não formação de halos de inibição a partir do uso desses extratos, pode estar relacionada com a composição bioativa dos mesmos, podendo ainda apresentar compostos em concentrações muito baixas e que diante disso não apresentam ação contra o crescimento dos microrganismos.

Os únicos halos formados foram pelo controle positivo, o qual foi utilizado o antibiótico referência amoxicilina 10 µg e o medicamento cetoconazol 10 µg, utilizado como antifúngico (Figura 5 e 6).

Baldin e colaboradores (2014), em estudo do potencial antimicrobiano do extrato aquoso das cascas da jabuticaba, observaram zonas de inibição, com a formação de halos que variaram de 13 a 30 mm para as bactérias gram positivas e 15 a 26 mm para as bactérias gram negativas, sendo que as gram positivas apresentaram os menores valores de CIM. A ação inibitória observada no extrato aquoso deve-se, provavelmente, ao fato de que nesta fração, normalmente, são extraídos compostos polares.

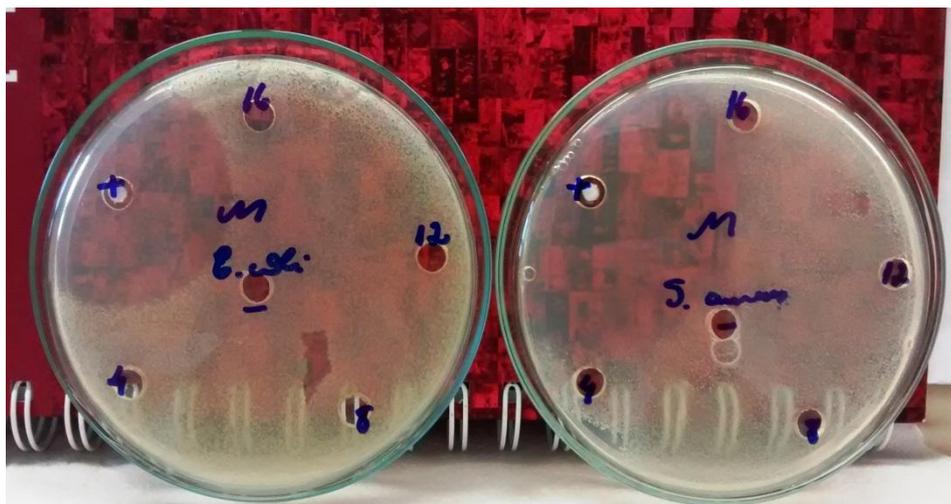


Figura 5 - Fotografia mostrando o halo de inibição de crescimento das cepas de *E. coli* e *S. aureus*, frente ao controle positivo (amoxicilina 10 µg), e ausência de halo de inibição através do uso do extrato metanólico em quatro concentrações (16, 12, 8 e 4 mg/mL). Fonte: a autora, 2017.

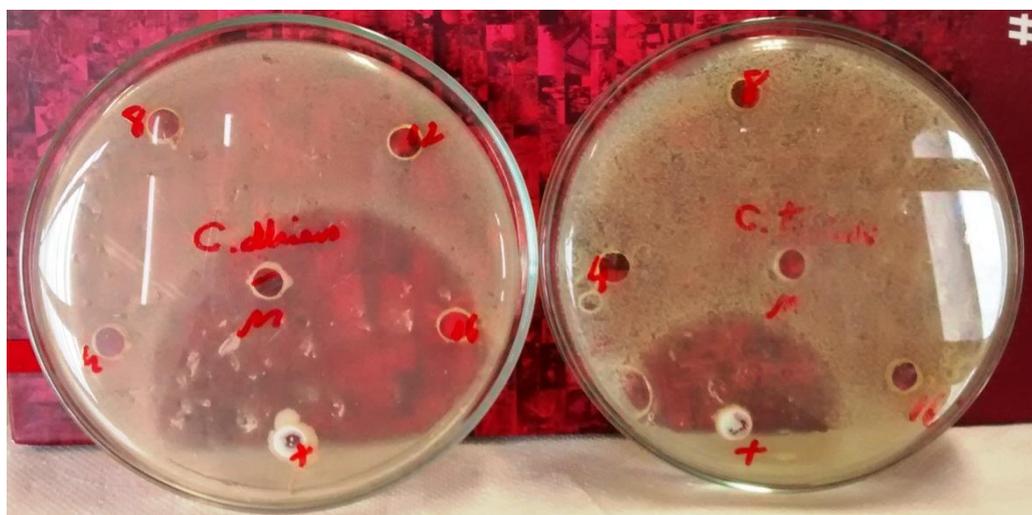


Figura 6 - Fotografia mostrando o halo de inibição de crescimento das cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis*, frente ao controle positivo (cetoconazol 10 µg), e ausência de halo de inibição através do uso do extrato metanólico em quatro concentrações (16, 12, 8 e 4 mg/mL). Fonte: a autora, 2017.

O extrato das folhas de *M. cauliflora* foi utilizado em um estudo para investigar a presença de atividade antimicrobiana contra bactérias formadoras do biofilme dental. As bactérias testadas foram: *Streptococcus mitis*, *S. mutans*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. salivarius* e *Lactobacillus casei*, e os resultados encontrados mostraram a eficácia do extrato quando comparado a clorexidina, antisséptico padronizado e comercializado (MACEDO-COSTA et al., 2009).

AÇÃO CITOTÓXICA

Após o ensaio da ação citotóxica, foi possível observar que o EM, apresentou um índice de toxicidade baixo nas menores concentrações testadas. Porém, conforme aumentava-se gradativamente as concentrações do extrato, a porcentagem de hemólise dos eritrócitos aumentava de forma significativa, resultando em uma diminuição de eritrócitos intactos. Os resultados estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5 - Média das absorvâncias (Abs), desvio padrão e porcentagens da ação citotóxica, calculadas para as sete concentrações analisadas, do extrato metanólico (EM) das cascas da *Myrciaria cauliflora* Berg.

Concentração do EM em µl/mL	Média das Abs (n = 3)	Desvio Padrão (%)	% Eritrócito	
			Intacto	% Hemólise
1	0,020	0,001155	99,87	0,13
10	0,023	0,002	99,50	0,5
15	0,031	0,001155	98,50	1,5
50	0,042	0,001	97	3,0
100	0,045	0,001732	96,60	3,4
150	0,049	0,001	96,10	3,9
175	0,053	0,000577	95,50	4,5

Fonte: a autora, 2017.

Nota: n= número de repetições.

Leite-Leggati e colaboradores (2012) realizaram experimentos com o extrato da casca de jabuticaba sobre células da medula óssea de ratos, através do teste do micronúcleo, observaram que o extrato não induziu danos ao DNA, nem apresentou propriedades citotóxicas sobre as células analisadas, sendo considerado um material não mutagênico. Outro estudo desenvolvido *in vitro* com células tumorais, apresentaram efeitos antiproliferativos satisfatórios contra a leucemia e contra células cancerosas da próstata.

Um estudo realizado por pesquisadores da Unicamp, em Campinas (SP), comprovou a eficácia da jabuticaba na prevenção do câncer de próstata e da leucemia. Isso é possível devido à presença de alguns compostos fenólicos (responsáveis pela cor do fruto) presentes na casca da fruta que reduzem em até 50% a produção de células

cancerígenas, pois atuam diretamente em duas etapas do desenvolvimento de células do câncer. A propriedade antioxidante da jabuticaba combate os radicais livres responsáveis pela primeira etapa da multiplicação das células, e na segunda fase, a fruta inibe a ação de enzimas responsáveis pelo surgimento da célula cancerígena.

DESENVOLVIMENTO DA NANOEMULSÃO

A nanotecnologia aplicada à cosmética e ao ramo farmacêutico, consiste basicamente, em adicionar princípios ativos (fármacos, extratos e óleos vegetais) em partículas pequenas, as quais sejam capazes de penetrar nas diversas camadas da pele, potencializando assim, o efeito dos produtos conhecidos então como nanocosméticos e nanofármacos (BAUMANN, 2005).

O sistema de ultrassom é um método rápido e eficiente utilizado para formar nanoemulsões estáveis com gotículas de tamanhos menores. Seu princípio é produzir ondas de intensas vibrações, as quais possam romper as gotículas primárias da emulsão, dando origem a gotículas de tamanhos nanométricos (BRUXEL et al., 2012).

A emulsão O/A elaborada neste trabalho, foi incorporada com o EM das cascas da jabuticaba, visto que este extrato vegetal foi o qual apresentou os melhores resultados frente a atividade antioxidante. Diante desta ação, esperasse que essa formulação possa desenvolver propriedades farmacológicas principalmente contra o envelhecimento da pele.

Após 15 dias de armazenamento à temperatura ambiente, a emulsão obtida, apresentou características físico-químicas satisfatórias e se manteve estável. Contudo, o intuito é que esta linha do projeto continue a ser desenvolvida, visto que, se faz necessário avaliar o tamanho das gotículas dessa emulsão, para assim poder dizer se é ou não nanoemulsão, e prosseguir com testes *in vitro* que determinem sua atividade, permeabilidade, e verificar se o método de preparação utilizado não inibiu a atividade antioxidante encontrada no extrato.

CONCLUSÃO

Diversas atividades biológicas já foram atribuídas à espécie *M. cauliflora*, e isso provavelmente se deve a combinação dos diversos compostos bioativos existentes em sua composição química, dentre eles destaca-se os compostos fenólicos.

Fora o grande valor medicinal, ainda representa uma grande importância econômica, pois a matéria-prima oriunda desta planta é utilizada tanto para consumo *in natura*.

A partir do desenvolvimento deste trabalho, após as análises realizadas com os extratos acetato de etila, metanólico e hexânico das cascas da jabuticaba, chegamos aos seguintes resultados:

- Através da fitoquímica preliminar, foi possível detectar carboidratos, açúcares redutores, flavonoides, saponinas, esteroides e glicosídeos;
- Frente ao método de atividade antioxidante DPPH, o EM foi o que melhor apresentou ação com 87,68%;
- No teste da atividade antimicrobiana, nenhum dos três extratos testados em quatro concentrações diferentes apresentaram potencial inibitório no crescimento de fungos e bactérias;
- Na avaliação da ação citotóxica frente à hemácias, o EM demonstrou toxicidade conforme o aumento da concentração utilizada de extrato;
- O desenvolvimento da emulsão O/A com a incorporação do EM, foi satisfatoriamente concluído;

Torna-se imprescindível uma maior investigação a respeito das propriedades medicinais, assim como a padronização do uso da *M. cauliflora*, visto que o objetivo dos estudos com plantas visam desenvolver novos produtos, os quais agreguem menos custos e mais benefícios, uma vez que a utilização racional de plantas com fins terapêuticos é de grande valor no setor da saúde.

REFERÊNCIAS

- ALVES, T. M. A. et al. Biological screening of Brazilian Medicinal Plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.95, p.367-73, 2000.
- ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V.U. **As frutas silvestres brasileiras**. Globo, p.130-135, 1989.
- BALDIN, J.C. et al. Potencial Antimicrobiano do Extrato da Casca de Jaboticaba (*Myrciaria Cauliflora*) Sobre Bactérias Gram Positivas e Negativas, **Blucher Food Science Proceedings**, v.1, n.1, p.31-32, 2014.
- BARRACA, S.A. **Manejo e Produção de Plantas Medicinais e Aromáticas**. Piracicaba: Faculdade de São Paulo, 1999.
- BARBOSA, C.; ZANIN, I. **Antibiograma: Método de difusão em ágar**. Cidade: Goiás UFCE, 2007.
- BASILE, A. et al. Antibacterial and allelopathic activity of extract from *Castanea sativa* leaves. **Fitoterapia**, v.71, p.110-116, 2000.
- BAUMANN, L. **Dermatologia Cosmética: Princípios Básicos**. Revinter, Rio de Janeiro, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução. RE nº 90/2004. Normas para estudos toxicológicos de produtos fitoterápicos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Poder Executivo. Brasília, DF. 12 de março de 2004.
- BRUXEL, F. et al. Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos. **Química Nova**, v.35, p.1827-1840, 2012.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v.21, n.1, p.99-105, 1998.
- CORREIA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. v. 4, p.375, 1984.
- CRUZ, G.L. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1982.
- F. BRAS. V. **Farmacopéia Brasileira**. 5 ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2010.
- FENNEMA, O.R. **Química de alimentos**. 4. ed. Editora Artmed, 2010.
- FETROW, C.W.; ÁVILA, J.R. **Manual de Medicina Alternativa para o Profissional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

- GOYAL, A.K.; MIDDHA, S.K.; SEN, A. Evaluation of the DPPH radical scavenging activity, total phenols and antioxidant activities in Indian wild *Bambusa vulgaris* "Vittata" methanolic leaf extract. **Journal of Natural Pharmaceuticals**, v.1, n.1, p.40-45, 2010.
- HALLIWELL, B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. **Drugs & Aging**, v.18, n.9, p.685-716, 2001.
- HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v.55, p.81-504, 2000.
- HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae, **Food Chemistry**, v.98, p.136-148, 2006.
- LATOUD, C.; PEYPOUX, F.; MICHEL, G.; GENET, R.; MORGAT, J.L. Interactions of antibiotics of the iturin group with human erythrocytes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes**, v.856, 1986.
- LEGRAND, D.C.; KLEIN, R.M. **Flora ilustrada catarinense: Mirtáceas**. Itajaí: P. Raulino Reitz, 1969.
- LEITE, A.V. et al. Antioxidant Potential of Rat Plasma by Administration of Freeze-Dried Jaboticaba Peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.6, p.2277-2283, 2011.
- LEITE-LEGATTI, A.V. et al. Jaboticaba peel: antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, Barking, v.49, n.1, p.596-603, 2012.
- LIGGINS, J.; BLUCK, J.C.; RUNSWICK, S.; ATKINSON, C.; ANDY-COWARD, W.; BINGHAM, A. Daidzein and genistein content of fruits and nuts. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.11, p.326-331, 2000.
- LIMA, A.J.B. et al. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.58, n.4, p.416-421, 2008.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, São Paulo, 2002.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, São Paulo, 1992.
- LUNARDI, I.; PEIXOTO, J.L.B.; VIDOTTI, G.J. Constituintes Químicos das Partes Aéreas da Espécie Vegetal *Eugenia moraviana* Berg (Myrtaceae). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 21, 1998. Poços de Caldas. **Livro de Resumos**. Poços de Caldas, MG, 1998. p.124.
- MACEDO-COSTA, M.R. et al. Eficácia do extrato de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. (jaboticabeira) sobre bactérias orais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.2B, p.565-571, 2009.

MACIEL, M.A.M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MARTINS, E.R. et al. **Plantas Medicinais**. Viçosa: UFV, 1998.

OLIVEIRA, A.L. et al. Caracterização tecnológica de jabuticabas 'sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p.397-400, 2003.

PINNEL, S.R. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.48, n.1, p.1-22, 2003.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. **Food Science and Technology**, v.40, n.1, p.1-11, 2007.

REYNERTSON, K.A.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Antioxidant Potential of seven myrtaceous fruits. **Ethnobotany Research & Applications**, v.3, p.25-35, 2005.

RUFINO, M.S.M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutos pela Captura do Radical Livre DPPH**. Fortaleza: Embrapa Agroindustrial tropical, 2007. (Comunicado Técnico, 127).

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.76, p.270-276, 1998.

SANTOS, O.D.H. **Desenvolvimento e avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética in vivo de emulsões de óleo de Calendula officinalis com cristal líquido**. 2006. p.25. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2006.

SARTOR, L.; PEZZATO, E.; DELL'AICA, I.; CANIATO, R.; BIGGIN, S.; GARBISA, S. Inhibition of matrix-proteases by polyphenols: chemical insight for anti-inflammatory and anti-invasion drug design. **Biochemical Pharmacology**, v.64, p.229-237, 2002.

SARTORELLI, P. et al. A new minor dimmeric ester from seeds of *Cassia fistula* L. (Leguminosae). **Natural Product Research**, v.26, n.1, p.36-41, 2012.

SILVA, P.H. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). **Revista Química Nova**, v.15, 2008.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Florianópolis: UFSC, 2002.

SIXEL, P.J.; PECINALLI, N.R. Seleção de plantas para pesquisa farmacológica. **Infarma**, v.15, n.3-4, p.70-73, 2002.

SOLANS, C. et al. Nano-emulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.10, p.102-110, 2005.

TERCI, D.B.L. **Aplicações Analíticas e Didáticas de Antocianinas Extraídas de Frutas**. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química da UNICAMP, Campinas, SP, 2004.

YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas Medicinais sob a Óptica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos, 2001.

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. Flavonoides. In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, p.577-581, 2004.