

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

THAISE GABRIELE DA SILVA BRITO

**INVESTIGAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO
HIDROETANÓLICO DA CASCA DO FRUTO DE *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O.
Berg**

RECIFE,
2015

THAISE GABRIELE DA SILVA BRITO

**INVESTIGAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO
EXTRATO HIDROETANÓLICO DA CASCA DO FRUTO DE
Myrciaria cauliflora (Mart.) O. Berg**

Dissertação apresentada
para o cumprimento parcial
das exigências para
obtenção do título de
Mestre em Bioquímica e
Fisiologia pela Universidade
Federal de Pernambuco.

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima
Co-orientadora: Profa. Dra. Biana Santana dos Santos

RECIFE,
2015

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Brito, Thaise Gabriele da Silva

Investigação de atividades biológicas do extrato hidroetanólico da casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg / Thaise Gabriele da Silva Brito - Recife: O Autor, 2015.

86 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Vera Lúcia de Menezes Lima

Coorientadora: Bianka Santana dos Santos

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Bioquímica e Fisiologia, 2015.

Inclui referências e apêndice

1. Plantas medicinais 2. Jabuticaba 3. Inflamação I. Lima, Vera Lúcia de Menezes (orient.) II. Santos, Bianka Santana dos (coorient.) III. Título

615.321

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017- 444

THAISE GABRIELE DA SILVA BRITO

**ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO
HIDROETANÓLICO DA CASCA DO FRUTO DE
Myrciaria cauliflora (Mart.) O.Berg**

Dissertação apresentada
para o cumprimento parcial
das exigências para
obtenção do título de
Mestre em Bioquímica e
Fisiologia pela Universidade
Federal de Pernambuco

Aprovado por:

Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva (UFPE)

Profa. Dra. Bianka Santana dos Santos (CAA)

Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia (UFPE)

Profa. Dra. Elba Verônica Matoso Maciel de Carvalho (UFPE)

Data: 27/02/2015

À Deus que foi e é Autor de
toda minha história de vida.
À minha família que proporcionou
uma fonte inesgotável de amor.
Às pessoas que fizeram
possível a realização desse sonho.

AGRADECIMENTOS

À Deus, um imensurável agradecimento por me permitir a realização desse sonho; e por sempre estar do meu lado, dando força para ir além de minha capacidade .

Aos meus pais, Silvan Cleide e Josias Brito, que por muitas vezes, orando e apoiando minha jornada, nunca deixaram de se preocupar com meu bem-estar e estudos. Nos tempos mais difíceis, foram eles que me deram apoio incondicional para seguir em frente na jornada, em busca da realização dos meus objetivos. E acima de tudo por abrirem mão dos seus sonhos para sonharem os meus. Com todo meu carinho e amor, obrigada!

Aos meus familiares, em especial minha vovó Vera Costa, que dedicou muito de seu tempo e paciência durante esse período, dividindo seu amor e experiência sobre a vida.

À minha orientadora Profa. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima, que de braços abertos, acolheu-me no ano de 2012, para que hoje essa conquista fosse possível. Muito obrigada pelos seus ensinamentos e seu exemplo de dedicação à ciência!

À minha co-orientadora Profa. Dra. Bianka Santana dos Santos, por sua paciência, zelo, companherismo, conselho, pois sem ela muita coisa não teria amadurecido nesse tempo de luta. Seu exemplo é singular, pois uma pessoa que nunca deixei de seguir como modelo e exemplo para minha vida acadêmica, e não deixando de ressaltar que foi ela quem me trouxe para o Departamento de Bioquímica-UFPE, e isso faz com que minha gratidão seja eterna, proporcionando à menina do interior de Pernambuco possibilidade de concretização de seu sonho.

Aos meus queridos companheiros e amigos, Janaína Campos e Tiago Araújo, que hoje vejo como irmãos, foram MUITO pacientes com minhas dificuldades de adaptação ao meio científico e, mesmo assim, acreditaram no meu potencial. Vocês serão inesquecíveis! Muito obrigada pelo acolhimento e ensinamentos transmitidos!

Aos meus companheiros do Laboratório de Lipídios, José Guedes, Albérico Real, Weber Melo, Tatiana Siqueira, Marília Juliene, Myza Borges, Caíque Fonseca, Pamella Grasielle, João Ricardhis, Ana Paula

Santana, pela disponibilidade, acolhimento e amizade demonstrados nesses anos de convívio proveitosos e saudáveis. Muito obrigada!

Um agradecimento especial ao Prof. Dr. Nicácio Henrique da Silva, que com seu exemplo de competência e paixão pela ciência, concedeu valiosos momentos de apoio para a execução do projeto.

Ao Sr. João Virgínio, por estar sempre disposto a ajudar; e por toda sua experiência partilhada, quando mais necessitei. Muito obrigada!

*“Nenhuma grande descoberta foi feita
jamais sem um palpite ousado.”
(Isaac Newton, 1850)*

RESUMO

Myrciaria cauliflora (Mart.) O. Berg é uma planta nativa do Brasil da Família Myrtaceae, também conhecida como jabuticabeira, da qual provém o fruto jabuticaba, com casca de cor violeta escura. Geralmente, esta casca é desprezada durante o seu consumo *in natura*, e recentemente seu potencial alimentício tem sido explorado em relação à produção de corantes para fins industriais, podendo também ser uma rica fonte de compostos bioativos, que possam vir a contribuir para o tratamento de diversas patologias. Em vista disso, o presente estudo teve como objetivo investigar as possíveis atividades biológicas do extrato hidroetanólico das cascas do fruto de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg, tais como: antinociceptiva, anti-inflamatória, antidiabética, hipolipidêmica, antioxidante e toxicidade aguda. Investigou-se também a presença dos metabólitos secundários na *M. cauliflora* por cromatografia de camada delgada (CCD). No modelo de nocicepção induzida intraperitonelmente por ácido acético (0,8%) o extrato hidroetanólico de *M. cauliflora* administrado por via oral nas concentrações de (12,5, 25, 50 e 100) foram capazes de inibir as contorções abdominais, assim como no modelo de nocicepção de placa quente nas concentrações de (12,5, 25, 50 e 100), o extrato aumentou o tempo de latência, com ação duradoura de até três horas. No modelo de edema de pata induzida por carragenina (1%) observou-se uma diminuição significativa do edema nos animais tratados por via oral nas concentrações (12,5, 25, 50 e 100) do extrato hidroetanólico de *M. cauliflora* num período de 3 horas. Na indução da inflamação no modelo de peritonite induzida por carragenina (1%), as concentrações (12,5, 25, 50 e 100) do extrato hidroetanólico de *M. cauliflora* também foram capazes de diminuir significativamente o acúmulo de neutrófilos na cavidade peritoneal dos camundongos no tempo de 4 horas. Além disso, o tratamento com *M. cauliflora* reduziu de forma significativa tanto os níveis glicose quanto os de lipídios nos camundongos diabéticos. No teste da atividade antioxidante, ele provou ser um potente antioxidante apresentando similaridade ao padrão ácido gálico. Foi possível também observar no ensaio de toxicidade aguda em camundongos a ausência de mortes ou sinais de toxicológicos (2000 mg/kg). O conjunto de resultados retrata a hipótese popular para as diferentes aplicações terapêuticas de *M. cauliflora* nas propriedades antidiabéticas, hipolipidêmicas, antioxidantes, antinociceptivas e anti-inflamatórias, além de indicar existência de substâncias biologicamente ativas, em que torna a *M. cauliflora* uma potencial fonte de substâncias promissoras para obtenção de novos fármacos. Desta forma, o extrato hidroetanólico 70% das cascas do fruto de *M. cauliflora* é uma rica fonte de compostos com alto potencial biológico e farmacológico que pode vir a contribuir, com segurança e eficácia para o tratamento de condições clínicas associadas a doenças crônicas não transmissíveis.

Palavras-chave: *Myrciaria cauliflora*. Nocicepção. Inflamação.

ABSTRACT

Myrciaria cauliflora (Mart.) O. Berg is a plant native to Brazil of the Myrtaceae family, also known as jabuticabeira, from which comes the jabuticaba fruit, with the bark of dark violet color. Generally, this bark is neglected during its natural consumption, and recently its food potential has been exploited in relation to the production of industrial related dyes, and it may also be a rich source of bioactive compounds, which are to contribute to the treatment of various Pathologies. The present study aimed to investigate the possible biological activities of the hydroethanolic extract of *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg Fruit, such as: Antinociceptive, anti-inflammatory, antidiabetic, hypolipidemic, antioxidant and acute toxicity. The presence of secondary metabolites in *M. cauliflora* was also investigated by thin layer chromatography (CCD). In the nociceptive model induced intraperitoneally by acetic acid (0.8%) the hydroethanolic extract of *M. cauliflora* orally administered at concentrations of (12.5, 25, 50 and 100) were able to inhibit abdominal writhing, as well as In the hot plate nociception model at concentrations of (12.5, 25, 50 and 100), the extract increased the latency time, with lasting action of up to three hours. The induction of inflammation in the carrageenan-induced peritonitis model (1%), the concentrations (12.5, 25, 50 and 100) of the hydroethanolic extract of *M. cauliflora* were also able to significantly decrease the accumulation of neutrophils in the peritoneal cavity of the Mice at the time of 4 hours. Moreover, treatment with *M. cauliflora* significantly reduced both glucose and lipid levels in diabetic mice. In the test of antioxidant activity, it proved to be a potent antioxidant exhibiting similarity to the gallic acid standard. It was also possible to observe in the acute toxicity test in mice the absence of toxicological deaths or signs (2000 mg / kg). The set of results portrays the popular hypothesis for the different therapeutic applications of *M. cauliflora* in the antidiabetic, hypolipidemic, antioxidant, antinociceptive and anti-inflammatory properties, besides indicating the existence of biologically active substances, in which it makes *M. cauliflora* a potential source Promising substances to obtain new drugs. Thus, the 70% hydroethanolic extract of the bark of the fruit of *M. cauliflora* is a rich source of compounds with high biological and pharmacological potential that can contribute, with safety and efficacy for the treatment of clinical conditions associated to non-transmissible chronic diseases.

Keywords: *Myrciaria cauliflora*. Nociception. Inflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Processo enzimático oxidante e antioxidante	19
Figura 2	Tipos de nociceptores e exemplos de substâncias estimuladoras	23
Figura 3	Transmissão da dor	24
Figura 4	Mecanismo de aderência e migração leucocitária no local da inflamação	27
Figura 5	<i>Myrciaria cauliflora</i> (MART.) O. Berg – jabuticabeira	32
Figura 6	<i>Myrciaria cauliflora</i> repleta de flores	32
Figura 7	Distribuição dos frutos de <i>Myrciaria cauliflora</i>	33
Figura 8	Casca arroxeadada escura e polpa esbranquiçada da jabuticaba	34
Figura 9	Exemplos estruturais de fármacos sintéticos	35
Figura 10	Estruturas químicas de alguns exemplos de fitofármacos relevantes	36
Figura 11	Vias metabólicas dos compostos fenólicos	38

APÊNDICE A

Figura 1	Effect of McFP-EtOH 70% in the thickness of the right posterior edema of mice.	75
Figura 2	Effects of McFP-EtOH 70% in the leukocyte migration in the model of carrageenan-induced peritonitis.	76
Figura 3	Effect of McFP-EtOH 70% in the number of writhes in the model of nociception induced by acetic acid	77
Figura 4	Effect of McFP-EtOH 70% in the latency time in the model of nociception by hot plate	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Exemplos de antioxidantes de importância biológica	20
Tabela 2	Alguns exemplos de fontes alimentares de antioxidantes provenientes da dieta	21
Tabela 3	Composição nutricional por 100g do fruto da jabuticaba	34
Tabela 4	Exemplos de compostos ativos identificados em <i>Myrciaria cauliflora</i> O.Berg	37

APÊNDICE A

Table 1	Phytochemical screening results of hydroethanol extract of <i>M. cauliflora</i>	73
Table 2	Effect of McFP-EtOH 70% on <i>M. cauliflora</i> in the determination of antioxidant activity by the DPPH radical scavenging method	74
Table 3	Effect of McFP-EtOH 70% on biochemical parameters of the diabetic mice	79

LISTA DE ABREVIATURAS e SIGLAS

5HT1b- Receptor de 5-hidroxitriptamina 1B

AIes- Anti-inflamatórios esteroidais

AINes- Anti-inflamatórios não esteroidais

AMPA- Receptor Alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico

BHA- Butilhidroxianisal

BHT- Butilhidroxitolueno

GABA- Ácido gama-aminobutírico

HDL- Lipoproteína de Alta Densidade

MS- Ministério da Saúde

NADPH- Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

NMDA- Receptor N-metil-D-aspartato

OMS- Organização Mundial de Saúde

PAF- Fator de Ativação Plaquetária

SIM- Sistema de Informação de Mortalidade

SUS- Sistema Único de Saúde

SVS- Secretaria de Vigilância em Saúde

TBHQ- Terq-butilhidroxiquinona

TNF- Fator de Necrose Tumoral

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
1.2.	OBJETIVOS	17
1.2.1	Geral	17
1.2.2	Específicos	17
2.	PLANTAS MEDICINAIS- ATIVIDADES BIOLÓGICAS	18
2.1.1	Atividade antioxidante	18
2.1.2	Atividade Antinociceptiva	21
2.1.3	Atividade Anti-inflamatória	26
2.1.4.	Atividade Hipoglicemiante e Hipolipidêmica	29
2.2	MYRCIARIA CAULIFLORA (MART.) O. BERG E O POTENCIAL BIOLÓGICO DA CASCA DE SEU FRUTO “JABUTICABA”	31
2.1.1	Aspectos Botânicos e Potencial Alimentício de <i>Myrciaria cauliflora</i> (MART.) O. Berg	31
2.1.2.	Potencial Biológico e Compostos ativos encontrado em <i>Myrciaria cauliflora</i> (MART.) O. Berg	35
2.2.3	Potencial Biológico da Casca do Fruto de <i>Myrciaria cauliflora</i> (MART.) O. Berg	40
4.	CONCLUSÕES	42
5.	REFERÊNCIAS	43
6.	APÊNDICE A- Biological activities from hydroethanolic extract of <i>Myrciaria cauliflora</i> (MART.) O. Berg peel fruits related to therapeutic potential for the clinical conditions of Noncommunicable Chronic Diseases.	57

1. INTRODUÇÃO

Desde o início da civilização, o homem tem procurado alternativas advindas da natureza para o tratamento de doenças. Dessa forma, a interação entre o homem e o meio ambiente vem proporcionando a descoberta de importantes recursos naturais, especialmente os vegetais, para fins terapêuticos, os quais têm aumentado as chances de sobrevivência da espécie humana, bem como de outros animais (GIRALDI & HANAZAKI, 2010).

No início, os materiais vegetais eram utilizados na forma como encontrados no meio-ambiente; e, posteriormente, passaram a ser concentrados para melhorar a intensidade e uniformidade de suas ações. Todas as partes de uma planta, suas flores, frutos, sementes, folhas, caule, raízes, casca, são possíveis fontes de compostos com algum tipo de atividade biológica e/ou propriedades farmacológicas, podendo funcionar como agentes medicinais no tratamento de doenças e também como protótipos para síntese de novos medicamentos que apresentem eficácia associada à diminuição do número e da gravidade de efeitos colaterais. Inclusive, muitas drogas farmacêuticas são derivadas de plantas e, primeiramente, foram utilizadas pela medicina tradicional. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 25 % dos medicamentos são derivados de espécies vegetais (AMARAL et al., 2012; PONTUAL et al., 2012; SASLIS-LAGOUDAKIS et al., 2012; ARAUJO et al., 2013).

Estudos têm reportado que um terço dos pacientes tratados, pela medicina convencional nos Estados Unidos, faz uso de terapia baseada nos potenciais farmacológicos dos vegetais. Em 1995, a indústria de fitoterápicos vendeu mais de três bilhões de dólares nos Estados Unidos, e vem, desde então, mantendo uma taxa de crescimento de pelo menos 25 % (AURICCHIO & BACCHI, 2003).

No Brasil, as plantas medicinais e seus derivados estão entre os principais recursos terapêuticos utilizados, ao longo do tempo, pela população nos seus cuidados com a saúde. Mas, apesar desse fato e da enorme biodiversidade vegetal encontrada em seus biomas, muito do potencial biológico dessas plantas é ainda subaproveitado. Até o ano de 2010, apenas dois fitoterápicos eram oferecidos como medicamentos pelo Sistema Único de Saúde (SUS), os derivados do guaco e da

espinheira santa; e, posteriormente, a rede pública passou a abranger apenas mais seis produtos fitoterápicos, que foram os formulados com alcachofra, aroeira, cáscara sagrada, garra do diabo, isoflavona da soja e unha de gato. Porém, ultimamente, como forma de ampliar as opções terapêuticas no SUS, estados e municípios passaram a ofertar serviços de fitoterapia em sua rede, aprovaram políticas e legislação específicas, instalaram hortos e laboratórios de produção com a finalidade de disponibilizar plantas medicinais e seus derivados, prioritariamente, na atenção básica, além do fornecimento de publicações para profissionais de saúde e população, sobre o uso racional desses produtos (RENAME, 2010; WHO, 2014).

Dessa forma, em especial, nos últimos cinco anos, estudos científicos têm avançado na investigação de potenciais biológicos de diversas espécies vegetais, e ainda há muito por se pesquisar. Dentre essas espécies, é válido ressaltar a importância que plantas que possuem frutos de cor escura tem recebido, desde que frutos com essa coloração podem ser fontes inestimáveis de uma grande quantidade de compostos fenólicos, como taninos, depsídeos e flavonóides, que são responsáveis do ponto de vista farmacológico por diversas atividades biológicas, prevenindo ou atenuando doenças inflamatórias propriamente ditas, bem como condições provenientes de uma resposta inflamatória exacerbada, que podem acompanhar doenças crônicas não transmissíveis bastante prevalentes no Brasil e no mundo, como por exemplo, as doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, dislipidemias, síndrome metabólica X (CITADIN et al., 2005; SANTOS, VEGGI & MEIRELES, 2010; FORTES et al., 2012; WU et al., 2012).

Uma dessas espécies de vegetais, que pode apresentar um grande potencial biológico, é uma planta nativa do Brasil da Família Myrtaceae, a *Myrciaria cauliflora* (MART.) O. Berg, que recebe o nome popular de jabuticabeira, considerada a videira brasileira, da qual provém o fruto jabuticaba, com casca de cor violeta escura. Geralmente, esta casca é desprezada durante o seu consumo *in natura* ou durante a fabricação de doces e sorvetes; e seu potencial alimentício tem sido explorado em relação à produção de corantes. Mas a casca da jabuticaba pode ser uma rica fonte dos compostos anteriormente mencionados e vir a contribuir para o tratamento de diversas patologias, bem como para a melhora do prognóstico e da qualidade de vida da população como um todo, devido, por exemplo, aos efeitos benéficos de seus compostos fenólicos na prevenção ou redução do estresse oxidativo (LIMA et al., 2008; WU et al., 2012; CALLONI et al., 2015).

Estudos têm sugerido que vinhos produzidos de outra espécie de jabuticabeira, a *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg, podem ter um maior potencial antioxidante do que vinhos produzidos das uvas, sugerindo a presença de compostos bioativos, que possuem essa propriedade, em boa quantidade em fermentados alcoólicos das jabuticabas (ASCHERI, ASCHERI & CARVALHO, 2006; SANTOS, VEGGI & MEIRELES, 2010; CAVALCANTI, VEGGI & MEIRELES, 2011; FORTES et al., 2012).

Assim, foi objetivo deste estudo a investigação de atividades biológicas relacionadas à melhora dos quadros clínicos de doenças crônicas não transmissíveis, atividades anti-inflamatória, antioxidante, antinociceptiva e hipoglicemiante, do extrato hidroetanólico da casca do fruto de *M. cauliflora* (MART..) O. Berg.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

- Investigar as atividades biológicas do extrato hidroetanólico da casca dos frutos de *Myrciaria cauliflora* (Mart) O.Berg.

2.2. Específicos

- a) Avaliar as atividades biológicas em modelos experimentais de inflamação e algesia do extrato hidroetanólico a 70% de casca dos frutos de *M. cauliflora* (MART.) O.Berg em camundongos;
- b) Analisar o potencial antidiabético e hipolipidêmico do extrato hidroetanólico a 70% de cascas dos frutos de *M. cauliflora* (MART.) O.Berg em camundongos;
- c) Investigar o potencial antioxidante do extrato hidroetanólico das cascas dos frutos de *M. cauliflora* (MART.) O.Berg;
- d) Avaliar se o extrato hidroetanólico a 70% de casca dos frutos de *M. cauliflora* (MART.) O.Berg pode causar toxicidade aguda.

2. PLANTAS MEDICINAIS - ATIVIDADES BIOLÓGICAS

A utilização de plantas medicinais está relacionada à cultura popular com uma disseminação ao longo de diversas gerações, tanto em comunidades tradicionais quanto contemporâneas. A utilização destas plantas para o tratamento de doenças se dá através de conhecimentos empíricos, frutos de observação e experiências vivenciadas, e assim constitui um importante campo gerador de conhecimento. Inclusive, estima-se que 80% da população mundial utilizam as plantas medicinais como fonte terapêutica. Contudo, a população faz uso de plantas medicinais no tratamento de suas doenças, mas nem sempre existem estudos que comprovem a eficácia e a segurança destas fontes terapêuticas (SANTOS et al., 2016).

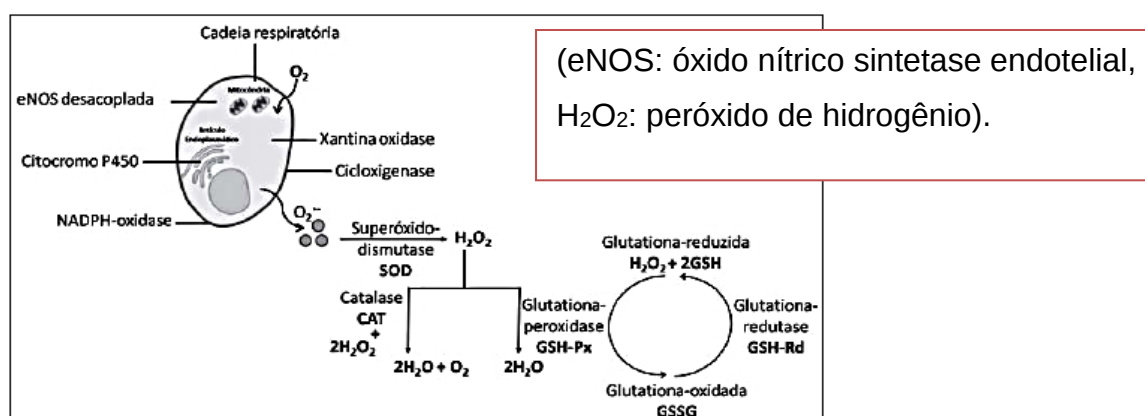
Desta forma, torna-se de extrema importância investigar o potencial que as plantas medicinais tem frente o tratamento de enfermidades e elucidar o potencial terapêutico de compostos bioativos extraídos a partir destas plantas que possuam atividades biológicas. Neste intuito, diversos estudos científicos têm sido construídos na busca de bioprodutos com atividades biológicas, tais como atividade antioxidante, antinociceptiva, anti-inflamatória, hipoglicemiante e hipolipidêmica. A busca por bioprodutos com estas atividades biológicas citadas é considerado indispensável, haja vista que podem ser empregados para o tratamento de doenças crônicas degenerativas, as quais apresentam alta prevalência e responsáveis pelas maiores taxas de mortalidade no mundo e no Brasil (MORAIS et al, 2005; HALDAR et al., 2012).

2.1.1 Atividade Antioxidante

Os radicais livres podem ser definidos como moléculas muito reativas derivados do oxigênio e nitrogênio, que possuem em sua estrutura um ou mais elétrons não pareados e agem negativamente em muitos processos fisiológicos. Sintetizados no organismo (citoplasma e mitocôndrias), em condições normais estão relacionados com a produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias essenciais ao organismo. Outras fontes de produção de espécies reativas de oxigênio também são importantes, tais como: NADPH oxidases, gerando ânion superóxido; óxido nítrico

sintetase, formando óxido nítrico; e as lipoxigenases, produzindo hidroperóxidos de ácidos graxos (Figura 1). Além de sua origem proveniente do metabolismo celular, estas moléculas também podem ser formadas em resposta a diferentes estímulos externos: radiação ionizante, poluição, agentes oxidantes e quimioterápicos (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007; FERNANDEZ-PACHON et al., 2008)

Figura 1. Processo enzimático oxidante e antioxidante



Fonte: DELBIN, 2009. Adaptado de (RAY & SHAH, 2005; BAYRAKTUTAN; BLAYNEY; SHAH, 2000).

Porém, em níveis elevados, seu acúmulo promove efeitos prejudiciais, tais como peroxidação lipídica e agressão a proteínas, enzimas, carboidratos e ácidos nucleicos, estando associado ao surgimento de diversas patologias, como a artrite, choque hemorrágico, doenças cardiovasculares, disfunções cognitivas, catarata e câncer (FERNANDEZ-PACHON et al., 2008).

A homeostase das espécies reativas pode ser equilibrada naturalmente pela presença de compostos que inibem ou retardam processos oxidativos, denominados antioxidantes, como metabólitos, vitaminas e enzimas (PERCIVAL, 1998). A atuação dos antioxidantes pode ser direcionada na inibição das reações em cadeias de Ferro e Cobre, que impedem consequentemente a formação de radicais livres, ou interceptando tais radicais, inibindo sua ação direta sobre lipídeos, aminoácidos, duplas ligações de ácidos graxos poli-insaturados e bases de DNA. De origem enzimática, podem ser citadas: superóxido dismutase, catalase, NADPH-quinona oxidoreductase, glutaciona peroxidase e enzimas de reparo. Um grupo de extrema relevância de antioxidantes pode ser obtido naturalmente a partir de alimentos, como

a vitamina C, E e A, os carotenóides e os flavonóides (Tabela 1) (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

Tabela 1. Exemplos de antioxidantes de importância biológica.

Não enzimático	Enzimático
Vitamina E	Superóxido dismutase
Vitamina A	Catalase
Vitamina C	NADPH-quinona oxidoreductase
Carotenóides	Glutathione peroxidase
Flavonóides	Enzimas de reparo
Proteínas do plasma	
Glutathione	
Selênio	

Fonte: Adaptado de BIANCHI & ANTUNES, 1999.

Podem ser classificados também de acordo com seu mecanismo de ação em: primários e secundários. Os primários retardam ou inibem inicialmente as etapas de auto-oxidação, enquanto que os secundários podem agir por diversos mecanismos, tais como: diminuição da taxa de oxidação sem a conversão de radicais livres em compostos estáveis; quelantes de metais pro-oxidantes e inativação dos mesmos; reposição de moléculas de hidrogênio primário; decomposição de hidróperóxido em espécies não radical; desativação de oxigênio singlete; absorção de radiação ultravioleta; ou ação sobre sequestro de oxigênio. Na ausência desses mecanismos, a formação de substâncias oxidativas intra ou extracelular excede as defesas celulares proporcionando um desequilíbrio e desencadeando um processo conhecido como estresse oxidativo, que está intimamente associado a processos patológicos (DRÖGE, 2002; REISCHE et al., 2002; RAMALHO & JORGE., 2006).

Outra fonte de antioxidantes pode ser produzida de origem sintética, que na grande maioria são fenóis polihídricos com várias substituições no anel, e comumente são usados pela indústria alimentícia para evitar o processo de oxidação em alimentos que contenha lipídios em seu conteúdo. Destacam-se o butilhidroxianisol (BHA), Butilhidroxitolueno (BHT) e terq-butilhidroquinona (TBHQ).

Entretanto, alguns estudos relatam que o uso excessivo desses constituintes leva ao desenvolvimento de processos inconvenientes à saúde como: alergia e câncer. Devido a este fato, têm se mostrado cadente a busca por novos constituintes de origem natural que possuam ação e eficiência similar aos antioxidantes sintéticos desencadeando pouco ou nenhum dano biológico (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

O processo de defesa do organismo contra radicais livres não seria completo se não houvesse a ingesta de antioxidantes provindos da dieta, pois no cotidiano o uso de fármacos, álcool, poluição atmosférica e muitos outros fatores, agem negativamente nos antioxidantes celulares, o que destaca a importância do consumo diário desses compostos promovendo diversos benefícios. Os compostos antioxidantes naturais exógenos são encontrados em diversos alimentos, incluindo a jabuticaba (Tabela 2). Entretanto, existem lacunas associadas ao uso de tais constituintes, como por exemplo, inexistência de recomendação específica para cada antioxidante, a falta de padronização dos valores de antioxidantes e os efeitos tóxicos provocados pelo consumo excessivo (RATAMAN et al., 2006; LIMA., 2008).

Tabela 2. Alguns exemplos de fontes alimentares de antioxidantes provenientes da dieta.

ALIMENTO	ANTIOXIDANTE	ALIMENTO	ANTIOXIDANTE
Jabuticaba	Compostos fenólicos	Uva	Ácido elágico
Mamão	β -caroteno	Laranja	Vitamina C
Brócolis	Flavonóides	Salsa	Flavonóides
Morango	Vitamina C	Vinho	Quercertina
Cenoura	β -caroteno	Noz	Polifenóis
Tomate	Carotenóides	Repolho	Taninos

Fonte: Adaptado de BIANCHI & ANTUNES., 1999.

2.1.2. Atividade Antinociceptiva

Nocicepção, por vezes chamada de dor, é considerada uma sensação de extrema relevância que envolve processos fisiológicos e sinaliza o organismo de qualquer ameaça que atinja sua integridade física e, neste sentido, é clinicamente usada para detecção e avaliação de doenças. A definição para o termo dor, usada pela Associação Internacional para o Estudo da Dor, é de que esta seja “Uma experiência emocional e sensorial desagradável associada com uma lesão tecidual

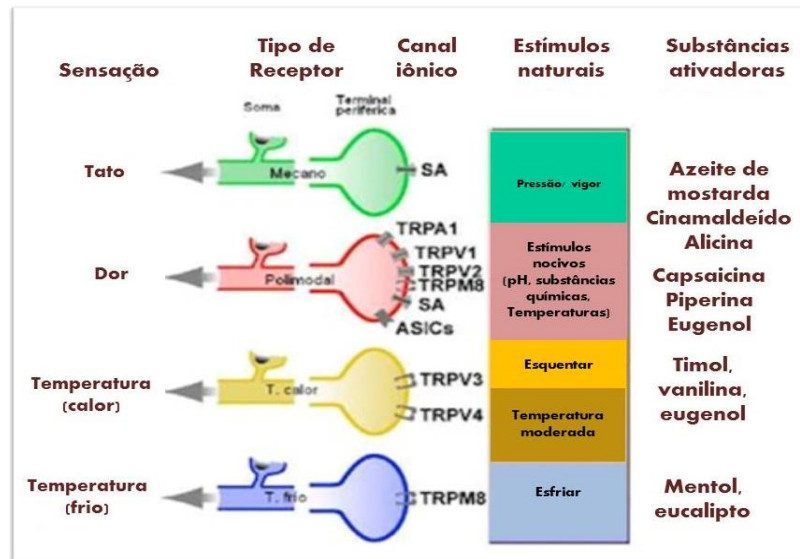
real ou potencial ou descrita em termos de tal lesão”, enquanto que o termo nocicepção refere-se às manifestações neurofisiológicas geradas pelo estímulo doloroso (MILLAN., 1999; ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK., 2004).

A dor pode ser classificada conforme o tipo de lesão: neurogênica, quando a lesão ocorre no tecido neuronal; neuropática, quando um nervo sofre uma disfunção; psicogênica, decorrente de fatores psicológicos; e nociceptiva, quando desencadeada pela excessiva estimulação dos nociceptores. Também pode ser classificada quanto a sua duração em aguda ou crônica. A dor aguda refere-se à ativação dos nociceptores, seguida do desaparecimento da sensação dolorosa até mesmo antes do restabelecimento do tecido lesionado, enquanto que a dor crônica perdura por mais tempo sucedendo mesmo o período de cura da injúria, seguida de repetição de tal processo e não se relacionando com nenhuma função fisiológica ou protetora (MILLAN., 1999, APKARIAN; BALIKI; GEHA, 2009).

Basicamente, envolve a ativação do componente sensorial que irá permitir a localização espaço-temporal, a qualificação física e a quantificação do estímulo nocivo, e a ativação do sistema cognitivo responsável por atribuir emoções ao processo, caracterizando o comportamento de dor. O componente responsável por refletir a dor é denominado nociceptor, que são terminações nervosas livres, sensíveis na presença de estímulos de origem térmico, mecânico ou químico (JULIUS & BASBAUM., 2001; ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFI , 2004; FEIN., 2011).

Dispersos por todo o corpo, os nociceptores se inervam na pele, músculos, articulações e órgãos internos, e sua principal função é expedir informações sobre a lesão aos neurônios de ordem superior. São descritos em quatro classes: mecânicos, térmicos, polimodais e silenciosos (Figura 2). Os nociceptores mecânicos são ativados em resposta à pressão intensa, os térmicos a temperaturas extremas, quentes ($> 45^{\circ}\text{C}$) ou frias ($< 5^{\circ}\text{C}$) e possuem fibras A mielinizadas. A união desses nociceptores de fibra A δ - β são chamados de nociceptores mecanotérmicos. Os polimodais podem responder tanto a estímulos nocivos de origem mecânica, térmica ou química, e os nociceptores silenciosos (“silente ou sleeping”) podem ser ativados por estímulos flogísticos e mediadores inflamatórios, porém só respondem a estímulos mecânicos e térmicos após sua ativação (FEIN, 2011).

Figura 2. Tipos de nociceptores e exemplos de substâncias estimuladoras.



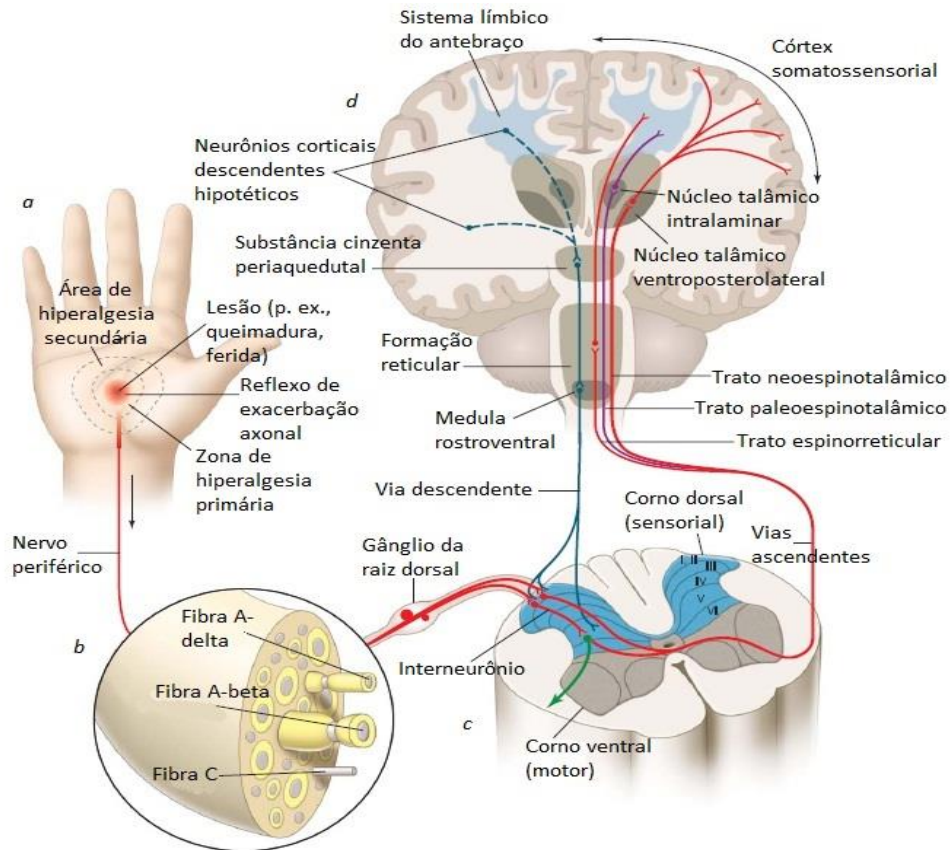
Fonte: www.lookfordiagnosis.com (2014).

A sensibilização desses receptores desencadeia a liberação de mediadores químicos, tais como, bradicinina, serotonina, histamina, metabólitos do ácido araquidônico, citocinas, neurotrofinas, opióides, acetilcolina, dentre outros. Tais substâncias interagem com nociceptores específicos, desencadeando a propagação do sinal doloroso devido a alterações na permeabilidade da membrana da fibra nervosa e consequentemente a geração do potencial de ação. A informação nociceptiva é transportada para o sistema nervoso central pelas fibras aferentes, que podem ser classificadas quanto a sua estrutura, diâmetro e velocidade de condução do estímulo: fibras A β , são mielinizadas, com diâmetro de 10 μ m com condução de 30-100 m/s; as fibras A δ são pouco mielinizada com diâmetro médio de 2-6 μ m e condução de 12-30m/s; e as fibras C, não mielinizadas possuem diâmetro de 0,4-1,2 μ m e condução de 0,5-2 m/s (JULIUS & BASBAUM, 2001).

Na medula espinhal, ocorre a liberação de neurotransmissores (glutamato, neuropeptídeos) por estas fibras, que auxiliam intensificando a transmissão do estímulo nociceptivo. A informação nociceptiva é transmitida para os neurônios do corno dorsal da medula, que por sua vez, retransmite para os centros encefálicos por vias ascendentes (tratos espinomesencefálico, espinobraquial, espinotalâmico e espinorreticular), incluindo a formação reticular, hipotálamo e tálamo que transmite

impulsos por neurônios de terceira ordem para o córtex cerebral, resultando na consciência da dor (Figura 3) (ALMEIDA et al., 2004; CURY et al., 2011).

Figura 3. Transmissão da dor



Fonte: <http://www.medicinanet.com.br/> (2013).

O organismo também possui vários mecanismos intrínsecos que são responsáveis em modular a sensação dolorosa. Nos diversos núcleos do tálamo, após a estimulação, os sinais são propagados para as diferentes áreas do córtex, substância cinzenta periaquedutal, hipotálamo, amígdala e cerebelo. Um modulador endógeno descendente associado à substância cinzenta periaquedutal, especificamente o núcleo magno da rafe, estruturas adjacentes da medula rostral ventromedial e o corno dorsal da medula, é responsável por ativar conexões que desencadeiam a inibição ou facilitação da nocicepção. O processo inibitório da nocicepção no corno dorsal é decorrente do envolvimento de diversos receptores localizados pré e pós-sinapticamente na porção central do aferente primário. Os receptores localizados pré-sinapticamente são: receptores opióides mu/delta, kappa;

GABA (ácido gama aminobutírico); alfa2-adrenérgicos; neurocinina 1 e 5HT2. Pós-sinápticamente, podem ser citados os receptores: GABA α , β , AMPA, NMDA, μ , μ /delta, alfa-2 adrenérgicos, 5HT1b, adenosina. Os receptores opióides μ (OP3) e κ (OP2) são elencados de maior importância clínica, envolvendo a ação fisiológica das endorfinas e a das vias inibitórias noradrenérgicas e serotoninérgicas. A eficácia analgésica dos opióides é decorrente do bloqueio da transmissão periférica e central da via nociceptiva aferente. Porém, sua utilização não pode ser generalizada para todos os tipos de dor, como exemplo, na dor neuropática os opióides respondem de forma curta. Outra ação analgésica se dá pelo bloqueio de canais de sódio, prevenindo a transmissão do impulso nervoso e consequentemente a excitação do nociceptor; ou se administrado por via central, desencadeia a inibição do processo modulatório de nocicepção (LAMONT & TRANQUILLI, 2000; RIBEIRO; SCHMIDT; SCHMIDT, 2002; BASSANEZI & OLIVEIRA FILHO, 2006).

A dor também pode ser modulada por analgésicos, anti-inflamatórios não esteroidais, que atuam na inibição da atividade da ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase, que não irão permitir a síntese de prostaglandinas e consequentemente não irão sensibilizar nociceptores periféricos. A antinocicepção também pode ser desencadeada pela diminuição da expressão do ácido araquidônico e consequentemente na diminuição de seus metabólitos (prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos), que reduzem a expressão de citocinas inflamatórias envolvidas com o processo doloroso (LAMONT & TRANQUILLI., 2000; BASSANEZI & OLIVEIRA FILHO., 2006; ROBES., 2006).

Os α 2-agonistas ligam-se a receptores presentes no tronco cerebral ou na medula espinhal, inibindo neurotransmissores e resultando na anestesia e sedação. Os antagonistas dos receptores NMDA também possuem efeito modulatório da nocicepção na medula espinhal, como exemplo, a cetamina, usada no tratamento de dor neuropática que normalmente não responde a fármacos opióides (LAMONT & TRANQUILLI., 2000; BASSANEZI & OLIVEIRA FILHO., 2006).

Dentre os inúmeros medicamentos que são usados atualmente com atuação em vias distintas, a terapêutica é eficaz, porém o uso prolongado destas drogas pode acarretar o surgimento de diversos efeitos colaterais, estimulando a procura de novas moléculas bioativas que sejam também eficazes e menos prejudiciais ao organismo. Drogas de fontes vegetais estão sendo utilizadas por cerca de 80 % da população mundial e estes compostos estão mostrando segurança, eficácia,

aceitabilidade e menos efeitos colaterais, ressaltando a importância de se estudar atividade antinociceptiva de partes de plantas (HALDAR et al., 201

2.1.3 Atividade Anti-inflamatória

O nosso organismo possui mecanismos de resposta a diferentes estímulos nocivos, de origem física (calor, frio, trauma), química (substâncias irritantes) e/ou biológica (microrganismos), desencadeando alterações humorais e celulares com intuito de manter o equilíbrio homeostático, tal processo fisiológico é denominado inflamação. A manifestação clínica do processo inflamatório é caracterizada por cinco sinais cardeais: rubor (vermelhidão), calor (decorrente da hiperemia arterial), dor (ativação de fibras nervosas devido ao acúmulo de células e líquidos; lesão direta nas fibras nervosas; ou ainda ação química sobre as terminações nervosas), tumor (representada pelo edema inflamatório) e perda de função (provindo do tumor, principalmente em articulações, dificultando a movimentação) (VOLTARELLI, 1994; CRUVINEL et al., 2010).

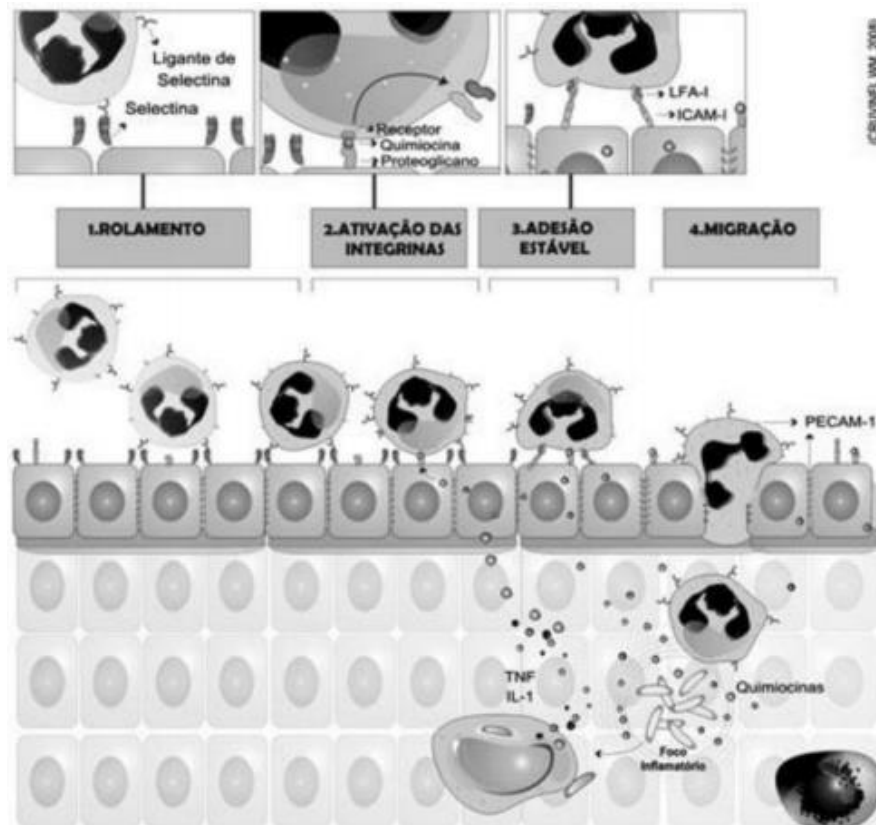
Com finalidade de reparação do tecido ou célula lesionada, uma cascata de reações e atividades celulares é ativada, promovendo o aumento das arteríolas e vênulas, que leva ao aumento da permeabilidade vascular e do fluxo sanguíneo, e como consequência o acúmulo de líquidos. A inflamação pode ser classificada em aguda ou crônica. A inflamação aguda é proveniente da resposta ao agressor, que irá agir na remoção a fim de evitar sua disseminação, além disso, os produtos resultantes da destruição celular também serão eliminados, promovendo a reparação tecidual. A inflamação crônica é caracterizada pela ocorrência de infiltração tissular de células do sangue periférico (monócitos, macrófagos, neutrófilos) bem como ativação e proliferação de células do tecido conjuntivo (fibroblastos) (TEDGUI & MALLAT, 2000; SILVA & CARVALHO, 2004; KUMAR et al., 2013).

O processo inflamatório envolve a vasodilatação local e aumento da permeabilidade vascular, a chamada fase vascular, mediados por aminas vasoativas, histamina e serotonina, que são liberados por monócitos e mastócitos. Com o acúmulo de proteínas e água, o exsudato, ocorre a ativação de moléculas presentes no endotélio, favorecendo a aderência e migração celular, (Figura 4) e consequentemente o extravasamento vascular. Além disso, ocorre também a

ativação dos sistemas: complemento, de cininas e de coagulação; e a liberação de citocinas inflamatórias, tais como, IL-1, TNF- α e quimiocinas (SANTOS JUNIOR, 2003).

Conjuntamente ocorre a produção de mediadores lipídicos que são derivados do ácido araquidônico; que em consequência da ativação de fosfolipases geram prostaglandinas, leucotrienos e PAF (fator de ativação plaquetária). As prostaglandinas possuem um papel importante na inflamação, pois induzem a febre, a hiperalgesia e a vasodilatação (MESQUITA jr & ARAÚJO, 2008).

Figura 4. Mecanismo de aderência e migração leucocitária no local da inflamação.



Fonte: MESQUITA Jr et al, 2008.

Mesmo sendo considerada de extrema importância, a resposta do processo inflamatório causa desconforto e em alguns casos são necessárias intervenções medicamentosas. Atualmente são utilizadas duas classes de fármacos que atuam interferindo nesse processo de defesa do organismo com o intuito de minimizar o dano, os glicocorticoides ou anti-inflamatórios esteroidais (AIEs) e ou anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). Nas indicações terapêuticas os

glicocorticoides possuem amplo espectro no processo de imunomodulação ou de inflamação. Possuem diversas ações metabólicas, tais como: diminuição da captação e utilização da glicose; aumentam o metabolismo proteico; atuam sobre hormônios lipídicos (efeito permissivo); reduzem a vasodilatação e a exsudação dos líquidos inflamatórios; diminui o influxo e da atividade dos leucócitos; diminui a proliferação de vasos sanguíneos, fibrose e da ação de células liberadoras de citocinas; diminui a produção de eicosanoides (LONGUI, 2007).

Os AINEs representado por um grupo heterogêneo de substâncias, com efeito analgésico, anti-térmico e anti-inflamatório e inibem também a síntese de protrombina e agregação plaquetária, especialmente o ácido acetil salicílico (AAS), introduzido em 1899, que acetila irreversivelmente a cicloxigenase. Estes fármacos em geral inibem, de forma variável em doses terapêuticas, ambas as isoformas da COX. Apesar de sua eficácia na dor e na inflamação, sua administração em longo prazo pode provocar danos a saúde, como: úlceras gastrointestinais, sangramentos e desordens renais e cardiovasculares decorrente da inibição não seletiva destas isoformas (KUMMER & COELHO, 2002; TAPIERO et al., 2002).

Apesar do excelente potente efeito farmacológico destes medicamentos, a sua utilização produz efeitos colaterais aqui já citados. Diante deste fato, incentiva-se a busca por novas substâncias que sejam eficazes, específicas e menos prejudiciais. Desta forma, tem crescido os estudos utilizando plantas de uso popular em tratamentos de nocicepção e inflamação. As moléculas de origem vegetal estão vigorosamente sendo reportadas na literatura científica por apresentarem atividades antinociceptivas e anti-inflamatórias. O efeito dessas substâncias possuem um amplo mecanismo de ação estando intimamente relacionadas com: o bloqueio de canais de cálcio ou a inibição da calmodulina; a atuação em receptores dos mediadores inflamatórios; atuação como antagonistas; e inibição da síntese ou ação de citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão, vias do ácido araquidônico e óxido nítrico. Dentre a inibição da mais de uma via mecanística, os produtos naturais possuem a capacidade de intensificar os efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios, reduzindo possivelmente os efeitos adversos. Tal ação pode ser resultante da presença de inúmeros compostos biologicamente ativos que agem de forma sinérgica ou antagônica. (CALIXTO et al., 2004; SCHMITZ & BACHER, 2005; WERZ, 2007).

2.1.4. Atividades Hipoglicemiante e Hipolipidêmica

Diabetes Mellitus Tipo II e Dislipidemias são doenças crônicas não transmissíveis e consistem nas patologias baseadas em alterações metabólicas mais comumente associadas às doenças cardiovasculares. Os países em desenvolvimento, que adquiriram costumes ocidentais em sua cultura, como, por exemplo, o Brasil, é considerado ultimamente como os maiores centros gerador de novos casos de doenças cardiovasculares e mortes prematuras em consequência a essas doenças. Tem sido estimado um aumento no número de óbitos para 18 milhões de pessoas por ano devido às doenças cardiovasculares; além de se estimar aumentos superiores a 160% no número de diabéticos do tipo 2, em consequência à resistência à insulina e mais de um bilhão de pessoas em sobrepeso. No Brasil, cerca de 30% das mortes registradas no ano de 2006 foram causadas por doenças cardiovasculares e o Nordeste do Brasil é a principal região que tem contribuído para este aumento. A partir dos 40 anos de idade, essas doenças aparecem como primeiras causas de mortalidade na população brasileira, conforme dados reportados pelo Sistema de Informação de Mortalidade (SIM) / Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) / Ministério da Saúde (MS), do ano de 2005. Esses dados também mostram que, independente da faixa etária, as doenças cerebrovasculares, isquemia cardíaca, diabetes mellitus, doenças hipertensivas e insuficiência cardíaca foram, respectivamente, as primeiras, segundas, quartas, oitavas e nonas causas *mortis*, posicionando, assim, os distúrbios metabólicos da SMX e suas possíveis consequências entre as 10 principais causas de óbito no país (WILD et al., 2004; SIM/SVS/MS, 2005; CAMERON et al., 2007; HOSSAIN; KAWAR; EL NAHAS, 2007).

Alterações no metabolismo glicídico, lipídico e lipoprotéico podem representar então um dos elementos cruciais na geração de risco para doenças cardiovasculares. O Diabetes Mellitus pode ser considerado uma doença que envolve como distúrbio primário uma ruptura na homeostasia dos níveis de glicose, causando hiperglicemia, mas afeta todo o metabolismo, como os de lipídios e de proteínas. Diabetes mellitus Tipo II encontra-se entre as dez principais causas de morte no mundo, assim como no Brasil, e está relacionada ao aparecimento da resistência à insulina pelos tecidos periféricos, como o adiposo, muscular e o

hepático. Agentes terapêuticos que venham a ser descobertos baseados nas pesquisas de atividades biológicas, como a atividade hipoglicemiante, de plantas tem se tornados imprescindíveis. Muitas espécies de plantas têm sido usadas etnofarmacologicamente ou experimentalmente no tratamento da hiperglicemia. A maioria das plantas que são utilizadas como antidiabéticas, ao serem avaliadas farmacologicamente, demonstram ter atividade hipoglicemiante e possuir constituintes químicos que podem ser utilizados como modelos para novos agentes hipoglicemiantes (MCLAUGHLIN et al., 2005; BARBOSA-FILHO et al., 2005; NEGRI, 2005).

Os principais mecanismos de ação pelos quais as plantas podem reduzir a glicemia consistem em: melhora na liberação de insulina, através da estimulação das células β -pancreáticas; aumento da resistência aos hormônios que elevam os níveis de glicose, dentre ao quais cortisol e epinefrina; aumento do número dos receptores de insulina e melhora na sensibilidade; diminuição da perda de glicogênio; aumento do consumo de glicose nos tecidos; eliminação dos radicais livres; resistência à peroxidação lipídica; e melhora da desordem metabólica de lipídios e de proteínas. Os modelos mais utilizados *in vivo* para o estudo da atividade hipoglicemiante são roedores tratados com estreptozotocina ou aloxana. A primeira é um glicosídeo nitroso natural isolado do *Streptomyces achromogenes*, que estimula a produção de radicais livres, que ocasionam a destruição e disjunção das células β -pancreáticas das ilhotas de Langerhans; e a segunda, a aloxana, é um derivado da pirimidina, que consiste em uma toxina muito seletiva das células β -pancreáticas, por inibir a glicocinase (SAID et al., 2002; VOLPATO et al., 2002; HUO ; WINTERS, YAO., 2003; LI et al., 2004; NEGRI, 2005).

Um dos fatores que também contribuem bastante para as doenças cardiovasculares são as dislipidemias, que, por sua vez, podem ser classificadas laboratorialmente em: Hipercolesterolemia isolada, quando os níveis séricos de LDL-colesterol são iguais ou superiores a 160 mg/dL; Hipertrigliceridemia isolada, quando os níveis séricos de triglicerídios são iguais ou superiores a 150 mg/dL; Hiperlipidemia mista, quando os valores de LDL-colesterol e de triglicerídios encontram-se elevados em conjunto; e diminuição dos níveis de HDL-colesterol, quando o valor sérico de HDL-colesterol é menor que 40 mg/dL, em homens, e menor que 50 mg/dL, em mulheres (SBC, 2013).

Na última década, a busca de novos medicamentos para o tratamento das dislipidemias tem valorizado muito o papel de novos agentes fitoterápicos. Produtos naturais derivados de plantas têm sido testados em animais e humanos com resultados positivos para reduzir níveis de colesterol e de triglicerídios. Flavonóides isolados e purificados de plantas têm um potencial biológico de inibir a atividade da Hidroxi-Metil-Glutaril Coenzima A redutase, uma enzima que participa da biossíntese do colesterol, dentre outras. A atividade hipolipemiante tem sido encontrada em várias espécies de plantas e em outros constituintes vegetais, como os fitoesteróis e os derivados polifenólicos (ANILA & VIJAYALAKSHIMI, 2002; JUNG et al., 2006; MOL., 2006; PIZZIOLO et al., 2011).

2.2. *Myrciaria cauliflora* (MART.) O. Berg E O POTENCIAL BIOLÓGICO DA CASCA DE SEU FRUTO “JABUTICABA”

2.2.1. Aspectos Botânicos e Potencial Alimentício de *Myrciaria cauliflora* (MART.) O. Berg.

Myrciaria cauliflora (MART.) O. Berg (sinônímias de *Eugenia cauliflora* e *Plinia cauliflora*) é uma planta nativa do Brasil, pertencente à Família Myrtaceae, amplamente distribuída por todo o país, desde o Pará ao Rio Grande do Sul, sendo encontrada principalmente nas regiões de Mata Atlântica e de Cerrado. Consiste em uma pequena árvore, de 3 metros a 6 metros de altura (Figura 5), conhecida popularmente como jabuticabeira ou simplesmente por jabuticaba, nome dado também ao seu fruto. Suas folhas apresentam de 2 cm a 6 cm de tamanho, com a nervura central levemente impressa na epiderme adaxial e saliente na epiderme abaxial; e suas flores possuem ovário bicarpelar, ínfero e glabro, com estigma peltado, são pequenas, brancas, axilares e se encontram distribuídas ao longo dos galhos e ramos (Figura 6), sendo esta última característica a que originou o nome da espécie (IDEMIR et al., 2005; LEITE-LEGATTI et al., 2012; WU et al., 2012; WU, LONG & KENNELLY, 2013; BORGES, CONCEIÇÃO & SILVEIRA, 2014; MERCALI et al., 2015).

Figura 5. *Myrciaria cauliflora* (MART.) O. Berg – jabuticabeira



Fonte: O autor (2015)

Figura 6. *Myrciaria cauliflora* repleta de flores



Fonte: www.biologiavidaoficial.br (2014)

Os frutos de *M. cauliflora*, as jabuticabas, também acompanham a distribuição das flores e crescem diretamente sobre os principais galhos e ramos da jabuticabeira (Figura 7), de forma rápida, dentro de 40 a 46 dias, contendo de uma a quatro sementes. São redondos, com aproximadamente 2 cm a 4 cm de diâmetro, e, quando maduros, apresentam uma polpa esbranquiçada, gelatinosa, doce, levemente ácida e succulenta, de sabor agradável (Figura 8), sendo chamados de uva brasileira. Estudos têm reportado que as jabuticabas apresentam uma ampla variedade de nutrientes considerados clássicos, como, por exemplo, carboidratos, sais minerais, aminoácidos, como lisina e triptofano, e vitaminas B1, B2 e C, que podem ter um grande impacto na saúde humana. Especialmente, os frutos de *M.*

cauliflora representam uma boa fonte de cálcio, ferro, potássio e fósforo (Tabela 3). Essas propriedades fazem com que possam ser consumidos, tanto na sua forma fresca, *in natura*, como na forma de sucos, geleias, sorvetes, vinagres, licores e vinhos, apresentando um grande potencial na indústria alimentícia e despertando um grande interesse econômico em várias regiões do Brasil (IDEMIR et al., 2005; LEITE-LEGATTI et al., 2012; WU et al., 2012; COSTA et al., 2013; WU, LONG & KENNELLY, 2013; MARIANNI et al., 2014).

A casca da jabuticaba também apresenta um grande potencial na indústria alimentícia, mas não em relação ao seu consumo *in natura*, pois o seu sabor é adstringente. No Brasil, tem sido considerada como uma fonte potencial de pigmentos naturais, dentre os quais se pode mencionar as antocianinas, que são compostos coloridos que podem ser potenciais substitutos para os corantes alimentares sintéticos. As antocianinas são tradicionalmente extraídas das plantas por métodos convencionais, tais como extração sólida-líquida, usando grandes quantidades de solventes orgânicos, como metanol, etanol e acetona ou soluções aquosas contendo uma pequena quantidade de ácido para manter um baixo pH, haja vista as antocianinas serem particularmente instáveis (SANTOS & MEIRELES, 2011).

Figura 7. Distribuição dos frutos de *Myrciaria cauliflora*.



Fonte: O autor (2015)

Figura 8. Casca arroxeada escura e polpa esbranquiçada da jabuticaba.



Fonte: MUSITANO., 2008

Tabela 3. Composição nutricional por 100g do fruto da jabuticaba.

Composição Nutricional e Calórica	Valores
Calorias	45,7-51,7 Unidades
Água	87,1 g
Proteína	0,11-0,32 g
Gordura	<0,01 g
Carboidratos	12,58 g
Cinzas	0,2 g
Cálcio	6,3-7,6 mg
Fósforo	9,2-34,6 mg
Ferro	0,49- 0,87 mg
Potássio	13,2 mg
Vitamina B1	0,04mg
Vitamina B2	0,09 mg
Niacina	1,3 mg
Fibra	0,08 mg
Riboflavina	0,02 mg
Triptofano	1,0 mg
Lisina	7,0 mg
Ácido ascórbico	17,7-238 mg
Antocioninas Totais	58,1-315 mg
Fenólicos Totais	460,9 mg
Carotenóides Totais	0,32 mg

Fonte: WU, LONG & KENNELLY, 2013.

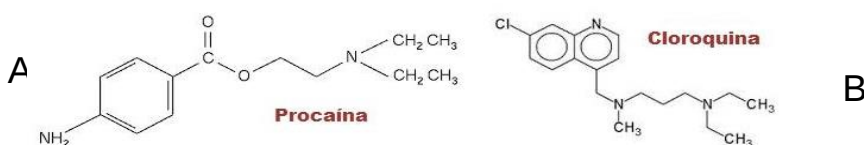
Entretanto, apesar do grande potencial de *M. cauliflora* na indústria alimentícia e na de suplementos, bem como de esta ser uma árvore amplamente distribuída por todo o país, o Brasil ainda tem subutilizado este recurso natural e apenas recentemente é que esta planta tem atraído sobre si uma atenção considerável para os seus frutos. Entre os anos de 2011 e 2013, por exemplo, apenas vinte publicações, concernentes à jabuticaba, foram registradas em uma base científica e internacional de dados, sendo este número superior ao total de

publicações que ocorreram em um período de dez anos, de 2001 a 2010. Isto ratifica o que foi mencionado acima e coloca a jabuticaba como uma fruta emergente funcional (CAVALCANTI, VEGGI & MEIRELES, 2011; LENQUISTE et al., 2012; ALEZANDRO et al., 2013; COSTA et al., 2013; WU, LONG & KENNELLY, 2013).

2.2.2 Potencial Biológico e Compostos Ativos Encontrados em *Myrciaria cauliflora* (MART.) O. Berg

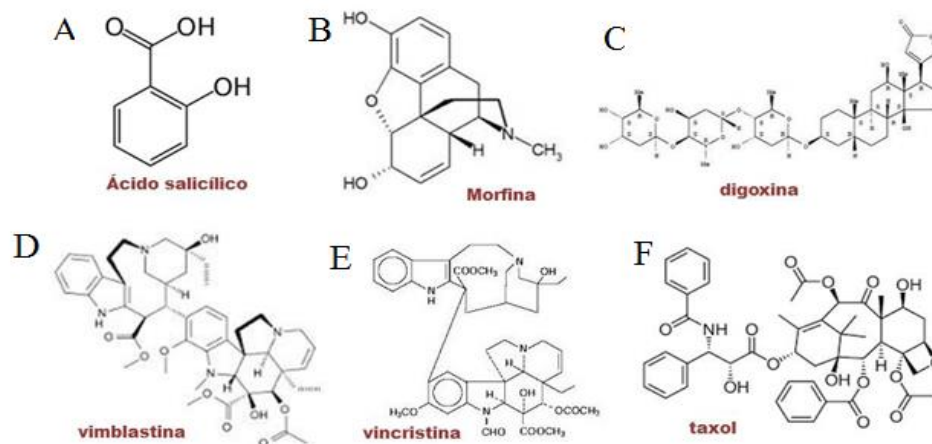
Os vegetais são considerados uma abundante fonte de substâncias orgânicas que cooperam para o fornecimento de compostos secundários, dos quais algumas classes são utilizadas na produção de produtos pelas indústrias farmacêuticas, alimentícias, dentre outras (PINTO et al., 2002). Tais substâncias ponderadas como ativas possuem ações metabólicas ou fisiológicas específicas, exercendo efeitos terapêuticos, como: antibactericida, hipoglicemiante, hipolipidêmicos, antioxidantes, anti-inflamatórios e analgésicos (BORGES, CONCEIÇÃO & SILVEIRA., 2014). Dessa forma, muitos dos metabólitos têm sido usados no desenvolvimento de medicamentos de origem sintética, tais como a procaína, que é um anestésico local, e a cloroquina, um derivado quinolínico usado no tratamento da malária (Figura 9); bem como têm sido comercializados como fitofármacos, como, por exemplo: a morfina, que é um potente analgésico extraído de *Papaver somniferum*; o ácido acetil salicílico, que é o princípio ativo da *Salix alba*, com ações antipirética, analgésica, esfoliante, anti-inflamatória e antimicrobiana; a vincristina e vimblastina, provindas de *Catharanthus roseus*, que são alcalóides anticancerígenos; a digoxina, um glicosídeo de *Digitalis* sp., muito utilizado no tratamentos de problemas cardíacos; e o taxol, um diterpeno anti-cancerígeno, derivado de *Taxus brevifolia*; dentre outros (Figura 10) (HENRIQUES et al., 1999; RATES., 2001; GANGREIRO et al., 2008).

Figura 9. Exemplos estruturais de fármacos sintéticos



Fonte: A- pt.wikipedia.org (2008). B- www.iqb.es (2014).

Figura 10. Estruturas químicas de alguns exemplos de fitofármacos relevantes.



Fonte: A- pt.wikipedia.org (2006). B- pt.wikipedia.org/wiki/Morfina (2006). C- pt.wikipedia.org(2013). D-www.lookfordiagnosis.com (2014). E- www.iqb.es/cbasicas (2007). F- en.wikipedia.org(2007).

Diversos fármacos relevantes poderiam ser ressaltados neste contexto destacando um papel importante na ciência que amplia não só o uso de plantas como fontes promissoras de matérias primas, mas também organismos marinhos, insetos e microrganismos. Nestas buscas intensivas por novos medicamentos, os testes de triagem vêm assumindo um papel fundamental na identificação de compostos que são empregados em testes biológicos a fim de predizer qual metabólito químico é responsável por tal ação ou se possui efeito sinérgico com outros componentes, garantindo a utilização destes, na construção de futuros fármacos promissores em um curto espaço de tempo (CECHINEL FILHO & YUNES, 2001; RATES., 2001).

Os principais compostos secundários identificados por triagem presentes na espécie *Myrciaria cauliflora* são: flavonóides, derivados cinâmicos, cumarinas, antocianidinas, e terpenos (Tabela 4) (BORGES; CONCEIÇÃO; SILVEIRA., et al., 2014).

Tabela 4. Exemplos de compostos ativos identificados em
Myrciaria cauliflora O.Berg

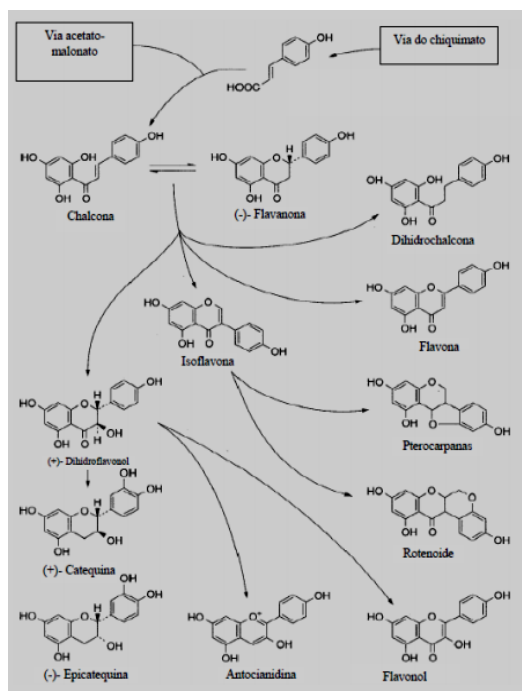
Composto ativo	Fonte
Cianidina-3-o-glucosídeo	Extrato metanólico de frutos
Delfinidina-3-o-glucosídeo	
Ácido ascórbico	
Jaboticabina	
Ácido 2-o-(3,4-dihidroxibenzoil)-2,4,6-trihidroxifenilacético	
Isoquercetina	
Quercimeritrina	
Quercetina	
Myrcitrina	
Ácido elágico	Extrato hidroetanólico de folhas
Gossipetina-3,8-dimetileter-5-o-β-glucosídeo	
Gossipetina-3,5-dimetileter	
Myricetina-3,5,3-trimetileter	
Ácido oxálico	
Ácido cítrico	
Ácido tartárico	
Ácido fumárico	
Ácido quínico	
Ácido succínico	Extrato metanólico de folhas
Ácido gálico	
Ácido protocatéquico	
Epi-galocatequina-3-o-galata	
Quercetina-3-o-α-galactosídeo	
Caempferol	
Caempferol-3-Oβ-arabinofuranosídeo	
Quercetina-3-o-α-arabinofuranosídeo	
Myrcetina-3-O-raminosídeo	Óleo essencial de folha
Rutina	
Piranocianidina	
Espatulenol	

Fonte: BORGES; CONCEIÇÃO; SILVEIRA, 2014.

Os compostos fenólicos são denominados substâncias químicas que possuem, em sua estrutura, um radical hidroxila ligado a um anel benzênico. Este grupo envolve diversos componentes secundários que possuem normalmente alta polaridade e suscetibilidade a ação enzimática, tais como: taninos hidrolisados, ligninas, derivados cinâmicos, cumarinas e flavonoides (Figura 11). Tais compostos são provenientes da tirosina e fenilalanina do metabolismo secundário das plantas em resposta a condições de estresse (ferimentos, infecções, radiação ultravioleta, dentre outros) e podem estar na forma livre ou associados a glicosídeos e proteínas. Os compostos fenólicos nos alimentos são responsáveis por contribuir com as propriedades sensoriais (sabor, cor, odor e adstringência). Estas substâncias estão

envolvidas com efeitos benéficos biológicos com propriedades anti-inflamatória, antioxidante, antialérgica, antiviral, antiolesterolêmica e antioxidante (SÁNCHEZ-MORENO, 2002; SOARES, 2002; NACZK & SHAHIDI, 2004; MALACRIDA & MOTTA, 2005).

Figura 11- Vias metabólicas dos compostos fenólicos



Fonte: RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997.

A fundamentação de tais propriedades tem sido associada ao fato deste grupo ser potente antioxidante primário, agindo como sequestrador de radicais livres e bloqueador de reações em cadeias. Os compostos fenólicos oriundos de plantas podem ser extraídos por diversos métodos que são influenciados por sua natureza química; tempo e condições de armazenamentos; presença ou ausência de substâncias interferentes e tamanho de partícula (NACZK e SHAHIDI, 2004; MOREIRA & MANCINI-FILHO., 2004).

Os flavonóides representam um amplo grupo dos compostos fenólicos e são subdivididos em classes de acordo com seu grau de insaturação e oxidação do anel C, que inserem os grupos: flavonóis, flavonas, flavanonas e isoflavonas (isoflavonóides) e antocianidinas. São representados por um esqueleto básico com dois anéis aromáticos ligados entre si por uma ponte de três Carbonos, e podem expor substituições por grupos hidroxil e açúcares, tais como: glicose, galactose,

ramnose, xilose e arabinose. As antocianidinas são pigmentos associados às cores vermelhas, azuis e violetas de flores, frutos e folhas, que são influenciados pelo número de hidroxila, do grupamento metoxi e glicosídicos. O grupo metoxi em quantidades elevadas é responsável pela coloração vermelha, enquanto que níveis elevados de hidroxilas são responsáveis pelas tonalidades azuis e violeta. As principais propriedades relatadas cientificamente estão associadas com um efeito antioxidante e protetor contra mutagênese (HARBONE., 1958; ROBARDS & ANTOLOVICH., 1997; AHERNE & O'BRIEN., 2002; ROBBINS., 2003; DUAN et al., 2007).

Outro grupo pertencente aos compostos fenólicos, que também têm sido reportados em *M. cauliflora*, são os derivados cinâmicos, que possuem nove átomos de carbono e são geralmente esterificados com álcool etílico ou benzílico. As cumarinas são oriundas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumárico. Além de se apresentarem de forma natural, também podem estar associados a outros compostos. Quando em estado livre, é solúvel em álcool e outros solventes orgânicos como o éter e solventes clorados. São utilizados popularmente como colorantes, inseticidas e aromatizantes (ROJAHN., 1956; NOTHEMBERG., 1997; KOVAC & NOVAC., 2002).

Outra classe de metabólitos secundários presente em destaque na *M. cauliflora* são os terpenos, constituídos pela condensação de unidades de isopreno (C5) e que também participam da sua origem com os ácidos graxos. São classificados de acordo com o número de carbonos presentes em sua estrutura, mais comumente como monoterpenos (C10) e sesquiterpenos (C15) e diterpenos (C20). São compostos com destaque nos óleos essenciais e nas resinas, enquanto que os outros constituintes do grupo dos terpenos são representados na maioria no estado sólido e podem ser encontrados na forma livre, glicosilados ou como ésteres. Possuem atividades diversificadas nos vegetais, tais como, atração de polinizadores, proteção contra microrganismos e produção de hormônios de crescimento vegetal, dentre outras. Este grupo é comumente utilizado como fragrâncias, cosméticos, produtos de limpeza e fármacos. Têm sido atribuídas as seguintes atividades biológicas a este grupo: anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiviral, antitumoral, antidiabética, antiulcerogênica, anticarcinogênica, hepatoprotetora, neuroprotetora, antiparasítica, analgésica e antioxidante (HOLEZT et al., 2002; COLOMA et al., 2011).

2.2.3 Potencial Biológico da Casca do Fruto de *Myrciaria cauliflora* (MART.) O. Berg

A grande relevância, destinada nesses últimos anos aos frutos da jabuticabeira, não é derivada apenas do potencial alimentício de sua polpa ou de sua casca para a obtenção de corantes, mas também, e principalmente, do potencial biológico que as cascas podem apresentar, o qual se baseia nesse conteúdo de substâncias com propriedades medicinais que possam existir nessas cascas de jabuticaba. O epicarpo da jabuticaba é fino, frágil e, quando o fruto se encontra amadurecido, sua coloração varia de roxa escura a praticamente preta (Figura 4); e, em muitas culturas, também tem sido reconhecido que frutos de cor escura demonstram um bom potencial para melhorar a qualidade da saúde humana, trazendo muitos benefícios. Inclusive, o chá da casca de *M. cauliflora* tem sido utilizado, pela medicina tradicional, para o tratamento de asma, hemoptise, angina, disenteria, erisipela e inflamações das tonsilas palatinas (REYNERTSON et al., 2006; LEITE-LEGATTI et al., 2012; WU et al., 2012; COSTA et al., 2013; CALLONI et al., 2015).

A riqueza fenólica desta espécie a torna em uma potente fonte de antioxidantes naturais. Compostos, tais como, as antocianidinas, presentes na casca da jabuticaba, conforme reportado anteriormente, tem sido associados a algumas propriedades biológicas: anticarcinogênica, antiviral e anti-inflamatória. Este pigmento também têm sido associado com a redução de massa corpórea, alterações de hormônios relacionados com a obesidade, redução da resistência insulina e efeitos benéficos no diabetes mellitus tipo 2 e doença de Alzheimer. Estudos recentes, utilizando o epicarpo da *M. cauliflora* em dietas alimentares, demonstrou o potencial efeito antioxidante no plasma de ratos, que pode ser atribuído ao conteúdo de antocianinas da casca. Atuação de depsídeos e antocianidinas dos frutos também tem sido associada com a diminuição de inflamação, provocada pela exposição à fumaça de cigarros. Além disso, diversos compostos secundários identificados nesta espécie também estão relacionados com atividades biológicas já confirmadas cientificamente, como, por exemplo, a quercetina e a rutina, que possuem atividade antitrombocítica e agem inibindo a atividade das lipoxigenases, cicloxigenase, fosfolipase A2 e crescimento de fibroblastos (KOGANOV et al., 1999; HOMMAN et al., 2000; ISIHWAJ et al., 2000; LEITE et al., 2011; PRIOR et al., 2012).

Por isso, extratos de plantas, ricos em tais compostos, apresentam um grande potencial para serem agentes terapêuticos, e, conforme os potenciais biológicos desses compostos, podem atuar na melhora do prognóstico das doenças mais prevalentes no mundo e no Brasil, responsáveis por altas taxas de mortalidade, que são as doenças crônicas não-transmissíveis, como as doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, dislipidemias e síndrome metabólica X. Dor, inflamação, estresse oxidativo, níveis elevados de glicose, de colesterol, de triglicerídios, tem sido associados a essas doenças, ou como fatores causais ou como consequências, que agravam e dificultam o quadro de melhora do indivíduo. Resposta inflamatória exacerbada, por exemplo, com elevação de citocinas de fase aguda, estão intimamente associadas com o quadro de obesidade e de resistência à insulina, propiciando o aparecimento de diabetes mellitus e aumentando as chances de o indivíduo vir a ter doenças cardiovasculares, ampliada pelo aumento do aporte hepático de ácidos graxos livres, devido a uma maior liberação para a corrente sanguínea por intermédio da elevação dessas citocinas, provocando o aparecimento de dislipidemias, como elevação dos níveis de triglicerídios e de colesterol, e diminuição de HDL-colesterol. Dessa forma, é muito importante que os novos agentes fitoterápicos possuam essas atividades biológicas (REAVEN., 1988; ECKEL; GRUNDY; ZIMMET, 2005; LI & FORD., 2006; GRUNDY., 2006 JOHNSON & WEINSTOCK., 2006; HALDAR et al., 2012; BORGES; CONCEIÇÃO; SILVEIRA, 2014).

4. CONCLUSÕES

- O extrato hidroetanólico 70% das cascas dos frutos de *M. cauliflora* (Mart.) O Berg demonstrou ter um grande potencial terapêutico para processos de inflamação, dor e estresse oxidativo;
- O extrato hidroetanólico 70% das cascas dos frutos de *M. cauliflora* (Mart.) O Berg demonstrou potencial para o tratamento de diabetes e das alterações lipídicas causadas por este distúrbio metabólico;
- O tratamento com o extrato hidroetanólico 70% das cascas dos frutos de *M. cauliflora* (Mart.) O Berg não apresentou ação tóxica aguda sobre camundongos e pode ser considerado um agente promissor para o tratamento de doenças.

REFERÊNCIAS

- AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary Flavonols: Chemistry, Food Content, and Metabolism. **Nutricion**. v. 18, n. 1, 2002.
- ALEZANDRO, M. R.; DUBÉ, P.; DESJARDINS, Y.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Comparative Study of Chemical and Phenolic Compositions of two Species of Jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Bert. **Food Research International**. v. 54, p. 468-477, 2013.
- AMARAL, D. O. J.; ALMEIDA, C. M. A.; CORREIA, M. T. S.; LIMA, V. L. M.; SILVA, M. V. Isolation and Characterization of Chitinase from Tomato Infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Journal of Phytopathology**. v. 160, p. 11-12, 2012.
- ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**. v. 1000, n. 1472, p. 40-56, 2004.
- ANILA, L.; VIJAYALAKSHMI, N.R. Flavanonoids from *Embllica officinalis* and *Mangifera indica* - effectiveness for dyslipidemia. **Journal of Ethnopharmacology**, v.79, p.81-87, 2002.
- APKARIAN, A. V.; BALIKI, M. N.; GEHA, P. Y. Towards a theory of chronic pain. **Progress in Neurobiology**. v. 87, n. 2, p. 81-97, 2009.
- ARAUJO, L. C. C. ; AGUIAR, J. S. ; NAPOLEÃO, T. H. ; MOTA, F. V. B. ; BARROS, A.L.S.; MOURA, M. C. ; CORIOLANO, M. C. ; COELHO, L. C. B. B.; SILVA, T. G.; PAIVA, P. M. G. . Evaluation of Cytotoxic and Anti-Inflammatory Activities of Extracts and Lectins from *Moringa oleifera* Seeds. **Plos One**. v. 8, n. 12, p. 81973-81988, 2013.
- ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. Caracterização de Farinha de Bagaço de Jaboticaba e Propriedades Funcionais dos Extrusados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.26, n.4, p.897-905, 2006.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E.M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): Propriedades Farmacobotânicas, Químicas e Farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v.62, n.1, p.55-61, 2003.

BARBOSA-FILHO, J. M.; VASCONCELOS, T. H. C.; ALENCAR, A. A.; BATISTA, L. M.; OLIVEIRA, R. A. G.; GUEDES, D. N.; FALCÃO, H. S.; MOURA, M. D. DINIZ, M. F. F; M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their Active constituents from South, Centra, and North America with hypoglycemic Activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15, n. 4, p. 392-413, 2005.

BASSANEZI, B. S. B.; OLIVEIRA FILHO, A. G. D. E. Analgesia pós-operatória. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**. v. 33 n. 2, p. 116-122, 2006.

BAYRAKTUTAN, U.; BLAYNEY, L.; SHAH, A. M. Molecular Characterization and localization of the NAD(P)H oxidase components gp91-phox and p22-phox in endothelial cells. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v. 20, n. 8, p. 1903-1911, 2000.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Nutrire**, v.12, n. 2, p.123-30, 1999.

BIOLOGIA-VIDA. Net: Árvore cheia de flores. Disponível em <www.biologiavida-oficial.blogspot.com.br/2014/04/cauliflora.html> 2014.

BORGES, L. L.; CONCEIÇÃO, E. C.; SILVEIRA, D. Active Compounds and Medicinal Properties of *Myrciaria* genus. **Food Chemistry**. v. 153, p. 224-233, 2014.

CALLONI, C.; AGNOL, R. D.; MARTINEZ, L. S.; MARCON, F. S.; MOURA, S.; SALVADOR, M. Jaboticaba (*Plinia trunciflora* (O.Berg) Kausel) Fruit Oxidative Stress in Human Fibroblasts cells (MRC-5). **Food Research International**. v. 70, p. 15-22, 2015.

CAVALCANTI, R. N.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction with a Modifier of Antioxidant Compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) by products: economic viability. **Procedia Food Science**. v. 1, p. 1672-1678, 2011.

CECHINEL, 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**. v 21, n 1, 1998.

CITADIN, I.; VICARI, I. J.; SILVA, T. T. da; DANNER, M. A. Qualidade de frutos de jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*) sob Influência de duas condições de cultivo: Sombreamento Natural e Pleno sol. **Revista Brasileira Agrociência**. v. 11, n. 3, p. 373-375, 2005.

COLOMA, A. G.; BALBOA, C. L.; REINA, O. S. M.; FRAGA, B. M. Triterpene-based Plant Defenses. **Phytochemistry Reviews**. v. 10, p. 245-260, 2011.

COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; GIMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive Compounds and Health Benefits of Exotic Tropical Red-black Berries. **Journal of Functional foods**. V. 5, p. 539-549, 2013.

CURY, Y.; PICOLO, G.; GUTIERREZ, V. P.; FERREIRA, S. H. Pain and analgesia: The dual effect of nitric oxide in the nociceptive system. **Nitric Oxide**. v. 25, p. 243–254, 2011.

1.1.1 DELBIN, M. A. Role Of Exercise Training On Pulmonary Ischemia/Reperfusion And Inflammatory Response. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**. v. 24, n.4, p. 522-561, 2009.

1.1.2

DRÖGE, W. Free Radicals in The Physiological Control Of Cell Function. **Physiological Reviews**. v. 82, p. 47-95, 2002.

DUAN, X. W.; JIANG, Y.; SU, X.; ZHANG, Z.; SHI, J. Antioxidant Properies of Anthocyanins Extracted From Lotchi (Litchi Chinesis Sonn.) Fruit Pericarp Tissues in Relation To Their Role In The Pericarp Browning. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1365-1371, 2007.

DUARTE-ALMEIDA , J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da Atividade Antioxidante utilizando Sistema β -caroteno/ácido Linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, n 2, p. 446-452, 2006.

ECKEL, R. H.; GRUNDY, S. M.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome. **Lancet**. v. 365, p. 1415–1428, 2005.

FERNANDEZ-PACHON, M. S.; VILANO, D.; TRONCOSO, A. M.; GARCIA-PARRILLA. Antioxidant activity of Phenolic compounds: from in vitro results to in vivo evidence. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 48, p. 649-671, 2008.

FEIN, A. Nociceptors: The cells that Sense Pain. Disponível em <<http://www.dol.inf.br/nociceptores>> 2011.

FORTES, G. A. C.; NAVES, S. S.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C. Evaluation of chemical Changes during *Myrciaria cauliflora* (Jabuticaba Fruit) Fermentation by H NMR Spectroscopy and Chemometric Anlyses. **Journal of The Brazilian Chemical Society**. v. 23, n. 10, p. 1815-1822, 2012.

GANGREIRO, N. M. G. C.; CHAVES, H. V.; SILVA, A. R.; GRAÇA, I. R. V.; LIMA, V.; BEZERRA, M. M. Enzimas Cicloxigenases 1 e 2: Inflamação e Gastro-Cardio Proteção. **Revista Eletrônica de Pesquisa Médica**. v.2, n3, 2008.

GIRALDI, M.; HANAZAKI, N. Uso e Conhecimento Tradicional de Plantas Medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. v. 24, n. 2, p. 395-406, 2010.

GRUNDY, S. M. Drug therapy of the metabolic syndrome: minimizing the emerging crisis in polypharmacy. **Nature Reviews**. v. 5, p. 295-309. 2006.

HALDAR, S.; KAR, B.; DOLAI, N.; KUMAR, R. B. S.; BEHERA, B.; HALDAR, P. K. In vivo Anti-nociceptive and Anti-inflammatory Activities of *Lippia alba*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. p.667-670, 2012.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. 4ª edição, **Clarendon**. Oxford, 2007.

HARBONE, J. B. The Chromatographic Identification of Anthocyanin Pigments. **Journal of Chromatographic Science**. v. 1, p. 473-488, 1958.

HENRIQUES, A. T.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H. EM FARMACOGNOSIA: DA PLANTA AO MEDICAMENTO; SIMÕES, C. M. O. E.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. 1a ed., Ed. UFRGS e UFSC: Porto Alegre/Florianópolis, 1999, cap. 29.

HOLEZT, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A.G.; NAKUMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for The Treatment of Infecicious Diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 97, p. 1027-1031, 2002.

HOSSAIN, P.; KAWAR, B.; EL NAHAS, M. Obesity and Diabetes in the developing World-a Growing Challenge. **The New England Journal of Medicine**. v. 356, n. 3, p. 213-215, 2007.

HOMMAM, M. M.; TANIGUCHI, O. O.; MORITAS, N. I.; TSUMA, T. Inhibitory Effects of Lignans And Flavonoids In Saibokuto, a Herbal Medicine For Bronchial Asthma, on the Release Of leukotrienes From Human Polymorphonuclear Leukocytes. **PlantaMed**. v. 66, p. 88-91, 2000.

HUO, Y.; WINTERS, W. D.; YAO, DA-LIN. Prevention of diet-induced type 2 diabetes in the C57BL/6J mouse model by an antidiabetic herbal formulae. **Phytothera.py Research**. v. 17, p. 48-55, 2003.

IDEMIR, C.; VICARI, I. J.; SILVA, T. T. da; DANNER, M. A. Qualidade de Frutos de Jabucabeira (*Myrciaria cauliflora*) sob Influência de duas Condições de Cultivo: Sombreamento Natural e Pleno Sol. **Revista Brasileira de Agrociência**. v.11, n. 3, p. 373-375, 2005.

ISIHIAWAJ, S. T.; MINAKI, Y.; SASCHIDA, Y.; YANO, M.; ITO, A. A Citrus Flavonoid , Nobiletin, Suppresses Production And Gene Expression of Matrix Metalloproteinase 9/Gelatinase B in Rabbit Synovial Fibroblasts. **The Journal of Rheumatology**. v.27, p. 20-25, 2000.

JOHNSON, L. N.; WEINSTOCK, R. S. The metabolic syndrome: Concepts and controrversy. **Mayo Clinic Proceedings**. v. 81, n. 12, p. 1615-1620, 2006.

JULIUS, D.; BASBAUM A. I. Molecular Mechanisms of Nociception. **Nature**, n.413, v. 6852, p. 203-10, 2001.

JUNG, U. J. et al. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v.38, p.1134-45, 2006.

KOGANOV, M. M.; DUEVA, O. V.; TSORIN, B. L. Activities Of Plant Derived Phenols in a Fibroblast Ceil Culture Model. **Journal of Natural Products**. v. 62, p. 481-483,1999.

KOVAC, B.; NOVAK, I. Eletronic Structure of Coumarins. **Spectrochimica Acta Part A**. v. 58, p. 1483-1488, 2002.

KUMAR, S.; BAJAWA, B. S.; SINGH KULDEEP.; KALIA, A. N. Anti-Inflammatory Activity of Herbal Plants: A Review. **International Journal Of Advances In Pharmacy, Biology And Chemistry** v. 2 n. 2, Apr-Jun, 2013.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Antiinflamatórios Não Esteróides Inibidores da Ciclooxygenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 4, p. 498 - 512, 2002.

LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J. Physiology of Pain. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v.30, n.4, p. 703-728, 2000.

LEITE, A. V.; MALTA, L. G.; RICCIO, M. F.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Antioxidant Potential of rat Plasma by Jaboticaba Peel (*Myrciaria Jaboticaba* Vell.Berg). **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 59, n. 6, p. 2277-2283, 2011.

LEITE-LEGATTI, A. V.; BATISTA, A. G.; DRAGANO, N. R. V.; MARQUES, A. C.; MALTA, L. G. RICCIO, M. F.; EBERLIN, M. N.; MACHADO, A. R. T.; CARVALHO-SILVA, L. B.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; PASTORE, G. M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Jaboticaba Peel: Antioxidant compounds, Antiproliferative and Antimutagenic Activities. **Food Research International**. v. 49, p. 596-603, 2012.

LENQUISTE, S. A.; BATISTA, A. G.; MARINELI, R. S.; DRAGANO, N. R. V.; MARÓSTICA Jr, M. R. Freeze-dried Jaboticaba Peel Added to High-fat Diet increases HDL-cholesterol and Improves Insulin Resistance in Obese Rats. **Food Research International**. v. 49, p. 153-160, 2012.

LI, W. L.; ZHENG, H. C.; BUKURU, J.; De KIMPE, N. Natural medicines used in the traditional chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. **Journal Ethnopharmacology**. v. 92, p. 1-21, 2004.

LIMA, A. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. **Tese (doutorado), São Paulo**. p.182, 2008.

LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P. DANTAS-BARROS, A. M. Caracterização Química do Fruto de Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas Frações **Sociedade Latinoamericana de Nutrição**. v. 58, n. 4, 2008.

LONGUI, C. A. Corticoterapia: minimizando efeitos colaterais. **Jornal de Pediatria**. v. 83, n. 5 ,p. 163-171, 2007.

LOOKFORDIAGNOSIS. Net: Cloroquina. Disponível em < www.iqb.es> 2014.

LOOKFORDIAGNOSIS. Net: Vimblastina. Disponível em <www.lookfordiagnosis.com> 2014.

LOOKFORDIAGNOSIS.Net: Nociceptores. Disponível <<http://www.lookfordiagnosis.com>>, 2014.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em Suco de Uva: Composição e Estabilidade. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, Curitiba. v. 24, n. 1, p. 50-82, 2006.

MARIANNI, N. C. T.; COSTA, R. C.; LIMA, K. M. G.; NARDINI, V.; CUNHA JÚNIOR, L. C.; TEIXEIRA, G. H. A. Predicting Soluble Solid Content in Intact Jaboticaba [*Myrciaria Jabotica* (Vell.) O. Berg] Fruit Using Near-Infrared Spetroscopy and Chemometrics. **Food Chemistry**. v. 159, p. 458-462, 2014.

MCLAUGHLIN, T.; REAVEN, G.; ABBASI, F.; LAMENDOLA, C.; SAAD, M.; WATERS, D.; SIMON, J.; KRAUSS, R. M. Is There a Simple Way to Identify Insulin-Resistant Individuals at Increased Risk of Cardiovascular Disease? **American Journal of Cardiology**. v. 96, p. 399–404. 2005..

MEDICINA GERIÁTRICA. Net: Fisiologia da Dor. Disponível em <www.medicinageriatrica.com.br/2007/08/01/fisiologia-da-dor/> 2007.

MERCALI, G. D.; GURAKI, P. D.; SCHMITZ, F.; MARCZAK, L. D. F. Evaluation of Non-Thermal Effects of Electricity on Anthocyanin Degradation During Ohmic Heating of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Food Chemistry**. v. 171, p. 201-205, 2015.

MESQUITA jr, D. M.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C.; CRUNIVEL, W. N. Aspectos Celulares E Moleculares Da Inflamação. **Revista Brasileira de Medicina**. p, 66-81, 2008.

MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in Neurobiology**. v. 57,n.1, p. 1-164, 1999.

MOLL, M.C.N. Antihiperlipemiantes de origen vegetal. **Revista de Fitoterapia**, v.6, p.11-26, 2006.

MORAIS, S. M.; DANTAS, J. D. P.; SILVA, A. R. A.; MAGALHÃES, E. F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.15, p. 169-177, 2005.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Influence of Spices Phenolic Compounds on Lipoperoxidation and Lipid Profile of Rats Tissues. **Revista de Nutrição**. v. 17, n. 4, 2004 .

MUSITANO, M. Se é do Brasil e não é Jaboticaba, não presta. **In vivo-Veja o Vivo**. 2008.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and Analysis of Phenolics in Food. **Journal of Chromatography A**. v. 1054, p. 95-111, 2004.

NEGRI, M. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 348, n. 1, p. 24-28, 1997.

NOTHENBERG, M. Própolis Enfrenta bem o Desafio das Pesquisas. **Química e derivados**. v 348, n. 1, p. 24-28, 1997.

OAKLANDER, A.L. Net: Dor crônica. Disponível em: www.medicinanet.com.br/conteudos/acp_medicine/5249/dor_cronica_%E2%80%93_anne_louise_oaklander.htm 2013

PERCIVAL, M. Antioxidants. **Clinical Nutrition Inside**, v. 31, p. 1-4, 1998.

PIZZIOLO, V.R. ; BRASILEIRO, B. G.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J. Plantas com possível atividade hipolipidêmica: uma revisão bibliográfica de livros editados no Brasil entre 1998 e 2008. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v.13, n.1, p.98-109, 2011

PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H.; DIAS DE ASSIS, C. R.; de SOUZA BEZERRA, R.; XAVIER, H. S.; NAVARRO, D. M. A. F.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G. Effect of Moringa Oleifera Flower Extract On Larval Trypsin and Acetylcholinesterase Activities In *Aedes aegypti*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**. v. 79, p. 135-152, 2012.

PRIOR R. L.; WILKES, S.; ROGERS, T.; KHANAL, R. C.; WU, X.; HAGER T. J. Dietary Black Raspberry Anthocyanins do not alter Development of Obesity in mice fed obesogenic high-fat diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 58, n. 7, p. 3977-3983, 2010.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras e Alimentos Gordurosos. **Química nova**. v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RATES S. M. K. Plants Source of Drugs. **Toxicon**, v.39, p.603–13, 2001.

RATNAM, D.; ANKOLA, D.; BHARDWAJ, V.; SAHANA, D.; KUMAR, M. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal Control Release**, v. 113, n. 2, p. 189-207, 2006.

RAY, R.; SHAH, A. M. DPPH oxidase and endothelial cell function. **Clinical Science**. V. 109, n. 3, p. 217-226, 2005.

REAVEN, G. M. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**. v. 37. n. 12, p.1595-1607, 1988.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants In: AKOH, CC; Min DB. **Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology**. 2ª Edição: Marccel Dekker, Bew York , 2002.

RENAME – Relação Nacional de Medicamentos Essenciais. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/renome_2010.pdf>. Acesso em julho de 2014.

REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J. E.; KENNELLY, E. J. Quantitative Analysis of Antrradical Phenolic Constituints from Fourteen Edible *Myrtaceae* Fruits. **Food Chemistry**. v. 109, n. 4, p. 883-890, 2008.

RIBEIRO, S.; SCHMIDT, A. P.; SCHMIDT, S. R. G. O Uso De Opióides No Tratamento Da Dor Crônica Não Oncológica: O Papel Da Metadona. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.52, n.5, p. 644-651, 2002.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANDA, G. Antioxidant Properties of Phenolic Compounds. **Trends Plant Science**. v. 2, n.4, p. 152-159, 1997.

ROBARDS, K.; ANTOLIVIC, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. **The Analyst**. v. 122, p. 11-34, 1997.

ROBBINS, R. J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, n. 10, p. 2866-2887, 2003.

ROBES, R. R. Avaliação do cetorolaco de trometamina e parecoxib para analgesia preemptiva em gatas. Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná. Dissertação de mestrado, Curitiba, 2006.

ROJAHN, C. A. Productos químicos y farmacéuticos. **México: Editorial Atlante**. p. 1750-1758, 1956.

SAID, O.; KHALIL, K.; FULDER, S.; AZAIZEH, H. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank Region. **Journal Ethnopharmacology**, v. 83, p. 251-265, 2002.

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, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Optimization of Bioactive Compounds Extraction from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Skins Assisted by high Pressure CO₂. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v.12, p. 398-406, 2011.

SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of antioxidant compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**. v. 101, p. 23–31, 2010.

SANTOS JUNIOR, J. C. M. Rubor, calor, tumor e dor e o paciente grave. **Revista Brasileira de coloproctologia**, v. 23, n. 3, p. 206-210, 2003.

SASLIS-LAGOUDAKIS, C. H.; SAVOLAINEN, V.; WILLIAMSON, E. M.; FOREST, F.; WAGSTAFF, S. J.; BARAL, S. R.; WATSON, M. F.; PENDRY, C. A.; HAWKINS, J. A. Phylogenies Reveal Predictive power of Traditional Medicine in Bioprospecting. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 109, n. 2, p. 15835-15840, 2012.

SBC- Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 101, n. 4, 2013.

SILVA, C. S.; CARVALHO, J.C.T. Inflamação. In: CARVALHO, J.C.T. Fitoterápicos anti-inflamatórios: Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. São Paulo:Tecmedd, 2004.

SCHMITZ, L. M.; BACHER, S. Novel molecular targets in the search for anti-inflammatory agents. **Phytochemistry Reviews**, n.4, p. 19-25, 2005.

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

TAPIERO, H., BA, G. N., TEW, K. D. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 5, p. 215-22, 2002.

TEDGUI, A.; MALLAT, Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. **Circulation Research**. v. 88, p. 877-887, 2001.

VADEMECUM. Net:Vincristina. Disponível em www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/v010.ht 2007.

VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do Diabetes mellitus. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**. v. 4, p.35-45, 2002.

WERZ, O. Inhibition of 5-Lipoxygenase product synthesis by natural compounds of plant origin. **Plantas Medicinais**. v. 73, p. 1331-1357, 2007.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health Statistics. Disponível em <www.who.int/publication/en> 2014.

WIKIMEDIACOMMONS. Net: Morfine. Disponível em <pt.wikipedia.org/wiki/Morfina> 2006.

WIKIMEDIACOMMONS. Net. Procaine Structural Formulae. Disponível em <http://pt.wikipedia.org/wiki/Proca%C3%ADna> 2008.

WIKIMEDIACOMMONS. Net: Skeletal Formula of Salicylic Acid. Disponível em <pt.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_salic%C3%ADlico> 2007.

WIKIMEDIACOMMONS. Net: Taxol. Disponível em <en.wikipedia.org/wiki/Paclitaxel> 2007.

WIKIMEDIACOMMONS. Net: Digitoxin. Disponível em <pt.wikipedia.org/wiki/Digitoxina> 2013.

WIKIAVES. Net: Jaboticabeira. Disponível em <www.wikiaves.com.br/flora:jaboticaba> 2014.

WILD, S.; ROGLIC, R.; GREEN, A.; SICREE, R.; KING, H. Global Prevalence of Diabetes: estimatives for the year 2000 and projection for 2030. **Diabetes Care**. v. 27, n. 5, p. 1447-1453, 2004.

WU, S-B. DASTMALCHI, K.; LONG, C.; KENELLY, E. J. Metabolite Profiling of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other Dark-Colored Fruit Juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 60, p. 6513-7525, 2012.

WU, S-B.; LONG, C.; KENELLY, E. J. Phytochemistry and Health Benefits of Jaboticaba, an Emerging Fruit Crop From Brazil. **Food Research International**. v. 54, p. 148-159, 2013.

APÊNDICE A

Biological activities from hydroethanolic extract of *Myrciaria cauliflora* (MART.) O. Berg peel fruits related to therapeutic potential for the clinical conditions of Noncommunicable Chronic Diseases

T.G.S. Brito^a, T.F.S. Araújo^a, J.K.L. Campos^a, B.S. dos Santos^b, V.L.M. Lima^{a*}

^a Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil.

^b Laboratório Morfofuncional, Curso de Medicina, Núcleo de Ciências da Vida, Centro Acadêmico do Agreste, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil

* Correspondence should be addressed to Vera Lúcia de Menezes Lima:

Avenida Professor Moraes Rêgo, S/N, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brazil. CEP: 50670-420. Telephone: +558121268540. E-mail: lima.vera.ufpe@gmail.com.

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance:

M. cauliflora, known in Brazil as “jabuticabeira” is a medicinal plant commonly used with antioxidants, antibacterial and antifungal properties.

Aim of the study: The present study aimed to investigate biological activities from hydroethanolic extract of *M. cauliflora* (MART..) O. Berg peel fruits related to therapeutic potential for the clinical conditions of Noncommunicable Chronic Diseases, such as antioxidant, antiinflammatory, antinociceptive, antidiabetic, and hypolipidemic activities

Materials and methods: The anti-inflammatory potential was investigated by means of paw edema and peritonitis induced in mice. Analgesic Potencial was assessed by abdominal writhing and hot plate test in mice. The model of diabetes was induced by alloxan in mice and blood samples were collected to research your antidiabetic and hypolipidemic potential. The antioxidant activity of hydroethanolic extracts of *M. cauliflora* was determined and compared com gallic acid assay using DPPH radical.

Results: Oral administration of hydroethanolic extract of *M.cauliflora* (12.5, 25, 50 and 100 mg/kg) significantly reduced paw edema induced by carrageenan. Moreover, treatment with this extract (McFP-EtOH 70%) at the same dose decreased neutrophil migration induced by carrageenin into the intraperitoneal cavity of mice. Administration of McFP-EtOH 70% (12.5, 25, 50 and 100 mg / kg) produced an analgesic effect when tested in writhing model induced by acetic acid in mice. Oral administration of McFP-EtOH 70% (12.5, 25, 50 and 100 mg/ kg) also produced significant antinociceptive effect on the central analgesia test hot plate. In addition, treatment with McFP-EtOH 70% (12.5, 25, 50 and 100 mg/kg) significantly inhibited both the glucose and lipid levels in mice. In the test of antioxidant activity, it proved to be a potent antioxidant presenting similar to the pattern of gallic acid. It was also observed in the toxicity test, no deaths or toxic signs in mice (2000 mg/kg of McFP-EtOH 70%).

Conclusions: These data show the antinociceptive action of *M. cauliflora* the peripheral and central level. Hidroethanolic extracts 70% of *M. cauliflora* also showed good anti-inflammatory activity in acute inflammation models tested. Moreover, the extract showed a potent hypolipidemic and antidiabetic agent. Thus, this set of results support the use for different therapeutic of *M. cauliflora*.

Keywords: anti-inflammatory, antinociceptive, antioxidant, antidiabetic, hypolipidemic

1. Introduction

Medicinal plants and their derivatives are among the main therapeutic resources used, over time, by the population in their health care. In Brazil, this also has not been different. This country presents a wide plant biodiversity in its biomes. However, much of the biological potential of these plants is still underexploited, for an example, many of its native fruits such as “*jabuticaba*”, considered the Brazilian grape (Santos & Meireles, 2011; Alezandro et al., 2013).

“*Jabuticaba*” is a fruit of *Myrciaria cauliflora* (MART.) O. Berg, a small tree, of 3-6 m tall, of the Myrtaceae family, with flowers that born directly on the trunks and branches. These *M. cauliflora* fruits are round, approximately 2-4 cm diameter, and also grow directly from the branches. When ripe, they have a mucilaginous pulp that is both sweet and sour, very tast, wrapped by a peel, that is growing in economic importance with a great potential in the food industry (Alezandro et al., 2013; Wu, Long & Kennelly, 2013; Borges, Conceição & Silveira, 2014; Silva et al., 2014; Mercali et al., 2015). These fruits may be consumed either in their fresh form, *in nature*, as in the form of juices, jellies, ice cream, vinegar, liqueurs and wines; but the peels are adstringent. They may be a potential substitute for synthetic food colorants (Santos & Meireles, 2011).

The great importance given to the fruits of *M. cauliflora* (MART.) O. Berg, in the recent years, is not derived only from the nutritional potential of the pulp or from the food industry potential of the peel, but also, and mainly, is provided by the biological potential of the peels may to present. Even the tea of *M. cauliflora* bark has been used by traditional medicine for the treatment of asthma, hemoptysis, angina, dysentery, erysipelas and inflammation of the palatine tonsils (Reynertson et al., 2006; Leite-Legatti et al., 2012; Wu et al., 2012; Costa et al., 2013; Calloni et al., 2015). Studies have reported that jabuticabas have a wide variety of nutrients deemed classics, for example, carbohydrates, minerals, aminoacids, such as lysine and tryptophan, and vitamins B1, B2 and C, which can have a large impact on human health; and, specially, they may to represent a good source of calcium, iron, potassium and phosphorus (Leite-Legatti et al., 2012; Wu et al., 2012; Costa et al., 2013; Wu, Long & Kennelly, 2013; Marianni et al., 2014).

The epicarp or *jabuticaba* peel is dark violet to almost black color, and many cultures have recognized that dark-colored fruits show good potential to improve the quality of human health, bringing a lot of benefits. This is supported by some reports that have demonstrated that the fruits of *Myrciaria* species present significant anthocyanin content (Wu et al., 2012; Borges, Conceição & Silveira, 2014). Anthocyanins are a type of pigment found in vegetables, flowers and fruits, which are responsible for the violet colour, and they are linked to medicinal properties such as antioxidant, and anti-inflammatory activities (Borges, Conceição & Silveira, 2014; Silva et al., 2014).

Pain, exacerbated inflammatory response, tissue injuries by oxidative stress, changes in the metabolism of lipids and carbohydrates, are clinical conditions associated to the pathophysiology of various diseases, for an example, the noncommunicable chronic diseases, like diabetes mellitus type 2 and cardiovascular diseases (Haldar et al., 2012). It is projected that, globally, about 64 million people will die in 2015; and more than 60 % of these deaths will be probably from noncommunicable chronic diseases, of which half will be of cardiovascular diseases, with a significant number to deaths for diabetes mellitus type 2 (Strong et al., 2005). It has been made a global call for action for try to reduce the high prevalence and the high mortality rates by these diseases. To increase research into the components of the stepwise approach to prevention and control of chronic diseases, ensuring the availability, affordability, and accessibility of low-cost generic drugs for the management of people at high risk, specially, cardiovascular diseases (Beaglehole et al., 2007).

Therefore, studies that are based on research of biological potential of plants for the treatment or prevention of symptoms related to chronic diseases are extremely necessary. It has been reported that anthocyanin, which can be found in the peel of the fruit *M. cauliflora* can improve the uptake of glucose by decreasing insulin resistance. The use of dried bark and frozen of another species of *Myrciaria*, the *M. jaboticaba* (Vell.) O. Berg, added to the diet in obese rats, showed improvement in insulin resistance and a significant increase in HDL-cholesterol levels, suggesting the biological potential of the fruit of *Myrciaria* genus. But this is still controversial, since some studies have not found a reduction in body mass or hypoglycemic or lipid-lowering effects; and it still remains inedited this linkage with *M. cauliflora* (MART..) O. Berg peel fruits (Lenquiste et al., 2012).

Thus, studies on the benefits that the peel of the fruit of *M. cauliflora* can bring to human health, are still sorely needed, given that part of this fruit is an important source of compounds with high biological medicinal potential and can contribute effectively in the search for new bioactive products. So, the present study aimed to investigate biological activities from hydroethanolic extract of *Myrciaria cauliflora* (MART.) O. Berg peel fruits related to therapeutic potential for the clinical conditions of Noncommunicable Chronic Diseases, such as antioxidant, anti-inflammatory, antinociceptive, antidiabetic, and hypolipidemic activities. This study also investigated the acute toxicity, and the phytochemical screening of the hydroethanolic extract of *Myrciaria cauliflora* (MART.) O. Berg peel fruits.

2. Materials and methods

2.1 Chemicals

Alloxan monohydrated was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Insulin (Humolin N) was purchased from Lilly; (Brazil). Glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol and triglyceride assay kits were obtained from Labtest Diagnostica (Lagoa Santa, MG, Brazil). Acetyl salicylic acid, ibuprofen, morphine and λ -carrageenan were purchased from Sigma Chemicals Co. (St. Louis, MO, USA). Acetic acid, ethanol and all other chemicals were of the highest purity analytical grade available (Merck, Darmstadt, Germany).

2.2 Plants materials and Extract Preparation

Fresh fruits of *M. cauliflora* were collected from the João Alfredo City with herbarium identification of the Agronomic Institute of Pernambuco- IPA (899778), PE, Northeastern Brazil. The fruit peels were immediately separated, dried at room temperature (28 ± 2 °C) for 3 days, and milled to a fine powder in a Macsalab mill (Model 200 Lab; Eriez®, Bramley). The finely powdered dry fruit peels (100g) was mixed with 70% ethanol (1000 mL), subjected to a mechanical stirring, at 4 °C for 16 h, then filtered with Whatman filter paper (N° 1). The ethanol was removed by rotary evaporation (BUCHLER INSTRUMENTS, Fort Lee, NJ, USA). Therefore, the *M. cauliflora* fruit peel ethanol 70% extract was labeled McFP-EtOH 70% and used in the present study.

2.3 Preliminary Phytochemicals Studies

McFP-EtOH 70% was screened for the presence of phytochemical compounds, such as proanthocyanidins, flavonoids, mono, sesqui e diterpenes, iridoids, alkaloids, steroids and triterpenoids, coumarins and phenylpropanoids according to the methods described by Harborne (1958).

2.4 Animals

Male Swiss white mice (*Mus musculus*), 60-days-old, weighing 30 ± 5 g were obtained from the Animal House of the Laboratory of Immunopathology Keizo Asami (LIKA), UFPE, Brazil. The animals were separated into groups (N = 6) and housed in cages at a temperature of 22 ± 2 °C, 12 h dark-light cycle, relative humidity $55 \pm 5\%$, with free access to standard chow (Labina, Purina Brazil Ltd., Brazil) and water *ad libitum*. All experimental protocols were performed according to the Animal Care and Use Committee of UFPE, Brazil, and all the experimental procedures were conducted in accordance with the ethical guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals.

2.5 Acute Toxicity Study

Acute oral toxicity study was performed as per Organization of Economic Cooperation and Development Guidelines. Health Swiss female mice were used in the protocol. The animals were kept fasting overnight, but with free access to water for 4 h, before oral administration of a maximum dose (2000 mg/kg) of McFP-EtOH 70%. The animals were observed continuously for 1 h, then frequently for 4h, and later at the end of 24 h for analyzing the general behavioral, neurological and autonomic profile.

2.6 Anti-inflammatory Activity

2.6.1 Assay of Anti-inflammatory Activity by Carrageenan-induced Paw edema

The paw edema was induced from a subplantar injection of 0.1 ml carrageenan (1%) in saline half hour before the administration of the extracts (Winter et al., 1962). Doses of 12.5, 25, 50 and 100 mg/kg (orally) of McFP-EtOH 70% was

used for treatment. The volume of the paw was measured by one caliper rule (Kanon-Stainless Mardened), at the time 0 and intervals of 60, 120, 180 and 240 min immediately after the subplantar injection of carrageenan. For the positive control group, animals received a dose 100mg/kg Acetylsalicylic acid (ASA). The negative control animals received just vehicle (saline solution 0.9%). The data obtained for the various groups were reported as mean $\pm$ S.D. and expressed in millimeter.

2.6.2 Assay of Anti-inflammatory Activity by Carrageenan-induced Peritonitis

Peritonitis was conducted as described by Foster et al. (1986). Male Swiss mice (6 animals per group) were pre-treated with vehicle (Negative Control – saline solution 0.9%, orally), Acetylsalicylic acid (Positive Control-Ibuprofen, 100 mg/kg, orally), and McFP-EtOH 70% (12.5, 25, 50 and 100 mg/kg, orally), and 1h later, the animals received an injection of 1% carrageenan (i.p.). After 4 h, the animals were sacrificed. After, saline containing EDTA (1mM, i.p.) was injected, immediately a brief massage was done for further fluid collection and used for leukocyte (mainly neutrophils) counting in a Cell Counter (ABX MICROS 60). The results were expressed as the number of Leukocytes $\times 10^3/\text{mm}^3$. The percentage of the leukocyte inhibition = $(1 - T/C) \times 100$, where T represents the treated groups leukocyte counts and C represents the control group leukocyte counts.

2.7 Antinociceptive Activity

2.7.1 Assay of Antinociceptive Activity by Acetic Acid-induced Abdominal Writhing

Abdominal writhing based of a contraction of the abdominal muscle together with a stretching of the hind limbs, induced by agent nociceptive (0.8% Acetic acid) with intraperitoneal injection (Koster et al., 1959). The animals received 12.5, 25, 50 and 100 mg/kg of McFP-EtOH 70% (test group), ibuprofen (100 mg/kg, positive control group) and vehicle (negative control group) 1 hour before administration of acetic acid (0.8%, i.p). The number of writhing reflexes was counted during the following 20 min.

2.7.2 Assay of Antinociceptive Activity by Hot Plate

The central analgesic activity of *M. cauliflora* against thermal stimuli was studied in male mice using the hot plate test (MacDonald et al., 1946). Mice were individually placed in a hot plate heated at fixed temperature ($55 \pm 1.0^\circ \text{C}$) and response time to the stimulus was marked by a timer. Measurements were performed at time 0, 30, 60, 90, and 120 min after the first thermal stimulus. The maximum stay of the animal was 60s to avoid damage. The control group was treated with vehicle (saline solution 0.9%) and the test group ($n = 6$ each) with 12.5, 25, 5 and 100 mg/kg (orally) of McFP-EtOH 70% 1 hour before performing the experiments. Morphine (10mg/kg, orally) was administered to control positive.

2.8 Determination of antioxidant activity by sequestration method free radical DPPH

Antioxidant activity was stipulated by the ability of antioxidants present in the samples to scavenge the stable radical DPPH. The reaction mixture in each well consisted of various concentrations (1, 0.5, 0.25 mg/mL) extracts (250 μL) and a methanolic solution (40 μL) containing DPPH (20 mg / ml). Samples were compared to standard solutions of gallic acid (1, 0.5, 0.25 mg/mL). The mixture was incubated at 25°C for 25 minutes in the dark and absorbencies (517nm) were acquired with the aid of an ELX 800 universal reader (Biotek Instruments, Inc., Winooski, VT). The radical reduction activity was calculated as a percentage of DPPH discoloration using the equation: % AA = $(A_c - A_{\text{am}}) / A_c \times 100$ where A_c is the absorbance control, and A was the absorbance of the sample.

2.9 Antidiabetic and hypolipidemic Activities

2.9.1 Induction of Experimental Diabetes

The animals were overnight fasted and experimental diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of a freshly prepared solution of alloxan monohydrate (80 mg/kg) in 0.9% NaCl, then the animals were allowed to drink 5% glucose solution to overcome the drug induced hypoglycemia (Lenzen., 2008). After alloxan administration, all animals were relocated to their cages and given free access to food and water. Diabetes was confirmed by measuring the fasting blood

glucose levels 72 h after alloxan injection. The mice with serum glucose >250 mg/dL were considered diabetic (Rocha et al., 2013).

2.9.2 Experimental Design

The mice were split into five groups (n = 6, for group) as follows:

Group I: Normoglycemic mice receiving the vehicle saline solution (0.9%) for 14 days, as normal control group (control).

Group II: Alloxan-induced diabetic mice receiving saline solution (0.9%), named diabetic nontreated (NT).

Group III: Alloxan-induced diabetic mice treated with McFP-EtOH 70% (200 mg/kg/day, orally) in saline solution (0.9%) for 14 days, named McFP-EtOH 70% (200 mg/kg)

Group IV: Alloxan-induced diabetic mice treated with (400 mg/kg/day, oral) in saline solution (0.9%) for 14 days, named McFP-EtOH 70% (400 mg/kg).

Group V: Alloxan-induced diabetic mice treated with insulin (10 mg/kg/day, i.p.) for 14 days, named IT (10 mg/kg).

Before and at the end of the experimental period, overnight fasting mice were anaesthetized with 2% xylazine hydrochloride (10 mg/kg) and 10% ketamine hydrochloride (115 mg/kg). Blood samples were withdrawn with a capillary from mice cavernous sinus for biochemical parameters determination, as reported previously (Araújo et al., 2012). The mice were sacrificed and pancreas were excised and immediately fixed in 10% neutral buffered formalin.

2.9.3 Biochemical Analysis

Mice blood samples were centrifuged at 2,500 x g for 15 min at 4 °C (Sorvall RC6, NC, US). Fasting blood glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides were measured by enzymatic colorimetric assays using commercial kits and according to the manufacturer's instructions.

2.10 Statistical Analysis

Results were presented as the mean $\pm$ SD. The statistical analysis involving multiple comparisons were analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test using software PRISMA (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, version 5.01). Values of $P < 0.05$ were considered statistically significant.

3. Results

3.1 Preliminary Phytochemical Screening

Phytochemical analysis of secondary compounds belonging to the main groups revealed the presence of: Phenylpropanoglycosides, flavonoids, alkaloids, cinnamic derivatives, Mono, sesqui and diterpene, Iridoids, coumarins, and Proanthocyanidins (table 1).

3.2 Anti-oxidant Activity of McFP-EtOH 70%

The McFP-EtOH 70% demonstrated an excellent sequestering activity of free radicals in the concentrations tested (1, 0.5 and 0.25 mg/mL) (Table 2), relating the antioxidant activity of the fraction McFP-EtOH 70% with a gallic acid antioxidant activity do the same concentrations was found that the antioxidant activity in the concentration 1mg/mL, behaved in standard displaying hum percentage of approximately 93 % of antioxidant activity (Yunes et al., 2002). By comparing as other concentrations tested fraction (0.5 and 0.25 mg/mL). The standards described in the literature in the same concentrations , can be demonstrated a good antioxidant activity, however less to those described standards in the concentrations 0,5 mg and 0,25 mg, featuring hum percentage of approximately 58 % and 32% , respectively .

3.3 Anti-inflammatory Activity of McFP-EtOH 70%

The injection of carrageenan in the sub-plantar tissue of the right hind paw of mice in negative control group caused a significant swelling ($p < 0.05$). The positive control group which received a dose of 100mg of ASA has produced a significant inhibition in paw edema in the times of 120, 180 and 240 min (Figure 1). Groups that

received doses of 12.5, 25, 50 and 100 mg/kg of McFP-EtOH 70% showed a significant inhibition of inflammation in the times of 120, 180 and 240 min.

The results presented in Figure 2, showed that administration of carrageenan in the peritoneal cavity resulted in the migration of leukocytes cells. The treatment of animals with McFP-EtOH 70% in the doses of 12.5, 25, 50 and 100 mg/kg reduced significantly de migration in leukocytes, with the percentage of inhibition of 41.8%, 44.1%, 50.4% and 52.1%, respectively. The treatment with ibuprofen (100 mg/kg) reduced significantly the migration of leukocytes in 56.8%, when compared with negative control, $p < 0.05$.

3.4 Anti-nociceptive Activity of McFP-EtOH 70%

In the writhing test, intraperitoneal injection of 0.8% acetic acid evidently resulted in writhing reflex in mice. Figure 3 demonstrates the anti-nociceptive profile McFP-EtOH 70% assessed using the writhing test. The results showed this extract reduced significantly the numbers of abdominal construction acid acetic-induced in the mice with inhibition of 41.7%, 48.0%, 76.1% and 92.2%, for doses of 12.5, 25, 50 and 100 mg/kg, respectively. Thus, the McFP-EtOH 70% was potent in inhibiting nociception when compared with the negative control (vehicle). The treatment with positive control (ASA, 100mg/kg) promotes a significantly percentage of inhibition of 91.8%.

The anti-nociceptive profile of McFP-EtOH 70% assessed using the hot-plate test is shown in Figure 4. Results of hot-plate test were very similar to that of the acetic acid- induced writing in mice. The treatment with all concentrations of McFP-EtOH 70% also significantly ($p < 0.05$) increased the mean of latency time to discomfort reaction, after the time of 30 min. The treatment with positive control (Morphine, 10 mg/kg) promotes a significant ($p < 0.05$) increased of latency time after the time of 30 min.

3.5 Antidiabetic and hypolipidemic Activities of McFP-EtOH 70%

In diabetic groups of this study, the levels of fasting blood glucose were significantly ($p < 0.05$) higher than that of normal control group. The administration of McFP-EtOH 70% in a dose of 200 mg/kg/day and 400 mg/kg/day for 14 days significantly lowered the blood glucose levels in a dose dependent manner (Table 2).

Administration of a dose of 400 mg/kg/day exhibited better glucose reduction (82.3%) than 200 mg/kg/day (61.6%). The reduction on blood glucose (82.3%) observed for the mice treated with the highest dose of McFP-EtOH 70% tested was higher to that found with insulin treatment (62.3%).

As shown in table 3, total cholesterol levels in animals treated with McFP-EtOH 70% (200 mg/kg and 400 mg/kg) were significantly different from that found in the diabetic nontreated animals. The administration of McFP-EtOH 70% in a dose of 200 mg/kg/day and 400 mg/kg/day significantly reduced total cholesterol concentration in 39.5% and 44.2%, respectively. In turn, HDL-cholesterol levels were significantly increased by the treatment with McFP-EtOH 70% 200 mg/kg (48.6%) and 400 mg/kg (51.4%), and also, the treatment with insulin increased HDL-cholesterol levels (29%).

Triglycerides levels were significantly increased in alloxan-induced diabetic mice, in comparison with normal mice (Table 3). However, after 14 days of treatment with McFP-EtOH 70% at doses of 200 mg/kg and 400 mg/kg, the triglyceride concentrations in sera of diabetic mice decreased, significantly ($p < 0.05$) by 69.4% and 70.8%, respectively, and this result was similar to the treatment with insulin that reduced triglyceride levels by 51.1%.

3.6 Acute Toxicity of McFP-EtOH 70%

Oral administration of the McFP-EtOH 70% did not produce significant changes in behaviors (2000 mg/kg). There were no changes in the nature of stool, urine and eye color. No mortality was observed post administration of McFP-EtOH to the end of the experiment. In a single dose administration no adverse effects was observed for the hydroethanolic extract of *M. cauliflora*, indicating that the extracts are not toxic under the observable condition. Thus, McFP-EtOH 70% presents phenolic compounds which may be used for the various treatment without evidence of toxicity.

4. Discussion

Phytochemical studies of *M. cauliflora* revealed this results corroborate with other data in the literature which also reported the presence of these groups in this species, Methanol and hydroethanolic extracts of leaves (Reynertson et al, 2008, Hussein et al., 2003, Wu et al., 2012)

The products of secondary origin found in this work are already established in the literature as potent allelopathic agents (Rice, 1984; Moreland and Novitzky, 1987), and are involved in several biological activities present in some species of *Myrciaria* such as Antioxidant (Inoue et al., 2008) Anti-inflammatory (Dastmachi et al., 2012), Hypoglycemic and hypolipidemic (Akter et al., 2011) Antifungal (Milk-Legatti et al., 2012), Antibacterial (Myoda et al., 2010), Anticholinesterase (Tietbohl et al., 2012), anti-plasmodium (Ruiz et al., 2011) Gastroprotective (Ishikawa et al., 2008) activities.

The DPPH method is based on the reduction of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), which upon receiving an electron changes its color from yellow to purple (RoginskyLissi, 2005). We realize that McFP- 70% EtOH showed good antioxidant activity, although we can not determine precisely what secondary source metabolites are acting in this activity is attributed to the intense presence of phenolic compounds found in phytochemical screening due to increased solubility of these components in polar solvents. Data in the literature indicate that this group is responsible for reducing oxidative stress and which has the ability to modulate the activity of mitochondrial complex I and thus prevent oxidative damage of molecules and cell death.

The anti-inflammatory potential of McFP-EtOH (70%) was evaluated using two in vivo inflammatory methodologies, using carrageenan as phlogiston agent to paw edema induction and peritonitis in mice. Carrageenan is commonly used as a tool to detect anti-inflammatory drug administered orally to act in the inhibition of acute phase mediators. Edema formation involves two stages in the production of inflammatory mediators initially (1-2h), histamine release occurs, serotonin and bradykinin while the second phase is considered more sensitive to effective drugs is responsible for the release of prostaglandins (3- 5h). The McFP-EtOH (70%) in lower concentrations showed a moderate effect in the initial phase, but in the late phase we found that all concentrations significantly reduced paw edema in mice.

Several scientific data reported action of phenolic compounds act in several ways on the inhibition of inflammation and is involved in the regulation of synthesis of pro-inflammatory cytokines, inhibition of gene expression of the enzymes cyclooxygenase-2 (COX2), nitric oxide synthase (iNOS) and Also of cell surface adhesion molecules, decreased translocation of NF- κ B transcription factor from the cytoplasm to the nucleus and modulation of arachidonic acid by inhibition of

phospholipase A2 (Rahman et al., 2006; Gugliucci et al., 2009). They also have the ability to sequester reactive oxygen species in oxidative stress situations (Hatcher et al., 2008). Although no scientific data to assign anti-inflammatory activity to isolated constituents of this species, the intense presence of these metabolites found in a preliminary way in McFP-EtOH (70%), may suggest that its anti-inflammatory effect in part is due to the synergism of these it fits acting constituents in inhibiting inflammatory mediators (Panthong et al., 2003). The anti-inflammatory activity of fruit was observed by *M. cauliflora* attributing their action to antioxidant compounds that act by reducing inflammation resulting from cigarette smoke exposure (Dastmalchi et al., 2012).

Inflammatory mediators secreted into the injured site by carrageenan are responsible for triggering recruitment of leukocytes, such as neutrophils. The treatment with McFP-EtOH (70%), was able to inhibit the migration of these cells ($p < 0.05$). With this, such results corroborate presented in the paw edema model, suggesting then, like ibuprofen, components of the extract are acting in inhibiting the secretion of chemical mediators by inhibiting a consequent migration of leukocytes (Nijveldt et al., 2001).

The writhing method using acetic acid shows great sensitivity to peripheral and centrally acting drugs (Le Bars et al., 2001), because it involves the release of several inflammatory mediators, prostaglandins, resulting from increased peritoneal fluid and directly evoking various nociceptors present in the peritoneal cavity (Bentley et al. 1983, Zhang et al., 2005, Couto et al, 2011). The McFP-EtOH (70%) showed a strong reduction of nociception in animals. Therefore, the nociceptive action of McFP-EtOH (70%) can be attributed to its anti-inflammatory effect, due to the presence of phenolic compounds that act by inhibiting the chemical mediators possibly arising from the action of cyclooxygenase enzymes (Gorzalczany et al., 2011) and up causing a sensitization in the peripheral nociceptors (Deraedt et al., 1980).

However, this test is not able to suggest the exact antinociceptive mechanisms of these compounds (Stail et al., 1995). Therefore, another model was explored in this research. The hot plate test methods evaluate the central mechanism (Deraedt et al., 1980). The observed effect on McFP-EtOH (70%) after 30 min and lasting until the end of the evaluation can also be due to increased presence of phenolic compounds that act in various mechanistic pathways, such as the opening

of potassium channels, which consequently promotes hyperpolarization of the cell membrane or decrease in cyclic adenosine monophosphate (cAMP) resulting in inhibition of calcium channel-dependent voltage thus inhibiting the secretion of neurotransmitters and nerve impulse transmission (Haider et al., 2012) .

Metabolic disturbances, such as hyperglycemia and dyslipidemia are a matter of concern, since high plasma levels of glucose, total cholesterol, and triglycerides, as well as low levels of HDL-cholesterol are related to the most prevalent noncommunicable chronic diseases – Diabetes Mellitus type 2 and cardiovascular diseases. Our extract (concentrations of 200 mg/kg and 400 mg/kg, respectively) was able to reduce in approximately 60 % and 80 % the glucose levels, corroborating to Jayaprakasam et al. (2006), that showed that diet with purified anthocyanins could ameliorate insulin sensibility and in turn to decrease the plasma glucose levels. Takikawa et al. (2010) have suggested that this occurs due to activation of AMP-activated protein kinase in peripheral tissues. In another way, Lenquist et al. (2012) did not find significant differences on glucose levels, when they used freeze-dried peel fruits, from other species of *Myrciaria*, added to a high-fat diet.

Our extract also was able to reduce the levels of total cholesterol, at approximately 40 %, and of triglycerides, around 70 %. This potential to improve the lipid profile was much higher than those reported for diets supplemented with anthocyanin stemmed of another species of *Myrciaria*, as reported by Lenquist et al. (2012) and Kwon et al. (2007). Levels of HDL-cholesterol also were improved, since our extract caused a decrease of approximately 32 % of these levels, that was similar to the decrease found by Kwon et al. (2007).

Also evaluated in animal acute oral toxicity of McFP-EtOH and 70% was observed in any clinical sign dose tested, can be considered a safe herbal medicine. *Myrciaria cauliflora* as well as other plants synthesize compounds essential for their survival and that in some cases have toxic effects when in vivo, to oppose the lack of scientific evidence on the safety of using this kind may result revealed the non-toxic nature of this metabolites (Jayanthi and Lalitha et al, 2011;. Lalitha, Sripathi and Jayanthi., 2012).

5. Conclusion

The results from our study showed that *M. cauliflora* fruit peels is a rich source of compounds with high biological potential and pharmacologically can contribute effectively in therapeutic conditions, it showed the antioxidant properties, antidiabetic, hypolipidemic and anti-inflammatory and analgesic. More investigations are needed to investigate what active constituents are responsible for the presented property of *M. cauliflora*.

Conflict of Interests

The authors declare that they have no conflict of interests.

Acknowledgments

This work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE). All authors contributed to the experimental design, data collection, statistical analyses and paper writing of this study.

Table 1. Phytochemical screening results of hydroethanolic extract of *M. Cauliflora*

Parameters	McFP-EtOH 70%
Flavonoids (Neu)	+++
Coumarins (UV)	++
Iridoids (Vanilin sulfuric)	++
Mono, sesqui, diterpene (Vanilin sulfuric 2%)	+++
Cinnamic derivatives (UV)	++
Phenylpropanoglycosides (UV)	++
Alkaloids (Dragendorf)	+++
Proanthocyanidins (Vanilin hydrochloric)	+++

+++ : Strong intensity reaction; ++ : Medium intensity reaction; + : Weak intensity reaction; - : Nondetected

Table 2. Effect of McFP-EtOH 70% on *M. cauliflora* in the determination of antioxidant activity by the DPPH radical scavenging method.

Groups	%AA
McFP-EtOH70% 1	92,68
McFP-EtOH70% 0,5	58,03
McFP-EtOH70% 0,25	32,29
Gallic Acid 1	92,80
Gallic Acid 0,5	92,61
Gallic Acid 0,25	92,59

Values are expressed an percentage.

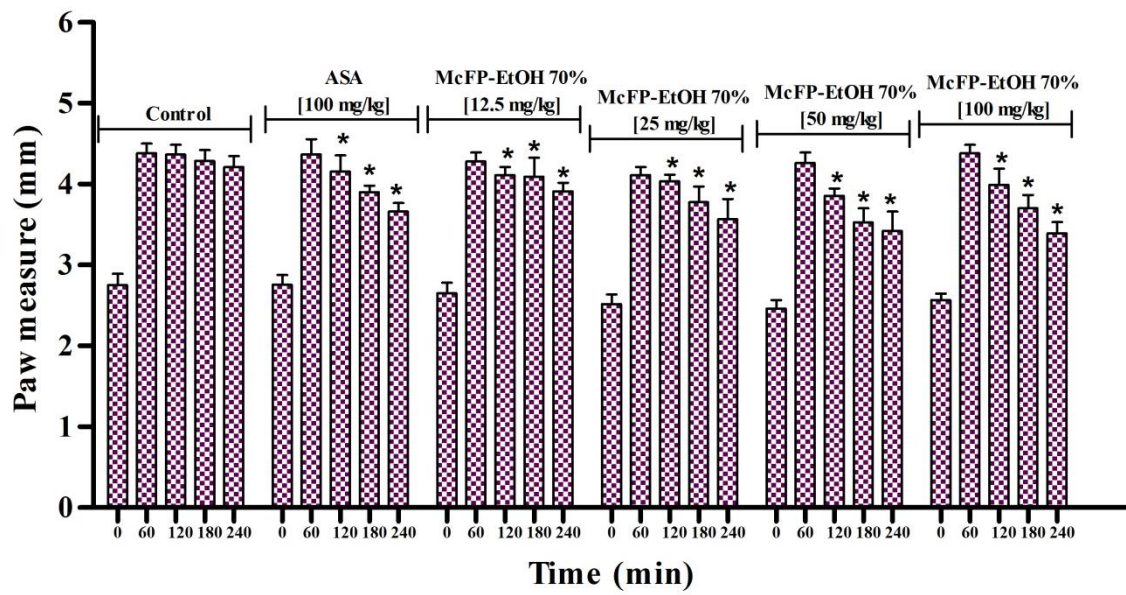


Fig 1. Effect of McFP-EtOH 70% in the thickness of the right posterior oedema of mice. ASA – Acetyl salicylic acid. Values are expressed as mean $\pm$ S.D. * P < 0.05, in relation to control group.

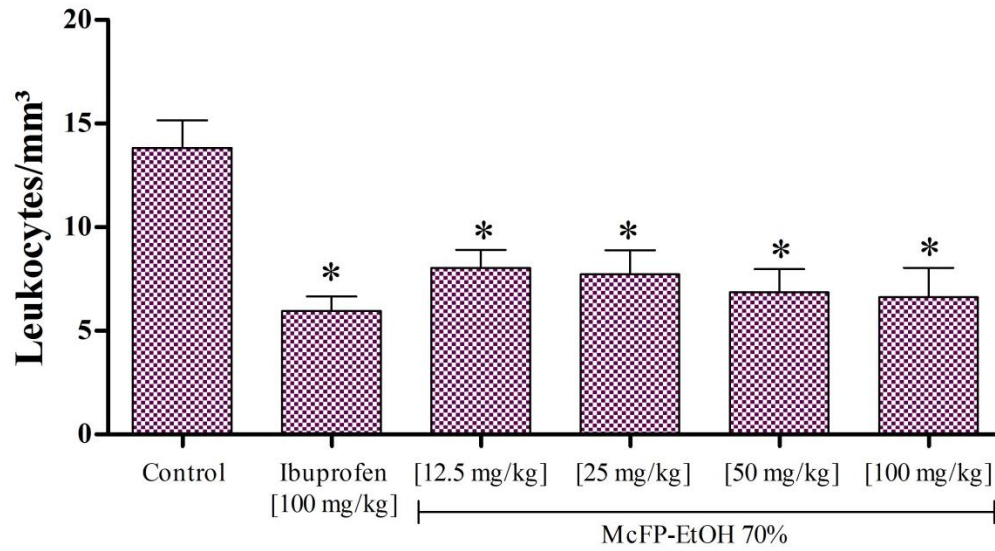


Fig 2. Effects of McFP-EtOH 70% in the leukocyte migration in the model of carrageenan-induced peritonitis. Values are expressed as mean $\pm$ S.D. * P < 0.05, in relation to control group.

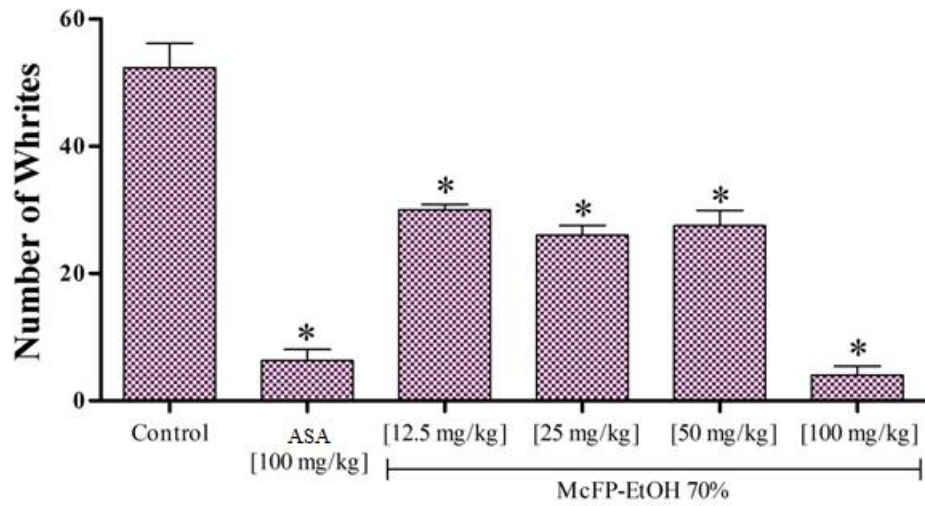


Fig 3. Effect of McFP-EtOH 70% in the number of writhes in the model of nociception induced by acetic acid. Values are expressed as mean $\pm$ S.D. * P < 0.05 , in relation to control group.

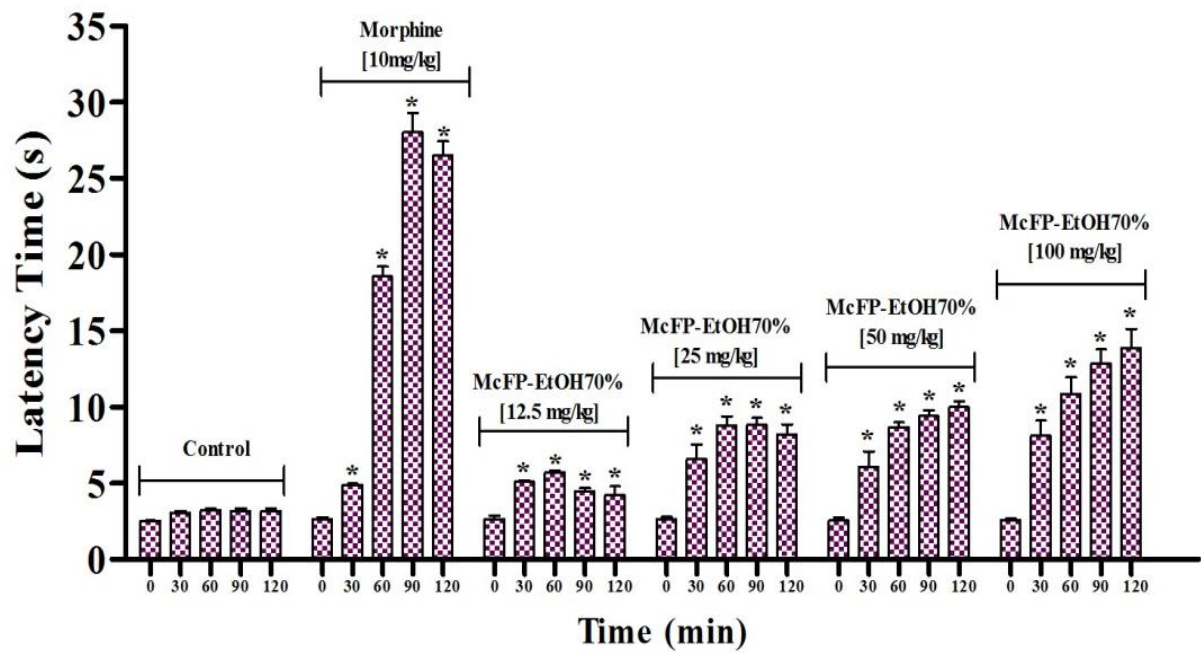


Fig 4. Effect of McFP-EtOH 70% in the latency time in the model of nociception by hot plate. Values are expressed as mean $\pm$ S.D. * $P < 0.05$, in relation to control group.

Table 3. Effect of McFP-EtOH 70% on biochemical parameters of the diabetic mice.

Groups	Glucose (mg/dL)	Total Cholesterol (mg/dL)	HDL- cholesterol (mg/dL)	Triglycerides (mg/dL)
Control	107.5 ± 9.3	81.4 ± 4.9	36.3 ± 3.0	109.2 ± 10.3
NT	583.0 ± 31.5 [†]	97.7 ± 8.0	33.1 ± 0.8	271.6 ± 23.4 [†]
McFP-EtOH 70% [200 mg/kg]	223.5 ± 8.7*	59.1 ± 17.9*	49.2 ± 6.0*	83.2 ± 20.7*
McFP-EtOH 70% [400 mg/kg]	103.0 ± 21.7*	54.5 ± 14.2*	50.1 ± 1.6*	79.2 ± 15.7*
IT [10 mg/kg]	219.7 ± 20.9*	89.3 ± 2.2	42.7 ± 1.4*	132.7 ± 6.1*

NT – nontreated alloxan-diabetic mice; McFP-EtOH 70% [200] – alloxan-diabetic mice treated with McFP-EtOH 70% (200 mg/kg); McFP-EtOH 70% [400] – alloxan-diabetic mice treated with McFP-EtOH 70% (400 mg/kg); IT – alloxan-diabetic rats treated with insulin (10 mg/kg). The values represent the mean ± SD. One-way ANOVA with Tukey's *post hoc* test. **P* < 0.05 versus NT.

References

- Akter, M. D, Oh, S., Eun, J. B., Ahmed, M., 2011. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review. *Food Research International*, 44, 1728-1732.
- Alezandro, M. R., Dubé, P., Desjardins, Y., Lajolo, F. M., Genovese, M. I., 2013. Comparative Study of Chemical and Phenolic Compositions of two Species of Jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Bert. *Food Research International*. 54, 468-477.
- Araújo, T. G., Carvalho, B. M., Fonseca, C. S. M. 2012. et al., "Metabolic effects of benzylidene thiazolidinedione derivatives in high-fat fed mice," *Medicinal Chemistry Research* 21, 2408–2414.
- Beaglehole, R. Ebrahim, S., Reddy, S., Voute, J., Leeder, S., 2007. Prevention of chronic diseases: a call to action. *Lancet* 370, 22-29.
- Bentley, G. A., Newton, S. H., Starr, J., 1983. Studies on the antinociceptive action of α -agonist drugs and their interactions with opioid mechanisms. *British Journal of Pharmacology* 79, 125-134.
- Borges, L. L., Conceição, E. C., Silveira, D., 2014 . Active Compounds and Medicinal Properties of *Myrciaria genus*. *Food Chemistry* 153, 224-233.
- Calloni, C., Agnol, R. D., Martinez, L. S., Marcon, F. S., Moura, S., Salvador, M., 2015. Jaboticaba (*Plinia trunciflora* (O.Berg) Kausel) Fruit Oxidative Stress in Human Fibroblasts cells (MRC-5). *Food Research International* 70, 15-22.
- Costa, A. G. V., Garcia-Diaz, D. F., Gimenez, P., Silva, P. I., 2013. Bioactive Compounds and Health Benefits of Exotic Tropical Red-black Berries. *Journal of Functional foods* 5, 539-549.

- Couto, V. M., Vilela, F. C., Dias, D. F., Santos, M. H., Soncini, R., Nascimento, C. G. O., Giusti-Paiva, A., 2011. Antinociceptive effect of extract of *Emilia sonhifolia* in mice. *Journal Ethnopharmacology* 134, 348-353.
- Deraedt, R., Jougney, S., Delevalcee, F., Falhout, M., 1980. Release of prostaglandin E and F in an algogenic reaction and its inhibition. *European Journal of Pharmacology* 51, 17-24.
- Foster, M. E., Johnson, C. D., Bilings, P. J., Davies, P. W., Leaper, D. J., 1986. Intraoperative antegrade lavage and anastomotic healing in acute colonic obstruction. *Diseases of the Colon & Rectum* 29, 255-259.
- Gorzalczany, S., Marrassini, C., Mino, J., Acevedo, C., Ferraro, G., 2011. Antinociceptive activity of ethanolic extract and isolated compounds of *Urtica circularis*. *Journal of Ethnopharmacology* 134, 733-738.
- .
- Gugliucci, A., Markowicz Bastos, D. H., Schulze, J., Ferreira Souza, M. F., 2009. Caffeic and chlorogenic acids in *Ilex paraguariensis* extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins. *Fitoterapia* 80, 339-344.
- Haider, B., Hausser, M., Carandini, M., 2012. Inhibition dominates sensory responses in the awake cortex. *Nature* 493, 97-100.
- Haldar, S., Kar, B., Dolai, N., Kumar, R. B. S., Behera, B., Haldar, P. K., 2012. In vivo Anti-nociceptive and Anti-inflammatory Activities of *Lippia alba*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 667-670.
- Harborne, J. B. 1998. "Phytochemical Methods", *Chapman & Hall*, London, 60-66,
- Hatcher, h., Planalp, R. Cho, J., Torti, F. M., Torti, S. V., 2008. Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cellular and Molecular of Sciences* 65, 11, 1631-1652.

- Hussein, S. A. M., Hashem, A. N. M.; Seliem, M. A.; Lindequist, U.; Nawwar, M. A. M., 2003. Polyoxygenated flavonoids from *Eugenia edulis*. *Phytochemistry* 64, 883-889.
- Inoue, T., Komoda, H., Uchida, T., Node, K., 2008. Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. *Journal of Cardiology* 52, 2, 127–132.
- Ishikawa, T., Donatini Rdos, S., Diaz, I. E., Yoshida, M., Bacchi, E. M., Kato, E. T. 2008. Evaluation of gastroprotective activity of *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Myrtaceae) leaves in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 527–529.
- Jayanthi, S. P., Lalitha, P., 2011. Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (MART.) *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3, 126-128.
- Jayaprakasam, B., Olson, L. K. , Schutzki, R. E., Tai and , M. H., Nair, M. G., 2006. Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed c57bl/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in Cornelian Cherry (*Cornus mas*). *Journal of Agricultural Food Chemistry* 54, 243–248.
- Koster, R., Anderson, M., De Beer, E. J., 1959. Acetic Acid for analgesic screening. *Federation Proceedings* 18, 412-4.
- Kwon, S. H., Ahn, I. S., Kim, S. O., Kong, C. S., Chung, H. Y., Do, M. S., et al. 2007. Anti-obesity and hypolipidemic effects of black soybean anthocyanins. *Journal of Medicinal Food* 10, 552–556.
- Lalitha, p., Sripathi, S. K. Jayanthi, P., 2012. Acute toxicity study of extracts of *eichornia crassipes* (mart.) Solms. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 5, 59-61.
- Le Bars, D., Gozariu, M., Cadden, S. W., 2001. Animals models nociception. *Pharmacological Reviews* 53, 4, 597-652.

- Leite-Legatti, A. V., Batista, A. G., Dragano, N. R. V., Marques, A. C., Malta, L. G., Riccio, M. F., Eberlin, M. N., Machado, A. R. T., Carvalho-Silva, L. B., Ruiz, A. L. T. G., Carvalho, J. E., Pastore, G. M., Maróstica Junior, M. R., 2012. Jaboticaba Peel: Antioxidant compounds, Antiproliferative and Antimutagenic Activities. *Food Research International* 49, 596-603.
- Lenquiste, S. A., Batista, A. G., Marineli, R. S., Dragano, N. R. V., Maróstica Jr., M. R., 2012. Freeze-dried Jaboticaba Peel Added to High-fat Diet increases HDL-cholesterol and Improves Insulin Resistance in Obese Rats. *Food Research International* 49, 153-160.
- Lenzen, S., 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin- induced diabetes. *Diabetologia* 51, 216-226.
- Marianni, N. C. T., Costa, R. C., Lima, K. M. G., Nardini, V., Cunha Júnior, L. C., Teixeira, G. H. A., 2014. Predicting Soluble Solid Content in Intact Jaboticaba [*Myrciaria Jabotica* (Vell.) O. Berg] Fruit Using Near-Infrared Spectroscopy and Chemometrics. *Food Chemistry* 159, 458-462.
- Mercali, G. D., Guraki, P. D., Schmitz, F., Marczak, L. D. F., 2015. Evaluation of Non-Thermal Effects of Electricity on Anthocyanin Degradation During Ohmic Heating of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *Food Chemistry* 171, 201-205.
- MacDonald, A. D., Woolfe, G., Bergel, F., Morrison, A., Paroli, E., Rinderknecht, H., 1946. Analgesis action of pethidine and related compounds. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy* 1, 4-14.
- Moreland, D. E., Novitzky, W. P., 1987. Effects of phenolic acids, coumarins, and flavonoids on isolated chloroplasts and mitochondria. In: WALLER, G. R. (Ed.). *Allelochemicals: role in agriculture and forestry*. Washington: American Chemical Society, 247-261.
- Myoda, T., Fujimura, S., Park, B., Nagashima, T., Nakagawa, J., Nishizawa, M. 2010. Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice production. *Journal of Food Agriculture & Environment* 8 , 304–307.

- Nijvelt, R. J., Van Nood, E., van Horn D. E., Boelens, P. G., van Norren, K., van Leeuwen, P. A., 2001. Flavonoids: a review of probable mechanism and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition* 74, 4, 418-425.
- Panthong, A., Kanjanapothi, D., Taesotikul, T., Wongcome, T., Reutrakul, V., 2003. Anti-inflammatory and antipyretic properties of *Clerodendrum petasites* S. Moore. *Journal Ethnopharmacology*, 85,151-156.
- OECD. Guidelines for the Testing for chemicals . Guidance no. 425. Acute oral Toxicity: up down procedure (UPD). <<http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECDtg425.pdf>>. 2014 (Acessado em 08. 09. 2014).
- Rahman, I., Biswas, S. K., Kirkham, P. A., 2006. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochemical Pharmacology* 72, 11, 1439-1452.
- Reynertson, K. A., Yang, H., Jiang, B., Basile, M. J. E., Kennelly, E. J., 2008. Quantitative Analysis of Antracene Phenolic Constituents from Fourteen Edible *Myrtaceae* Fruits. *Food Chemistry* 109, 4, 883-890.
- Rice, E. L., 1984. Allelopathy. Orlando: Academic Press, 422.
- Rocha, A. A., Araújo, T. F. S. , Fonseca, C. S. M. , Mota, D. L , Medeiros, D. L , G. Paiva, P. M. , Coelho, L. C. B. B., Correia, M. T. S. , Lima, V. L. M. 2013. “Lectin from *Crataeva tapia* bark improves tissue damages and plasma hyperglycemia in alloxan-induced diabetic mice”, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicinal*, 1-9.
- Roginsky, V., Lissi, E. A, 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry* 92, 235-254.
- Ruiz, L., Maco, M., Cobos, M., Gutierrez-Choquevilca, A. L., Roumy, V. 2011. Plants used by native Amazonian groups from the Nanay River (Peru) for the treatment of malaria. *Journal of Ethnopharmacology*, 133, 917–921.

- Santos, D. T., Meireles, M. A. A., 2011. Optimization of Bioactive Compounds Extraction from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) Skins Assisted by high Pressure CO₂. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 12, 398-406.
- Silva, M. C., Souza, V. B., Thomazini, M., Silva, E. R., Smaniotto, T., Carvalho, R. A., Genovese, M. I., Favaro-Trindade, C. S., 2014. Use of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. *Food Science Technology* 55, 203-209.
- Strong, k., Mathers, C., Leeder, S., Beaglehole, R., 2005. Preventing chronic diseases: how many lives can we save? *Lancet* 366.
- Takikawa, M., Inoue, S., Horio, F., Tsuda, T., 2010. Dietary anthocyanin-rich bilberry extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein Kinase in diabetic mice. *Journal of Nutritional* 140, 527-533.
- Winter, C. A., Risley, E. A., Nuss, G.W., 1962. Carrageenan-induced oedema in the hind paw of rat as an assay for anti-inflammatory activity. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 111, 544-547.
- Wu, S-B., Dastmalchi, K., Long, C., Kenelly, E. J., 2012. Metabolite Profiling of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other Dark-Colored Fruit Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60, 6513-7525.
- Wu, S-B., Long, C., Kenelly, E. J., 2013. Phytochemistry and Health Benefits of Jaboticaba, an Emerging Fruit Crop From Brazil. *Food Research International* 154, 148-159.
- Zhang S., Wong, Y. R., Ong, C. N., Shen, H. M., 2005. Anti-cancer potential of sesquiterpenelactones: bioactivity and molecular mechanisms. *Current Medicinal Chemistry. Anticancer Agents* 5, 239-249.