



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

TATIANA FERREIRA DE SIQUEIRA

AÇÃO DE FLAVONOIDES OBTIDO DA CASCA DE FRUTO MADURO DE
***MYRCIARIA CAULIFLORA* SOBRE O METABOLISMO EM MODELO**
EXPERIMENTAL DE DISLIPIDEMIA, DOR E FEBRE

RECIFE

2018

TATIANA FERREIRA DE SIQUEIRA

**AÇÃO DE FLAVONOIDES OBTIDO DA CASCA DE FRUTO MADURO DE
MYRCIARIA CAULIFLORA SOBRE O METABOLISMO EM MODELO
EXPERIMENTAL DE DISLIPIDEMIA, DOR E FEBRE**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Fisiologia.

Área de Concentração: Bioquímica e Fisiologia

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima
Coorientadora: Profa. Dra. Bianka Santana dos Santos

RECIFE

2018

Catálogo na fonte
Elaine C Barroso (CRB4/1728)

Siqueira, Tatiana Ferreira de

Ação de flavonóides obtidos da casca de fruto maduro de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg sobre o metabolismo em modelo experimental de dislipidemia, dor e febre / Tatiana Ferreira de Siqueira-2018.

188 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Vera Lúcia de Menezes Lima
Coorientadora: Bianka Santana dos Santos

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia. Recife, 2018.
Inclui referências e anexos

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

615.321

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-217

TATIANA FERREIRA DE SIQUEIRA

Ação de Flavonoides obtido da casca de fruto maduro de *Myrciaria cauliflora* sobre o metabolismo em modelo experimental de dislipidemia, dor e febre

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Fisiologia.

Aprovada em 25/07/2018.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima
Departamento de Bioquímica - UFPE

Profa. Dra. Bianka Santana dos Santos
Núcleo de Ciências da Vida - UFPE

Prof. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho
Departamento de Bioquímica - UFPE

Prof. Dr. Alexandre Gomes da Silva
Departamento de Bioquímica - UFPE

Prof. Dr. Tiago Ferreira da Silva Araújo
Colegiado de Ciências Farmacêuticas - UNIVASF

Prof. Dra. Janaína Karin de Lima Campos
Núcleo de Ciências da Vida - UFPE

**A Deus por ter permitido o início de mais uma
etapa acadêmica na minha vida;**

**À minha filha Maria Luíza Siqueira de Lima pela
compreensão de minhas constantes ausências.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, que através de sua luz e força, me capacita para tudo que me destina e faz seguir em frente.

A minha família, pela compreensão de minhas ausências; em especial a minha filha Maria Luíza pela força, incentivo e confiança. Você sempre foi mais importante!

À Prof^ª. Dra Vera Lúcia de Menezes Lima, Orientadora. Muito obrigado pela orientação, paciência e valiosos ensinamentos.

À Prof^ª. Dra Bianka Santana dos Santos, Coorientadora e amiga, pela confiança depositada desde o início, quando o Doutorado era apenas um sonho. Sem você teria sido bem difícil. Que esse elo possa perdurar por muitos e anos. Obrigada por me fazer acreditar!

Ao prof. Dr. Tiago Araújo por toda paciência e ensinamentos. Sua amizade foi uma das melhores conquistas durante todo esse tempo. Obrigada sempre!

Ao Prof Dr Nicácio Henrique da Silva do Laboratório de Produtos Naturais, por permitir a utilização dos equipamentos e instalações do seu laboratório. Recebi tanto carinho que agradecer sempre será pouco. Foi um privilégio lhe conhecer.

Aos amigos do Laboratório de Produtos Naturais pelo apoio e ajuda: Dra. Mônica Martins, Dra Ana Paula Sant'Anna, Amanda Uchôa, Tiago Fonseca, Daniel.

Aos amigos do Laboratório de Laboratório de Lipídios e Aplicação de Biomoléculas e Doenças Prevalentes e Negligenciadas do Departamento de Bioquímica da UFPE pelo apoio e incentivo: Albérico Real, Thaise Brito, Weber Melo, Janaína Campos, Rebeca, Vanderlan. Aos amigos Doutorandos pela ajuda técnica e apoio João Richards e José Guedes. Muito obrigada!

A Djalma, pelo apoio e conselhos. Muitas saudades e desejo do melhor em sua vida.

A Miron, que desde o Curso de Extensão, sanava todos os medos. Gratidão!

Aos imprescindíveis técnicos, Sr. João Virgínio, Albérico Real e Bruno Veras. Muito obrigada pelo apoio e ajuda no manuseio dos equipamentos. Grata eternamente!

Aos professores do Programa pelos ensinamentos, muito obrigada.

Ao suporte financeiro oferecido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, e ao Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE, pelo auxílio financeiro necessário à realização deste trabalho.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho.

Quando pensei em desistir, olhei para o lado que realmente importava: o lado de dentro. E segui em frente...

Quando pensei em desistir por causa deles, me perguntei quando foi que deixei de ser importante. Quando críticas e julgamentos de quem não me conhecia, invadiram a minha vida e tomaram minhas escolhas? Foquei no que me fortalecia e segui em frente...

Quando pensei em desistir por causa das circunstâncias, perguntei qual era o propósito de tudo o que estava vivendo. Então me concentrei no lado bom de todas as coisas e pessoas. Assim, insisti em seguir em frente...

Quando pensei em desistir por causa de mim mesma avaliei se o desistir tinha relação com ser forte ou se era apenas uma maneira de fugir das dificuldades. Precisei encontrar dentro de mim a força que me movia todos os dias. Continuei seguindo...

Quando pensei em desistir por causa do tempo, perguntei o que realmente importava naquele momento: a direção ou a velocidade. E então comecei a olhar para todas as coisas com curiosidade e sabedoria. Do tempo passado peguei o que me fazia melhor, o que acrescentava. Orgulhei-me das cicatrizes e colecionei histórias. Comecei a ter gratidão por todas as oportunidades impostas e a dar o meu melhor em todos os momentos. Então floresceu a pesquisadora e um recomeço. Muitas histórias ainda virão. E ainda estou aqui, seguindo em frente...

Quando você pensar em desistir reveja conceitos e estabeleça prioridades. Não fique adiando o que se quer. Momentos e pessoas difíceis vão existir sempre. Confie em Deus e siga em frente. Quando não sabemos o que fazer a gente aprende, porque a vontade nos capacita para o que queremos.

Aos que se propõem a estudar, recebam minhas palavras como incentivo à sua caminhada e como elemento novo para compor suas reflexões.

Tatiana Ferreira de Siqueira

RESUMO

No Brasil, o mercado de produtos à base de plantas vem demonstrando um aumento significativo principalmente devido ao alto custo e as sequelas advindas dos fármacos. Frutos da família *Myrtaceae* apresentam grande quantidade de compostos fenólicos e são amplamente utilizados na medicina popular. O presente estudo teve como objetivo analisar o potencial biológico da casca do fruto de *M. cauliflora*, investigar a ação hiperglicêmica do AEMc e fazer uma revisão sobre *Plinia L.* que é um gênero da família *Myrtaceae*. O gênero demonstrou riqueza de constituintes. Compostos fenólicos, flavonoides e testes antioxidantes (DPPH, %TAC, ABTS) foram realizados com os extratos de CMc, CHMc, AEMc e MMc. Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante, e o AEMc apresentou os melhores resultados, sendo o extrato de escolha para os testes *in vivo*. No teste de contorção os animais foram tratados com 200 mg/kg e 400 mg/kg de AEMc e obtiveram 68% e 73% de redução no número de contorções em comparação ao grupo controle negativo, não havendo diferença estatística nas doses ($p < 0,001$). Na primeira fase do teste da formalina os grupos de tratamento com AEMc obtiveram redução do estímulo doloroso em 70%, muito parecido com o controle positivo desta fase, que foi a morfina. Na segunda fase do teste, os camundongos que receberam o extrato orgânico de AEMc de *M. cauliflora* tiveram o tempo de lambidas reduzido em 82%, permanecendo acima do controle desta fase que foi a indometacina (70%) ($p < 0,001$). No teste antipirético os animais que receberam AEMc, em ambas as doses, saíram do estado febril após 30 minutos da administração, conseguiram retornar à temperatura basal a partir da primeira hora posterior à administração dos tratamentos e se mantiveram estáveis nas demais duas horas de experimento. Os tratamentos com AEMc obtiveram resultados similares ao controle positivo, dipirona. Não houve diferença na resposta antipirética entre as doses ($p < 0,001$). Os extrato AEMc, nas concentrações de 200 mg/kg e 400 mg/kg, apresentou redução da hiperglicemia em animais diabéticos induzidos por aloxana.

Palavras-chave: *Myrciaria cauliflora*. Casca. atividade biológica. Antioxidante. Antinociceptivo. *Plinia L.*

ABSTRACT

In Brazil, the market for herbal products has been showing a significant increase, mainly due to the high cost and sequelae of the drugs. Fruits of the family *Myrtaceae* present large amount of phenolic compounds and are widely used in folk medicine. The objective of this study was to analyze the biological potential of *M. cauliflora* fruit peel, to investigate the hyperglycemic action of AEMc and to review *Plinia L.*, a genus of the genus *Myrtaceae*. The genus showed richness of constituents. Phenolic compounds, flavonoids and antioxidant tests (DPPH,% TAC, ABTS) were performed with extracts of CMc, CHMc, AEMc and MMc. All the extracts presented antioxidant activity, and the AEMc presented the best results, being the extract of choice for the in vivo tests. In the writhing test the animals were treated with 200 mg / kg and 400 mg / kg AEMc and obtained 68% and 73% reduction in the number of writhes compared to the negative control group, with no statistical difference in the doses ($p < 0.001$). In the first phase of the formalin test the AEMc treatment groups obtained reduction of the pain stimulus by 70%, much like the positive control of this phase, which was morphine. In the second phase of the test, the mice receiving the organic extract of *M. cauliflora* AEMc had a reduced lime time of 82%, remaining above the control of this phase that was indomethacin (70%) ($p < 0.001$). In the antipyretic test the animals receiving AEMc at both doses left the febrile state after 30 minutes of administration, were able to return to basal temperature from the first hour after administration of the treatments and remained stable for the remaining two hours of the experiment. The treatments with AEMc obtained similar results to the positive control, dipyrone. There was no difference in antipyretic response between doses ($p < 0.001$). The AEMc extract, at concentrations of 200 mg / kg and 400 mg / kg, presented reduction of hyperglycemia in diabetic animals induced by alloxan.

Key words: *Myrciaria cauliflora*. Bark. biological activity. Antioxidant. Antinociceptive. *Plinia L.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1 - Shen Nung (A) e a tradução japonesa do <i>Shen-Nung Pen Tsao</i> (B).....	19
Figura 2 - Pedanios Dioscorides inspecionando plantas pelo Império (A) e seu livro <i>De Materia Medica</i> (B) com uma de suas ilustrações (C).....	20
Figura 3 - Paracelso (A) com suas obras: <i>Teoria das Assinaturas</i> (B) e <i>As Plantas Mágicas</i> traduzida para o português (C).....	21
Figura 4 - Índice geral da 1ª obra <i>Medicina Brasiliense</i> (A) e capa da 2ª obra (B) com posterior explicação sobre o maracujá (C).....	22
Figura 5 - Georg Ebers (A) e o Papiro de Ebers que se encontra atualmente na Universidade de Leipzig, Alemanha (B).....	23
Figura 6 - Reunião da OMS sobre execução de estratégias para a medicina tradicional (A) e o guia para governos e profissionais de saúde gerado dessa reunião (B).....	27
Figura 7 - Efeitos biológicos dos radicais livres.....	28
Figura 8 - Planta da família Myrtaceae: espécie <i>M. cauliflora</i> Mart (O. Berg).....	37
Figura 9 - Características botânicas da família Myrtaceae.....	38
Figura 10 - Plantas comestíveis do gênero <i>Myrciaria</i> : <i>Myrciaria cauliflora</i> (A); <i>Myrciaria Vexator</i> (B) e <i>Myrciaria dúbia</i> (C).....	39
Figura 11 - Plantas ornamentais gênero <i>Myrciaria</i> : <i>Eugenia sprengelii</i> D. C. (A e B); e <i>Leptospermum scoparium</i> J. R. Forst (C).....	39
Figura 12 - Jabuticaba nas indústrias de alimentos e cosméticos.....	40
Figura 13 - <i>Myrciaria cauliflora</i> (jabuticaba): frutificação no tronco (A), árvore (B) e frutos após colheita (C).....	42
Figura 14 - Árvore da <i>Myrciaria cauliflora</i> em época de colheita.....	42
Figura 15 - <i>Myrciaria cauliflora</i> . A. Flor, B. Fruto, C. Folha.....	43
Figura 16 - Cascas e sementes (resíduos) de jabuticaba.....	44

ARTIGO 1

Figura 1 - Atividade antioxidante pelo sequestro de radicais livres DPPH dos extratos orgânicos de <i>M. cauliflora</i> . DPPH - (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazil); CHMc – Extrato ciclohexânico; CMc – Extrato clorofórmico; AEMc – Extrato de Acetato de Etila; MMc – Extrato Metanólico. Valores expressos como média ± DP (p<0,001).....	87
Figura 2 - Analgesia por via inflamatória e opioide do extrato orgânico de <i>M. Cauliflora</i> no teste da formalina. A: Fase Neurológica: 0 a 5 minutos após injeção de	88

15µL de formalina 2,5% subplantar. B: Fase Inflamatória: 15 a 30 minutos após indução de dor. Veículo: 100µL de salina 0.9% (v.o); Indometacina: 20 mg/kg (v.o.); Morfina: 10 mg/kg (v.o); AEMc: Extrato de Acetato de Etila (v.o.); Grupos +Naloxona receberam 5mg/kg de Naloxona (i.p.) 15 minutos antes do início do teste. Valores expressos em média ± desvio padrão. *p<0,001 em comparação ao grupo.....

Figura 3 - Efeito do extrato de acetato de etila de *M. cauliflora* na febre induzida por levedura. Dia Anterior: temperatura basal dos camundongos adultos utilizados. 0h: temperatura imediatamente após administração do tratamento. Veículo: 100µL de salina 0.9% (v.o); Dipirona: 100 mg/kg (v.o); AEMc: Extrato de acetato de etila de *Myrciaria cauliflora* (v.o.)..... 89

Figura 4 - Atividade analgésica do extrato orgânico de *M. cauliflora* no modelo de nocicepção induzida pelo ácido acético em camundongos. Veículo: 100µL de salina 0.9% (v.o); Indometacina: 20 mg/kg (v.o.); EAEMc: Extrato de acetato de etila de *Myrciaria cauliflora* (v.o.)..... 90

ARTIGO 2

Figure 1 - Fasting blood glucose.....	109
Figure 2 - Insulin Tolerance Test (ITT).	109
Figure 3 - Body weight for 15 days of diabetes.....	110
Figure 4 - Total cholesterol, concentration during 15 days of diabetes.....	110
Figure 5 - Triglycerides, concentration during 15 days of diabetes.....	111
Figure 6 - Serum Creatinine, concentration during 15 days of diet.....	111
Figure 7 - Serum Urea, concentration during 15 days of diet.....	112
Figure 8 - Uric Acid, concentration during 15 days of diet.....	112

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1 - Composição nutricional (100g de jabuticaba).....	45
Tabela 2 - Compostos bioativos identificados na espécie <i>Myrciaria cauliflora</i>	47

ARTIGO 1

Tabela 1 - Triagem fitoquímica dos extratos orgânicos de <i>M. cauliflora</i>	84
Tabela 2 - Dosagem de Flavonóides e Compostos fenólicos dos extratos orgânicos de <i>M. cauliflora</i>	85
Tabela 3 - Dosagem da Capacidade Antioxidante Total (%TAC) e do DPPH (IC50) dos extratos de <i>M. cauliflora</i>	85
Tabela 4 - Capacidade Antioxidante (ABTS ^{•+}) dos extratos orgânicos de <i>M. cauliflora</i>	86

ARTIGO 2

Tabela 1- Phytochemical screening of organic extracts of <i>M. Cauliflora</i>	108
---	-----

ARTIGO 3

Tabela 1 - Espécie <i>Plinia</i> e seus respectivos sinônimos.....	133
Tabela 2 - Sumário de uso tradicional de espécies de <i>Plinia</i>	138
Tabela 3 - Nomes publicados de <i>Plinia</i> que estão alocados em outros gêneros da família Myrtaceae.....	146

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

INTRODUÇÃO

DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis.....
OMS	Organização mundial de saúde.....
Fundamentação Teórica	
a.C.	Antes de Cristo.....
d.C.	Depois de Cristo.....
spp	várias espécies do gênero.....
APS	Atenção Primária em Saúde.....
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância.....
SUS	Sistema Único de Saúde.....
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares.....
MS	Ministério da Saúde.....
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais.....
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária.....
ERO	Espécies reativas de oxigênio.....
ERN	Espécies reativas de nitrogênio.....
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica.....
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.....
SNC	Sistema nervoso central.....
TNF	Fator de necrose tumoral.....
IL10	Interleucina 10.....
PGE2	Prostaglandina E2.....
IL1	Interleucina 1.....
IL6	Interleucina 6.....
IL 1 α	Interleucina 1 α
IL 1 β	Interleucina 1 β
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida.....
AAP	Academia americana de pediatria.....
FDA	Food and drug administration.....
AIEs	Antiinflamatórios esteroidais.....
AINEs	Antiinflamatórios não esteroidais.....
DM	Diabetes mellitus.....

DA Doença aterosclerótica.....
VLDL Very low density lipoprotein.....
LDL Low density lipoprotein.....
PNPMF Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.....
IPP Isopentenil pirofosfato.....
TSCA Toxic Substance Control Act.....

ARTIGO 1

CDC Centro de controle e prevenção.....
TAC Capacidade antioxidante total.....

ARTIGO 2

LDL Low density lipoprotein.....
VLDL Very low density lipoprotein.....
HDL High density lipoprotein.....
GLUT2 Glucose Transporter 2.....
SGLT2 Transportador de glicose sódio dependente.....
NF-Kb factor nuclear kappa B.....
ICAM Molécula de adesão intercelular.....
AMPK 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase.....

ARTIGO 3

AVC Acidente vascular cerebral.....
IASP Associação internacional para o estudo da dor.....
NMR Núcleo magns da rafe.....
NRG Núcleos reticulares gigantocelulares.....
5HT Serotonina ou 5-hidroxitriptamina.....
SNC Sistema nervoso central.....

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo Geral.....	17
2.2	Objetivos Específicos.....	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	Plantas medicinais e Fitoterápicos - Histórico, Políticas Públicas e Potenciais Biológicos	18
3.2	Família <i>Myrtaceae</i>	36
3.3	Gênero <i>Myrciaria</i>	40
3.4	Espécie <i>Myrciaria cauliflora</i> (O. Berg).....	41
4	RESULTADOS	54
4.1	ARTIGO 1 - Efeito Antipirético, Analgésico e Antioxidante da casca do fruto de <i>Myrciaria cauliflora</i> (o. berg)	54
4.2	ARTIGO 2 - Antidiabetic effect of <i>Myrciaria cauliflora</i> (O. Berg) ethyl acetate extract in diabetic mice induced by Alloxan	91
4.3	ARTIGO 3 - <i>Plinia Plum. ex L. (Myrtaceae)</i> - Uma revisão de usos tradicionais, fitoquímica e farmacologia	115
5	CONCLUSÕES	147
	REFERÊNCIAS	148
	ANEXO A - Parecer da Comissão de ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE	164
	ANEXO B - Instruções aos autores para submissão de artigo ao periódico <i>Fitos</i>	165
	ANEXO C - Instruções aos autores para submissão de artigo ao periódico <i>Food and Chemical Toxicology</i>	172
	ANEXO D - Instruções aos autores para submissão de artigo ao periódico <i>Revista Brasileira de Fruticultura</i>	184

1 INTRODUÇÃO

Doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) apresentam etiologia múltipla e muitos fatores de risco respondendo anualmente por 70% (40 milhões) das mortes em todo o mundo, constituindo assim um dos maiores problemas de saúde pública (SBC, 2017; WHO, 2017). No Brasil, correspondem a 72% das causas de mortes ultrapassando as doenças infecciosas e parasitárias como principal causa de óbito no país, tendo os custos socioeconômicos estimados em US\$ 7 trilhões, durante 2011-2025 (MENDES et al, 2014; MALTA et al, 2015; NUNES, et al., 2017).

Os portadores de DCNT são particularmente expostos quanto a medicamentos devido ao uso prolongado e inadequado dos mesmos (MENDES et al., 2014). Em 2010, no Brasil, os medicamentos foram responsáveis por 27% do total de casos registrados por intoxicações e 16,6% dos casos de óbitos (NUNES et al., 2017). Atualmente muitos usuários do sistema público e privado de saúde têm buscado na Fitoterapia estratégias para tratar suas doenças, ocasionando um aumento no interesse de seu estudo e de sua prática (BATISTA et al., 2012). A OMS reconheceu que cerca de 80% da população global, recorrem a medicina tradicional como tratamento primário de saúde, destacando também a contribuição dos países em desenvolvimento, já que possuem 67% das espécies vegetais do mundo (OCDE-FAO, 2015).

Os estudos estão cada vez mais direcionados a desvendar mecanismos de ação e identificação dos fitocomplexos ou das substâncias ativas evidenciando seus potenciais medicinais e biotecnológicos para o tratamento de diversas patologias. Muitos destes compostos, tais como os flavonoides, entre outros, presentes em frutos de casca escura têm se pronunciado como agentes medicinais no tratamento de doenças e também como protótipos para síntese de drogas com perfil farmacológico (GORZALCZANY et al., 2011). Dietas ricas em compostos fenólicos apresentam baixa incidência de DCNT, possivelmente pela redução dos níveis plasmáticos de colesterol total e triglicerídeos (OLIVEIRA et al., 2006), com potencial para reduzir a formação de LDL oxidada (ENGIN et al., 2018; MEIRA et al., 2016), além de atividades antioxidante (MARTINS DE SÁ et al., 2014; WU et al., 2013), anti-inflamatória (REYNERTSON et al., 2006), analgésica (SANTOS et al., 2017) e antidiabética (DRAGANO et al., 2013; MEIRA et al., 2016).

No Brasil, o mercado de produtos à base de plantas medicinais vem demonstrando um aumento significativo. Uma dessas plantas que tem despertado o interesse devido ao seu potencial biológico é a *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg (jabuticaba) que pertence à família *Myrtaceae*, considerada uma das mais importantes plantas nativas do Brasil (FORTES et al., 2012; MARTINS DE SÁ et al., 2014; MEIRA et al., 2016). Suas espécies têm demonstrado potencial analgésico, anti-inflamatório, antipirético, antiulcerogênico, antidiabético, antioxidante dentre outros (CALLONI et al., 2015; CITADIN et al., 2005; FORTES et al., 2012; SANTOS et al., 2010; WU et al., 2012).

Porém, pouco tem sido reportado sobre possíveis atividades biológicas oriundas especialmente da casca de seus frutos. Estudos sobre os benefícios que a casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* possa trazer à saúde humana, ainda são extremamente necessários, haja vista que frutos de casca escura apresentam-se como importante fonte de compostos com alto potencial biológico, podendo contribuir efetivamente na busca de novos produtos bioativos na redução da dor e incapacidades (BORGES et al., 2014; LENQUISTE et al., 2012).

Com isso, o objetivo desse estudo foi investigar os potenciais biológicos de extratos da casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. Em modelo experimental de dislipidemia, dor e febre.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Ação de Flavonoides Obtidos da casca de fruto maduro de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg Sobre o Metabolismo em Modelo Experimental de Dislipidemia, Dor e Febre.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar as principais classes de compostos dos extratos orgânicos fracionados de *Myrciaria cauliflora*;
- Obter extratos orgânicos fracionados fração ciclohexânico CHMc, fração clorofórmio CMc, fração acetato de etila AEMc e fração metanol MMc da casca do fruto de *Myrciaria cauliflora*;
- Determinar o teor de compostos fenólicos e flavonoides totais dos extratos;
- Investigar a atividade antioxidante dos extratos orgânicos fracionados através de três metodologias *in vitro*;
- Investigar o potencial anti-diabético do extrato acetato de etila em modelo experimental (*Mus musculus*) na reversão desse distúrbio metabólico;
- Investigar o potencial antinociceptivo e antipirético em modelo experimental (*Mus musculus*) do extrato de acetato de etila da casca do fruto de *Myrciaria cauliflora*;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Plantas medicinais e Fitoterápicos - Histórico, Políticas Públicas e Potenciais Biológicos

O uso de plantas medicinais, tão antigo quanto o aparecimento do próprio homem, vêm contribuindo para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas, simbolizando em diversas ocasiões, o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos (BADKE et al., 2011). Na Bíblia, há registros sobre o uso de plantas curativas como mirra, benjoim e aloés (GADELHA et al., 2013). Em 5000 a. C. os sumérios faziam uso da papoula do ópio com fins ritualístico-religiosos, como uma forma de obter contato com os deuses. As plantas também eram utilizadas para suportar as adversidades ambientais, como o hábito de mascar folhas de coca e tabaco para suportar a fome e a fadiga (DIEHL et al., 2011).

O registro dos primeiros fitoterápicos ocorreu na China em 2700 a. C. pelo imperador Shen Nung, onde catalogou 365 ervas medicinais e venenos num compêndio denominado *Pen Tsao*, considerado o mais antigo de todos (**Figura 1**) (VALE, 2002). Outro compêndio foi escrito em placas de argila com escrita cuneiforme na Mesopotâmia em 2600 a. C. e relatava o uso de plantas como medicamentos. Dentre as substâncias usadas na época, destacam-se a mirra, o cedro, a papoula e o alcaçuz que eram utilizados para o tratamento da indisposição e mal estar advindos de tosses e resfriados até infecções parasitárias e inflamações e o óleo de gergelim como antisséptico em curativos cirúrgicos (RIBEIRO e GUIMARÃES, 2013).

O uso de plantas medicinais como medicamentos foi a maior alternativa terapêutica na busca da melhoria da qualidade de vida do homem. O primeiro registro médico foi encontrado em 2100 a.C. em Nippur, atual Iraque, onde consistia na primeira lista de medicamentos, descrevendo uma coleção de trinta diferentes fórmulas terapêuticas, encontrando-se atualmente no Museu da Pensilvânia. A papoula (*Papaver sonniferum*) é uma das plantas mencionadas por causa de seu cultivo na época pelos sumérios e mais tarde, pelos assírios e babilônios. Os egípcios iniciaram um importante comércio do ópio a partir de plantações de papoula ao redor de Tebas por volta do século XIII a.C. (MANICA, 2018). O ópio e a *Cannabis* eram bastante utilizados para a produção de analgésicos e como agente

antiespasmódico. Em 500 a.C. o povo Cita, queimavam o haxixe, que é um derivado de maior concentração da planta, durante os rituais religiosos de luto (DIEHL et al, 2011).

Figura 1. Shen Nung (A) e a tradução japonesa do *Shen-Nung Pen Tsao* (B).



Fonte: USA (2017).

Como todos os povos antigos, os gregos também se utilizavam de plantas com propriedades curativas. No entanto, procuravam meios racionais de explicar e utilizar tais propriedades, dando início a Era da Razão com Hipócrates (460 a.C.). Essa época é marcada por esclarecimentos sobre os assuntos, desmitificando a crença de que as doenças e sua cura eram responsabilidade dos deuses. Descreveu no “*Corpus Hipocráticus*” mais de cento e trinta tipos de plantas com propriedades medicinais, sendo sua obra considerada a mais clara e completa da antiguidade grega sobre medicina, pois além de reconhecer as propriedades das plantas medicinais fixou as bases da ciência médica sendo posteriormente chamado “pai da medicina” (CAIRUS e RIBEIRO, 2005; HERBARIUM, 2011)

Caio Plínio Segundo, conhecido como Plínio O Velho (79 d.C.), escreveu um Tratado de História Natural composto por 37 volumes e contendo passagens originais sobre o destino do homem na natureza, abordando aspectos da geografia, da zoologia e da botânica na Antiguidade (JÚNIOR e SOUZA, 2014). Quatro anos mais tarde, o botânico grego Pedanio Dioscorides desenvolveu um método para classificar os fármacos, testando e observando seus efeitos clinicamente (**Figura 2**). A partir desse método escreveu o tratado *De matéria medica* que se encontra dividido em 5 livros, apresentando cerca de 600 plantas medicinais, 35 fármacos de origem animal e 90 de origem mineral provenientes da Ásia, Egito e Itália. Foi o primeiro a registrar a planta *Belladonna* como anestésico. Seu trabalho permaneceu como fonte de referência para a medicina curativa por mais de dezoito séculos. Apenas a Bíblia foi mais

lida durante a idade média do que Dioscorides, sendo considerado o Fundador da Farmacologia. (HERBARIUM, 2011; SOUZA et al., 2012).

Quando surgiu a Idade das Trevas na Europa, entre 400-1200 d.C., a Igreja passou a controlar o conhecimento científico, desencadeando um longo período de estagnação para o desenvolvimento da medicina e os estudos das plantas medicinais. A medicina greco-islâmica foi descrita na enciclopédia *Canon Medicinae*. Essa obra foi repassada ao Ocidente tornando-se base fundamental do tratamento médico no final da Idade Média. A pesquisa científica e os ensinamentos médicos só foram restabelecidos após seis séculos. Apenas os monastérios conseguiram manter preservados os conhecimentos médico e ervanário, por meio de cópias dos manuscritos existentes (HARAGUCHI & CARVALHO, 2010; HERBARIUM; 2011). Durante os períodos seguintes, os remédios surgiam da simples observação. Os médicos gregos não possuíam conhecimento sobre os efeitos e a forma de atuação das plantas medicinais, mas acompanhavam atentamente as reações e a evolução no organismo dos indivíduos (DIEHL et al., 2011).

Figura 2. Pedânio Dioscórides inspecionando plantas pelo Império (A) e seu livro *De Materia Medica* (B) com uma de suas ilustrações (C).



Fonte: MBG RARE BOOKS (2018).

Nas Américas, os registros arqueológicos sobre o uso das plantas é bastante antigo, demonstrando que os ameríndios já usavam algumas espécies há mais de dez mil anos. Exemplos dessas plantas é o abacate (*Persea americana* Mill.), a batata doce (*Ipomoea batatas* (L) Lam.), o mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil), o cacau (*Theobroma cacao* L.) e o milho (*Zea Mays* L.). Em 1492, a maior parte das informações disponíveis sobre o uso de

plantas nativas durante o período de colonização do Brasil foi compilada pelos padres jesuítas, que foram os primeiros a fazerem contato com os ameríndios (SIMÕES et al., 2017).

O médico e alquimista Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus Von Hohenheim, conhecido como Paracelso, foi o botânico mais importante da Antiguidade. Escreveu vários trabalhos sobre plantas com destaque para “*Teoria das Assinaturas*”, baseada no provérbio latim *similia similibus curantur* “semelhante cura semelhante”, acreditando que a forma, a cor, o sabor e odor das plantas estavam relacionados com suas propriedades terapêuticas; *De historia plantarum*, onde descreveu espécies vegetais relacionando suas qualidades; *De causis plantarum* onde relata sobre as razões do crescimento vegetal e “Tratado de Odores” que continha informações sobre preparação e uso de plantas. Afirmava que todas as substâncias eram venenosas, onde a diferença entre remédio e veneno estava na dose administrada, mencionando pela primeira vez na história a relação dose/resposta (**Figura 3**) (ARAUJO et al., 2012; SHIBAMOTO e BJELDANES, 2014).

Figura 3. Paracelso (A) com suas obras: *Teoria das Assinaturas* (B) e *As Plantas Mágicas* traduzida para o português (C).



Fonte: PEDROSA (2016).

Em 1648 o Nordeste do Brasil foi invadido pelos Holandeses. Guilherme Piso e Georg Marcgraf, botânicos da comitiva de Maurício de Nassau que esteve à frente no nordeste do Brasil da Companhia das Índias Ocidentais, publicaram vários livros, dentre eles *História Natural do Brasil*, descrevendo o uso de diversas plantas medicinais indígenas, durante o período em que viveram na região (**Figura 4**). No entanto, até o início do século XIX, o Brasil vivia sob um rígido controle da coroa portuguesa, mantendo em segredo dos outros países os recursos naturais e as potencialidades de sua exploração (KURY e SÁ, 2009; MEDEIROS,

2009). A Farmacopeia Geral para o Reino e Domínios de Portugal, trazia além dos produtos considerados símplices, 30 produtos de origem mineral, 11 produtos de origem animal e aproximadamente, 400 espécies vegetais (GALINDO e LODEWIJK, 2001; SIMÕES et al., 2017).

Figura 4. Índice geral da 1ª obra *Medicina Brasiliense* (A) e capa da 2ª obra (B) com posterior explicação sobre o maracujá (C).



Fonte: MBG RARE BOOKS (2018).

O isolamento da morfina pelo farmacêutico Friedrich Wilhelm Adam Serturmer em 1803 marcou o início do processo de extração de princípios ativos de plantas. Depois disso, outras substâncias também foram isoladas sendo utilizadas em substituição aos extratos vegetais, tais como a quinina e a quinidina obtidas de diversas espécies do gênero *Cinchona spp* em 1819 (TUROLLA & NASCIMENTO, 2006). Apenas a partir de 1808 os estrangeiros puderam entrar no Brasil e vários naturalistas europeus registraram sobre os recursos naturais, costumes, aspectos econômicos e ecológicos, mas também contribuíram para o conhecimento da biodiversidade vegetal do Brasil com centenas de novas espécies descobertos e diversos novos gêneros descritos, representando uma importante fonte primária de informação sobre o uso das plantas nativas (BRANDÃO, 2008).

Décadas mais tarde, o egiptólogo e monge alemão Georg Ebers teve acesso a um longo papiro datado aproximadamente do nono ano do reinado de Amenophis I, correspondendo a um dos mais antigos e importantes Tratados médicos de história. Apresentava 877 prescrições sistematizadas e 700 drogas, contendo também registros de aspectos farmacológicos como a realização de remédios e formas de emprego de substâncias através das vias retal como supositórios e via oral para mascar. Continha a maior lista de

documentação de tumores, receitas para diabetes e a utilização de lama ou pão mofado sobre as feridas para impedir infecções (ALMEIDA, 2011), além de relatos de remédios e encantamentos realizados pelos deuses para serem usados apenas entre as divindades (**Figura 5**) (DUARTE, 2006).

Figura 5. Georg Ebers (A) e o Papiro de Ebers que se encontra atualmente na Universidade de Leipzig, Alemanha (B).



Fonte: Egiptologia.org (2014).

Em 1900 algumas plantas passaram a fazer parte de farmacopeias alopáticas e homeopáticas com a investigação posterior de suas bases terapêuticas, iniciando assim o isolamento dos princípios ativos. Os químicos aprenderam a isolar as substâncias ativas das plantas sintetizando posteriormente esses produtos químicos em laboratório (SOUZA e FELFILI, 2006). No entanto, na década de 60, com o início da industrialização e urbanização os medicamentos sintéticos e a falta de comprovação científica das plantas tornou o conhecimento tradicional sinônimo de atraso tecnológico e charlatanismo (HARAGUCHI & CARVALHO, 2010).

Dez anos mais tarde ressurgiu o interesse pela pesquisa dessas substâncias como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos, tornando a Fitoterapia difundida como base de medicamentos padronizados através do isolamento de compostos vegetais, contribuindo para o desenvolvimento da indústria química e farmacêutica (HEBARIUM, 2011; LOPES & NASCIMENTO, 2017). A Organização Mundial de Saúde (OMS) cria o Programa de Medicina Tradicional que recomenda aos estados-membros o desenvolvimento de políticas públicas para facilitar a integração da medicina tradicional e da medicina complementar alternativa nos sistemas nacionais de atenção à saúde. Na mesma época no Brasil foi criado o “Programa de Medicina Tradicional”, a fim de impulsionar o

estabelecimento de políticas públicas que contemplassem a Medicina Tradicional, Medicina Complementar e a Alternativa (SOUZA e TESSER, 2015). Em 1978, reconheceu a Fitoterapia e seus efeitos benéficos para a saúde em sua Conferência Internacional sobre cuidados primários de saúde, conhecida como “Conferência de Alma-Ata”, enfatizando a Atenção Primária em Saúde e a necessidade de atenção especial aos países em desenvolvimento (WHO, 1978).

Em 1985, 80% da população mundial, usavam remédios à base de plantas como terapia primária no cuidado com a saúde, enfatizando também a participação dos países em desenvolvimento nesse processo, já que os mesmos possuíam naquela época 67% das espécies vegetais do mundo (GONÇALVES et al., 2005; BRASIL, 2015). Dos países em desenvolvimento, o Brasil apresenta um complexo conjunto de ecossistemas e uma significativa diversificação da fauna e flora que fazem com que o país possua a maior riqueza biológica do mundo, abrigando entre 10 a 20% das aproximadamente 1,5 milhão de espécies já catalogadas, sendo cerca de 55 mil espécies de plantas com sementes (PESSINI, 2011). Realizada em 1986, a 8ª Conferência Nacional de Saúde (**Figura 7**) foi um marco na saúde pública brasileira que, juntamente com a Reforma Sanitária, impulsionou a implantação da Fitoterapia e de outras práticas integrativas e complementares no Sistema Único de Saúde. Apresentou entre suas recomendações a introdução de práticas alternativas de assistência à saúde no âmbito dos serviços de saúde, possibilitando ao usuário o acesso democrático de escolher a terapêutica preferida (SUS) (BRASIL, 1986).

Em 1991, a OMS reforçou a contribuição da medicina tradicional na assistência social, especialmente para populações com pouco acesso aos sistemas de saúde, solicitando aos estados-membros que intensificassem a cooperação entre praticantes da medicina tradicional e da assistência sanitária, principalmente no emprego de remédios tradicionais de eficácia científica comprovada, a fim de reduzir os gastos com medicamentos e sugerindo também que os derivados de plantas poderiam conduzir ao descobrimento de novas substâncias terapêuticas (BRASIL, 2016).

A Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde em 1995 instituiu e normatizou o registro de produtos fitoterápicos. Um ano depois, a 10ª Conferência Nacional de Saúde recomendou a incorporação da fitoterapia, acupuntura e homeopatia no SUS, contemplando as terapias alternativas e práticas populares. Recomendou também que o gestor federal da saúde incentivasse a fitoterapia na assistência farmacêutica pública, com ampla

participação popular para a elaboração das normas para sua utilização (BRASIL, 2006). Com isso, medidas administrativas foram tomadas pelo Ministério da Saúde para a execução das diretrizes estabelecidas pelas conferências nacionais e políticas do setor e os fóruns para discussão da proposta de política nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos em 2001, o Seminário Nacional de Plantas Medicinais, Fitoterápicos e Assistência Farmacêutica, a 1ª Conferência Nacional de Assistência Farmacêutica e a 12ª Conferência Nacional de Saúde em 2003, trouxeram subsídios para a normatização das ações governamentais na área de saúde para plantas medicinais e fitoterápicos (BRASIL, 2008).

A Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos em 2005, por meio do Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos construiu em parceria com outros ministérios e com a colaboração de consultores e pesquisadores, uma lista com espécies vegetais considerando as já utilizadas nos serviços de saúde estaduais e municipais, o conhecimento tradicional e popular e os estudos químicos e farmacológicos disponíveis. As espécies vegetais foram pré-selecionadas por regiões que referenciavam seu uso, por indicações de uso e de acordo com as categorias do Código Internacional de Doenças (CID-10). Inicialmente o trabalho foi realizado por técnicos da Anvisa e do Ministério da Saúde (MS), profissionais de serviços e pesquisadores da área de plantas medicinais e fitoterápicos, vinculados à área da saúde, representando as diversas regiões brasileiras. A partir desta pré-seleção foram excluídas espécies exóticas e as que constam da lista de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção (BRASIL, 2016).

A Portaria Ministerial nº 971, de 03/05/2006 estabeleceu a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS, em que foram contempladas diretrizes, ações e responsabilidades, no âmbito das esferas governamentais federal, estadual e municipal para oferta de serviços e produtos da homeopatia, plantas medicinais e fitoterapia, medicina tradicional chinesa/acupuntura, assim como para observatórios de saúde. Dentro de suas ações está a elaboração da Relação Nacional de Plantas Medicinais (RENAPLAN) e da Relação Nacional de Fitoterápicos (RENAFITO) ambos com o objetivo de proceder a um diagnóstico situacional das plantas e fitoterápicos usados em programas estaduais e municipais de saúde; elaborar critérios para inclusão e exclusão de plantas e fitoterápicos baseados nos conceitos de segurança e eficácia; diagnosticar as necessidades epidemiológicas da população brasileira e elaborar monografias de plantas medicinais dessas espécies (BRASIL, 2006).

Nesse mesmo ano, foi aprovada pelo Decreto Presidencial nº5813, de 22/06/2006 a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, onde contempla toda a cadeia produtiva de plantas medicinais e produtos fitoterápicos, elaborando e revisando periodicamente a relação nacional de plantas medicinais com potencial de utilização no SUS e elaborando e atualizando periodicamente as monografias de plantas medicinais, priorizando as espécies medicinais nativas. O objetivo é garantir a população brasileira, através de uma parceria entre governo e sociedade, o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006b; BRASIL, 2009).

Apesar de todo o avanço, apenas dois fitoterápicos eram oferecidos no SUS, sendo produzidos com espécies de *Mikania glomerata* e *Maytenus ilicifolia*. Em fevereiro de 2009, o Ministério da Saúde disponibilizou uma lista com 71 plantas medicinais contemplando a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), visando o desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos e uso no SUS (BRASIL, 2009). Um ano depois, o Ministério da Saúde (MS) instituiu a “Farmácia Viva”, tendo como atribuições realizar todas as etapas desde o cultivo, coleta, processamento e armazenamento de plantas medicinais, até a manipulação e dispersão de preparações magistrais e produtos fitoterápicos (BRASIL, 2010), a rede pública passou a contar com mais seis produtos fitoterápicos obtidos das espécies *Cynara scolymus*, *Schinus terebinthifolius*, *Rhammus purshiana*, *Harpagophytum procumbens*, *Glycine max* e *Uncaria tomentosa* e no mesmo ano. Nesse mesmo ano, a ANVISA publicou a norma RDC 10/2010 com o objetivo de regulamentar a produção e uso de espécies vegetais medicinais. Para cada espécie foram padronizadas indicações terapêuticas, formas de uso, quantidade a ser ingerida e os cuidados e as restrições a serem observados no seu uso, conforme indicações de uso tradicional (BRASIL, 2013; RENAME, 2010).

As ações para execução dessas políticas nacionais buscaram ampliar a oferta de serviços e produtos relacionados à fitoterapia no SUS de forma segura e racional, por profissionais de saúde qualificados, considerando o sujeito em sua e inserção sociocultural, promovendo assim a integralidade da atenção. Como forma de ampliar as opções terapêuticas no SUS, estados e municípios passaram a ofertar serviços de fitoterapia em sua Rede, aprovando políticas e legislações específicas, além da instalação de hortos e laboratórios de produção com a finalidade de disponibilizar plantas medicinais e seus derivados

prioritariamente na Atenção Básica, além do estímulo a novas publicações (BRASIL, 2012). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável também pela regulamentação das plantas medicinais e fitoterápicos. Esse órgão federal gerencia desde o registro até a intervenção na produção, distribuição, comercialização, publicidade, consumo e descarte, a fim de garantir medicamentos seguros, com eficácia e qualidade comprovada. (CARVALHO et al., 2007).

A OMS conduziu um levantamento global sobre o controle regulatório dos medicamentos fitoterápicos, onde relatou abordagens de 141 países. Os desafios mais importantes estão relacionados à avaliação da segurança e eficácia e o monitoramento do controle de qualidade e segurança (BARNES, 2012). Publicou, em dezembro de 2013, “A Estratégia da OMS Sobre Medicina Tradicional 2014-2023” (**Figura 6**) com dois objetivos principais: prestar apoio aos Estados Membros para que aproveitem a possível contribuição da MTC a saúde, bem-estar e a atenção centrada nas pessoas, e promover a utilização segura e eficaz da MTC mediante a regulamentação de produtos, práticas e profissionais. com a finalidade de ajudar às autoridades sanitárias a encontrar soluções que propiciem uma visão mais ampla a respeito da melhora da saúde e autonomia dos pacientes (WHO, 2013).

Figura 6. Reunião da OMS sobre execução de estratégias para a medicina tradicional (A) e o guia para governos e profissionais de saúde gerado dessa reunião (B).



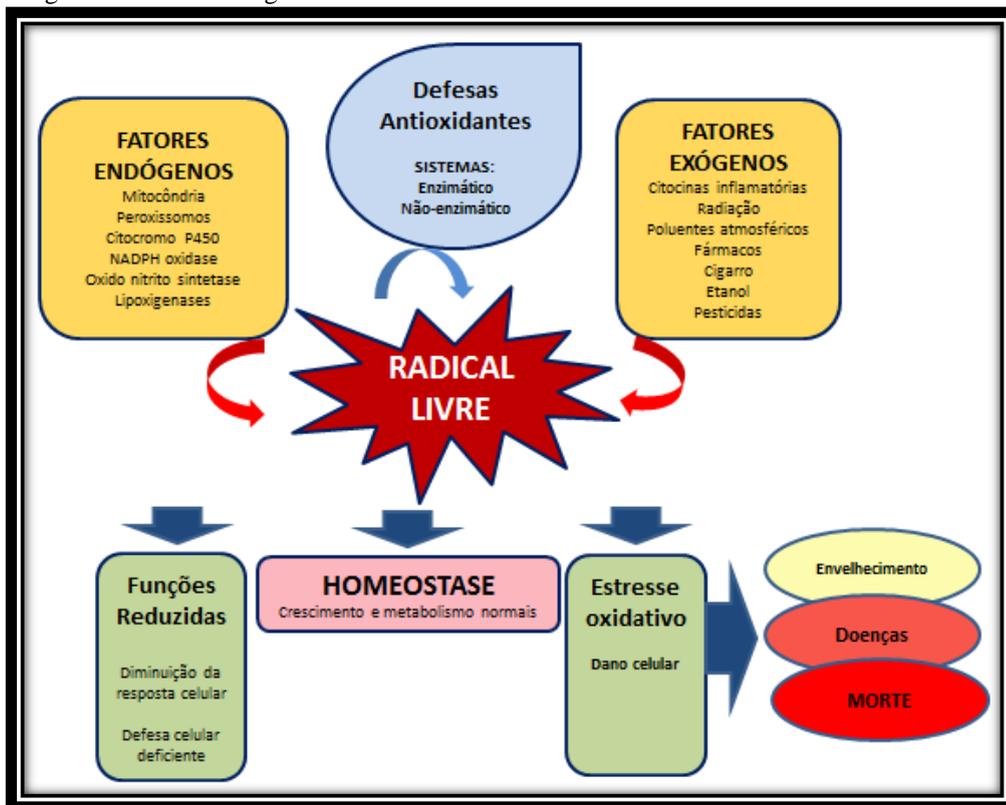
Fonte: WHO (2013).

Contudo, as informações técnicas ainda são insuficientes, revelando uma necessidade crescente de atualizações constantes com informações científicas sobre os potenciais biológicos, qualidade, segurança e eficácia desses produtos. Agregado a isso, existe o uso crescente de plantas medicinais e fitoterápicos pelo público em geral, para substituir ou complementar a medicação convencional com objetivo de minimizar os efeitos colaterais e

toxicológicos das mesmas, principalmente em patologias que possuem altas taxas de mortalidade como nas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), onde o estresse oxidativo, dor, inflamação e níveis elevados de glicose, de colesterol e de triglicerídios, agravam e dificultam o quadro de melhora do indivíduo (ARAÚJO et al., 2015; BARNES et al., 2012; TAMURA & NASCIMENTO, 2017).

O estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, ocorrendo a geração excessiva de radicais livres ou ainda, a diminuição da velocidade de sua remoção, ocasionando a oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, com consequente danos em células e tecidos. A cronicidade desse processo possui relevantes implicações sobre o processo etiológico de doenças crônicas não transmissíveis, entre elas dislipidemia, diabetes, obesidade, transtornos neurodegenerativos e câncer (**Figura 7**) (BARBOSA et al., 2010; CAROCHO & FERREIRA, 2013; KASOTE et al., 2015).

Figura 7: Efeitos biológicos dos radicais livres.



Fonte: Siqueira, T. F. (2018). A produção de radicais livres ocorre do metabolismo normal e de fatores endógenos, podendo ser estimulada também por fatores exógenos. Em concentrações fisiológicas são necessárias para a função normal das células, enquanto que em casos de excesso, conduz ao estresse oxidativo, contribuindo para o envelhecimento e o aparecimento de doenças. NADPH - nicotinamida adenina dinucleotido fosfato.

Na busca de uma proteção eficiente para diminuir os danos oxidativos e manter a homeostase celular, os tecidos dispõem de um sistema antioxidante integrado. O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres, impedindo a formação ou a ação dos mesmos ou ainda, favorecendo o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas (MA, 2010; RAHMAN et al., 2012; VUNDRU et al., 2015).

Essas defesas podem ser divididas em antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos. O sistema de defesa enzimático inclui as enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GPx), que agem no início das reações em cadeia através de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres. O sistema de defesa não-enzimático inclui, os compostos antioxidantes de origem dietética, destacando-se as vitaminas, os minerais e os compostos fenólicos (MA, 2010; RAHMAN et al., 2012; COSTA, 2015; VUNDRU et al., 2015).

Os compostos fenólicos, dentre eles os flavonoides, têm se pronunciado como agentes medicinais no tratamento e prevenção de doenças, sendo capazes de agir como antioxidantes, interagindo com radicais livres como agentes de defesa, e sendo responsáveis também por diversas ações biológicas como atividade antioxidante, anti-inflamatória, antinociceptiva, antidiabética, hipolipêmica, dentre outras (ESPINOSA et al., 2015; FORTES et al., 2012; SANTOS, VEGGI e MEIRELES, 2010).

Nos últimos anos, diversas pesquisas têm avançado na investigação de potenciais biológicos de diversas espécies vegetais, chamando atenção para plantas que possuem frutos de cor escura pela possibilidade de grandes quantidades de compostos fenólicos (AJILA et al., 2007; VIEIRA et al., 2009), responsáveis farmacologicamente por diversas atividades biológicas e utilizados tanto na prevenção quanto no tratamento de diversas patologias (FORTES et al., 2012; SANTOS et al., 2010; WU et al., 2012).

Estudos realizados para determinar os compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante das frações da Jabuticaba verificaram que a casca de seu fruto possui maior concentração de compostos fenólicos, assim como a maior atividade antioxidante em comparação a outras partes da planta. A alta atividade antioxidante da casca da jabuticaba pode ser explicada pela elevada quantidade de compostos fenólicos e taninos encontrados nessa parte do fruto (ABE et al., 2012; LIMA, 2008; REYNERTSON et al., 2008). A

atividade antioxidante representa papel importante na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, principalmente as Doenças Crônicas Não-Transmissíveis (DCNT), dentre elas as Dislipidemias que estão entre os fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose, sendo responsáveis anualmente por cerca de 38 milhões de mortes. Em países ocidentais, é responsável por aproximadamente 50% das mortes. No Brasil, cerca de 300.000 pessoas por ano são vítimas dessa patologia, se comportando na maioria das vezes de maneira irreversível e com incapacidades funcionais (PIZZIOLO et al., 2011; RAUBER et al., 2018).

Dislipidemias são caracterizadas por alterações nos níveis de lipídios circulantes. As concentrações aumentadas de colesterol total (CT) e lipoproteína de baixa densidade (LDL) e diminuídas de lipoproteína de alta densidade (HDL) estão associadas a lesões avançadas de aterosclerose e maior risco de manifestações clínicas dessa doença, que se caracteriza pelo depósito de lipídios na camada íntima das artérias causando restrição ao fluxo sanguíneo (MALTA et al., 2017; SPOSITO et al., 2007). O diagnóstico de dislipidemia baseia-se na dosagem dos lipídios séricos: colesterol total, HDL-c e triglicerídeos. A dosagem direta do LDL-c não é necessária, podendo o cálculo ser feito por meio da fórmula de Friedewald [$LDL-c = (CT - HDL-c) - (TG/5)$], quando o valor dos triglicerídeos for inferior a 400 mg/dL. Para os casos em que o nível dos triglicerídeos for superior a 400 mg/dL, utiliza-se como critério o colesterol não HDL [$não\ HDL-c = CT - HDL-c$], cujo alvo é 30 mg/dL acima do alvo de LDL-c (isto é, para pacientes cujo LDL-c alvo for 100 mg/dL, o alvo de não HDL-c será 130 mg/dL) (SBC, 2017).

As alterações no metabolismo das lipoproteínas circulantes são causadas, além dos fatores genéticos, pelas mudanças nos hábitos alimentares e na adoção de um estilo de vida sedentário e com estresse, observado a partir da segunda metade do século XX. A prevalência de morbidades adquiridas como o diabetes mellitus, o hipotireoidismo, as doenças renais, a obesidade, o alcoolismo e o tabagismo, além do uso de medicamentos, como diuréticos, betabloqueadores, corticóides, anabolizantes e a terapia de reposição hormonal contribuem de modo significativo para o aparecimento dessas desordens (BATISTA e RIBEIRO, 2011). O dano oxidativo é por vezes equilibrado por antioxidantes endógenos, mas a proteção fornecida por alimentos com características bioativas é fundamental (LENQUISTE et al., 2012; LEITE-LEGATTI et al., 2012; SANTOS et al., 2012; WU et al., 2013). Compostos bioativos de plantas como polifenóis têm mostrado potencial para reverter ou prevenir a obesidade e

distúrbios metabólicos relacionados como diabetes mellitus e doença cardiovascular (BURTON-FREEMAN, SANDHU e EDIRISINGHE, 2016).

Oliveira et al., (2002) administraram compostos fenólicos em ratos com hipercolesterolemia induzida e verificaram uma diminuição do colesterol total e manutenção de níveis adequados de HDL-c e LDL-c, elucidando a importância dessas substâncias como agentes preventivos. Extratos de cascas de frutos de goiaba (*Psidium guajava*) foram adicionados à dieta de ratos com hiperglicemia induzida, sendo observada redução dos níveis de TG a valores próximos aos promovidos pela tolbutamida®. Já os níveis de redução do LDL foram significativos, assim como os valores correspondentes ao aumento da HDL (RAI et al., 2010). Em outro estudo, os autores verificaram que os flavonoides reagiram com os radicais livres evitando a oxidação do LDL-c e prevenindo o risco de aterosclerose e de adesão plaquetária relacionada à trombose (OLIVEIRA et al., (2010).

Plantas com atividade antioxidante comprovada podem ser direcionadas para estudos farmacológicos e clínicos para hiperlipidemia, hipercolesterolemia e aterosclerose, tornando-se alvos potenciais para desenvolvimento de novas drogas ou como terapia adjuvante no tratamento e prevenção de doenças (PIZZIOLO et al., 2010). Outros estudos demonstram ainda a diminuição da resistência à insulina, evitando a hiperinsulinemia, aumento da concentração de HDL-c (LENQUISTE et al., 2012; DRAGANO et al., 2013) além de diminuição da esteatose hepática e da peroxidação lipídica no fígado (FONSECA et al., 2014). Boari-Lima et al (2009) analisando a extração de compostos fenólicos do fruto de *Myrciaria cauliflora*, verificaram que as cascas apresentaram maior quantidade desses compostos, apresentando também maior capacidade antioxidante, sendo esses achados corroborando com os estudos de Teixeira et al (2010); Fortes et al (2012); Borges et al (2014).

A inflamação consiste em uma resposta frente a um estímulo lesivo. Compreende respostas adaptativas locais e sistêmicas que resultam no recrutamento de células fagocitárias e na remoção de material endógeno e exógeno (COTRAN et al., 2000; EYSAYED et al., 2014). O processo tem início com a formação de ácido aracdônico (AA) por uma enzima denominada de fosfolipase A2 (PLA2), dando origem aos mediadores inflamatórios por 2 vias: I) Via das cicloxigenases (COX), produzindo prostaglandinas (PGs), prostaciclina (PIs) e tromboxanos (TXs) e II) Via das lipoxigenases (LOX), derivando daí a formação de leucotrienos (LTs). PGs, PIs, TXs e LTs que são os principais mediadores responsáveis pela

resposta inflamatória (SPINOSA et al., 2006; GILMAN et al., 2006; KUMAWAT et al., 2012).

A resposta inflamatória é essencial para a sobrevivência, tentando proteger o organismo de estímulos nocivos, e em algumas situações e doenças, essa resposta pode tornar-se excessiva com sérios efeitos adversos. Os mediadores dessa resposta são responsáveis pela geração do processo inflamatório e pela manutenção da homeostase no organismo. Há duas isoformas de COX: a COX I, relacionada aos processos fisiológicos e a COX II produzida pelos tecidos em resposta a uma lesão, iniciando o processo inflamatório. Ambas são expressas pelos tecidos normais e pelos tecidos lesados (COTRAN et al., 2000; SPINOSA et al., 2006). Os fármacos podem apresentar afinidade por uma das isoformas de COX, sendo classificados segundo a sua seletividade. Podem ser COX não seletivo, os que apresentam afinidade tanto pra a COX I como para a COX II, e os seletivos que apresentam maior grau de afinidade para a COX II (SPINOSA et al., 2006).

Os anti-inflamatórios estão entre os agentes terapêuticos mais utilizados no mundo. Existem diversos AINES no mercado, mas nenhum considerado ideal para controlar ou modificar os sinais e sintomas da inflamação (HALDAR et al., 2012). Inicialmente, acreditava-se que os efeitos colaterais advindos do uso de anti-inflamatórios, estariam relacionados apenas aos COX não seletivo, e que a prescrição de fármacos seletivos para a COX II era totalmente segura por não interferir nos processos fisiológicos não inflamatórios. No entanto, a partir do conhecimento da expressão da COX II em tecidos saudáveis, verificou-se que essa classe de anti-inflamatórios também produziria efeitos colaterais graves, embora em menor grau (GADDI et al., 2004; HILÁRIO et al., 2006; RIBEIRO et al., 2006). O tratamento medicamentoso tem o objetivo de aliviar a dor e utiliza anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) (RIBEIRO et al., 2006; SAWYNOK, 2003), estando entre os agentes anti-inflamatórios mais comercializados no mundo (HILÁRIO et al., 2006; RIBEIRO et al., 2006).

Na tentativa de diminuir esses efeitos colaterais que, na população varia conforme a quantidade e dose utilizadas faz-se necessário a busca por substâncias naturais com potencial anti-inflamatório, devido a eficácia, aceitabilidade e quase inexistência de efeitos colaterais (HALDAR et al., 2012). Moléculas de origem vegetal apresentam importantes atividades anti-inflamatórias e muitas de suas ações estão relacionadas à habilidade de inibir a síntese ou ação de citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão, vias do ácido aracdônico e fatores de transcrição (WERZ, 2007). Os extratos possuem atividade anti-inflamatória eficaz,

principalmente devido a quantidade de moléculas bioativas que agem sinergicamente ou antagonicamente, através de diferentes mecanismos de ação (CALIXTO et al., 2004; BORGES et al., 2014).

Ferreira et al (2010), em seu estudo com extrato de *Campomanesia adamantium*, planta da família *Myrtaceae*, comprovou redução significativa no processo inflamatório em um modelo de dor induzido por carragenina e propriedades antinociceptivas relacionadas com a modulação da liberação de mediadores inflamatórios envolvidos na nocicepção, como o fator de necrose tumoral (TNF) e a interleucina-10 (IL-10). Compostos isolados dos frutos de *Myrciaria cauliflora* diminuíram a produção de interleucina IL-8 em células epiteliais do pulmão, antes e após o tratamento com fumaça de cigarro (REYNERTSON et al., 2006), sugerindo também uma ação anti-inflamatória importante desses compostos para doenças crônicas, como enfisema pulmonar e doença pulmonar obstrutiva crônica (WU et al., 2013).

A dor, também gerada no processo inflamatório, pode ser definida como uma percepção desagradável, de uma sensação nociceptiva que resulta da ativação de neurônios sensoriais primários específicos que transmitem a informação nociceptiva para o cordão espinhal, sendo retransmitido até córtex (VERRI et al., 2006). Em 1994, a Associação Internacional para Estudo da Dor (IASP) definiu a dor como uma sensação desconfortante que pode estar associada a uma experiência emocional ou um dano tecidual, que possui uma conotação subjetiva (FEIN, 2014; VERRI et al., 2006).

Há vários tipos de dores classificados quanto à estimulação dolorosa e a duração da resposta. Quando o critério é estimulação dolorosa, têm-se as dores: nociceptiva, neurogênica, neuropática e psicogênica, as quais se associam com a estimulação dos nociceptores, dano do tecido nervoso, disfunção de um nervo e fatores psicológicos. Quanto à avaliação de duração da resposta dolorosa, o episódio álgico pode ser transitório, agudo ou crônico (MILLAN, 1999). A nocicepção refere-se justamente à ativação, por estímulos nocivos, dos nociceptores que são fibras nervosas sensoriais primárias. Estes estímulos incluem temperaturas elevadas, perturbações mecânicas e substâncias químicas adstringentes. A partir do estímulo nociceptivo, há formação de mediadores químicos como as prostaglandinas, leucotrienos, cininas, citocinas, entre outros, que estão envolvidos direta ou indiretamente com uma série de eventos importantes que acontecem durante a transmissão da dor (SILVA et al., 2013).

A classificação dos nociceptores em fibras mielinizadas (A δ) e não-mielinizadas (C) permite ao indivíduo a percepção de uma dor lascinante ou uma dor pulsátil, respectivamente, sendo explicado explicado pelo diâmetro das fibras de velocidade de condução dos impulsos destas até o Sistema Nervoso Central. Essas fibras são classificadas, de acordo com seu diâmetro, estrutura e velocidade de condução, essencialmente em três tipos: 1) Fibras C: finas, não mielinizadas e de condução lenta; 2) Fibras A Delta: médias, mielinizadas e de condução intermediária e 3) fibras A Beta: espessas, mielinizadas e de condução rápida (JULIUS e BASBAUM, 2001; PARK e VASKO, 2005).

Os corpos celulares dos nociceptores encontram-se no corno dorsal da medula, fazendo conexão com interneurônios que enviam os estímulos nocivos para o córtex cerebral através dos tratos espinotalâmicos anterolaterais. No tálamo, há uma conexão com os neurônios de terceira ordem, que por fim, enviam os estímulos para o córtex somatossensorial. Em ramificação descendente e com conexão nas regiões nucleares - dentre as quais o Núcleo Magnus da Rafe (NMR) e os Núcleos Reticulares Gigantocelulares (NRG)- os tratos espinotalâmicos estão envolvidos em uma regulação mediada por opióides endógenos para inibição da dor (STEEDS, 2013)

O sistema de supressão endógena da dor apresenta as ramificações descendentes dos tratos espinotalâmicos que perpassam as áreas periventriculares e da substância cinzenta periaquedutal do mesencéfalo e as regiões nucleares (NMR e NRG, entre outros núcleos), e os complexos inibitórios da dor, que se localizam no corno posterior da própria medula espinhal. A ativação desse sistema de supressão modula os sinais excitatórios do glutamato e inibitórios do ácido γ -aminobutírico (GABA) e da Glicina na medula espinhal através da liberação de serotonina (5-HT), norepinefina e encefalinas (β -endorfina e dinorfina) (LEE, 2011).

Além do envolvimento do mecanismo de nocicepção e anti-nocicepção, a dor, por ser uma experiência multidimensional, também inclui vias emocionais, afetivas e cognitivas. Nesse aspecto cognitivo, se não tratada, a dor aguda, de um modo geral, leva o indivíduo a manifestar sintomas como alterações nos padrões de apetite e libido, manifestações de irritabilidade, alterações de energia, diminuição da capacidade de concentração, restrições na capacidade para as atividades familiares, profissionais e sociais. Além disso, a dor crônica prolonga a existência desses sintomas, podendo exacerbá-los e o indivíduo encontra-se em estado de sofrimento, seja em nível fisiológico ou social. Dessa forma, a dor deve constituir parte integral do cuidado, não podendo ser deixada em segundo plano em prol do manejo da

doença subjacente, ou seja, o manejo do sintoma é o foco primário do cuidado. Desse modo, a dor pode estar associada a essas manifestações clínicas e, por isso, precisa ser levada em consideração de modo a desenvolver alternativas que amenizem os estímulos dolorosos (NEUGEBAUER et al., 2009; OSSIPOV et al., 2010).

No mundo, 50% da população adulta tiveram ou têm algum episódio de dor. Na Alemanha são realizadas por ano 97 milhões de prescrições, no Brasil os números também são alarmantes (RIBEIRO et al., 2006). Analgésicos e anti-inflamatórios são os medicamentos mais importantes em termos de frequência de uso (STEINMEYER et al., 2000). Dor e febre são as razões mais frequentes para a busca por cuidados de saúde, devido ao grande sofrimento e diminuição da qualidade de vida que proporcionam. A febre, assim como a dor, é um dos componentes da resposta inflamatória de fase aguda e o sinal semiotécnico mais facilmente reconhecido, podendo ser definida como uma elevação controlada da temperatura corporal em resposta a uma lesão, trauma ou invasão de agente infeccioso. Essa elevação regulada da temperatura interna do organismo para níveis acima dos normais ocorre em decorrência da alteração do balanço térmico modulado pelo hipotálamo (DINARELLO et al., 1988; NIVEN et al., 2012). Pode decorrer também de mecanismos endógenos como as respostas auto-ímmunes e as tumorações (ROTH et al., 2009).

Uma estreita associação entre febre e infecção tem sido reconhecida, motivo pelo qual a febre é, frequentemente chamada sinal de infecção, embora não seja restrita a doenças infecciosas. Na resposta imune a febre pode agir promovendo a aceleração da quimiotaxia de neutrófilos e da secreção de substâncias antibacterianas; aumentando a produção e a ação antiviral e antitumoral dos interferons; estimulando as fases de reconhecimento e sensibilização da resposta imunológica, resultando em uma interação mais eficiente entre macrófago e linfócito T com maior proliferação destes últimos; além da diminuição da disponibilidade de ferro, limitando a proliferação bacteriana e de alguns tumores (NAKAMURA, 2011).

A maioria das ações benéficas da febre sobre as defesas orgânicas, mencionadas acima, são mediadas indiretamente por citocinas de efeito pirogênico secretadas na reação de fase aguda, principalmente IL-1 e TNF. Entretanto, estas e outras citocinas, aliadas a substâncias pró-inflamatórias como as prostaglandinas, produzem várias manifestações adversas, tanto na fase aguda como na fase crônica da reação inflamatória. Muitas destas manifestações (sonolência, astenia, mialgia, lombalgia, artralgia, cefaléia e anorexia)

constituem apenas sintomas desconfortáveis da reação febril aguda, sem grandes conseqüências patológicas. Por outro lado, em estados febris de longa duração, como na AIDS e em várias outras doenças crônicas, as ações metabólicas dos pirogênios podem ter significativa morbidade, causando desnutrição, osteoporose, anemia da doença crônica e fibrose em tecidos inflamados Além disto, um episódio único de febre ($> 37,8\text{ }^{\circ}\text{C}$) no primeiro trimestre da gestação duplica o risco de malformações do tubo neural no feto (OGOINA, 2011).

Com o objetivo de amenizar esses sintomas a população recorre aos analgésicos e antiinflamatórios, desconsiderando restrições de indicação, efeitos adversos e interações medicamentosas, levando a quadros de complicações gástricas, overdose e morte. Dessa forma, compostos bioativos de plantas medicinais, tendem a apresentar uma melhor abordagem terapêutica, com quase inexistência de efeitos colaterais aliando ainda o baixo custo e ao fácil acesso à população (BARNES et al., 2012).

Os mecanismos pelos quais os extratos vegetais exercem ações de proteção ainda são pouco conhecidos, mas acredita-se que podem estar relacionados com as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias dos compostos bioativos dessas substâncias como os compostos fenólicos (WERZ, 2007), inibindo a síntese ou a ação de citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão, maximizando a ação anti-inflamatória e minimizando os efeitos adversos (DONADO-PESTANA et al., 2015).

3.2 Família *Myrtaceae*

O termo *Myrtaceae* teve origem da palavra grega “*Myron*” que significa perfume (LANDRUM et al., 1997). A família *Myrtaceae* está inserida na ordem Myrtales (Myrtale), sendo considerada uma das mais importantes famílias do Brasil. Está presente em diversos tipos de vegetação como Mata Atlântica de encostas, Floresta Amazônica, Restinga e Cerrado (MORAIS et al., 2014). Distribuem-se por todos os continentes, com exceção da Antártica, apresentando predominância em regiões tropicais e subtropicum dos estados aís do mundo (MARCHIORI e SOBRAL, 1997; SOBRAL, 2003; SOBRAL et al., 2017). Em Pernambuco, um dos estados da região do Nordeste brasileiro, há 38 espécies da família *Myrtaceae*, dentre

as quais se pode encontrar a *Myrciaria cauliflora*, que é conhecida popularmente como jabuticabeira (AMORIM e ALVES, 2012; COSTA et al., 2013; LUCENA et al., 2014; WILSON et al., 2001).

Compreende duas subfamílias: Leptospermoideae e Myrtoideae. A primeira possui alta concentração na Austrália, Malásia e Polinésia; e a segunda distribui-se principalmente nas Américas do Sul e Central. Uma característica importante que separa as duas subfamílias é que a *Leptospermoideae* possui frutos secos e folhas alternas ou opostas e a *Myrtoideae* possui frutos carnosos e suas folhas sempre são opostas (COSTA et al., 2013; LUCENA et al., 2014; REYNERTSON et al., 2008). Essa família possui pelo menos 133 gêneros e 5671 espécies de plantas. No Brasil estão descritos 23 gêneros e 997 espécies. Os gêneros que apresentam o maior número de espécies de *Myrtaceae* são *Eucalyptus* (500 espécies) e *Malaleuca* (100 espécies), em Leptospermoideae; *Eugenia* (600 espécies), *Myrcia* (300 espécies), *Syzygium* (200 espécies) e *Psidium* (100 espécies), em *Myrtoideae* (SOBRAL et al., 2004; EMBRAPA, 2014; MORAIS et al., 2014). Seus espécimes são representados por subarbustos, arbustos ou árvores lenhosas, com folhas inteiras de disposição alterna ou oposta, com estípulas pequenas. Encontram-se inseridos nessa família desde pequenos arbustos, de até 2m de altura como a espécie *Myrciaria cauliflora* (**Figura 8**), até grandes árvores com mais de 100m como o *Eucalyptus* - Eucalipto (LANDRUM et al., 1997).

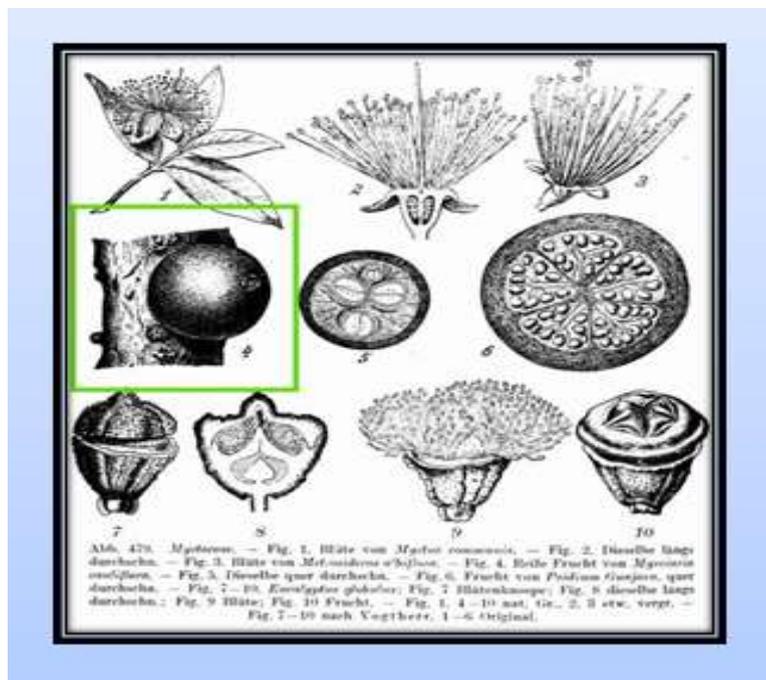
Figura 8. Planta da família *Myrtaceae*: espécie *Myrciaria cauliflora* Mart. (O.Berg).



Fonte: Siqueira, T. F. (2018).

Seu tronco geralmente é recoberto por ritidoma esfoliativo. As inflorescências são terminais ou axilares, geralmente brancas, efêmeras, vistosas, hermafroditas, de simetria radial, apresentando muitas vezes um receptáculo bem desenvolvido. Possui corola provida de 4-5 pétalas ou, às vezes, pode apresentar-se suprimida (**Figura 9**) (LANDRUM et al., 1997). Essa família também é conhecida pelos flavonoides, taninos e triterpenos (KESZEI et al., 2010; WANG et al., 2010).

Figura 9 – Características botânicas da família *Myrtaceae*.



Fonte: Biolib (2017).

Os gêneros de *Myrtaceae* possuem grande potencial econômico já que a maioria das espécies é utilizada na alimentação para o preparo de bolos, sucos e in natura com destaque para as espécies *Myrciaria cauliflora* (jaboticaba) (**Figura 10, letra A**), *Myrciaria vexator* (jaboticaba azul ou falsa jaboticaba) (**Figura 10, letra B**) e a *Myrciaria dúbia* (camu-camu) (**Figura 10, letra C**). Dentre os vários tipos de espécies, destacam-se as aromáticas como *Syzygium aromaticum* (craveiro da Índia) e as frutíferas/comestíveis como a *Psidium guajava* L. (goiabeira), a *Eugenia uniflora* L. (pitangueira), a *Campomanesia phaea* (O.Berg) (cambuci), *Syzygium jambos* L. (Alston) (jambo), *Syzygium cumini* L. (Skeels) (jambolão) e a *Myrciaria cauliflora* (O. Berg) (jaboticabeira) (LUCENA et al., 2014).

Figura 10: Plantas comestíveis do gênero *Myrciaria*: *Myrciaria cauliflora* (A); *Myrciaria Vexator* (B) e *Myrciaria dúbia* (C).



Fonte: Siqueira, T.F. (2017) (A); Daltmalchi et al. (2012) (B); e EMBRAPA (2013) (C).

As espécies dos diversos gêneros também são utilizadas amplamente na medicina popular para diarreia, infecções, dores, edema, agente inflamatório e na redução do colesterol. O *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) usado no tratamento da gripe, congestão nasal e sinusite e a *M. cauliflora* (jabuticaba) para náuseas, vômitos e como agente anti-inflamatório (LUCENA et al., 2014; MORAIS et al., 2014; REYNERTSON et al., 2008). Apresentam importância ecológica, pelo fato de muitos animais se alimentarem de seus frutos suculentos e carnosos e acabarem veiculando a dispersão das sementes e favorecendo a sobrevivência e permanência das espécies (LUCENA et al., 2014; MORAIS et al., 2014) e também ornamental, destacando-se as espécies *Eugenia sprengelii* D. C. (Figura 11 - A e B) e a *Leptospermum scoparium* J. R. Forst (Figura 11 - C) na extração de essências como o *E. globulos* e o fornecimento de madeira (REYNERTSON et al., 2008).

Figura 11: Plantas ornamentais gênero *Myrciaria*: *Eugenia sprengelii* D. C. (A e B); e *Leptospermum scoparium* J. R. Forst (C).



Fonte: My Bonsai (2018) (A, B); O Botânico Aprendiz (2018) (C).

No Brasil, dentre as espécies frutíferas que ocorrem no Cerrado e Mata Atlântica, destaca-se a jabuticabeira (*M. cauliflora*), aonde vem despertando grande interesse nas indústrias farmacêutica, cosmética com fragrâncias e colônias como na **figura 12- A, B** e de alimentos processados **figura 12 - C, D e E** (DANNER et al., 2007; APONTE et al., 2004).

Figura 12 – Jabuticabeira nas indústrias de alimentos e cosméticos.



Fonte: Natura (2018) (A); Piatan (2018) (B); Vinícola Castanho (2018) (C); Massoca (2018) (D); Fitoflora (2018) (E).

3.3 Gênero *Myrciaria*

O gênero *Myrciaria* possui aproximadamente 99 espécies conhecidas, sendo 21 nativas do Brasil. Suas espécies estão geograficamente distribuídas em diversas regiões, incluindo países da América do Sul, como Brasil, Argentina, Paraguai, Venezuela e Bolívia, países da América Central, como, por exemplo, Belize, Guatemala, El Salvador e Honduras, e sul da Flórida. No Brasil, as espécies estão difundidas em vários biomas como, Floresta Amazônica, Caatinga, Cerrado, Floresta Atlântica e Pampa, e são cultivadas principalmente nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais e Espírito Santo (BORGES et al., 2014). Seus frutos são conhecidos como bagas brasileiras por causa da alta quantidade de antocianinas encontradas no epicarpo, principalmente cianidina-3-O-glicosídeo identificada como a principal antocianina nos frutos e delphinidina-3-O-glicosídeo (WU, DASTMALCHI, LONG, & KENNELLY, 2012).

As espécies desse gênero apresentam conteúdo significativo de antocianinas e carotenóides, que além de corantes atuam como antioxidantes e como reguladores de resposta do sistema imune (AKTER et al., 2011; DASTMALCHI et al., 2012; LEITE et al., 2011). Frutos de *Myrciaria* exibem atividade antioxidante maior do que nas chamadas superfrutas como o mirtilo (AKTER et al., 2011; LEITE et al., 2011). O consumo de alimentos ricos em antocianinas tem sido associado a uma redução no ganho de peso, regulação de hormônios envolvidos na obesidade e melhora da resistência à insulina em camundongos (PRIOR et al., 2010), além de redução na inflamação causada pela exposição à fumaça de cigarro (DASTMALCHI et al., 2012)

Estudos têm demonstrado que algumas espécies desse gênero apresentam propriedades biológicas importantes, destacando-se as atividades antioxidante (AKTER et al., 2011; FRACASSETTI et al., 2013; LEITE et al., 2011; INOUE et al., 2008), antiinflamatória (APEL et al., 2010), hipoglicemiante (UEDA et al., 2004), hipolipemiante (ALEZANDRO et al., 2010; LENQUISTE et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2013; SANTOS et al., 2010), antifúngica (DINIZ et al., 2010; LEITE-LEGATTI et al., 2012), antiproliferativa (WANG et al., 2014), gastroprotetora (ISHIKAWA et al., 2008) e antibacteriana (MACEDO-COSTA et al., 2009; MYODA et al., 2010).

3.4 Espécie *Myrciaria cauliflora* (O. Berg)

Myrciaria cauliflora é espécie do gênero *Myrciaria*, pertencente à família *Myrtaceae* e conhecida popularmente como jabuticaba (**Figura 13**). Em 1985, houve uma proposta de mudança na classificação taxonômica para reclassificar as espécies de jabuticabeira (BERG, 1955). Sementes com cotilédones separados como na jabuticabeira, ocorrem com frequência no gênero *Plinia*, em que na maioria das vezes, encontram-se cotilédones soldados (DANNER et al., 2007; SASSO et al., 2010; SANTOS et al., 2015; NEVES et al., 2016). Embora tenha havido essa reclassificação, atualmente não há um consenso quanto a essa mudança e o termo *Myrciaria* é ainda utilizado para as jabuticabeiras, sendo largamente empregado no meio científico e considerado um homotípico do gênero *Plinia* (DANNER et al., 2007; NEVES et al., 2016; SANTOS et al., 2015).

Figura 13 – *Myrciaria cauliflora* (jaboticaba): frutificação no tronco (A), árvore (B) e frutos após colheita (C).



Fonte: Siqueira, T. F. (2018).

Myrciaria cauliflora apresenta-se como heterotípico de *Myrciaria jaboticaba* (Vell) O. Berg; *Eugenia cauliflora* (Mart) DC; *Eugenia edulis* (Vell); *Eugenia jaboticaba* (Kiaersk); *Guapurium peruvianum* Poir; *Myrtus cauliflora* (Mart); *Myrciaria jaboticaba* (Vell); *Plinia cauliflora* (Mart) Kausel e *Plinia jaboticaba* (Vell) Kausel (THE PLANT LIST, 2013).

É encontrada em todo território brasileiro, especialmente em Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Espírito Santo (BORGES et al., 2014; COSTA et al., 2013). Seus frutos possuem um tempo médio de frutificação de 10 a 15 anos, ocorrendo duas vezes ao ano e com fase reprodutiva de duração entre 30 a 50 anos. É uma planta arbórea, porte médio, com altura variando entre 10 a 15 metros, e troncos lisos de 30 à 40 cm de diâmetro, com tendência ao engalhamento, como mostrado na **figura 14** (BARROS E MAGALHÃES, 1996).

Figura 14 – Árvore da *Myrciaria cauliflora* em época de colheita.



Fonte: Klimanaturali (2017).

Suas pequenas flores e frutos nascem do caule e as flores desabrocham na cor branca (**Figura 15-A**), podendo atrair diversos tipos de insetos polinizadores. Suas folhas apresentam-se opostas, com nervura central levemente impressa na epiderme adaxial e saliente na epiderme abaxial (**Figura 15 - C**). Os frutos da jabuticaba podem ser consumidos *in natura* ou processados na forma de vinho, licor, suco, geléia, vinagre, gelatinas, chás medicinais, compota de frutas, dentre outros (BARROS e MAGALHÃES, 1996; HERBARIUM, 2011; COSTA et al., 2013). Apresentam característica tipo baga globosa, de 2- 4 cm de diâmetro, contendo até quatro sementes cada e seu epicarpo varia de roxo escuro a preto, com polpa esbranquiçada, mucilaginosa, succulenta e agridoce (WEN-HUNG, 2014). A época de frutificação e florada tem início a partir de setembro (THE PLANT LIST, 2013).

Além de ser fonte de pigmentos naturais para a indústria de alimentos, apresenta uma grande quantidade de fibras e substâncias antioxidantes, que se apresentam expressivamente nos resíduos quando comparados a qualquer outra parte da planta (SANTOS et al., 2010; COSTA et al., 2013). Boari-Lima et al., (2009) avaliando o potencial antioxidante da casca, polpa e semente de *Myrciaria cauliflora* sob diversas metodologias *in vitro*, verificou que a casca apresentou maior atividade antioxidante, tanto na captura da radicais livres quanto no retardo do processo de oxidação lipídica.

Figura 15 – *Myrciaria cauliflora*. A. Flor, B. Fruto, C. Folha.



Fonte: A e C. Fauna e flora do RN (2018); . B. Siqueira, T. F. (2018).

Esta planta também é bastante cultivada em pomares domésticos, devido a sua boa fonte de cálcio, ferro e fósforo (WU et al., 2013; ALIMENTOS REGIONAIS BRASILEIROS, 2015), possuindo indicações na medicina popular para hemoptise, atuando também como

antiasmática e antiinflamatória (HERBARIUM, 2011; REYNERTSON et al, 2006). Apesar de sua grande produção de frutos, popularidade e venda assegurada, apresenta relativa perecibilidade após a colheita, pois seus frutos possuem vida útil de até três dias (GARCIA et al., 2017). Agregar valor a esses subprodutos é de interesse econômico, científico e tecnológico, podendo ser aproveitados como fontes alternativas de compostos bioativos, a fim de suprir as necessidades nutricionais, diminuindo o desperdício e reduzindo o impacto ambiental (FERRARI et al., 2004; OCDE, 2015).

Casca e semente (**Figura 16**) representam mais de 50% do peso do fruto sendo este percentual bastante elevado para ser desperdiçado (BOARI-LIMA et al., 2009). As cascas exibem grande potencial biológico, apresentando em sua composição altos teores de fibras e substâncias antioxidantes quando comparadas com sua semente e polpa, além de alta concentração de compostos fenólicos que são responsáveis, do ponto de vista farmacológico, por diversas atividades, como antiinflamatória, antinociceptiva, antioxidante e hipolipêmica (BORGES et al., 2014; WU et al., 2013). Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas e apresentam-se como um dos maiores grupos de componentes dietéticos não essenciais. Apresentam grande diversidade de estruturas, diferindo em termos de estrutura química, complexidade e reatividade (SHAHIDI, NACZK, 1995).

Figura 16 – Cascas e sementes (resíduos) de jabuticaba.



Fonte: (A) Casa e prosa (2017); (B) Sem medida (2018); (C) Estratificando a frio (2018).

O interesse pelo aproveitamento desses resíduos tem aumentado, pois são materiais de baixo custo e fácil acesso, mas a eficácia desse processo depende do conhecimento de seus

compostos bioativos (FORTES et al., 2012; NEVES et al., 2016; SANTOS et al., 2010). Diversos estudos destacam as propriedades terapêuticas da casca da jabuticaba, decorrentes da presença de compostos oriundos do metabolismo secundário das plantas (BORGES et al., 2014; LEITE-LEGATTI et al., 2012; MEIRA et al., 2016; RANDRIANARIVONY et al., 2017; WU et al., 2013). A atividade anti-inflamatória de extratos da casca de *Myrciaria cauliflora* foi analisada por Reynertson et al., (2006) verificando potente ação anti-inflamatória dos mesmos, sendo esta atividade também constatada por Lima et al., (2008). Carvalho et al., (2009); Macedo-Costa et al., (2009) e Souza e Moreira et al., (2011) avaliaram a ação antibacteriana in vitro com extratos de *Myrciaria cauliflora* e encontraram resultados satisfatórios em todas as espécies analisadas. A atividade antifúngica foi avaliada por Diniz et al., (2010) e Oliveira et al., (2011) verificando importante inibição do crescimento de fungos *Candida sp.*, *Candida Krusei*, *Cryptococcus sp.*, e *Saccharomyces sp.*

Tabela 1 – Composição nutricional (100g de 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: ALIMENTOS REGIONAIS BRASILEIROS, 2015.

Efeito protetor em doenças cardiovasculares e na Diabetes melitus Tipo 2 foi verificado por Lenquiste et al., (2012) em extratos da casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* com melhora da resistência à insulina em 57%. Dragano et al (2013) também constataram significativa melhora da resistência à insulina em animais tratados com extratos da casca do fruto. Outros estudos com extratos da casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* também demonstram resultados significativos como potencial antidiarreico (Lima et al., 2008; Reynertson et al., 2006) e potencial antitumoral (Leite et al., 2012; Wang et al., 2014) demonstrando o potencial promissor da espécie.

Vários compostos bioativos, conforme descritos na **tabela 2**, são encontrados na espécie *Myrciaria cauliflora* cujas propriedades biológicas têm sido atribuídas aos altos níveis e ampla diversidade de compostos fenólicos (EINBOND et al., 2004; HUSSEIN et al., 2003; REYNERTSON et al., 2006; WU e DASTMALCHI et al., 2012; WU et al., 2013). Os metabólitos secundários da casca da jabuticaba destacam-se devido aos seus inúmeros efeitos biológicos sobre a saúde, sendo de extrema importância o conhecimento das principais características desses grupos de ativos, gerando informações fidedignas e seguras, para um bom uso desses compostos (PEREIRA et al., 2012). Os principais compostos bioativos presentes na *Myrciaria cauliflora* são: compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas e terpenos (BORGES et al., 2014; CALLONI et al., 2015; COSTA et al., 2013; LEITE-LEGATTI et al., 2012; NEVES et al., 2016; PEREIRA et al., 2012; WU et al., 2013).

Os compostos fenólicos possuem propriedades de óxido-redução (DEGÁSPARI e WASZCZYNSKYJ, 2004; MOREIRA e MANCINI-FILHO, 2004), desempenhando um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (COSTA, ROSA, 2006; SOUSA et al., 2007). São compostos que contêm um grupo fenol - um grupo hidroxila em um anel aromático. Constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos. Frutas, chá, café, cacau e vinho, apresentam grandes quantidades de compostos fenólicos e, em níveis elevados, transmitem adstringência e amargor aos alimentos (GENOVESE et al., 2008). Contribuem também para o odor e coloração de diversos vegetais, sendo muitos desses economicamente importantes pela utilização como flavorizantes e corantes de alimentos e bebidas (MOREIRA, MANCINI-FILHO, 2004; SIMÕES et al., 2017).

Tabela 2. Compostos bioativos identificados na espécie *Myrciaria cauliflora*

Partes da planta	Compostos Bioativos	Autor/Ano
	Quercetina-3-0- β -galactosideo	
Casca	Kaempferol	Hussein et al., 2003.
Folha	Quercetina	Einbond et al., 2004.
Fruto	Kaempferol-3-0- α -arabinofuronosideo	Reynertson et al., 2006.
	Quercetina-3-0- α -arabinofuronosideo	Wu, Dastmalchi et al., 2012.
	Myrcetina-3-0-raminosideo	
	Ácido gálico	Wu et al., 2013.
	Epi-galocatequina-3-0-galato	
	Ácido protocatecolco	
	Isoquercetina	
	Quercimetrina	
	Rutina	
	Miricitrina	
	Piranocianina	
	Ácido cinâmico	
	Ácido cumárico	
	Ácido protocatecoico Metil	
	Ácido elágico	
	Delfinidina-3-0-glicosideo	
	Ácido Ascórbico	
	Jaboticabina	
	Syringin	
	Iso-oenothlein C	
	oenothlein C	
	cyanidin 3-O-galactoside;	
	jaboticabin	
	Ácido oxálico	
	Cianidina-3-0-glicosideo	
	Gossipetina-3-5-dimetileter	
	Myricetina-3-5-3-trimetileter	
	Gossipetina-3,8-dimetileter-5-0-glucosideo	
	Ácido cítrico	
	Ácido tartárico	
	Ácido málico	
	Ácido fumárico	
	Ácido químico	
	Ácido succínico	

Fonte: Siqueira, T. F., 2018.

São essenciais para o crescimento e reprodução das plantas, contribuindo para o aumento da resistência do vegetal diante de situações de estresse e atuando como agentes protetores da ação de predadores, patógenos (apresentam atividade antimicrobiana) e da ação da luz ultravioleta (DILLARD, GERMAN, 2004).

Estes compostos participam do processo de lignificação da parede celular de plantas, evitando o crescimento e a proliferação de microorganismos que promovem injúrias no vegetal (DILLARD & GERMAN, 2000), sendo sua produção diretamente proporcional ao nível de estresse sofrido pela planta. (SHAHIDI, NACZK, 1995).

Os compostos fenólicos da jaboticaba estão presentes em abundância na casca (TEIXEIRA et al., 2008; Wu et al., 2013; Borges et al., 2014). Foram isolados e identificados no fruto de jaboticaba seis ácidos fenólicos (ácidos gálico, elágico, protocatecúico, metilprotocatecúico, cinâmico e *o*-cumárico), seis flavonoides [quercetina, quercitrina, isoquercitrina, quercimeritrina, rutina e miricitrina], dois depsídeos (ácido 2-O-(3,4-dihidroxibenzoil)-2,4,6-trihidroxifenilacético e jaboticabina) e três antocianinas (cianidina-3-O-glucosídeo, delphinidina-3-O-glicosídeo e piranocianina B) (REYNERTSON et al., 2006). Além desses, dois elagitaninos foram isolados: oenoteina C e iso-oenoteina C (WU et al., 2013).

Outras substâncias também importantes presentes nos frutos de *Myrciaria cauliflora* são os flavonoides. Consiste em metabólitos secundários amplamente distribuídos na natureza, sendo responsáveis pela cor nas diversas partes da planta e também pelo perfil sensorial de frutas (CORCORAN et al., 2012; RODRIGUES DA SILVA et al., 2015; VOLP et al., 2008). São biossintetizados a partir da via dos fenilpropanoides e constituem uma importante classe de polifenóis, presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários de vegetais (SIMÕES et al., 2017). São caracterizados por um esqueleto básico C6-C3-C6 com diferentes substituições nos anéis. A partir da chalcona, todos os demais derivados flavonoidicos são formados. De acordo com o grau de oxidação do anel C, os flavonoides são divididos em várias subclasses. Esses compostos possuem propriedades químicas semelhantes aos fenóis simples, ficando relativamente solúveis em água especialmente quando existir açúcar ligado a estrutura do flavonoide, em etanol, metanol e butanol, por serem compostos relativamente polares (RODRIGUES DA SILVA et al., 2015).

Os flavonoides encontrados nas folhas podem ser diferentes daqueles encontrados nas flores, nos galhos, nas raízes ou nos frutos, e até mesmo nas diferentes partes do fruto. Podem apresentar também diferentes concentrações dependendo do órgão vegetal em que se encontra e da época do ano (RODRIGUES DA SILVA et al., 2015; SIMÕES et al., 2017). Essa característica está correlacionada com tipos de cultivares, o clima, o solo, os fatores genéticos e o meio ambiente (COSTA, ROSA, 2006). Atualmente, mais de 8000 flavonoides são conhecidos de acordo com suas estruturas químicas. O interesse econômico é decorrente de suas diversas propriedades, como o fato de alguns serem usados como pigmento natural e também conferirem sabor aos alimentos (PEREIRA et al., 2008; RODRIGUES DA SILVA et al., 2015).

Várias funções são atribuídas aos flavonoides, como proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e também contra insetos, fungos, vírus e bactérias; atração de insetos polinizadores e proteção contra os insetos nocivos; controle da ação de hormônios vegetais; antioxidantes e inibição de ações enzimáticas (VOLP et al, 2008; SILVA et al, 2010; SIMÕES et al., 2017). Exibem grande ação sobre os sistemas biológicos demonstrando atividade antiviral, antiulcerogênico, antioxidante, antineoplásico, antihepatotóxico, antihipertensivo, hipolipidêmico, anti-inflamatório, antialergênicos, antiplaquetário, protetor da mucosa gástrica (DEGÁSPARI, WASZCZYNSKYJ, 2004; HERBARIUM, 2011; SHI et al., 2002; RODRIGUES DA SILVA et al., 2015). Mais de cinco mil flavonóides foram descritos e classificados a partir de suas estruturas químicas, em especial com relação ao grau de oxidação no anel C (SILVA et al., 2010). Subdividem-se em flavonas, flavonóis, chalconas, antocianos, auronas, Di-hidroflavonóides, isoflavonas, biflavonoides e neoflavonoides.

As antocianinas são uma classe dos flavonoides com atividade antioxidante potente e dispersas por todo o reino vegetal. São encontradas principalmente nas frutas de cor escura e em alguns tecidos de flores onde são responsáveis pela cor vermelha, roxa ou azul (CROZIER et al., 2009). São caracterizadas pelo núcleo básico flavilium (cátion 2-fenilbenzopirílio) que consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensados por um oxigênio. A molécula de antocianina é constituída por duas ou três porções, uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e frequentemente, um grupo de ácidos orgânicos (ÂNGELO, JORGE, 2007; SIMÕES et al., 2016).

As antocianinas se tratam de pigmentos solúveis em água e são distribuídas em diversas famílias de vegetais. Essas substâncias são em grande parte responsáveis pelas cores laranja, rosa, escarlate, vermelho, violeta e azul, proporcionando assim, importante ferramenta de atração de insetos e pássaros, que polinizam e dispersam sementes (ROSSI et al., 2011; SIMÕES et al., 2017). Quando estão livres de açúcares são denominadas antocianidinas (OKUMURA et al., 2002). Existe uma extensa variedade de antocianidinas distribuídas na natureza, entretanto, as de maior importância nos alimentos são apenas seis: pelargonidina, delphinidina, peonidina, malvidina, petunidina e cianidina (SIMÕES et al., 2017).

Uma das principais funções das antocianinas em flores e frutas é o poder de atrair agentes polinizadores, além de proteger diversos tecidos da planta de processos oxidativos durante etapas de seu ciclo de vida, principalmente em fases iniciais do crescimento (EIBOND et al., 2004). A deficiência natural de elétrons das antocianinas faz com que esses compostos sejam particularmente reativos, apresentando também uma grande sensibilidade às mudanças de pH e temperatura (VOLP et al., 2008). Foram encontradas duas antocianinas na *Myrciaria cauliflora* consideradas de grande poder antioxidante devido à estrutura que apresentam com duas hidroxilas (cianidina-3-glicosídeo) e três hidroxilas (delphinidina-3-glicosídeo) presentes no anel (LEITE, 2010; LIMA, 2009; MACHADO, 2013; WU et al., 2013). A antocianina presente em maior quantidade na jabuticaba é a cianidina-3-glicosídeo (TERCI, 2008). As cascas da jabuticaba quando comparadas com as polpas e sementes apresentam o maior teor de antocianinas (LIMA, 2009).

Outro grupo presente na *Myrciaria cauliflora* são os taninos. Estão presentes em aproximadamente 30% dos vegetais (HERBARIUM, 2011), sendo classificados segundo sua estrutura química em dois grupos: hidrolisáveis e condensados. Historicamente, a importância das plantas ricas em taninos está ligada às suas propriedades de transformar a pele animal em couro. Atualmente o curtimento é industrializado conseguido com substâncias minerais, porém ao longo de vários milênios esse processo requeria exclusivamente o uso de plantas taníferas. Possuem capacidade de combinar-se com macromoléculas, apresentando a habilidade de formar complexos insolúveis em água com alcaloides, gelatina e outras proteínas. São importantes componentes gustativos, sendo responsáveis pela adstringência de muitos frutos e vegetais (SIMÕES et al., 2017).

Os taninos hidrolisados são sintetizados a partir do ácido gálico (rota do ácido chiquímico), enquanto os taninos condensados, juntamente com os flavonoides, são

sintetizados a partir de duas rotas biossintéticas: a do ácido chiquímico e a da acetilCoA via ácido malônico e estão presentes na fração fibra alimentar de diferentes alimentos, podendo ser considerados indigeríveis ou pobremente digeríveis (PEREIRA et al., 2012; SOUZA et al., 2015).

Os taninos quando reagem com proteínas da saliva, conferem ao alimento a sensação de adstringência, pois formam colóides insolúveis que são responsáveis por esta sensação (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004; SHI et al., 2002). Podem se ligar às proteínas por meio de diversos mecanismos. Quando se apresentam na forma não oxidada, podem formar ligações de hidrogênio que podem ser tanto intramoleculares, como intermoleculares. Quando oxidados, seus produtos de oxidação formam ligações covalentes com grupos funcionais das proteínas, sendo os mais reativos os grupos sulfidrilos (cisteína) e epsilon-amino (lisina). A complexação com proteínas constitui a base da propriedade protetora dos taninos contra o ataque de insetos, fungos e bactérias (SIMÕES et al., 2016). Há uma série de efeitos benéficos à saúde que estão relacionados ao consumo de taninos como ação antioxidante, prevenção contra o câncer, atividade antimicrobiana, antisséptica, cicatrizante, vasoconstrictora, cardioprotetora e antidiarreico (PEREIRA et al., 2012).

Na medicina tradicional são utilizados para o tratamento de feridas, queimaduras, diarreia, problemas estomacais (azias, náuseas, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (SIMÕES, et al 2017). Os efeitos relacionados ao consumo do chá preto e verde (epigalocatequina-3-o-galato), vinho tinto e do cacau, devem-se em grande parte, ao elevado teor de taninos presentes nestes produtos (HEIM et al., 2002). Os níveis de taninos hidrolisáveis presentes nos frutos de jabuticaba são significativamente maiores do que em outros frutos da família *Myrtaceae*, como por exemplo, o cambuci, a goiaba, o camu-camu, a pitanga e a grumixama (ABE et al., 2012). A capacidade antioxidante da jabuticaba é influenciada pela presença de ácido elágico e elagitaninos presentes no fruto em quantidades consideráveis (WU et al., 2012). Portanto, a jabuticaba é uma fonte promissora de derivados do ácido elágico na dieta humana (ALEZANDRO et al., 2013; WU et al., 2013).

Outro grupo não menos importante são os Terpenos. Formam uma classe de metabólito secundário amplamente distribuído no reino vegetal e estão presentes basicamente nos óleos essenciais, que são princípios aromáticos encontrados em diferentes órgãos vegetais (FELIPE e BICAS, 2017; HERBARIUM, 2011; SIMÕES et al., 2017). Quimicamente,

podem ser definidos como “alcenos naturais” por apresentarem dupla ligação carbono-carbono, caracterizando-os como um hidrocarboneto insaturado. No entanto, se um terpeno contém oxigênio, o mesmo é denominado de terpenoide, podendo apresentar diferentes funções químicas, entre as quais: ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis ou epóxidos terpênicos (FELIPE e BICAS, 2017).

Mesmo apresentando diferenças estruturais entre si, todos os terpenos/terpenoides são basicamente estruturados em blocos de cinco carbonos – unidades de isopreno (C_5H_8) – normalmente ligadas entre si pela ordem “cabeça-a-cauda” (ligação 1-4), o que caracteriza a chamada “regra do isopreno”. Essa estrutura química comum aos terpenos é proveniente do isopentenil pirofosfato (IPP) ou de seu isômero dimetilalil pirofosfato (DMAPP), resultado da sua origem bioquímica (FELIPE e BICAS, 2017; SIMÕES, et al., 2017). Podem ser classificados como acíclicos (moléculas abertas), monocíclicos ou bicíclicos. Os monoterpenos e sesquiterpenos, com estruturas terpênicas de menor massa molecular, apresentam volatilidade acentuada, contribuindo para o aroma dos produtos naturais, particularmente de frutas cítricas, ervas aromáticas, especiarias e condimentos (DEWICK, 2002; FELIPE e BICAS, 2017).

Representam a segunda classe com maior número de constituintes ativos obtidos de plantas e o mais antigo grupo de pequenas moléculas sintetizado. Há mais de 1.000 monoterpenos, mais de 7.000 sesquiterpenos e mais de 3.000 diterpenos (BOHLMANN et al., 1998; DI-STASI, 1996; SIMÕES et al., 2017).

Apesar da baixa volatilidade dos di-, tri- e tetraterpenos, possuem importância na produção de oleorresinas - uma secreção constituída basicamente de óleo essencial e resina - obtida de diferentes tipos de plantas. A importância desse tipo de produto está atrelada à extensa aplicabilidade em inúmeras atividades industriais - fixador de perfumes, solvente ou matéria-prima para a produção de tintas, graxas e ceras - e no dia-a-dia das pessoas, através da medicina popular (De MARTINO et al., 2014). No que diz respeito aos tetraterpenos ou carotenoides, esses compostos são pigmentos de ampla distribuição na natureza, responsável por conferir a coloração de diferentes plantas, vegetais e alimentos (FELIPE e BICAS, 2017).

Não existem evidências, em humanos, de toxicidade e de atividade carcinogênica por ação dos terpenos. Nos Estados Unidos, a maioria deles é definida como não tóxica pelo TSCA (Toxic Substance Control Act) (MISSICK, 1998). Na medicina, os terpenos

apresentam reconhecida atividade antimicrobiana (DE MARTINO et al., 2015). Como alternativa em várias aplicações na natureza, os terpenos vêm sendo utilizados na indústria química como solução amigável ao meio ambiente em repelentes de insetos, inseticidas, desinfetantes, fungicida, bactericidas, solventes e recentemente em desengraxantes industriais (HENDRY et al., 2009; KARPANEN et al., 2008).

As plantas continuam sendo uma escolha popular, usada para manutenção da saúde, melhora do bem estar e tratamentos de diversas enfermidades. As aplicações variam desde infecções virais à dor, febre, diabetes, doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) e câncer (BAENA, 2015; CACCIA et al, 2017). As informações recebidas pela população são oriundas de diversas fontes, que vão desde revistas populares, artigos de jornal, televisão assim como pela internet. O conteúdo é, em sua maioria acrítico e na forma de promoções, a fim de aumentar o poder atrativo desses produtos, que são comercializados sem qualquer garantia de qualidade, segurança e eficácia, com aumento no número de casos de adulteração, contaminação e toxicidade (BARNES, 2012).

Para diminuir os riscos de utilização indiscriminada de plantas, faz-se necessário um número crescente de pesquisas que compreendem as análises qualitativas e quantitativas de diversas partes das plantas, que vão desde ensaios com extratos até putificação, com abordagem em atividades terapêuticas consideradas essenciais, como atividade antioxidante, antipirética, antinociceptiva, anti-inflamatória, hipoglicemiante e hipolipidêmica, devido a sua relação com índices elevados de mortalidade no Brasil e no mundo (BARNES, 2012; OLIVEIRA et al., 2009;).

Desse modo é perceptível o potencial biológico e terapêutico da espécie *Myrciaria cauliflora* que contém os metabólitos secundários mencionados na casca de seu fruto evidenciando o elevado conteúdo de antocianinas e compostos fenólicos, devendo, portanto ser exploradas as suas atividades biológicas e terapêuticas a fim de amenizar os custos tanto pela população quanto pelas políticas de saúde, contribuindo também para a redução e prevenção das inúmeras consequências do uso de fármacos que vão desde intoxicações, coma e até a morte.

4 RESULTADOS

ARTIGO 1

**Efeito Antipirético, Analgésico e Antioxidante da casca do fruto
de *Myrciaria cauliflora* (O. Berg)**

**Antipyretic, Anti-inflammatory and Antioxidant effect of the fruit peel
of *Myrciaria cauliflora* (O. Berg)**



Artigo a ser submetido ao periódico **FITOS** no formato *Original Research Article*

**Efeito Antipirético, Analgésico e Antioxidante da casca do fruto
de *Myrciaria cauliflora* (O. Berg)**

Tatiana Ferreira de Siqueira^a, Bianka Santana dos Santos^{a,b}, João Ricardhis Saturnino de Oliveira^a, Ana Paula Sant'Anna da Silva^a; Vera Lúcia de Menezes Lima^a

^a Laboratório de Lipídios e Aplicações de Biomoléculas em Doenças Prevalentes e Negligencias, Departamento de Bioquímica. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife PE, Brasil, CEP 50670-901.

^b Laboratório Morfofuncional, Curso de Medicina, Núcleo de Ciências da Vida, Centro Acadêmico do Agreste, Universidade Federal de Pernambuco, Rodovia BR-104, Km 62, 11 S/N, Caruaru, PE, Brasil, CEP 55014-908.

* Autor correspondente:

Laboratório de Lipídios e Biomoléculas e suas Aplicações em Doenças Prevalentes e Negligenciadas, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Bairro: Cidade Universitária, CEP 50670-420, Recife-Pernambuco, Brasil, 55 8121268540 (218), e-mail: vlml@ufpe.br.

Declaração de conflito de interesses

Todos os autores declaram que não possuem conflito de interesses.

Resumo

Doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são responsáveis por 70% das mortes no mundo. É urgente alternativas para diminuir essa problemática. Foi avaliado o potencial biológico da casca do fruto de *M. cauliflora*. Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante nos testes analisados (Flavonóides, compostos fenólicos, (%TAC), DPPH (%), ABTS (%)). No teste anti-inflamatório, os grupos (200mg/kg e 400mg/kg) obtiveram redução do estímulo doloroso em 70% ($p < 0,0001$), em seguida reduzindo o tempo de lambidas (82% $p < 0,0001$). O AEMc mostrou efeito analgésico em ambas concentrações (67,5% e 72,9%, $p < 0,0001$). Os grupos que receberam os extratos apresentaram efeito antipirético após 30 minutos da administração, com resultados similares ao controle positivo ($p < 0,0001$). O extrato AEMc apresentou resultados significativos nas atividades antioxidantes e nas atividades anti-inflamatória e antinociceptiva, confirmando as ações biológicas e demonstrando o potencial do extrato para o desenvolvimento de novos fitoterápicos com potencial farmacológico.

Palavras-chave: *Myrciaria cauliflora*, casca, antinociceptivo, antioxidante, atividade biológica.

Abstract

Chronic noncommunicable diseases (NCDs) account for 70% of the world's deaths. There are urgent alternatives to reduce this problem. The biological potential of the bark of the *M. cauliflora* fruit was evaluated. In the anti-inflammatory test, the groups (200mg / kg and 400mg / kg) obtained a reduction in the amount of the antioxidant activity in the tested samples (Flavonoids, phenolic compounds, (% TAC), DPPH (%), ABTS (67.5% and 72.9%, $p < 0.0001$). The AEMc showed analgesic effect in both concentrations (67.5% and 72.9%, $p < 0.0001$) The extracts showed antipyretic effect after 30 minutes of administration, with results similar to the positive control ($p < 0.0001$). The AEMc extract presented significant results in the antioxidant activities and in the anti-inflammatory activities and antinociceptive, confirming the biological actions and demonstrating the potential of the extract for the development of new phytotherapies with pharmacological potential.

Key words: *Myrciaria cauliflora*, bark, antinociceptive, antioxidant, biological activity.

Introdução

Apesar dos avanços científicos na produção de medicamentos sintéticos estima-se que as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) sejam responsáveis por cerca de 38 milhões de mortes anuais, sendo 80% em países de baixa e média renda. A Assembléia da Organização das Nações Unidas (ONU) em 2015 adotou um conjunto de metas, com objetivo de reduzir em um terço a mortalidade prematura a fim de promover o bem estar e a saúde mental dos indivíduos até 2030 ⁽¹⁾. No entanto, as DCNT geralmente descompensam e favorecem o surgimento de outras patologias, aumentando a demanda de internações e de reinternações hospitalares, onde se verifica que o estresse oxidativo, dor, inflamação e níveis elevados de glicose, de colesterol e de triglicerídios, agravam e dificultam o quadro de melhora desses indivíduos ^(2,3,4,5,6).

A injúria oxidativa está associada à etiologia das DCNT. Mudanças no perfil lipídico (glicose e colesterol altos e HDL-c baixo) têm sido associadas com estresse oxidativo, devido ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e a diminuição da capacidade antioxidante, promovendo o agravamento dessas doenças e gerando sofrimento e diminuição da qualidade de vida ^(7,8,9).

Nos Estados Unidos, 126 milhões de americanos sofrem de algum tipo de dor, dos quais 25 milhões relataram ter sentido dor durante todos os dias nos últimos três meses ^(10,11). No Brasil, a prevalência de dor é de aproximadamente 39%, representando cerca de quase 80% da procura por atendimentos em emergências, acarretando maior uso dos serviços de saúde e predisposição ao desenvolvimento de transtornos mentais ^(12,13,14,15). O aumento da prevalência ocorre principalmente

devido às condições socioeconômicas precárias, falta de políticas públicas de saúde adequadas e até mesmo falhas no processo de avaliação médica ^(16,17,18).

Para amenizar esses sintomas a população recorre aos analgésicos e anti-inflamatórios, desconsiderando restrições de indicação, efeitos adversos e interações medicamentosas, elevando os riscos para overdose e morte. Desde 1999, de acordo com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças, a quantidade de analgésicos vendidos nos Estados Unidos quase quadruplicou, estimando-se ainda 40 óbitos diários, como resultado de overdose de opióides por prescrição. Em 2010 no Brasil, ocorreram aproximadamente 16.651 mortes acidentais atribuídas a doses elevadas de analgésicos ⁽¹⁰⁾. A população encontra-se insatisfeita devido à dependência e aos os efeitos colaterais e toxicológicos decorrentes de fármacos ⁽¹⁹⁾, levando usuários do sistema público e privado de saúde a buscarem nas plantas medicinais estratégias com baixo custo e efetivas para tratar suas doenças ⁽²⁰⁾.

Uma planta nativa do Brasil, pertencente a família *Myrtaceae* que é considerada uma das mais importantes do gênero *Myrciaria* é a *Myrciaria cauliflora* (O. Berg) ^(21,22,23,24). Devido aos seus frutos de casca escura, acredita-se que apresente uma grande quantidade de compostos fenólicos, como antocianinas, taninos e flavonoides ^(25,26,27), que são responsáveis do ponto de vista farmacológico por atividades anti-inflamatórias, analgésicas e antioxidantes ^(24,28,29,30), possuindo indicações na medicina popular para hemoptise, atuando também como antiasmática e anti-inflamatória ⁽³¹⁾.

A atividade de extratos da casca de *Myrciaria cauliflora* foi analisada por Reynertson ⁽³¹⁾ verificando potente ação anti-inflamatória, sendo esta também encontrada por Lima ⁽³²⁾. Efeito protetor em doenças cardiovasculares e na Diabetes melitus Tipo 2 foi verificado por Lenquiste ⁽³³⁾ em extratos da casca do fruto de

Myrciaria cauliflora, obtendo melhora da resistência à insulina em 57%. Outros estudos com extratos da casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* também demonstram resultados significativos, como potencial antidiarreico ^(31,32) e potencial antitumoral ^(34,35) demonstrando o potencial promissor da espécie.

Devido ao seu potencial biológico, estudos sobre os benefícios que a casca de seu fruto possa trazer à saúde humana são extremamente necessários ^(24,33,36). Diante do exposto, o presente estudo se propõe a investigar os potenciais biológicos antioxidante, anti-inflamatória e antipirética da casca do fruto de *M. cauliflora*.

2. Material e Métodos

2.1 Material Vegetal e Preparação dos Extratos Orgânicos

O fruto foi coletado em janeiro de 2015, no Sítio Oitero Torto em Vitória de Santo Antão, Pernambuco (8° 6' 50" S, 35° 17' 29" W; Latitude: -8.1018462; Longitude: -35.2402223; Altitude: 177m). A identificação foi feita pelo especialista Dárdano de Andrade Lima, do herbário do Instituto de Agronomia de Pernambuco (IPA) (No. 89978). As cascas de *M. Cauliflora* foram secas em estufa a 40°C e trituradas em liquidificador até formar um pó, que foi armazenado a -20°C. Posteriormente, o material foi submetido à extração por maceração à temperatura ambiente usando solventes orgânicos de polaridades crescentes: ciclohexano (CHMc), clorofórmio (CMc), acetato de etila (AEMc) e metanol (MMc), em uma proporção de aproximadamente 100g/1000 mL de solvente. Cada ciclo de extração durou 72 horas com três repetições para cada solvente. Após a filtração com papel de filtro Whatman nº1, os extratos foram concentrados em um rotaevaporador (Rotavapor Fisatom®) com temperatura de 40 °C.

2.2 Triagem Fitoquímica Preliminar

A triagem fitoquímica dos extratos vegetais foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD) ^(37,38). Alíquotas de 1mg/mL dos extratos foram colocadas em placas de cromatografia em sílica gel, usando sistemas de eluição e reveladores específicos para investigar as classes de alcaloides, cumarinas, derivados cinâmicos, flavonoides, iridóides, monoterpênicos, sesquiterpênicos, diterpênicos, proantocianinas, fenilpropanoglicosídeo, triterpênicos e esteroides.

2.3 Determinação dos Flavonoides

A determinação de flavonóides segue a metodologia proposta por Woisky e Salatino ⁽³⁹⁾, onde alíquotas de 0,5 mL de amostras diluídas, foram adicionadas a 0,5 ml de (w/v) de solução preparada em metanol a 2% AlCl₃. Após 30 minutos de incubação em temperatura ambiente e protegida da luz, a absorbância foi medida a 420 nm, em triplicata. Os resultados foram expressos em miligramas de quercetina equivalente (mg QE)/g de peso seco do extrato vegetal.

2.4 Determinação dos Compostos Fenólicos Totais

O conteúdo fenólico total foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu por Li *et al.* (2008) onde 200µL da amostra diluída foram adicionados a 1mL de reagente de Folin-Ciocalteu diluído a 1:10. Após 4 min, 800mL de solução de Carbonato de Sódio foi adicionada. Após 2h de incubação à temperatura ambiente e protegido da luz, a absorbância foi medida a 765 nm, em triplicata. O ácido gálico (0 - 500 mg / L) foi usado para calibração de curva padrão. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico (mg GAE) / g de peso seco da amostra.

2.5 Método DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil)

A capacidade sequestradora do radical livre DPPH dos extratos foi realizada de acordo com Brand-Williamse ⁽⁴⁰⁾ com algumas modificações. Para o reagente uma alíquota de 8,0 mg de DPPH foram dissolvidos em 200 mL de metanol para obter uma absorbância UV entre 0,6 - 0,7 a 517 nm, obtendo a solução de trabalho DPPH. Diferentes volumes dos extratos foram diluídos em metanol em diluição seriada e após 30 min de incubação em temperatura ambiente, protegida da luz, as absorbâncias foram lidas no mesmo comprimento de onda mencionado acima. As medições foram triplicadas e suas atividades de eliminação foram calculadas com base na porcentagem de DPPH capturado. Os resultados são expressos em TEAC, em mmol TEAC/g de amostra. Nesse ensaio, o resultado pode ser expresso também em IC₅₀, que é a concentração necessária do antioxidante para reduzir em 50% o radical DPPH.

2.6 Capacidade Antioxidante Total

A capacidade antioxidante total (%TAC) foi avaliada segundo Pietro ⁽⁴¹⁾ pelo ensaio de fosfomolibdênio. A uma alíquota de 0,1mL da amostra diluídas foi acrescentada 1,0mL do reativo fosfomolibdênio (0,498g de fosfato de sódio, 0,494g de molibdato de amônio, 40mL de água destilada e 60mL de ácido sulfúrico). Os tubos foram fechados e levados ao banho-maria a 95°C por 90 minutos, resfriados e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV a 695nm. Um branco foi constituído com 1,0mL da solução acrescentado a 0,1mL de metanol. A curva de calibração foi elaborada com ácido ascórbico. A atividade antioxidante foi expressa em relação ao (%) ácido ascórbico.

2.7 Método ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis)

O método utilizado foi descrito por Ree ⁽⁴²⁾ e modificado por Silva et al., (2012). Baseia-se na captura do radical ABTS^{•+}, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio. O composto cromógeno ABTS é formado pela adição de 5mL de solução estoque de ABTS, com 88µL de solução de persulfato de potássio, mantidos no escuro, à temperatura ambiente por 16 horas. O radical formado é diluído em álcool etílico até obter uma absorbância de 0,7 - 0,5 a 734nm, devendo ser usada em até 4 horas. As amostras foram diluídas em metanol na concentração de 1mg/mL e, logo em seguida, foram medidas em diferentes intervalos de tempo (6, 15, 30, 45, 60 e 120 min). Os valores de percentagem de inibição oxidativa foram calculados e plotados em função da concentração antioxidante de referência que foi o Trolox[®] (2-ácido carboxílico 6-hidroxi, 2,5,7,8-tetrametilcromo) foi utilizado como padrão de referência e expressa como capacidade antioxidante equivalente a Trolox (TEAC, µM). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

2.8 Animais

Foram utilizados camundongos machos, da espécie *Mus musculus*, pesando entre 25-30g para a realização das atividades analgésica e antipirética. Todos os animais foram submetidos à adaptação 72 horas antes de cada teste, randomizados de acordo com o peso e mantidos em condições padrão (temperatura 22 ± 2°C, humidade relativa de 30-70% com ciclo de luz/escurecimento controlado de 12 horas). Os animais tiveram acesso à água *ad libitum* antes dos experimentos. O acesso a alimentos comerciais (Purina Presence[®]) ficou livre para a atividade analgésica e, para a atividade antipirética foi realizado um jejum de 12h, antes dos experimentos.

Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Uso Animal (CEUA) do Centro de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Pernambuco / Brasil sob o nº do Processo N° 23076.005325/2015-95.

2.9 Atividade Hemolítica

As amostras de sangue (5-10mL) foram obtidas por punção venosa e colocadas em tubos heparinizados. Os eritrócitos humanos foram isolados por centrifugação a 1500 rpm durante 10 min e lavados três vezes com solução salina tamponada com fosfato (PBS, pH 7,4). Após a centrifugação, 1mL de eritrócitos foram diluídos em 99mL de salina. Uma alíquota de 1,1mL de suspensão de eritrócitos (0,1%) foi misturada a 0,4mL das amostras do EAEMc em várias concentrações (125-1000 µg/mL). O controle negativo e o controle positivo receberam 0,4mL de tampão fosfato-salina e de Triton X-100, respectivamente. Após 60min de incubação à temperatura ambiente, as células foram centrifugadas e o sobrenadante foi usado para medir a absorbância da hemoglobina liberada a 540nm. O valor médio foi calculado a partir dos ensaios em quadruplicata. A atividade hemolítica foi expressa em relação ao (%) do Triton X-100®.

2.10. Atividade Antinociceptiva

2.10.1 Teste da Formalina

O modelo de dor induzido pela formalina é um teste no qual ocorrem dois períodos distintos de resposta, sendo a primeira fase (neurogênica) e a segunda fase (inflamatória) Hunskaar e Hole ⁽⁴³⁾. Antes do experimento, os animais (n= 6 por grupo) foram aclimatizados por 24h. Os animais receberam veículo (salina, v.o.), extrato (200 mg/Kg, v.o.), extrato (400 mg/Kg, v.o.), indometacina (20 mg/kg, v.o.) e

morfina (10 mg/kg, v.o.). Após o período de uma hora, cada animal recebeu 20µL de solução de formalina à 2,5 % por via subplantar na pata traseira direita. Os camundongos foram observados e o tempo gasto (em segundos) lambendo e mordendo a pata injetada foi medido como um indicador de dor. Esta resposta foi mensurada durante 5 minutos (primeira fase, dor neurogênica) e entre 15 - 30 minutos após a injeção da formalina (segunda fase, dor inflamatória).

2.10.2 Dor abdominal induzida por Ácido Acético

A avaliação da atividade antinociceptiva foi realizada de acordo com o método descrito por Koster ⁽⁴⁴⁾ com modificações. Os camundongos foram divididos em quatro grupos com seis animais cada. A nocicepção foi induzida por ácido acético via intraperitoneal (0,1 mL/10g) 0,8%. Os animais foram tratados com o EAEMc (200mg/Kg, v.o.), (400mg/kg, v.o.), veículo (salina) ou Indometacina® (20 mg/kg) administrados por via oral (v.o.) 1 hora antes do agente nociceptivo. Após a injeção do ácido acético, o número de contorções abdominais foi registrado entre 5 - 20 minutos ⁽⁴⁵⁾.

2.11 Atividade Antipirética

Os animais foram divididos em quatro grupos com 8 animais. Todas as aferições de temperatura foram realizadas entre 08:00 e 17:00 horas, e a temperatura ambiente foi mantida entre 23±1°C. A temperatura corporal de cada animal foi aferida usando termômetro digital lubrificado, sendo inseridos 2,0 cm no reto do animal, durante 1 minuto. A pirexia foi induzida injetando 15% de suspensão aquosa de levedura de cerveja (10 mL/kg s.c.).

Todos os grupos foram jejuados durante a noite, mas tinham acesso livre ao consumo de água. Após 18h a temperatura retal de cada animal foi registrada. A indução de pirexia foi confirmada pelo aumento da temperatura maior do que 0,5°C. O Grupo I (controle negativo) recebeu solução salina (10 ml/kg) e o grupo II (controle positivo) recebeu Dipirona® (10 mg/kg) como medicamento padrão. Os outros dois grupos restantes foram tratados com o EAEMc nas concentrações 200 mg/kg e 400 mg/kg. Após a administração do tratamento, a temperatura retal foi registrada com 30 minutos e depois, periodicamente registrada a cada hora por 3h, de acordo com Winter et al (1962). A percentagem de redução na pirexia foi calculada pela seguinte fórmula: Redução percentual = $(T_a - T_b) / T_b \times 100$, onde T_a representa a temperatura corporal normal e T_b a temperatura após a injeção de levedura.

2.12 Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada pela aplicação da ANOVA e o teste Tukey visando identificar diferenças significativas entre as médias, usando o software Statistica® 6.0. O nível de significância considerado para a diferença entre as médias foi de 5% ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados apresentados como média \pm desvio padrão.

3. Resultados

3.1 Fitoquímica e Dosagem de Compostos Fenólicos e Flavonóides

A prospecção fitoquímica dos extratos do epicarpo de *M. cauliflora* (Tabela 1) identificou a presença de flavonoides, terpenos, esteroides, fenilpropanoglicosídeos e proantocianinas. Todos os extratos obtiveram reação positiva para flavonoides. A concentração de flavonoides e compostos fenólicos nos extratos orgânicos de *M.*

cauliflora revelou que o sistema de solvente acetato de etila, apresentou maior conteúdo dentre todos os extratos analisados, conforme Tabela 1.

3.2 Potencial Antioxidante

A atividade antioxidante (IC₅₀) e a capacidade antioxidante total (%TAC) são apresentadas na Tabela 3. Na medida de IC₅₀, foi verificado que os extratos AEMc e MMc apresentaram o melhor potencial de redução do radical DPPH em 50%, quando comparado ao padrão Trolox®. O ensaio da atividade antioxidante total (%CAT) realizado pelo fosfomolibdênio apresentou atividade antioxidante em todos os extratos, no entanto, os extratos AEMc, e MMc apresentaram as melhores atividades usando o ácido ascórbico como padrão. O ensaio de eliminação do radical DPPH, expresso em percentagem da redução do radical, foi apresentado na Figura 1. Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante, sendo o extrato AEMc o que apresentou os melhores resultados quando comparado ao padrão ácido gálico em todas as concentrações testadas.

3.3 ABTS^{•+}

Na avaliação da atividade antioxidante pelo radical ABTS conforme a Tabela 4, todos os extratos apresentaram percentual de redução acima de 60%, quando comparado ao padrão Trolox®, sendo o AEMc o que obteve a ação mais satisfatória.

3.4 Citotoxicidade

Devido aos melhores resultados apresentados e potencial promissor o extrato orgânico de AEMc foi escolhido para a realização dos testes *in vivo*. A citotoxicidade

do mesmo em 1mg/mL apresentou resultado muito baixo em comparação ao padrão Triton x-100® (1,7%).

3.5 Antinocicepção

3.5.1 Teste da Formalina

Na primeira fase do teste, os grupos de tratamento com AEMc obtiveram redução do estímulo doloroso em 70%, muito parecido com o controle positivo desta fase, que foi a morfina conforme Figura 2. A morfina não apresentou 100% de analgesia devida a sua administração ter sido por via oral e pelo estresse que é normalmente causado durante o teste. Os grupos que receberam naloxona tiveram redução do potencial analgésico; assim, apresentando resultados parecidos com o grupo veículo e indicando a relação da via opióide no potencial analgésico gerado por AEMc.

Durante a segunda fase do teste, os camundongos que receberam o extrato orgânico de AEMc de *M. cauliflora* tiveram o tempo de lambidas reduzido em 82%, permanecendo acima do controle desta fase que foi a indometacina (70%), e abaixo da morfina (90%). Camundongos dos grupos veículo e morfina que receberam naloxona se mantiveram com altos estímulos dolorosos, enquanto os animais que foram tratados com AEMc e naloxona ainda conseguiram reduzir a dor em 50%, mostrando que a via antiinflamatória de redução da dor foi ativada pelos tratamentos. Em ambas as fases, não houve diferença significativa entre as doses.

3.5.2 Dor abdominal induzida por Ácido Acético

Animais tratados com 200 mg/kg e 400 mg/kg de AEMc obtiveram 67,5% e 72,9% de redução no número de contorções em comparação ao grupo controle

negativo, respectivamente. Apesar de variar em quase 10% na redução da dor, não houve diferença estatística nas doses de tratamento conforme observado na Figura 4. Os animais tratados com indometacina (controle positivo) tiveram 78,3% de redução nas contorções, mas não apresentou diferença estatística quando comparados com grupos que receberam AEMc.

3.6 Antipirexia

Os grupos que receberam AEMc em ambas as doses (200 mg/kg e 400 mg/kg), apresentaram efeito antipirético após 30 minutos da administração por via oral do extrato. Estes animais ainda conseguiram retornar à temperatura basal a partir da primeira hora posterior à administração dos tratamentos e se mantiveram estáveis até o término do experimento. Os tratamentos com AEMc obtiveram resultados similares ao controle positivo, dipirona. Não houve diferença estatística na resposta antipirética entre as doses do extrato (Figura 3).

4. Discussão

De acordo com a análise fitoquímica, os compostos fenólicos mais altos em todos os extratos foram flavonóides, fenilpropano glicosídeos e proantocianinas. Estudos recentes, com as espécies *Euterpe oleracea*; *Myrciaria cauliflora*; *Myrciaria dubia*, *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini* demonstraram a presença de grande quantidade de compostos fenólicos nas cascas dessas frutas, principalmente nos frutos da família *Myrtaceae*, destacando também a capacidade antioxidante desses frutos, enfatizando o potencial biológico dessas substâncias na promoção da saúde (33,46,47,48).

Todos os extratos apresentaram expressiva quantidade de compostos fenólicos e flavonóides, variando em suas concentrações, conforme Tabela 2. De acordo com o coeficiente de correlação de Pearson, existe uma correlação positiva entre compostos fenólicos e flavonóides ($r = 0,842$, $p < 0,05$). O AEMc apresentou a maior concentração dessas substâncias, sendo confirmado pela análise fitoquímica. Vários autores confirmam nossos achados relatando que os teores mais altos de flavonóides em frutos de jabuticaba estão presentes na casca ^(27,28,49,50) destacando ainda que além de apresentar elevados teores de compostos fenólicos, a casca apresenta elevados teores de fibras alimentares e sais minerais em relação a outras frações do fruto, enfatizando seu potencial nutricional. O elevado conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides se justificam porque as cascas da jabuticaba apresentam alto teor desses compostos, dentre eles as antocianinas, responsáveis pela cor do fruto ^(51,52,53).

O teor de compostos fenólicos encontrado em nosso estudo foi superior ao encontrado por Araújo ⁽⁵⁴⁾ ao analisar a casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* em quatro extrações diferentes (4:1 metanol-água, 4:1 etanol-água, 3:2 etanol-água e 3:2 acetona-água). Essa variação pode ser atribuída à variabilidade genética e as condições edafoclimáticas da planta. Segundo Costa ⁽⁵⁵⁾, a solubilidade dos compostos fenólicos em um determinado solvente é uma característica peculiar da composição química da planta ou da fruta, o que explica a inexistência de um procedimento universal padrão, apontando para a necessidade de seleção criteriosa do método de extração para cada fonte natural de antioxidante.

Segundo Chi ⁽⁵⁶⁾ devido à complexidade das substâncias químicas presentes é necessário fazer a avaliação da capacidade antioxidante da amostra por, pelo menos, dois métodos. Nosso estudo realizou três ensaios antioxidantes. O potencial

antioxidante DPPH demonstrou que todas as amostras quando comparadas aos padrões Trolox® e Ácido gálico® apresentaram atividade antioxidante acima de 70% (1 mg/mL). O AEMc mesmo na concentração de 0,0625mg/mL, manteve atividade antioxidante acima de 50%. Na medida de IC₅₀, o AEMc obteve excelente potencial de redução do radical DPPH comparado ao padrão Ácido gálico conforme apresentado na Figura 3. Na avaliação da %TAC e ABTS, o AEMc, se manteve apresentando o melhor percentual de todos os extratos, ressaltando seu potencial promissor. Esses resultados foram esperados devido à concentração dos compostos bioativos relatados anteriormente na fitoquímica e na dosagem de compostos fenólicos e flavonóides. Diversos estudos corroboram com nossos resultados, quando mencionam que a capacidade antioxidante é fortemente relacionada com o teor de compostos fenólicos totais presentes ^(29,54,57,58), sendo confirmado pelo coeficiente de correlação de Pearson, ($r = 0,962, p < 0,05$).

Uma vez apresentado o potencial antioxidante do extrato, tornou-se importante saber se o mesmo poderia apresentar atividade citotóxica. Na concentração padrão de 1 mg/mL, o extrato apresentou baixa atividade hemolisante, permanecendo baixo mesmo quando testado numa concentração 4 mg/mL ⁽⁵⁹⁾, evidenciando que o extrato é seguro para sua utilização.

No teste de contorção as concentrações do extrato AEMc 200 mg/Kg (67,5%) e 400 mg/Kg (72,9%) inibiram significativamente a dor produzida por ácido acético ($p < 0,0001$) ^(60,61). Na primeira fase do teste da formalina, as concentrações foram dose-dependente e apresentaram efeitos inibitórios tão bons quanto à morfina ($p < 0,0001$). Na segunda fase, os animais que receberam o extrato orgânico, em ambas as concentrações, tiveram o tempo de lambidas reduzido em 82%, sendo superior à indometacina ($p < 0,0001$). Os resultados obtidos indicam que o efeito

nociceptivo do AEMc seria devido a sua alta concentração de flavonoides e compostos fenólicos, que auxiliam na inibição da síntese de prostaglandinas e diminuição da sensibilidade de receptores nociceptivos periféricos ^(48,62); demonstrando o alto potencial antioxidante e antinociceptivo presente no fruto de *M. cauliflora* ^(24,54,63,64).

Foi verificado que o AEMc retirou os animais do estado febril após 30 minutos de sua administração e com comportamento semelhante a dipirona® retornando à temperatura basal a partir da primeira hora posterior à administração dos tratamentos, se mantendo estáveis até o término do experimento. Não houve diferença estatística nas concentrações de 200mg/kg e 400mg/kg, indicando que independente da dose, a ação antipirética será a mesma. Rauf ⁽⁶⁵⁾ em seu estudo com extratos bruto e frações (Hexano, clorofórmio, acetato de etila e butanol) de *Diospyros lotus* L. verificou que o extrato de acetato de etila apresentou o melhor efeito antipirético (73%), mantendo o efeito durante todo o tempo do teste (5h).

Esses resultados se justificam e corroboram com o estudo de Neves ⁽²⁴⁾ onde menciona que a casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* apresenta grande potencial anti-inflamatório, por atuar na inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias e na modulação de células envolvidas no processo inflamatório.

5. Conclusão

Todos os extratos orgânicos da casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* apresentaram atividade antioxidante em todos os métodos analisados. O extrato de acetato de etila apresentou resultados significativos nas atividades antioxidantes e nas atividades anti-inflamatória e antinociceptiva, confirmando as ações biológicas e demonstrando o potencial do extrato para o desenvolvimento de novos fitoterápicos com potencial farmacológico.

Agradecimentos:

Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE). Todos os autores contribuíram para o projeto experimental, coleta de dados, análises estatísticas e escrita em papel deste estudo

Referências

1. Malta DC, França E, Abreu DMX, Perillo RD, Salmen MC, Teixeira R A, Passos V Souza MFM, Mooney M, Naghavi M. Mortality due to noncommunicable diseases in Brazil, 1990 to 2015, according to estimates from the Global Burden of Disease study. **São Paulo Med J.** 2017, 135, 213-221.
2. Gritti CC, Bene AZ, Pinheiro DM, Bianchin MA, Lamari NM. Doenças Crônicas Não Transmissíveis e Antecedentes Pessoais em Reinternados e Contribuição da Terapia Ocupacional. **Cad Saúde Colet.** 2015, 23 (2), 214-219.
3. Barnes J. **Fitoterápicos.** 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 720p.
4. Araújo TFS, Lima VLM, Santos BS. Investigação de Distúrbios Metabólicos Associados à Hiperuricemia; Atividades Biológicas de *Myrciaria cauliflora*, *Crataeva tapia* e *Indigofera suffruticosa*. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Bioquímica e Fisiologia, 2015.169p.
5. Burt FJ, Chen W, Miner JJ, Lenschow DJ, Merits A, Schnettler E, Kohl A, Rudd PA, Taylor A, Herrero LJ, Zaid A, Lisa FPNG, Mahalingam S. Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen **The Lancet Infectious Diseases.** 2017, 17, 107-117.
6. Tamura KM, Nascimento LPR. Cultura Popular e Ciência no Registro de Fitoterápicos. **Revinter.** 2017, 10, 2, 122-133.
7. Macfarlane GJ. The epidemiology of chronic pain. **PAIN.** 2016, 157, Picture.

8. Coqueiro AY, Godois AM, Raizel R, Tirapegui J. Creatina Como Antioxidante em Estados Metabólicos Envolvendo Estresse Oxidativo. **Rev Br Prescrição Fisiologia do Exercício**. 2017, 11 (64):128-137.
9. Kent ML. et al. The ACTION–APS–AAPM Pain Taxonomy (AAAPT) Multidimensional Approach to Classifying Acute Pain Conditions. **The Journal of Pain**. 2017, 18, 479-489.
10. Nahin RL. Estimates of Pain Prevalence and Severity in Adults: United States 2012. **The Journal of Pain**. 2015, 16, 769-780.
11. Fayaz A, Croft P, Langford RM, Donaldson LJ, Jones GT. Prevalence of chronic pain in the UK: a systematic review and meta-analysis of population studies. **BMJ Open**. 2016, 6, 1-12.
12. Vidor CR, Mahmud MAI, Farias LF, Silva CA, Ferrari JN, Come JC, Zanini M, Nery RM, Santos AC, Stefani MA. Prevalência de dor osteomuscular em profissionais de enfermagem de equipes de cirurgia em um hospital universitário. **Acta Fisiatr**. 2014, 21, 6-10.
13. Luz EMF, Magnago TSBS, Greco PBT, Ongaro JD, Lanes TC, Lemos JC. Prevalência e fatores associados à dor musculoesquelética em trabalhadores do serviço hospitalar de limpeza. **Texto Contexto Enferm**. 2017; 26 (2).
14. Pereira FG, França MH, Paiva MCA, Andrade LH, Viana MC. Prevalence and clinical profile of chronic pain and its association with mental disorders. **Rev Saude Pública**. 2017, 51: 96.
15. Souza JB, Grossmann E, Perissinotti DMN, Junior JOO, Fonseca PRB, Posso IP. Prevalence of Chronic Pain, Treatments, Perception, and Interference on Life Activities: Brazilian Population-Based Survey. **Pain Research and Management**. 2017, 1-9.

16. Segurado AC, Cassenote AJ, Luna EA. Saúde nas metrópoles – Doenças infecciosas. **Estudos Avançados**. 2016, 30, 86.
17. Gilmour H, Ramage-Morin PL, Wong SL. Multiple sclerosis: Prevalence and impact. **Health Reports**. 2018, 29, 3-8.
18. Zwizwai R. Infectious disease surveillance update. **The Lancet Infectious Diseases**. 2018, 18 (7).
19. Batista LM, Valença AMG. A Fitoterapia no Âmbito da Atenção Básica no SUS: Realidades e Perspectivas. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**. 2012, 12, 293-96.
20. Caccia-Bava MCGG, Bertoni BW, Pereira AMS, Martinez EZ. Disponibilidade de medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais nas unidades de atenção básica do Estado de São Paulo: resultados do Programa Nacional de Melhoria do Acesso e da Qualidade da Atenção Básica (PMAQ). **Ciência & Saúde Coletiva**. 2017, 22, 1651-1659.
21. Danner MA; Citadin I; Junior A A, F, Assmann AP, Mazaro S, Donazzolo, J, Sasso SAZ. Enraizamento de Jaboticabeira (*Plinia trunciflora*) por Mergulhia Aérea. **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP**. 2006, 28, 3, 530-532.
22. Santos DT, Angela M, Meireles A.. Optimization of bioactive compounds extraction from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins assisted by high pressure CO₂. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 2011,12, 398–406.
23. Leite-Legatti AV, Batista AG, Dragano NRV, Marques A C, Malta LG, Riccio MF, Eberlin M N, Machado ART, Carvalho-Silva LB, Ruiz ALTG, Carvalho JE, Pastore GM, Maróstica Junior MR. Jaboticaba Pell: Antioxidant compounds,

- Antiproliferative and Antimutagenic Activities. **Food Research International**. 2012, 49, 596-603.
24. Neves NA, Stringheta, PC, Gómez-Alonso S, Hermosín-Gutiérrez I. Flavonols and ellagic acid derivatives in peels of different species of jaboticaba (*Plinia* spp.). (2018). identified by HPLC-DAD-ESI/MSn. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.078> (In Press).
25. Reynertson KA, Yang H, Jiang B, Basile MJE, Kennelly EJ. Quantitative Analysis of Antracene Phenolic Constituents from Fourteen Edible *Myrtaceae* Fruits. **Food Chemistry**. 2008, 109, 4, 883-890.
26. Alezandro M R, Dubé P, Desjardins Y, Lajolo FM, 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**. 2013, 54, 468-477.
27. Silva MC, Souza VB, Thomazini M, Silva ER, Smaniotto T, Carvalho RA, Genovese MI, Favaro-Trindade CS. Use of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. **Food Science Technology**. 2014, 55, 203-209.
28. Cavalcanti R.N, Veggi PC, Meireles MAA. Supercritical fluid extraction with a modifier of antioxidant compounds from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) byproducts: economic viability. **Procedia Food Science**. 2011, 1, 1672–8.
29. Seraglio SKT, Schulz M, Nehring P, Betta FD, Valesse AC, Daguer H, Gonzaga LV, Fett R, Costa ACO. Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening, **Food Chemistry** (2017), doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.118>.

30. Donado-Pestana CM, Moura MHC, Araujo RL, Santiago GL, Barros HRM, Genoves MI. Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications, *COFS*. (2018) <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.001>.
31. Reynertson KA, WALLACE AM, ADACHI S, GIL RR, YANG H; BASILE M J, ARMIENTO J D, WEINSTEIN B, KENNELLY EJ. Bioactive Depsides and Anthocyanins from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **J. Nat. Prod.** 2006, 69, n.1228-1230.
32. Lima AJB, Corrêa AD, Alves APC, Abreu CMP, Dantas-Barros, AM. Caracterização Química do Fruto de Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas Frações **Arq Latinoamericanos Nutrição**. 2008, 58, 4.
33. Lenquiste SA, Batista AG, Marineli RS, Dragano NRV, Maróstica Jr, MR. Freeze-dried Jaboticaba Peel Added to High-fat Diet increases HDL-cholesterol and Improves Insulin Resistance in Obese Rats. **Food Research International**. 2012, 49, 153-160.
34. Leite AV, Malta LG, Riccio MF, Eberlin MN, Pastore GM, Júnior MRM. Antioxidant Potential of Rat Plasma by Administration of Freeze-Dried Jaboticaba Peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). **J. Agric. Food Chem.** 2011, 59, 2277–2283.
35. Wang W-H, TyanY-C, Chen Z-S, Lin C-G, Yang, M-H, Yuan, S-S, Tsai WC. Evaluation of the Antioxidant Activity and Antiproliferative Effect of the Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seed Extracts in Oral Carcinoma Cells. **BioMed Research International**. (2014). <http://dx.doi.org/10.1155/2014/185946>.

36. Couto VM, Vilela FC, Dias DF, Santos MH, Soncini R, Nascimento CGO, Giusti-Paiva A. Antinociceptive effect of extract of *Emilia sonhifolia* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**. 2011, 134, 348-353.
37. Wagner H, Bladt S. **Polyphenols**. In: _____. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. 2.ed. Heidelberg: Springer. 1995, 22-24.
38. Harborne JB. "**Phytochemical Methods**". *Chapman & Hall*. London, 60-66. 1998.
39. Woisky RG, Salatino A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **J Apic Res**. 1998, 37, 99–105.
40. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT. Food Sci Technol**, 28, 25–30.
41. Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Anal Biochem**, 269, 337–41.
42. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic Biol Med**. 1999, 26, 1231–1237.
43. Hunskar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**. 1987, 30, 103-114.
44. Koster R, Anderson M, De Beer E J. Acetic Acid for analgesic screening. **Federation Proceedigs**. 1959, 18, 412-4.
45. Queiroz AC, Lira DP, Dias TLMF, Souza ET, Matta CBB, Aquino AB, Silva LMAC, Silva DJC, Mella EAC, Agra MF, Barbosa Filho JM, Araujo-Júnior JX, Santos, BVO, Alexandre-Moreira, M.S, 2010. The antinociceptive and anti-

- inflammatory activities of *Piptadenia stipulacea* Benth. (*Fabaceae*). **Journal of Ethnopharmacology**, 128, 377-383.
46. Wu, S-B, Dastmalchi K, Long C, Kenelly, EJ.. Metabolite Profiling of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other Dark-Colored Fruit Juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2012, 60, 6513-7525.
47. Costa AGV, Garcia-Diaz DF, Gimenez P, Silva PI. Bioactive Compounds and Health Benefits of Exotic Tropical Red-black Berries. **Journal of Functional foods**. 2013, 5, 539-549.
48. Engin AB, Tsatsakis AM, Tsoukalas D, Engin A.. Do flavanols-rich natural products relieve obesity-related insulin resistance?. **Food and Chemical Toxicology**. 2017, 112, 157-167.
49. Castro VC, Silva PHA, Oliveira EB, Stephane Desobry S, Humeau C. Extraction, identification and enzymatic synthesis of acylated derivatives of anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) fruits. **International Journal of Food Science and Technology**. 2013, 1-9.
50. Boari-Lima A J, Corrêa, AD, Saczk AA, Martins MM, CATILHO, RO. Anthocyanins, Pigment Stability and Antioxidant Activity in Jaboticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]. **Rev Bras Frutic**. 2009, 33 (3): 877 - 887.
51. Wu S-B, Long C, Kenelly EJ. Phytochemistry and Health Benefits of Jaboticaba, an Emerging Fruit Crop From Brazil. *Food Research International*. 2013, 54, 148-159.
52. Fujita A, Sarkar D, Wu S, Kennelly E, Shetty K, Genovese MI, A. Fujita et al. Evaluation of phenolic-linked bioactives of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. **Food Research International**. (2015) <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.009>.

53. Plaza M, Batista AG, Cazarin CBB, Sandahl M, Turner C, Östman E, Maróstica
54. Júnior MR. Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: a pilot clinical study, **Food Chemistry** (2016), doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.142>.
55. Araújo CRR, Silva TM, Villela MLP, Alcântara AFC, Dessimoni-Pinto, NAV. Total antioxidant capacity, total phenolic content and mineral elements in the fruit peel of *Myrciaria cauliflora*. **Braz. J. Food Technol.** Campinas, 16, 301-309.
56. COSTA NMB; ROSA COB. **Alimentos Funcionais**. Viçosa(MG): UFV, Ed. Newton Paiva, 2006. 202 p.
57. Choi, C.W., Kim, S.C., Hwang, S.S., Choi, B.K., Ahn, H.J., Lee, M.Y., Park, S.H., Kim, S.K. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci*, 2002, 163, 1161-1168.
58. Santos, D.T.; Veggi, P.C.; Meireles, M.A.A. Extraction of antioxidant compounds from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation, *Journal of Food Engineering*. 2010, 101, 23–31.
59. Costa, F.I.B., Porfirio, M.C.P., Oliveira, J.B., Santana, G.A., Lage, R.S., Silva, M.V. Avaliação fitoquímica e screening da capacidade antioxidante de resíduos de umbu. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, 2015, 17, 341-348.
60. OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Quality control methods for medicinal plants methods, 1998, 41 – 43.

61. Duarte, I.D.G., Ferreira-Alves, D.L, Nakamura-Craig, M, 1992. Possible participation of endogenous opioid peptides on the mechanism involved in analgesia by vouacapan. *Life Sci.* 1992; 50:891-897.
62. Huang, G-J., HuanG, M.H., Chi, C-S., Huang, S-S., Shie, P-H., Yen, M-T., Wang, B-S. Analgesic and anti-inflammatory activities of aqueous extracts of fructus *Ligustri fucidi*. **Journal of Food and Drug Analysis**, 2012, 20, 617-627.
63. Lago, J.H.G., Toledo-Arruda, A.C., Mernak, M., Barrosa, K.H., Milton A. Martins, M.A., Tibério, I.F.L.C., Prado, C.M. Structure-Activity Association of Flavonoids in Lung Diseases. **Molecules**, 2014, 19, 3570-3595.
64. Rodrigues, S., Fernandes, F.A.N., Brito, E.S., Sousa, A.D., Narain, N. Ultrasound extraction of phenolics and anthocyanins from jabuticaba peel. **Industrial Crops and Products**, 2015, 69, 400–407.
65. Donado-Pestana CM, Donado PRS, Daza LD, Belchiorb T, Festuccia WT, Genovesea MI. Cagaita fruit (*Eugenia dysenterica* DC.) and obesity: Role of polyphenols on already established obesity. **Food Research International**, 2018, 103, 40–47.
66. Rauf, A.; Uddin, G.; Siddiqui, B.S.; Muhammad, N.; Haroon, K. Antipyretic and antinociceptive activity of *Diospyros lotus* L. in animals. **Asian Pac J Trop Biomed**, 2014, 4(Suppl1): S382–S386.

Tabela 1. Triagem fitoquímica de Extratos orgânicos de *M. cauliflora*.

Tests	Results			
	CHMc	CMc	AEMc	MMc
Alkaloids	-	-	-	-
Flavonoids	+	+	+	+
Monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes	+	-	+	+
Triterpens	+	-	+	+
Irydoids	-	-	-	-
Coumarins	-	-	-	-
Cinnamic Derivatives	-	-	-	-
Phenylpropanoids	+	+	+	+
Proanthocyanidins	-	-	+	+

Presente (+); Ausente (-).

Tabela 2. Dosagem de Flavonóides e Compostos fenólicos dos extratos orgânicos de *M. cauliflora*.

Extratos	Flavonóides (mgEQ/g amostra)	Compostos fenólicos (mgEAG/g amostra)
CHMc	21,00 ± 0,23	206,99 ± 0,70
CMc	96,39 ± 0,96	277,55 ± 0,42
AEMc	122,47 ± 0,58	447,73 ± 0,85
MMc	84,68 ± 0,79	380,14 ± 0,48

CHMc: Extrado Ciclohexânico; CMc: Extrato clorofórmico; AEMc: Extrato acetato de etila; MMc: Extrato Metanólico. QE: Equivalente de quercetina; GAE: Equivalente de ácido gálico. Valores expressos como média ± DP (p<0,001) = 3. ANOVA unidirecional seguido por teste de Tuckey. Pearson Correlation coeficiente (r=0,842, p<0.05).

Tabela 3. Dosagem da Capacidade Antioxidante Total (%TAC) e do DPPH (IC₅₀) dos extratos de *M. cauliflora*.

Extratos	%TAC⁽¹⁾	DPPH IC₅₀⁽²⁾
Orgânicos	(%)	(mg/mL)
CHMc	24,6 ± 0,07	0,890 ± 0,09
CMc	12,8 ± 0,13	0,430 ± 0,06
AEMc	57,8 ± 0,06	0,052 ± 0,08
MMc	33,61 ± 0,17	0,210 ± 0,04
AA	100,00 ± 0,26	
Ácido Gálico		0,007±0,03

CHMc: Extrado Ciclohexânico; CMc: Extrato clorofórmico; AEMc: Extrato acetato de etila; MMc: Extrato Metanólico. (1): Percentagem de capacidade antioxidante total expressa em relação ao ácido ascórbico (%TAC). (2):Valor de IC₅₀ de atividade de redução de radical DPPH (mg/mL). Valores expressos como média ± DP (p<0,001) = 3. ANOVA unidirecional seguido por teste de Tuckey. Pearson Correlation coeficiente (r=0,094, p<0.05).

Tabela 4. Capacidade Antioxidante (ABTS^{•+}) dos extratos orgânicos de *M. cauliflora*.

Extrato	CHMc	CMc	AEMc	MMc	TROLOX
Tempo	% Inibição				
6 min	61,2 ± 0,41	63,5 ± 0,38	71,5 ± 0,36	64,8 ± 0,79	98,8 ± 0,29
15 min	63,1 ± 0,72	65,8 ± 0,42	77,4 ± 0,45	67,8 ± 0,45	98,9 ± 0,52
30 min	63,6 ± 0,52	68,2 ± 0,69	80,1 ± 0,34	68,9 ± 0,16	99,7 ± 0,25
45 min	63,9 ± 0,76	69,1 ± 0,41	85,0 ± 0,29	70,1 ± 0,55	99,7 ± 0,45
60 min	64,1 ± 0,51	69,1 ± 0,33	88,0 ± 0,26	71,3 ± 0,41	99,7 ± 0,41

CHMc: Extrato Ciclohexânico; CMc: Extrato clorofórmico; AEMc: Extrato acetato de etila; MMc: Extrato Metanólico. Valores expressos como média ± DP (p<0,001) = 3. ANOVA unidirecional seguido por teste de Tuckey.

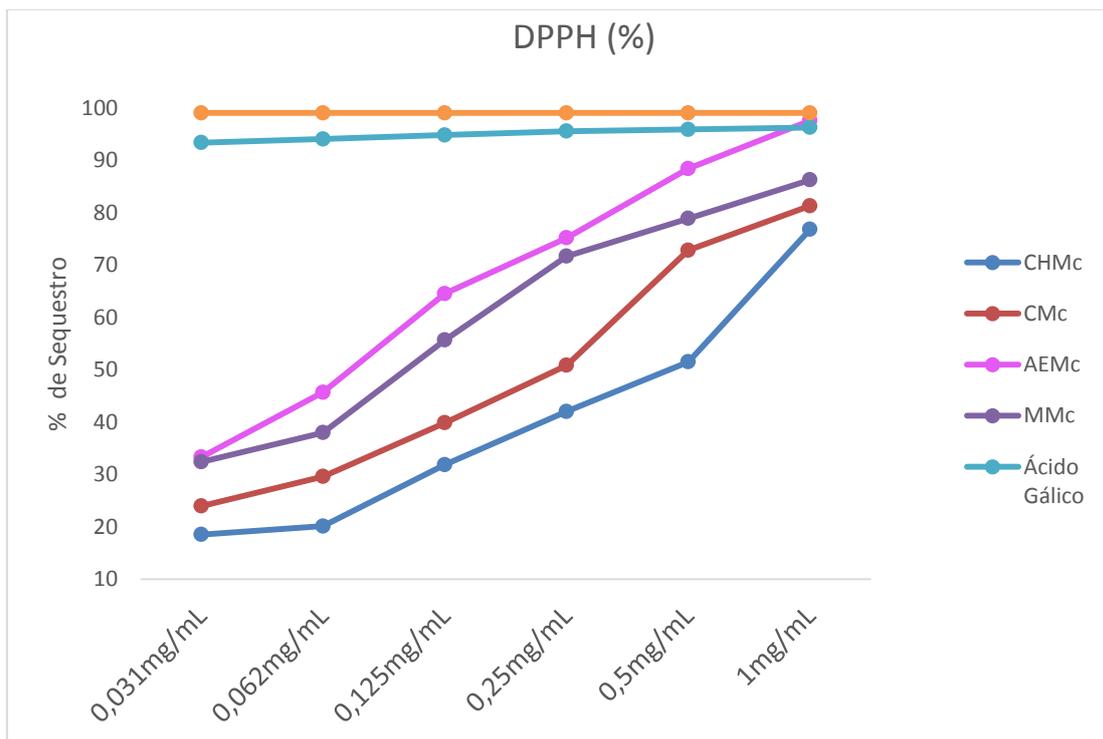


Figura 1. Atividade antioxidante pelo sequestro de radicais livres DPPH dos extratos orgânicos de *M. cauliflora*. DPPH - (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazil); CHMc – Extrato ciclohexânico; CMc – Extrato clorofórmico; AEMc – Extrato de Acetato de Etila; MMc – Extrato Metanólico. Valores expressos como média \pm DP ($p < 0,001$). ANOVA unidirecional seguido por teste de Tuckey.

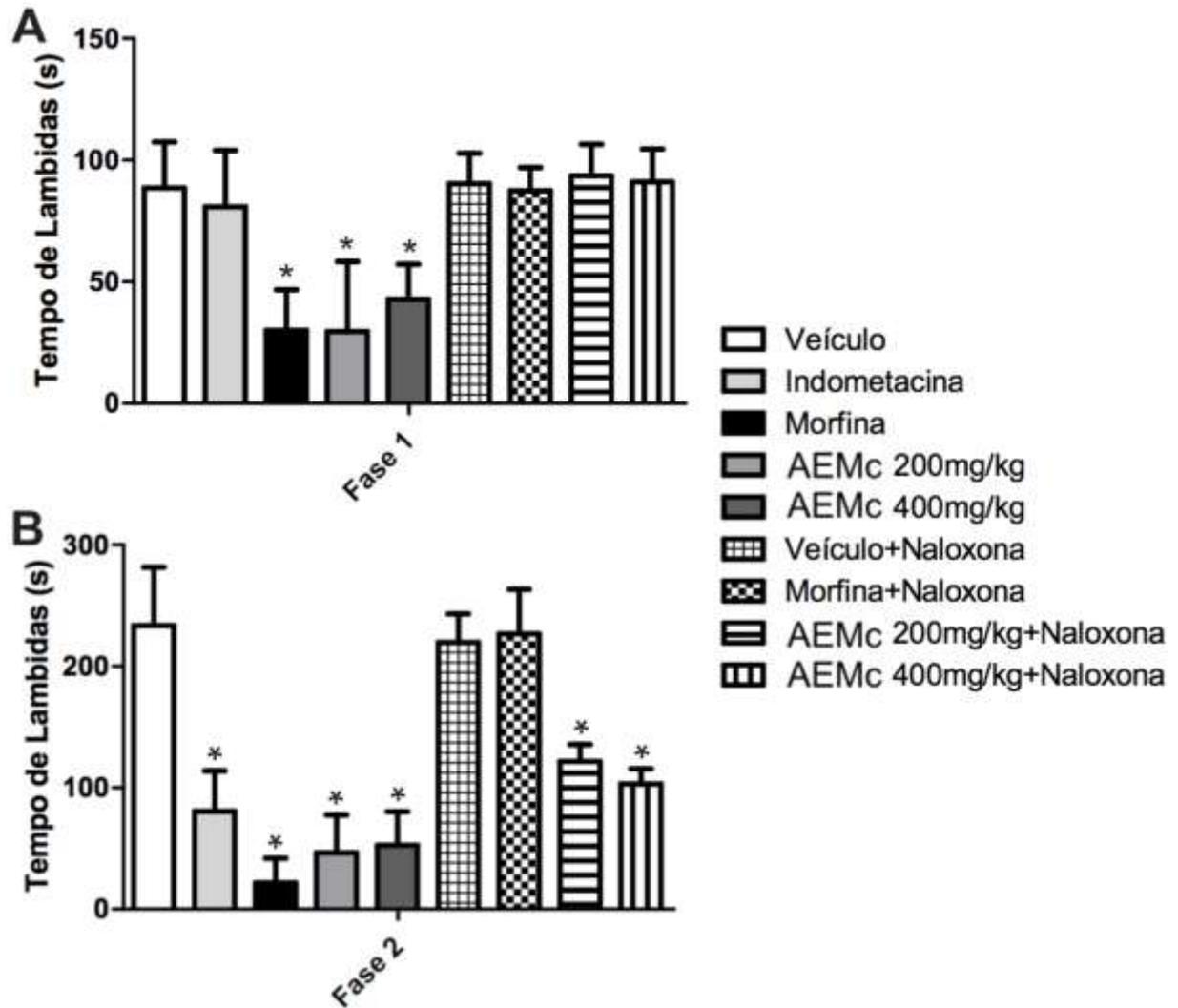


Figura 2. Analgesia por via inflamatória e opioide do extrato orgânico de *M. Cauliflora* no teste da formalina. A: Fase Neurológica: 0 a 5 minutos após injeção de 15 μ L de formalina 2,5% subplantar. B: Fase Inflamatória: 15 a 30 minutos após indução de dor. Veículo: 100 μ L de salina 0.9% (v.o); Indometacina: 20 mg/kg (v.o.); Morfina: 10 mg/kg (v.o); AEMc: Extrato de Acetato de Etila (v.o.); Grupos +Naloxona receberam 5mg/kg de Naloxona (i.p.) 15 minutos antes do início do teste. Valores expressos em média \pm desvio padrão. * $p < 0,001$ em comparação ao grupo, ANOVA unidirecional seguida por teste de Tuckey.

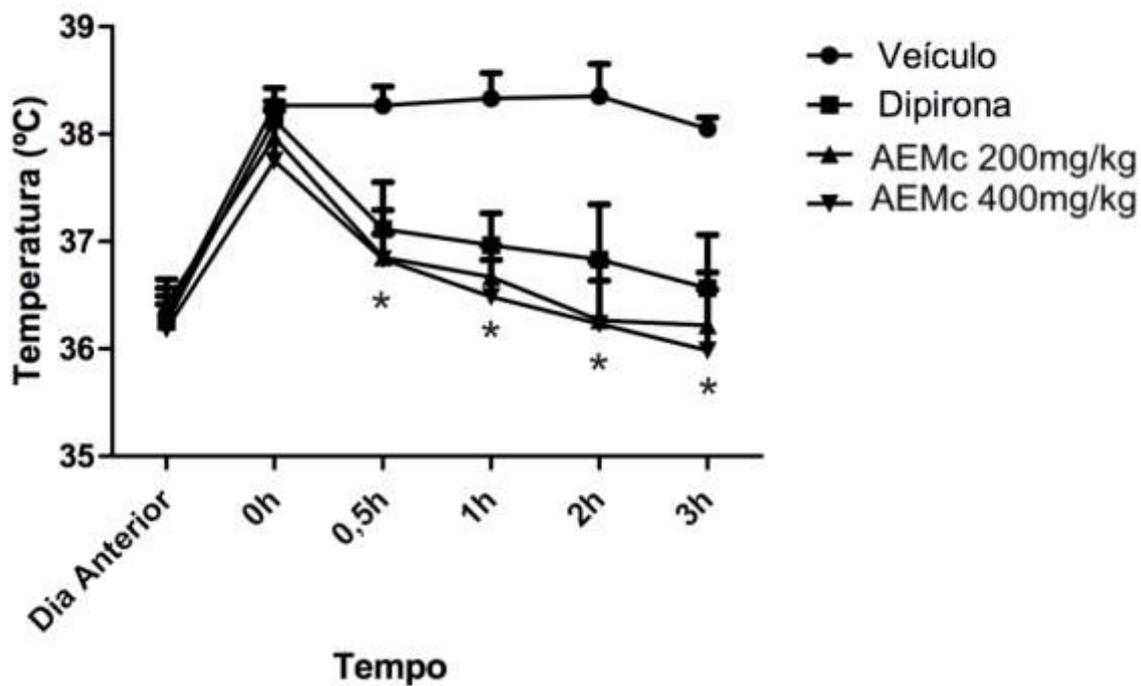


Figura 3: Efeito do extrato de acetato de etila de *M. cauliflora* na febre induzida por levedura. Dia Anterior: temperatura basal dos camundongos adultos utilizados. 0h: temperatura imediatamente após administração do tratamento. Veículo: 100 μ L de salina 0,9% (v.o); Dipirona: 100 mg/kg (v.o); AEMc: Extrato de acetato de etila de *Myrciaria cauliflora* (v.o). Valores expressos em média \pm desvio padrão. (* $p < 0,001$) em relação ao grupo Veículo. ANOVA bidirecional seguida por teste de Tuckey.

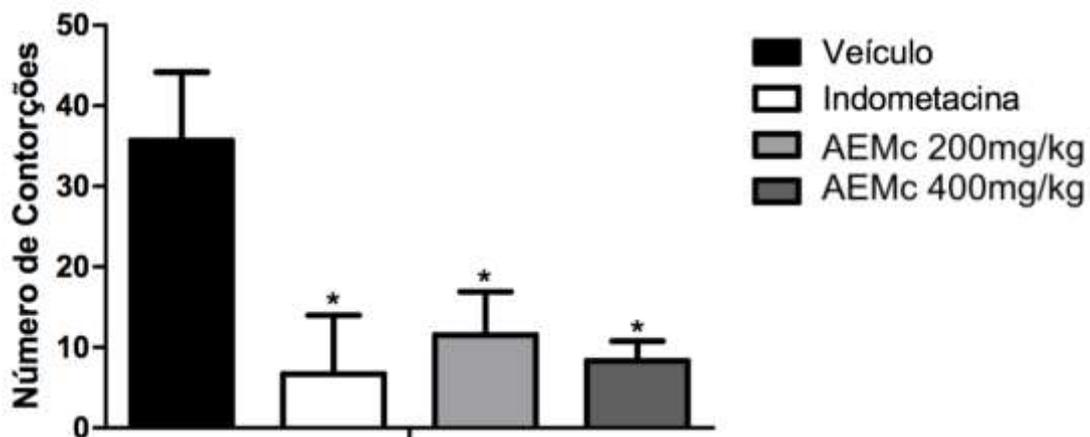


Figura 4: Atividade analgésica do extrato orgânico de *M. cauliflora* no modelo de nocicepção induzida pelo ácido acético em camundongos. Veículo: 100µL de salina 0.9% (v.o); Indometacina: 20 mg/kg (v.o.); EAEMc: Extrato de acetato de etila de *Myrciaria cauliflora* (v.o.). Valores expressos como média ± desvio padrão (*p<0,001) em relação ao grupo Veículo, ANOVA unidirecional seguida por teste de Tuckey.

ARTIGO 2

Antidiabetic effect of *Myrciaria cauliflora* (O. Berg) ethyl acetate extract in diabetic mice induced by Alloxan



Artigo para submissão ao periódico *FOOD AND CHEMICAL TOXICOLOGY* no formato *Original Research Article* (FI: 3,778; QUALIS CB II: A2).

Antidiabetic effect of *Myrciaria cauliflora* (O. Berg) ethyl acetate extract in diabetic mice induced by Alloxan

Tatiana Ferreira de Siqueira^a, José Guedes da Silva Júnior^a, Bianka Santana dos Santos^{a,b},
Vera Lúcia de Menezes Lima^a

^a Laboratório de Lipídios e Aplicação de Biomoléculas em Doenças Prevalentes e Negligencias, Departamento de Bioquímica. Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

^b Laboratório Morfofuncional, Curso de Medicina, Núcleo de Ciências da Vida, Centro Acadêmico do Agreste, Universidade Federal de Pernambuco, Rodovia BR-104, Km 62, 11 S/N, CEP 55014-908, Caruaru, PE, Brasil.

* Corresponding author:

Laboratório de Lipídios e Aplicação de Biomoléculas em Doenças Prevalentes e Negligencias, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Bairro: Cidade Universitária, CEP 50670-420, Recife-Pernambuco, Brasil, 55 8121268540 (218), e-mail: vlml@ufpe.br

Author Disclosure Statement

All authors disclose that they have no conflict of interest.

Abstract

Diabetes is a metabolic disorder that is among the top ten causes of death in Western countries. Phenolic compounds have been revealed as medicinal agents in the treatment and prevention of various diseases. Thus, the aim of the present study was to investigate the antihyperglycemic action of ethyl acetate extract of *Myrciaria cauliflora* (EMC). The ethyl acetate extract of fruit peel EMC was obtained, and orally administered to alloxan-induced diabetic mice at doses of 200 mg/kg/day and 400 mg/kg/day during 14 days. The results demonstrated that fasting blood glucose levels were significantly reduced by 23% and 40%; in the same way uric acid levels were significantly reduced by 37% and 28% after the treatment with 200 mg/kg/day and 400 mg/kg/day, respectively. Similarly, serum levels of creatinine, urea, triglycerides, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase were also significantly reduced by the treatment with both doses. Presented an affective hypoglycemic action in the first time intervals, reducing glycemia in 61% e 60%, after the treatment with 200 mg/kg/day and 400 mg/kg/day. The results observed in this study demonstrate that the ethyl acetate extracts of EMC at the concentrations of 200 mg/kg and 400mg/kg have efficient compounds in the reduction of hyperglycemia in animals with insulin - dependent diabetes induced by Alloxan.

Key Words: antidiabetic activity, anti- hyperuricemic activity, phenolic compounds, lipid profile.

1. Introduction

Diabetes mellitus is one of the most common and increasingly epidemic comorbidities. Presents a chronic evolution and therefore has worried the public health authorities worldwide. In addition to the negative impact on people with diabetes, it has financial impact on the health system, generating economic and social disorders (Amalan et al., 2016). This disease is characterized by an absolute or relative deficiency of insulin that directly affect the metabolism of carbohydrates, but also in the metabolic routes that involve lipids, proteins, vitamins and even minerals, presenting high morbidity and mortality for its patients. According to the International Diabetes Federation the incidence of this metabolic disorder is increasing and it is expected that by the year 2035 there will be about 591 million people with diabetes mellitus (International Diabetes Federation, 2017). Obesity, smoking, alcoholism and sedentary lifestyle contribute to the epidemiological growth of diabetes, conditions that are increasingly present in modern society, especially in developed and developing countries (Bertoglia et al., 2017).

The state of constant hyperglycemia may cause several complications to the patient with diabetes, such as nephropathy, neuropathy, agiopathy and retinopathy (Gopalakrishnan et al., 2015), mainly due to the absence or ineffective action of insulin in the liver, a central organism in lipid and glucose metabolism, with metabolic processes such as glycolysis and gluconeogenesis being altered mainly by a decrease in the hexokinase enzyme, 6- phosphatase and fructose-1,6-bisphosphatase, which culminates in a chronic hyperglycemia state (Copps et al., 2016; Ortmeyer et al., 2010). The activity of these enzymes is controlled by the action of insulin and the deficiency of this hormone leads directly to alterations in the metabolism of glycerides and lipids. Negative metabolic changes in lipid metabolism may lead to an increase in circulating fatty acids, leading to an accumulation of these lipids in the liver, in addition to generating a certain degree of toxicity to the pancreatic beta cell by lipotoxicity, corroborating to a worse prognosis of diabetes (Rocha et al., 2013). These changes in lipid metabolism caused by diabetes may be the triggering agent for diseases of the cardiovascular system, such as atherosclerosis, coronary insufficiency and acute myocardial infarction. Patients with diabetes present in most cases dyslipidemia with high indices of low density lipoproteins (LDL) and low density lipoproteins (VLDL), total cholesterol and triglycerides and a decrease of high density lipoproteins (HDL), creating a condition very favorable for the development

of chronic non-transmissible degenerative diseases that affect the cardiovascular system (Gunderson et al, 2014).

The impairment of the renal function of the diabetic patient is an increasingly common phenomenon in patients with this disease. The severity of this condition due to the importance of renal function can be very pronounced, leading to several secondary complications due to the decrease in glomerular filtration rate (Tuttle et al., 2014). The hyperglycemia state can lead to renal damage by distinct mechanisms such as via the polyol, which leads to the formation of sorbitol, a compound that leads to nephrotic injury, by non-enzymatic glycosylation, a mechanism by which glucose binds to amino groups of proteins forming glycosylation products, changes in the endothelium and even glycototoxicity. Renal damage begins with an intense hyperfiltration process, with elevation of glomerular filtration, which causes an increase in creatinine clearance and normal albuminuria levels, progressing to a state of chronic renal insufficiency with proteinuria and elevation of creatinine and urea (Piccoli et al., 2015).

Several studies have evaluated the action and therapeutic safety of oral hypoglycemic agents and, consequently, the search for new agents capable of reducing blood glucose levels. However, all these drugs have adverse effects such as edemas, gastrointestinal disorders, weight gain, hypoglycemia and induction of insulin resistance (Vasconcelos et al., 2011). In recent years, new therapeutic agents have been sought for the treatment of Diabetes (Wu et al., 2012). Natural products derived from plants, mainly phenolic compounds, have been used with positive results in the reduction of cholesterol and triglyceride levels, attenuating inflammatory responses, oxidative stress, as well as in the prevention of insulin resistance (Engin et al., 2018). It has been reported that *Myrciaria cauliflora* presents a large amount of phenolic compounds in its fruits, demonstrating the importance of studies to elucidate its biological potential (Fortes et al., 2012; Santos et al., 2010).

Thus, the objective of the present study was to investigate the antihyperglycemic action of ethyl acetate extract of *Myrciaria cauliflora* in different concentrations, compared to an induction model of type I diabetes mellitus.

2. Materials and methods

2.1 Chemicals.

Were purchased Alloxano mono-hidratado from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Insulina (Humolin N) was purchased from Lily (Brasil). Assay kits from creatinina, ureia, colesterol total, colesterol HDL, triglicerídeos e ácido úrico aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), were obtained from Labtest Diagnostica (Brasil). The solvents were obtained from Vetec (Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

2.2 Plant Material

The fruits of *M. cauliflora* were collected from the Vitória de Santo Antão City, PE, Northeastern of Brazil. After being selected, washed and sanitized with sodium hypochlorite (200mg/L) by immersion in 15 minutes, they were manually peeled and separated bark and pulp. *M. cauliflora* peels were oven dried at $(38 \pm 2^\circ\text{C})$ and ground in a blender to form a powder, which was stored at -20°C . The study plant has botanical identification card in the herbaria of the Agronomic Institute of Pernambuco (IPA) - Dardano de Andrade Lima, under the number of fall 89978. Popular Name: Jabuticabeira. Family: *Myrtaceae*. Name: *Myrciaria cauliflora* (DC.) O.Berg. Subsequently, the material was extracted by maceration at room temperature using organic solvents of increasing polarity: cyclohexane extract (ECHMc), chloroform extract (ECMc), ethyl acetate extract (EAEMc) and methanol extract (EMMc) approximately in proportion 100 g/1000mL of solvent. Each extraction cycle lasted 72 hours with three replicates for each solvent. After filtration with Whatman N.1 filter paper, the extracts were concentrated in rotary evaporator (Buchler Instruments, Fort Lee, NJ, USA) at temperature of 40°C . After yield determination, the samples were stored in flasks at -4°C .

2.3 Phytochemical Analysis

The extracts were qualitatively examined for phytochemicals: alkaloids, coumarins, cinnamic acid derivatives, flavonoids, phenylpropanoglycosides (Wagner and S. Bladt, 1996), monoterpenoids, sesquiterpenoids, diterpenoids, iridoids (Harborne, 1998) and proanthocyanidins (Robertson, 1957), respectively. The extract and standards were dissolved and prepared at the concentration of 1mg/mL and an aliquot (10 μL) applied on silica gel 60 - F254 chromatographic plates (Macherey-Nagel, Germany).

2.4 Animals

In this study Male Swiss white mice (*Mus musculus*), weighing 36 ± 5 g, 60-days-old, were obtained from the Department of Antibiotics of the Federal University of Pernambuco, Brazil. The animals were separated into groups (N= 8) and housed in cages at a temperature of $22 \pm 2^\circ\text{C}$, relative humidity 40%-60% and light and dark cycle of 12/12 h. The mice were fed standard rodent diet (Labina, Purina Brazil Ltd., Brazil) and water ad libitum. The protocol was approved by the Committee on Care and Use of Animals at Federal University of Pernambuco, Brazil (CEUA-UFPE-Office n. 23076.005325/2015-95). All the experimental practices have met the ethical guidelines for the care in the handling of laboratory animals.

2.5 Induction of Diabetes in Mice.

The Induction of diabetes in animals was performed overnight, after 12-hour fast. They received an intraperitoneal an monohydrate (80 mg/kg in the 0.9% NaCl solution). After administration of Alloxan the animals were reintroduced into the cages with access to water and food after one hour. Diabetes was confirmed after 72 hours of application of Alloxan by fasting blood glucose measure, and animals with glycemia greater than 250 mg/dL were considered diabetic and therefore included in the study (Rocha et al., 2013).

2.6 Experimental Design

The mice were divided into four groups ($n = 8$, for each group) arranged as follows: Group (I): Negative Control: diabetic mice, without treatment. They received saline solution only.

Group (II): Positive Control: Diabetic mice treated with insulin (10 mg/kg/day, intraperitoneally).

Group (III): EMC- 200 mg: diabetic mice treated with ethyl acetate extract of *Myrciaria cauliflora* (200 mg /kg /day), by gavage, in saline solution (0.9%) for 15 days.

Group (IV): EMC- 400 mg: diabetic mice treated with ethyl acetate extract of *Myrciaria cauliflora* (400 mg/kg /day, by gavage, in saline solution (0.9%) for 15 days.

Before and at the end of the experiments, the animals had a blood sample collected after overnight fasting to evaluate the biochemical parameters. To obtain blood the mice were anesthetized with 2% xylazine hydrochloride (10 mg/kg) and 10% ketamine hydrochloride (115 mg/kg) and samples collected from the cavernous sinus. At the end of the study the animals were sacrificed by cervical dislocation and the pancreas, kidneys, spleen and liver were removed and fixed in 10% formalin for histological analysis (Araújo et al., 2012).

2.7 Effect of Myrciaria cauliflora extract on biochemical parameters

For the biochemical evaluations the blood samples obtained were centrifuged at 2,500 xg for 15 minutes at 4°C (Sorvall RC6, NC, US). Glucose, creatinine, urea, total cholesterol, triglycerides and uric acid (Labtest Diagnostica, Brazil / SA) were evaluated with the serum sample obtained (Fonseca et al, 2014). In addition to these experiments, the insulin tolerance test (KITT) was also performed by dosing the blood obtained from the vascularization of the animal's tail using an Accu-Chek glycosimeter (Roche) and all manufacturer's determinations were followed. In this test, after the 8-hour fasting period, an injection containing an insulin solution (100 U / mL) at a dose of 0.75 U / kg ip was administered and the glyceic levels measured at time intervals of 10, 20, 40, 60 and 120 minutes (Geloneze et al, 2006).

2.8 Statistical Analysis

In order to express the values obtained the mean \pm SD was used. Comparisons were made through unidirectional ANOVA followed by Bonferroni. 95% confidence interval or level of significance ($p < 0.05$) were adopted. All analyzes were performed using the statistical software Prisma (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, version 5.01) as a statistical tool.

3. Results

3.1 Phytochemical Constituents

Phytochemical prospecting of the ethyl acetate extract of *M. cauliflora* identified the presence of flavonoids, alkaloids, mono, sesqui and diterpenes, terpenes and steroids, iridoids, phenylpropanoglycosides and proanthocyanins, as shown in Table 1. The EMC showed a high intensity reaction for flavonoids and phenylpropanoglycoside.

3.2 Fasting blood glucose

Animal glycemia was assessed at the start of the study, after the third day of diabetes induction and at the end of the experiments on day 15. After induction of diabetes, all groups had an elevation in the fasting glycemia induced by Alloxan the peritoneum, which leads to a selective destruction of the pancreatic β cells, since they are attracted to the GLUT 2 receptors, triggering the pancreatic lesion intense formation of free radicals at the site. After 15 days of treatment, the blood glucose of the animals was again measured, as shown in figure 1, contacting an elevation of the negative control group. On the other hand, the animals

treated with insulin had a 42% reduction in blood glucose when compared to the third day measurement. On the other hand, the animals treated with ethyl acetate extract of *Myrciaria cauliflora* at concentrations of 200mg/kg and 400mg/kg showed a blood glucose reduction of 23% and 40%, respectively.

3.3 Insulin tolerance (K_{ITT})

Insulin tolerance (K_{ITT}) was also evaluated and animals treated with ethyl acetate extracts of *Myrciaria cauliflora* showed a greater sensitivity to the action of the hormone insulin compared to the animals of the negative control group, as shown in figure 2. Concentrations of 200 mg/Kg and 400 mg/Kg showed an effective hypoglycemic action already in the first time intervals of the experiment, reducing the blood glucose in 61% and 60% respectively. The insulin treated group also had a lower sensitivity than those treated with extracts, reducing glycemia by 52%, but the difference between the positive control and those treated with *Myrciaria cauliflora* was not statistically significant.

3.4 Body weight

The animals were weighed at the beginning and at the end of the experiment on a precision scale as shown in figure 3. The animals in the negative control group had a high weight loss of 30% less than the initial weight. Animals treated with insulin during the fifteen days had a reduction of only 10.5% of the weight. The animals submitted to extracts of *Myrciaria cauliflora* at concentrations of 200mg/Kg and 400mg/Kg presented a weight reduction of 16% and 14%, respectively.

3.5 Total cholesterol

Figure 4 shows the evaluation of the total cholesterol of the experimental animals. The negative control group presented a 33% increase in total cholesterol. On the other hand, the animals treated with insulin and *Myrciaria cauliflora* extract at a concentration of 200mg / Kg had an increase of 11% and 8% of the total cholesterol, respectively. The group treated with the extract at the concentration 400 mg/Kg presented a reduction of 11% of the total cholesterol, different from the other groups.

3.6 Triglycerides

The level of triglycerides was measured in the animals of the research, as shown in figure 5. In the dosage of the triglycerides it was possible to observe a significant increase of

the negative control group, which presented a 48% increase of this macromolecule. The group treated with insulin showed a 36% increase and the animals treated with extracts of *Myrciaria cauliflora* at concentrations of 200 mg/Kg and 400 mg/Kg showed smaller triglyceride increases of 17% and 8%, respectively.

3.7 Creatinine, urea and Uric acid

The levels of creatinine and urea were evaluated as markers of renal function of the analgesics undergoing experimentation. The creatinine levels shown in figure 6 show that the negative control group had a vertiginous increase of 112% of serum creatinine. The positive control group showed a slightly lower increase of 71% of this degradation product. Animals treated with 200 mg/Kg and 400 mg/Kg ethyl acetate extracts showed a lower elevation of this product, 37% and 29%, respectively. Regarding urea levels, the animals in the negative control group presented a 63% increase at the end of the study. The positive control group and those treated with 200 mg/Kg and 400 mg/Kg had an increase of 41%, 21% and 23% of serum urea, respectively, as shown in figure 7.

Uric acid levels were evaluated as shown in figure 8, observing a 90% increase of this degradation product in the animals of the negative control group, followed by lower elevations in the animals treated with insulin of the positive control and those treated with 200 mg/Kg and 400 mg/Kg, raising serum uric acid levels by 52%, 37% and 28%, respectively.

4. Discussion

Diabetes is one of the most common chronic diseases worldwide, causing a change in the metabolism of carbohydrates, but also of other macromolecules and their products of excretion. In addition to the change in glucose metabolism, the pathophysiology of diabetes may progress to several secondary complications, especially when there is microvascular degeneration due to the constant state of hyperglycemia (Boer et al., 2012). Phytochemical analysis demonstrated a high intensity reaction for phenolic compounds that were flavonoids followed by phenylpropaneglycosides. Several studies have reported that diets rich in phenolic compounds have been associated with a reduction in weight gain, with a low incidence of cardiovascular diseases, possibly due to the reduction of levels plasma of total cholesterol and triglycerides (Batista et al., 2014). And also to reduce the potential of oxidized LDL, which is closely related to the development of atherosclerotic plaques (Reynertson, 2008; Oliveira et al., 2010). Dark fruits have a large amount of phenolic compounds, mainly anthocyanins and flavonoids, presenting a great capacity to react with free radicals,

attenuating and preventing Diabetes and cardiovascular diseases (Santos et al., 2010; Fortes et al. (2006).

The currently used antidiabetic therapies present some deficiencies and some related side effects. The search for new compounds that may have hypoglycemic action that may act in the treatment of diabetes has a great search in the bioprospection of compounds extracted from plants (Borges et al., 2014). This study investigated the anti-diabetic, hypoglycemic and nephroprotective action of ethyl acetate extract of *Myrciaria cauliflora* in mice with diabetes induced with Alloxan. Alloxan when administered intraperitoneally leads to a large production of free radicals that cause the destruction of pancreatic β cells, thereby reducing the supply of insulin to the body. This reduction in serum insulin causes a state of hyperglycemia in the animals. Several studies have demonstrated the anti-diabetic action of flavonoids extracted from plants. This huge class of compounds extracted from plant tissues has several functions in protecting plants, from photo protection to defense functions. These compounds are in free form or associated with glycosides. These compounds have gained notable attention because they have the ability to act on the glycogen bioavailability and control of blood glucose homeostasis (Grochanke et al., 2016; Elgin et al., 2018).

The hypoglycemic action of flavonoids has been demonstrated by the ability of these compounds to inhibit α -glycosidase, a key enzyme in carbohydrate metabolism, as it catalyzes the breakdown reaction of the glycosidic bonds of these macromolecules at the level of intestinal digestion, thus inhibiting absorption end of the glycols at the brush border of the intestine. The ability of flavonoids to inhibit the action of α -amylase, a key enzyme in starch degradation, one of the main food sources used in various diets, was also observed. With this inhibition the digestibility of the starch is compromised and there is no release of large supply of glucose into the bloodstream, thus reducing the constant postprandial hyperglycemia which is characteristic of diabetes (Ramachandran & Xu, 2016). Another study demonstrated that the action of flavonoids on the metabolism of carbohydrates goes beyond interventions in their digestion, also acting on the blockade of the glucose transporter SGLT-1, a carrier that uses Na^{2+} to carry out carbohydrate transport (Pereira et al., 2017).

Myrciaria cauliflora is a tree with great robustness and longevity, which has been reported in the literature as having several bioactive compounds, mainly flavonoids with therapeutic actions. Several studies using flavonoids have observed the reduction of glycemia in experimental animals submitted to diabetes, thus demonstrating a pharmacological action of flavonoids to act as a hypoglycemic agent. Among the compounds with the highest action among flavonoids, quercetin was highlighted, with a hypoglycemic action similar to that of

the antidiabetic compound glibenclamide, which acts by stimulating pancreatic β cells to produce and secrete insulin (Hacke et al., 2016).

The extracts used were efficient in the treatment of insulin-dependent diabetes avoiding a loss of body weight as can be seen in figure 3 ($p < 0.001$). This result demonstrates that extracts of *Myrciaria cauliflora* improved the bioavailability of carbohydrates in diabetic animals, promoting a greater internalization of glucose originating from the diet, avoiding marked weight loss, a characteristic symptom of decompensated diabetes.

Insulin-dependent diabetes mellitus is a favorable condition for the development of cardiovascular diseases such as atherosclerosis. Some studies have demonstrated a relative prevalence of hypercholesterolemia in type 1 diabetics, although there is still little information in the scientific literature about the absorption and synthesis of cholesterol in this comorbidity. In this study, untreated animals showed an increase in total cholesterol when compared to the other groups ($p < 0.001$), which demonstrates a very effective action in preventing the development of metabolic diseases in the cardiovascular system (figure 4) (Lambert et al., 2013; Wu et al., 2016).

In figure 5 it is possible to observe the action of the ethyl acetate extracts of *Myrciaria cauliflora* on the levels of triglycerides. Both doses were efficient in reducing the triglyceride of the diabetic animals when compared with the negative control group, which presented an elevation of the triglycerides. The increase in triglycerides in diabetes is directly related to the constant state of hyperglycemia. Excess blood glucose may promote the conversion of this carbohydrate into triglycerides. Hypertriglyceridemia is a favorable condition for the onset of atherosclerosis and its associated complications (Araújo et al., 2014).

In the evaluation of renal function, observed in the observation of figures 6 and 7, we observed that EMC-200 and EMC-400 extracts were able to avoid an increase in blood levels of creatinine and urea renal function markers when compared with the control group negative ($p < 0.001$). These markers were found to be quite high in diabetic animals without treatment. Elevation of markers of renal function is common in untreated diabetics because of the onset of diabetic nephropathy which is mainly a result of hyperglycemia, poor blood pressure control and hypercholesterolemia. Increasing creatinine and blood urea levels showed that Alloxan induced diabetes was able to initiate nephron function impairment, which was less likely in animals treated with insulin and *Myrciaria cauliflora* extracts, demonstrating that the bioactive compounds found in the plant present a protective effect for renal function (Hsu et al., 2016).

Uric acid levels were also evaluated (figure 8), which consists of a final product of purine metabolism, resulting from the final degradation of DNA, RNA and ATP, as well as protein metabolism. Untreated diabetic animals showed a significant increase in uric acid when compared to the positive control groups, EMC-200 and EMC-400 ($p < 0.001$). These data demonstrate a protective action of the extracts tested for vascular function, since hyperuricemia plays an intense pro-inflammatory role by the release of MCP1 and IL-6, in addition to TNF-alpha, leading to the development of lesion in the vascular system. In addition, excess uric acid by elevating levels of endothelin 1, which in turn, causes a suppression of nitric oxide, generating a state of vasoconstriction (Hayashi et al, 2015). Vascular complications are always negative to the diabetic patient and hyperuricemia intensifies this state.

In this study it was possible to demonstrate that extracts of *Myrciaria cauliflora* are bioactive compounds efficient in reducing the levels of uric acid, which can corroborate for a better vascular health of the diabetic patient.

Conclusion

The results observed in this study demonstrate that the ethyl acetate extracts of *Myrciaria cauliflora* at the concentrations of 200 mg/kg and 400mg/kg have efficient compounds in the reduction of hyperglycemia in animals with insulin - dependent diabetes induced by Alloxan. In addition, the extracts were able to act on lipid metabolism and acting as protective agents against diabetic nephropathy.

Contributors

All authors contributed to the experimental design, data collection and manuscript writing of this study.

Acknowledgments

This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) 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.

References

- Amalan, V., Vijayakumar, N., Indumathi, D., Ramakrishnan, A., 2016. Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of *p*-coumaric acid in diabetic rats, role of pancreatic GLUT 2: *In vivo* approach. *Biomed Pharmacother*, 84, 230-236.
- Araújo, T.G., Carvalho, B.M., da Fonseca, C.S.M., Lima, M.C.A., Galdino, s.l., Pitta, I.R., Lima, V.L.M., 2012. “Metabolic effects of benzylidene thiazolidinedione derivatives in high-fat fed mice,” *Medicinal Chemistry Research*, 21, 2408–2414.
- Araújo, C.R.R., Esteves, E.A., Dessimoni-Pinto, N.A.V., Batista, A.G., 2014. *Myrciaria cauliflora* peel flour had a hypolipidemic effect in rats fed a moderately high-fat diet. *Journal of Medicinal Food*, 17, 262-267.
- Batista, A.G., Lenquiste, S.A., Cazarin, C.B.B., Silva, J.K., Luiz-Ferreira, A., Bogusz Jr, S., Hantao, L.W., Souza, R.N., Augusto, F., Prado, M.A., Maróstica Jr, M.R. Intake of jaboticaba peel attenuates oxidative stress in tissues and reduces circulating saturated lipids of rats with high-fat diet-induced obesity, *Jornal of Functional Foods* , 6 (2014), 450-461.
- Bertoglia, M.P., Gormaz, J.G., Matías, L., Sanhueza, D., Gajardo, A., Andrea, S., Wallbaum, M., Marcia Erazo, M., 2017. The population impact of obesity, sedentary lifestyle, and tobacco and alcohol consumption on the prevalence of type 2 diabetes: Analysis of a health population survey in Chile, 2010. *PLoS One*, 25, 1-11.
- Boer, J.F., Annema, W., Schreurs, M., van der Veen, J.N., van der Giet, M., Niels, N., Kuipers, F., Tietge, U.J.F., 2012. Type I diabetes mellitus decreases in vivo macrophage-to-feces reverse cholesterol transport despite increased biliary sterol secretion in mice. *Journal of Lipid Research*, 53, 348-357.
- Borges, L.L., Conceição, E.C., Silveira, D. Active Compounds and Medicinal Properties of *Myrciaria genus*. *Food Chemistry*, 2014, 153, 224-233.
- Copps, K.D., Hançer, N.J., Qiu, W., White, M.F., 2016. Serine 302 Phosphorylation of Mouse Insulin Receptor Substrate 1 (IRS1) Is Dispensable for Normal Insulin Signaling and Feedback Regulation by Hepatic S6 Kinase. *The Journal Of Biological Chemistry*, 291, 8602–8617.
- Engin, A.B., Tsatsakis, A.M, Tsoukalas, D., Engin, A., 2018. Do flavanols-rich natural products relieve obesity-related insulin resistance?. *Food and Chemical Toxicology*, 112, 157-167.
- Fortes, G.A.C., Naves, S.S., Ferri, P.H., Santos, S.C., 2012. Evaluation of chemical Changes during *Myrciaria cauliflora* (Jaboticaba Fruit) Fermentation by H NMM Spectroscopy. *J. Braz. Chem. Soc.*, 23, 1815-1822.
- Geloneze, B., Tambascia., M.A., 2006. Laboratorial Evaluation and Diagnosis of Insulin Resistance, *Arq Bras Endocrinol Metab*, 50 , 208-215.
- Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Alekhya, G., Prakash, B., 2015. Effect of plant growth-promoting *Streptomyces* sp. on growth promotion and grain yield in chickpea (*Cicer arietinum* L). *3 Biotech*, 5, 799–806.

Gunderson, E.P., Kim, C., Quesenberry Jr, C.P., Marcovina, S., Walton, D., Azevedo, R.A., Fox, G., Elmasian, C., Young, S., Salvador, N., Lum, M., Crites, Y., Lo, J.C., Ning, X., Dewey, K.G., 2014. Lactation Intensity and Fasting Plasma Lipids, Lipoproteins, Non-esterified Free Fatty Acids, Leptin and Adiponectin in Postpartum Women with Recent Gestational Diabetes Mellitus: The SWIFT cohort. *Metabolism*, 63, 941–950.

Grochanke, B.S., Gehrke, I.T.S., Goettens-Fiorin, P.B., Bruxel, M.A., Basso, E.G.P., Heck, T.G., Ludwig, M.S. Compostos fenólicos da casca de *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos e efeitos do extrato aquoso no perfil lipídico, glicêmico e na lipoperoxidação em ratos diabéticos. *Rev. Bras. Pl. Med*, 2016, 18, 264-272.

Hacke, A.C.M., Granato, D., Maciel, L.G., Weinert, P.L., Prado-Silva, L., Alvarenga, V.O., Sant'Ana, A.S., Bataglioni, G.A., Eberlin, M.N., Rosso, N.D., 2016. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seeds: Chemical Characterization and Extraction of Antioxidant and Antimicrobial Compounds. *J Food Sci*, 81, 2206-2217.

Harborne, J.B., 1998. "Phytochemical Methods", Chapman & Hall. London, 60-66, 1998.

Hsu, J-D., Wu, C-C., Hung, C-N., Wang, C-J., Huang, H-P., 2016. *Myrciaria cauliflora* extract improves diabetic nephropathy via suppression of oxidative stress and inflammation in streptozotocin-nicotinamide mice. *J Food Drug Anal*, 24, 730-737.

International Diabetes Federation, 2017. IDF Diabetes Atlas. <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas.html> (accessed 23 January 2018).

Lambert, J.E., Ryan, E.A., Thomson, A.B.R., Clandinin, M.T., 2013. De Novo Lipogenesis and Cholesterol Synthesis in Humans with Long-Standing Type 1 Diabetes Are Comparable to Non-Diabetic Individuals, *PLoS One*, 8, 1-10.

Oliveira, T.T., Silva, R.R., Dornas, W.C., Nagem, T.J., 2010. Flavonoides e Aterosclerose. *RBAC*, 42, 49-54.

Ortmeyer, H.K., Sajan, M.P., Miura, M., Kanoh, Y., Rivas, J., Li, Y., Standaert, M.L., Ryan, A.S., Bodkin, N.L., Farese, R.V., Hansen, B.C., 2011. Insulin Signaling and Insulin Sensitizing in Muscle and Liver of Obese Monkeys: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Agonist Improves Defective Activation of Atypical Protein Kinase C. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14, 207-219.

Pereira, L.D., Barbosa, J.M.G., Silva, A.J.R., Ferri, P.H., Santos, S.C., 2017. Polyphenol and Ellagitannin Constituents of Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) and Chemical Variability at Different Stages of Fruit Development. *J Agric Food Chem*, 65, 1209-1219.

Piccoli, G.B., Cabiddu, G., Attini, R., Vigotti, F.N., Maxia, S., Lepori, N., Tuveri, M., Massidda, M., Cecilia Marchi, C., Mura, S., Coscia, A., Biolcati, M., Gaglioti, P., Nichelatti, M., Pibiri, L., Chessa, G., Antonello Pani, A., Todros, T., 2015. Risk of Adverse Pregnancy Outcomes in Women with CKD. *J Am Soc Nephrol*, 26, 1-12.

Ramachandran, V., Xu, B., 2015. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutrition & Metabolism*, 12, 1-20.

Reynertson, K.A.; Yang, H.; Basile, J.B., M.J.; Kennely, M.E.J., 2008. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible *Myrtaceae* fruits. *Food Chemistry*, 109, 883-890.

Robertson., E.H.; Cartwright., R.A.; Wood, D.J.M., 1957. “The flavones of tea”. Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 7, pp. 637– 646.

Rocha, A.A; Araújo, T.F.S., Fonseca, C.S.M., Mota, D.L., Medeiros, P. L., Paiva, P.M.G., Coelho, L.C.B.B., Correia, M.T.S., Lima, V.L.M., 2013. “Lectin from *Crataevatapia* bark improves tissue damages and plasma hyperglycemia in alloxan-induced diabetic mice”. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicinal, 2013, 1-9.

Santos, D.T.; Veggi, P.C.; Meireles, M.A.A., 2010. Extraction of antioxidant compounds from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation, Journal of Food Engineering. 101, 23–31.

Tuttle, K.R., Bakris, G.L., Bilous, R.W., Chiang, J.L., Boer, I.H., Goldstein-Fuchs, J., Hirsch, I.B., Kalantar-Zadeh, K., Narva, A.S., Navaneethan, S.D., Neumiller, J.J., Patel, U.D., Ratner, R.E., Whaley-Connell, A.T., Molitch, M.E., 2014. Diabetic Kidney Disease: A Report From an ADA Consensus Conference Diabetes Care, 37, 2864- 2883.

Vasconcelos, C.F.B., Maranhão, H.M.L., Batista, T.M., Carneiro, E.M., Ferreira, F., Costa, J., Soares, L.A.L., Sá, M.D.C., Souza, T.P., Wanderley, A., 2011. Hypoglycemic activity and molecular mechanisms of *Caesalpinia ferrea* Martius bark extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. J Ethnopharmacol. 137, 1533–1541.

Wagner, H., Bladt, S., 1996. “Plant Drug Analysis”, *A Thin Layer Chromatography*, Second edition, 386.

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, C-C., Hung, C-N., Shin, Y-C., Wang, C-J., Huang, H-P., 2016. *Myrciaria cauliflora* extracts attenuate diabetic nephropathy involving the Ras signaling pathway in streptozotocin/nicotinamide mice on a high fat diet. Journal of Food And Drug Analysis, 24, 136 e 146.

Table 1. Phytochemical screening of organic extracts of *M. Cauliflora*.

Tests	Results			
	CHMc	CMc	AEMc	MMc
Alkaloids	-	-	-	-
Flavonoids	+	+	+	+
Monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes	+	-	+	+
Triterpens	+	-	+	+
Irydoids	-	-	-	-
Coumarins	-	-	-	-
Cinnamic Derivatives	-	-	-	-
Phenylpropanoids	+	+	+	+
Proanthocyanidins	-	-	+	+

Presente (+); Ausente (-).

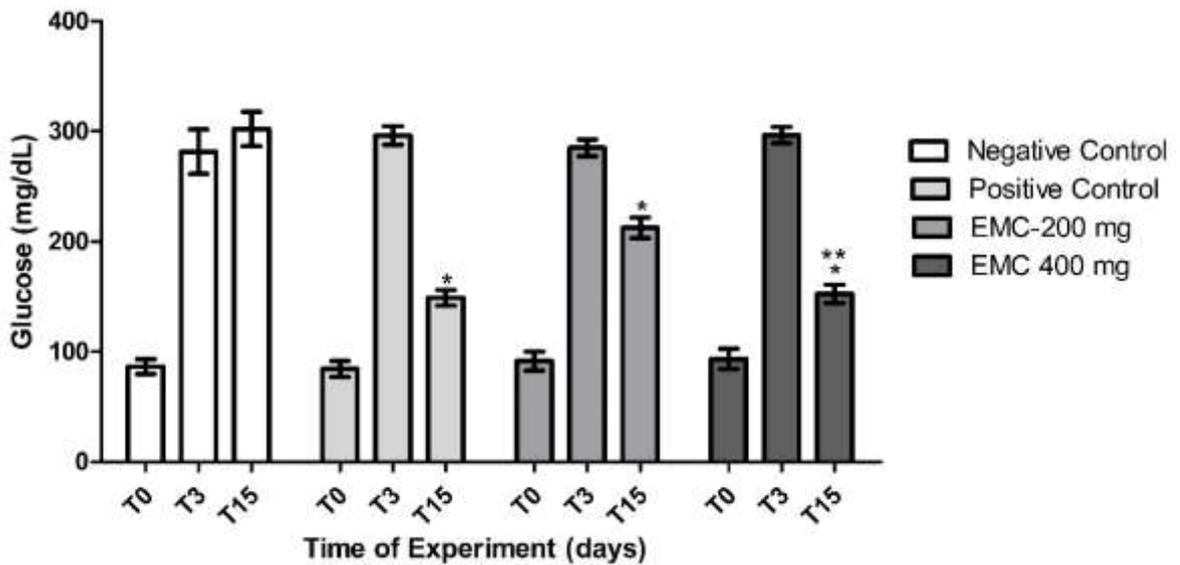


Figure 1: Fasting blood glucose. The data represent the mean \pm SD. The statistical differences of the control were determined by two-way ANOVA followed by Bonferroni test, *P <0.001 vs. negative control; **P <0.001 EMC 400 mg vs. EMC 200 mg.

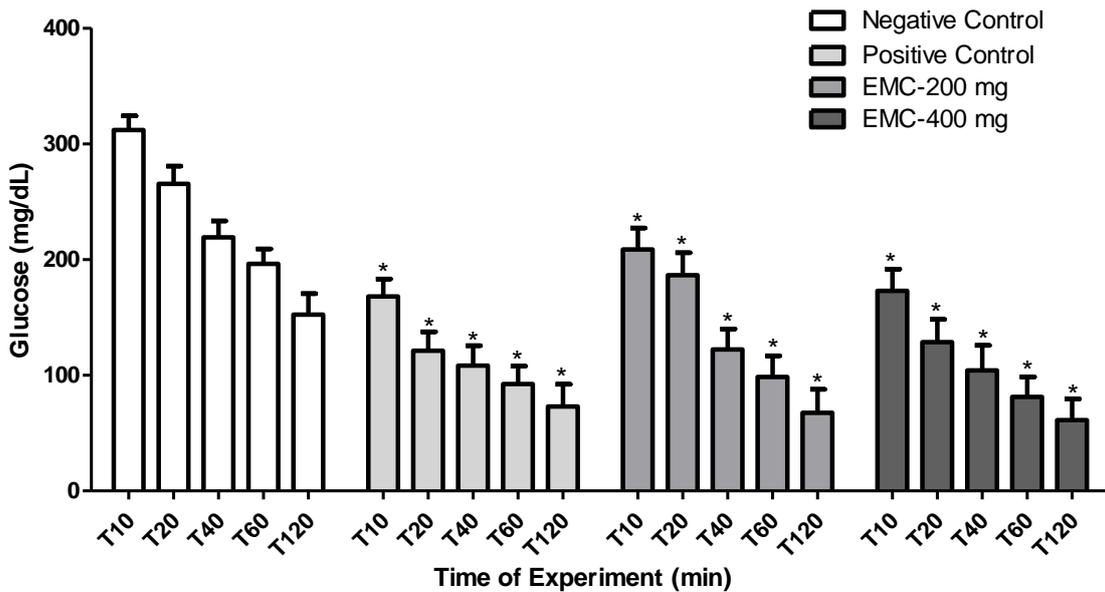


Figure 2: Insulin Tolerance Test (ITT). The data represent the mean \pm SD. The statistical differences of the control were determined by two-way ANOVA followed by Bonferroni test, *P <0.001 vs. negative control.

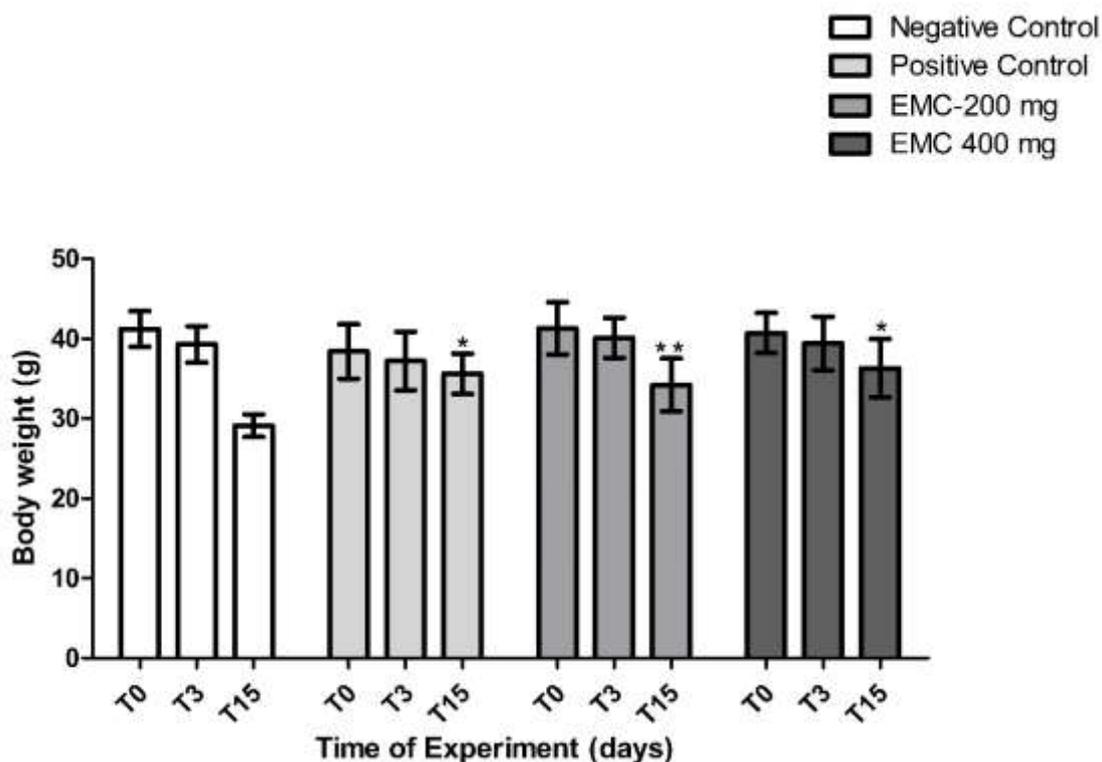


Figure 3: Body weight for 15 days of diabetes. The data represent the mean ± SD. The statistical differences of the control were determined by two-way ANOVA followed by Bonferroni test, *P <0.001 vs. negative control; **P <0.01 vs. negative control.

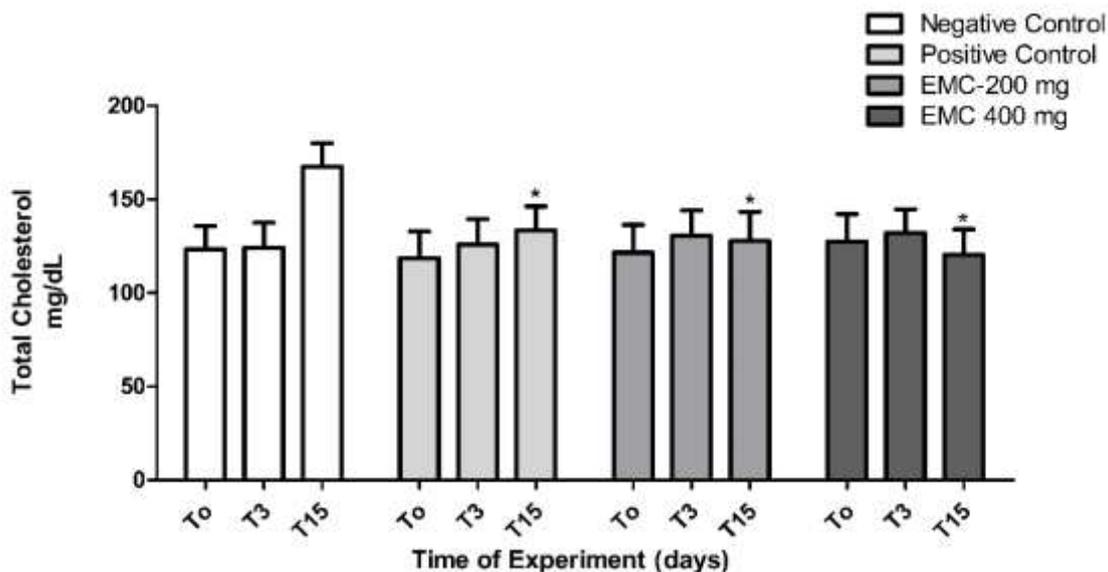


Figure 4: Total cholesterol, concentration during 15 days of diabetes. The data represent the mean ± SD (n=8). The statistical differences of the control were determined by two-way ANOVA followed by Bonferroni test, *P <0.001 vs. negative control.

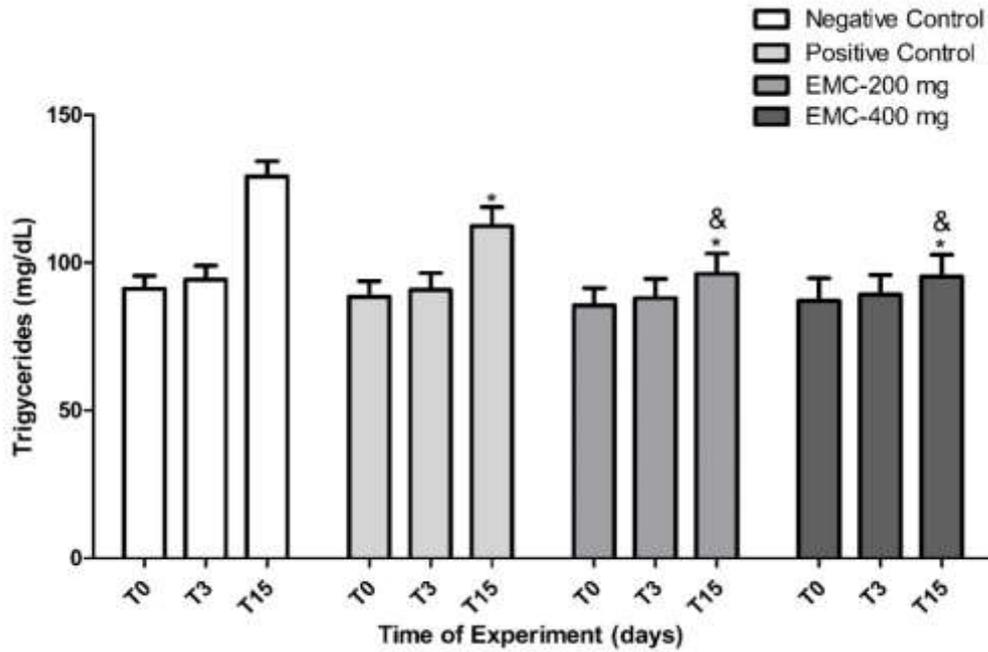


Figure 5: Triglycerides, concentration during 15 days of diabetes. The data represent the mean \pm SD ($n=8$). The statistical differences of the control were determined by two-way ANOVA followed by Bonferroni test, *P <0.001 vs. negative control; &P <0.001 vs. positive control.

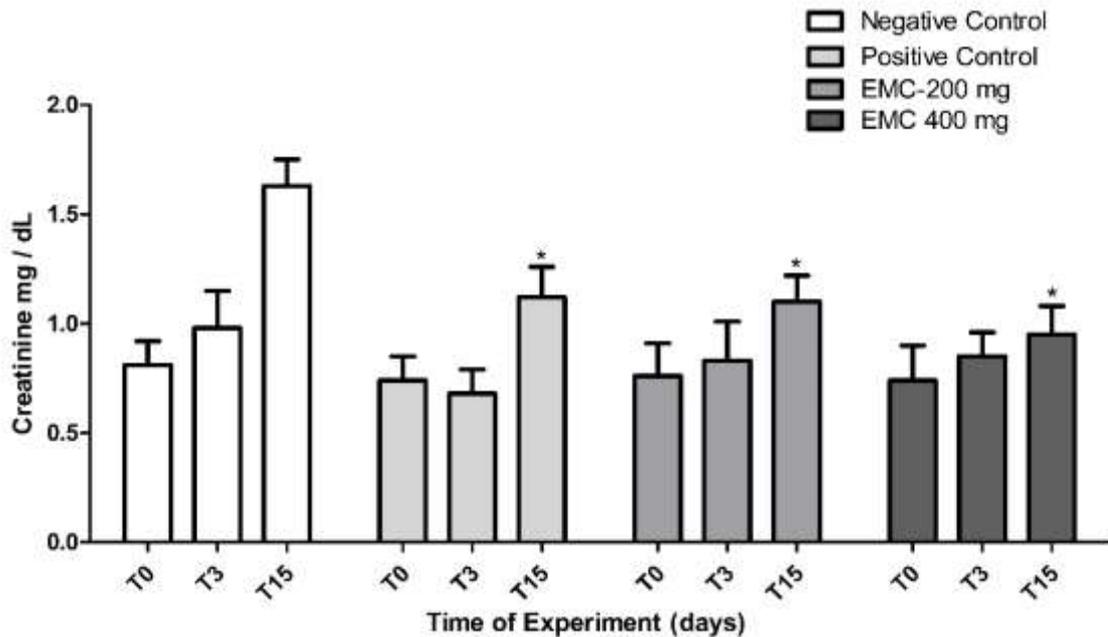


Figure 6: Serum Creatinine, concentration during 15 days of diet. The data represent the mean \pm SD ($n=8$). The data represent the mean \pm SD. The statistical differences of the control were determined by two-way ANOVA followed by Bonferroni test, * P <0.001 vs. negative control.

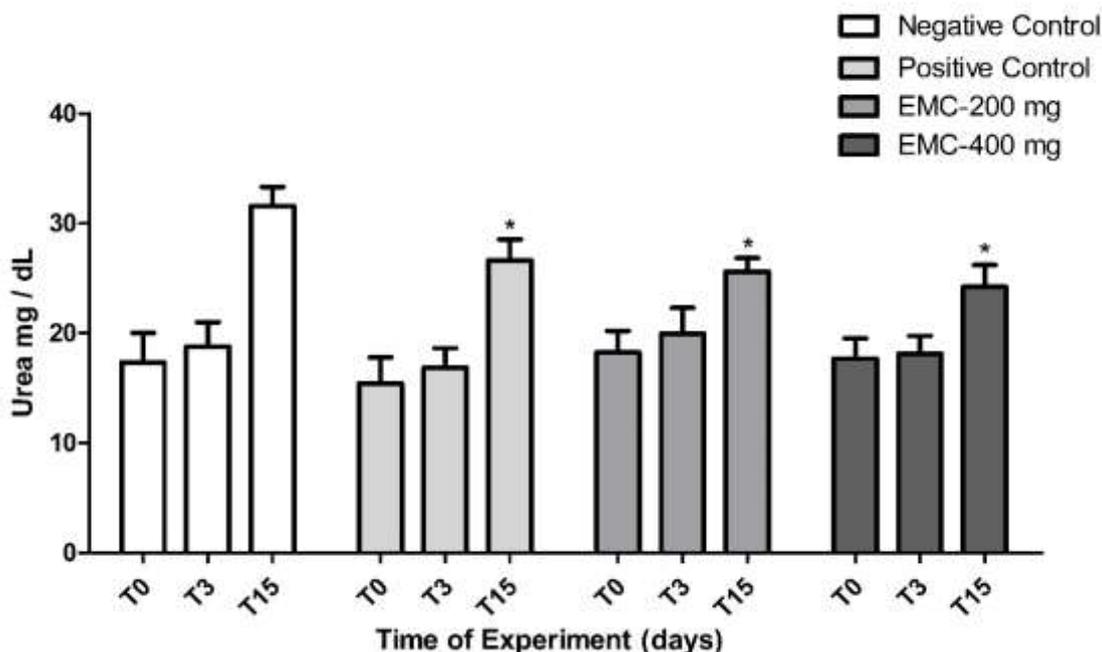


Figure 7: Serum Urea, concentration during 15 days of diet. The data represent the mean ± SD ($n=8$). The statistical differences of the control were determined by two-way ANOVA followed by Bonferroni test, * $P < 0.001$ vs. negative control.

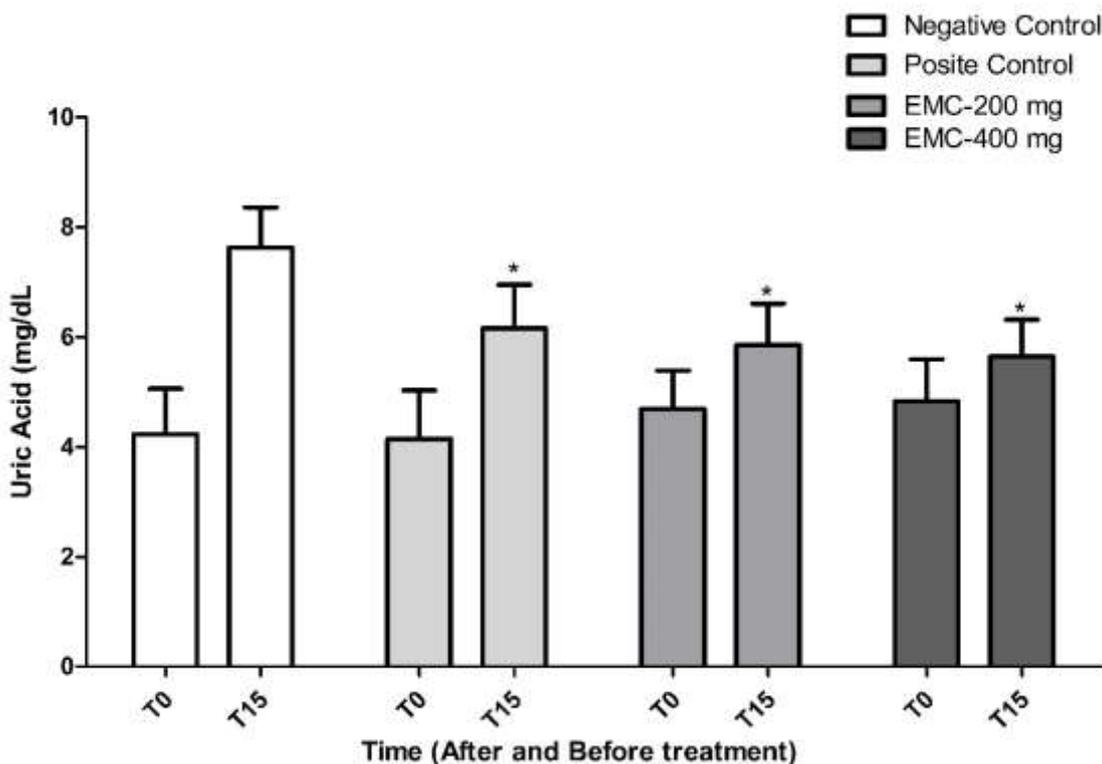


Figure 8: Uric Acid, concentration during 15 days of diet. The data represent the mean ± SD ($n=8$). The data represent the mean ± SD. The statistical differences of the control were determined by two-way ANOVA followed by Bonferroni test, * $P < 0.001$ vs. negative control.

Highlights

- Diabetes mellitus is one of the most common and increasingly epidemic comorbidities.
- diabetes models were induced in mice
- Phenolic compounds extracts of act in the reduction hyperglycemia in animals with insulin - dependent diabetes induced by Alloxan.
- Polyphenol intake can prevent high-fat diet-induced insulin resistance

ARTIGO 3

***Plinia Plum. ex L. (Myrtaceae) - Uma revisão de usos tradicionais,
fitoquímica e farmacologia***

*Plinia Plum. ex L. (Myrtaceae) – A review of traditional uses,
phytochemistry and pharmacology*



Artigo para submissão ao periódico *Revista Brasileira de Fruticultura* no formato *Artigo de Revisão*.

***Plinia Plum. ex L. (Myrtaceae)* - Uma revisão de usos tradicionais,
fitoquímica e farmacologia**

Plinia Plum. ex L. (Myrtaceae) - Uma revisão de usos tradicionais,
fitoquímica e farmacologia

Alexandre Gomes da Silva^{1,2*}, Clébia Maria Alves de Almeida³, Ana Paula Sant'Anna da Silva³, Tatiana Ferreira de Siqueira³, Maria Tereza dos Santos Correia^{2,3}, Márcia Vanusa da Silva^{2,3}, Bianka Santana dos Santos⁴, Vera Lúcia Menezes de Lima^{3*}

¹Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife, Brazil. CEP: 50670-901

²Núcleo de Bioprospecção e Conservação da Caatinga, Instituto Nacional do Semiárido/Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Av. Francisco Lopes de Almeida, S/N – Serrotão, Campina Grande, Brazil. CEP: 58429-970

³Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 Cidade Universitária, Recife, Brazil. CEP: 50670-901

⁴Núcleo de Ciências da Vida, Centro Acadêmico do Agreste, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Campina Grande, S/N – Nova Caruaru, Caruaru, Brazil. CEP: 55014-900

* Corresponding author:

Laboratório de Lipídios e Aplicação de Biomoléculas em Doenças Prevalentes e Negligencias, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Avenida Professor Moraes Rego, s/n, Bairro: Cidade Universitária, CEP 50670-420, Recife-Pernambuco, Brasil, 55 8121268540 (218), e-mail: vlml@ufpe.br

Author Disclosure Statement

All authors disclose that they have no conflict of interest.

RESUMO

As plantas medicinais sempre tiveram grande valor para a população humana, devido aos seus valiosos constituintes e suas potenciais bioatividades. O objetivo desta revisão é apresentar uma visão atualizada de um importante gênero de planta medicinal *Plinia* da família *Myrtaceae*, revelando sua utilização tradicional, atividade biológica, fitoconstituintes e mecanismos de ação. Para tanto, foi realizada uma pesquisa bibliográfica utilizando SciFinder, ScienceDirect, Scopus, PubMed, Google Acadêmico, Scielo e Web of Science, seguida de revisão das bibliografias dos artigos relacionados. Descrevemos e analisamos o papel das plantas na descoberta de drogas e a importância das espécies de *Plinia*. A informação sobre os propósitos de utilização de espécies de *Plinia* na medicina popular tem sido enfatizada, e estudos científicos sobre os efeitos biológicos e metabólitos secundários são abordados. As espécies de *Plinia* são caracterizadas por constituintes fenólicos, que exercem diversas atividades como antimicrobiano, antioxidante, inseticida, anti-inflamatório e antidepressivo, revelando sua importância em campos medicinais e agrícolas. Com base em numerosos estudos, o gênero *Plinia* demonstra notáveis efeitos terapêuticos contra várias doenças. No entanto, estudos clínicos são necessários para confirmar os achados pré-clínicos.

Palavras-chave: *Plinia*, usos etnomedicinais, fitoquímica, perfil farmacológico, atividade biológica, medicina popular, bagas brasileiras.

ABSTRACT

Medicinal plants have always had great value for the human population due to their valuable constituents and potential bioactivities. The objective of this review is to present an updated overview of an important medicinal plant genus *Plinia* from the family *Myrtaceae*, revealing its traditional utilization, biological activity, phytoconstituents, and mechanisms of action. For this purpose, a literature survey was carried out by using SciFinder, ScienceDirect, Scopus, PubMed, Google Scholar, Scielo and Web of Science followed by a revision of the bibliographies of the related articles. We have described and analyzed the role of plants in drug discovery and the importance of *Plinia* species. Information on the utilization purposes of *Plinia* species in folk medicine has been emphasized, and scientific studies on the biological effects and secondary metabolites are addressed. *Plinia* species are characterized by phenolic constituents, which exert several activities such as an antimicrobial, antioxidant, insecticidal, anti-inflammatory agent, and antidepressant, revealing its importance in medicinal and agricultural fields. On the basis of numerous studies, the *Plinia* genus demonstrates remarkable therapeutic effects against various diseases. However, clinical studies are warranted to confirm preclinical findings.

Keywords:

Plinia, Ethnomedicinal uses, Phytochemistry, Pharmacological profile, Biological activity, Folk medicine, Brazilian berry.

1. Introduction

Desde tempos imemoriais, os produtos naturais têm sido amplamente utilizados para o tratamento de doenças humanas (Suppakul, Miltz, Sonneveld, & Bigger, 2003). Em particular, as plantas possuem metabólitos economicamente e terapeuticamente valiosos; portanto, os produtos vegetais ganharam grande importância para serem usados para fins medicinais (Balandrin, Klocke, Wurtele e Bollinger, 1985; Yildirim, Karakas, & Turker, 2013). Uma das mais importantes famílias de plantas comumente distribuídas na região Neotropical e que têm grande valor econômico como produtos medicinais, cosméticos e alimentícios é a família Myrtaceae, que é composta por cerca de 150 gêneros e mais de 5.800 espécies (Govaerts & al. 2010).

Plinia L. é um gênero neotropical de arbustos e pequenas árvores, ocorrendo do Brasil e do Peru ao norte para as Índias Ocidentais e Cuba, e para o oeste até o Panamá, Costa Rica, Nicarágua e Belize. *Plinia* consiste em 70 espécies antilhanas e sul-americanas (Govaerts & al. 2008), sendo especialmente bem representada no Brasil.

O gênero é caracterizado por flores com o hipanto prolongado além do ápice do ovário, um cálice fundido e quase fechado no broto que se divide na antese em quatro lobos irregulares e um ovário bilocular com dois lóculos por óvulo. A fruta é uma baga de uma ou várias sementes; as sementes têm um revestimento membranáceo que envolve um embrião com dois grandes cotilédones plano-convexos e um hipocótilo reduzido e indistinto. As frutas carnudas colocam *Plinia* na família Myrtaceae, tribo Myrteae, junto com quase todas as Myrtaceae do Novo Mundo; os caracteres embrionários situam-se na subtribo Eugeniinae (McVaugh, 1968; Landrum & Kawasaki, 1997).

Segundo Camlofski (2008), os membros dessa família são bem conhecidos pelo grande potencial tecnológico de suas espécies nativas e seus frutos, com possibilidades de industrialização. Os frutos desta família proporcionam um alto rendimento de polpa, que possui sabor agradável e contém diversas substâncias com propriedades antioxidantes. No Brasil, as espécies do gênero *Plinia* estão distribuídas em vários biomas, como a Floresta Amazônica, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pampa, com 21 espécies nativas (IPNI, 2012). Algumas espécies de *Plinia* crescem em jardins domésticos, como a "jabuticabeira" (*Plinia cauliflora*), que produzem frutos altamente apreciados pela população e são consumidos na forma de sucos, geléias, vinhos e licores, assim, tem um grande potencial na indústria alimentícia. Além disso, a fruta contém substâncias com características medicinais.

Esta revisão busca uma visão completa do conhecimento existente sobre a botânica, usos tradicionais, fitoquímica e pesquisa farmacológica de espécies pertencentes ao gênero *Plinia*. A informação disponível sobre estas espécies permite-nos explorar o seu potencial terapêutico, destacar as lacunas do nosso conhecimento e fornecer a base científica para futuras pesquisas.

2. Materiais e métodos

O presente artigo de revisão considerou a literatura publicada antes de junho de 2018 sobre usos etnomedicinal, farmacologia e toxicidade de extratos, óleos essenciais e produtos naturais isolados de diferentes partes das espécies de *Plinia* do mundo. Portanto, apenas a literatura disponível em livros e bases de dados como o Google Scholar, PubMed, SciFinder, Scopus, publicações da ACS e Science Direct foi revisada. Esta revisão considerou apenas trabalhos de pesquisa revisados por pares com fator de impacto. Os nomes científicos foram validados através da Lista de Plantas (www.theplantlist.org), Tropicos.org (www.tropicos.org), Lista de Verificação Mundial de Famílias de Plantas Seleccionadas (www.wcsp.science.kew.org) e Flora do Brasil 2020 (www.floradobrasil.jbrj.gov.br) para as espécies brasileiras de *Plinia*. As palavras-chave utilizadas para pesquisa foram: atividades biológicas, atividade anti-cancerígena, atividade anti-inflamatórias, atividade antimicrobiana, atividade antiúlcera, química, atividade inseticida, atividade farmacológica, *Plinia*, Myrtaceae, etnobotânica e usos tradicionais.

Na presente revisão, seguiu-se a classificação taxonômica proposta por Lucas *et al.* (2007) para a tribo Myrteae e a circunscrição do gênero *Plinia* foi de acordo com o conceito de Urban (1919), ampliado por Kausel (1956) para incluir espécies originalmente circunscritas à seção *Cauliflora* do gênero *Myrciaria*.

3. Botânica

3.1. Taxonomia

O gênero *Plinia* L. é neotropical e reúne 70 espécies (Tabela 1). Apresenta estreitas afinidades com os gêneros *Myrciaria* O. Berg, *Neomitranthes* Kausel ex D. Legrand e *Siphoneugena* O. Berg. Tal parentesco tem se confirmado nas análises filogenéticas baseadas em dados moleculares, onde esses quatro táxons se posicionam em um mesmo clado, denominado como “grupo *Plinia*”. Entretanto, as relações entre os gêneros e a condição monofilética de *Plinia* ainda não estão definidas (Lucas *et al.* 2007). Devido às grandes

afinidades entre esses gêneros, a circunscrição do gênero *Plinia* tem sido muito inconsistente, dificultando a identificação das espécies.

Linnaeus (1753) descreveu o gênero *Plinia*, que não foi muito aceito pelos botânicos. Candolle (1828) não incluiu o gênero dentre os 13 reconhecidos para a tribo Myrteae DC., assim como Berg (1855-56; 1857-59), que subordinou as espécies “pliníoides” em *Myrciaria*.

Urban (1919) foi o primeiro botânico a reconsiderar *Plinia* como gênero válido no tratamento das espécies das Antilhas, seguido, posteriormente, por Amshoff (1951), na Flora do Suriname, Kausel (1956), McVaugh (1956; 1958; 1963; 1969), Rotman (1982; 1985) e Sobral (2003). Kausel (1956) ampliou a circunscrição taxonômica de *Plinia* e incluiu espécies que, originalmente, foram consideradas como pertencentes a *Myrciaria* seção *Cauliflorae* O.Berg.

Legrand (1961) tratou ambos os gêneros, *Plinia* e *Myrciaria* como autônomos, porém algumas espécies de *Plinia* permaneceram subordinadas a *Myrciaria*. Legrand & Klein (1978) adotaram o conceito de Berg (1855-56; 1857-59), não reconhecendo o gênero *Plinia* como distinto de *Myrciaria*.

Sobral (1991; 1993) estudou, respectivamente, os gêneros *Paramyrciaria* Kausel (atualmente sinônimo de *Myrciaria*) e *Myrciaria*, estabelecendo a distinção entre estes e *Plinia*. Considerou como caracteres diagnósticos para *Plinia* o tubo do cálice persistente após a antese e as bractéolas livres.

O estudo mais recente sobre *Plinia* é a sinopse elaborada por Ramos (2014) para as espécies de Cuba. Neste estudo, foram tratadas 13 espécies, e, entre estas, uma foi descrita como nova para a Ciência.

Devido a problemática taxonômica de *Plinia*, e a utilização de algumas ferramentas moleculares, nos últimos anos, algumas espécies veem sendo alocadas em outros gêneros, bem como espécies de gêneros próximos, como por exemplo *Myrciaria*, veem sendo alocadas em *Plinia*. De acordo com base de dados “The Plant List” dois nomes de *Plinia*: *P. rupestres* Ekman & Urban e *P. karukerensis* Stehle in Stehle & Quentin são tratados como nomes não resolvidos (The Plant List 2018). Dezenove nomes de espécies publicadas como *Plinia*, hoje estão alocadas em outros gêneros (Tabela 3), em especial *Eugenia* e *Myrciaria*.

3.2. Conservação

Em 1997, algumas espécies de *Plinia* foram incluídas na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN devido à diminuição crítica da população: *P. acunae*, *P. costata*, *P. dermatodes*, *P. formosa*, *P. moaensis*, *P. orthoclada*, *P. ramosissima*, *P. rubrinervis*, *P.*

rupestres, *P. stenophylla* e *P. toscanosia* (Walter e Gillett, 1998). Destas, duas espécies foram categorizadas como raras (*P. costata* e *P. formosa*), seis espécies foram categorizadas como vulneráveis (*P. acunae*, *P. dermatodes*, *P. orthoclada*, *P. ramosissima*, *P. rubrinervis* e *P. stenophylla*) e três espécies foram categorizadas como ameaçadas de extinção (*P. moaensis*, *P. rupestres* e *P. toscanosia*). Foram vários os fatores responsáveis pela diminuição do número de populações dessas espécies: urbanização galopante, dificuldades de germinação de sementes e propagação de plantas invasoras. Esforços de conservação através de estacas e sementes levaram à recuperação de algumas espécies e sua exclusão da Lista Vermelha da IUCN.

Apesar de não constar na IUCN Red Lista, *Plinia anonyma* Sobral, pode ser considerada extinta na natureza. A espécie é conhecida apenas pelo exemplar tipo, coletado no Rio de Janeiro por Sellow no século XIX (Centro de Referência em Informação Ambiental, 2018). Mesmo sendo o Rio de Janeiro uma região muito conhecida e investigada e, apesar de terem sido feitas expedições para localização da espécie, não foram registradas novas ocorrências, o que levou a categoria assumida para a espécie. Outra espécie que pode ser considerada extinta é *Plinia microcycla* Urb., uma vez que se conhece apenas a coleta Typus (Tropicos, 2018).

3.3. Distribuição

O gênero *Plinia* é Neotropical, com dois principais centros de diversidade: América Central e Caribe (Cuba) e Brasil (Domínio Atlântico). A distribuição geográfica das espécies de *Plinia* ocorre em diversas regiões, como Brasil, Bolívia, Paraguai, Argentina, América Central e Sul da Flórida (Tabela 2). No Brasil, essas plantas são cultivadas principalmente nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo (Oliveira et al., 2008). O Domínio Atlântico é o centro de diversidade do gênero na América do Sul (Brasil), para o qual os estudos mais recentes registraram a ocorrência de 28 espécies, dentre as quais 23 destacam-se como endêmicas (Flora do Brasil, 2020).

4. Uso tradicional

Poucos membros do gênero *Plinia* são amplamente utilizados na medicina tradicional para o tratamento de algumas doenças (Tabela 2), inclusive para a saúde e utilizadas na medicina popular brasileira para tratar distúrbios gástricos, condições inflamatórias, diarreia, bronquite, diabetes e como tônico, antipirético e diurético (Lucena et al., 2008; Carvalho et al., 2012; Donato e Morretes, 2013).

Os usos etnomedicinal de *P. cauliflora* e *P. edulis* foram documentados no Brasil, Peru, Bolívia, Argentina e Uruguai. Na Tabela 2, os usos etnomedicinais das espécies de *Plinia* são relatados incluindo o estado da doença, parte da planta utilizada e os países (ou regiões geográficas).

5. Compostos ativos detectados no gênero *Plinia*

Semelhante a mirtilos, uvas e outras frutas de cor escura, as espécies de *Plinia* são uma rica fonte de compostos fenólico, antocianinas, flavonoides e elaginataninos (SOUZA-MOREIRA et al., 2008; ABE et al., 2012; WU et al., 2012, 2013; CALLONI et al., 2015), por isso apresentam propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antidiabéticas, entre outras (SOUZA-MOREIRA et al., 2008; ABE et al., 2012; WU et al., 2012, 2013; BORGES et al., 2014).

Os frutos das espécies de *Plinia* variam de laranja-amarelado (*Plinia edulis*) a roxo escuro (vináceo) (*Plinia cauliflora*). Frutas de cor escura e seus produtos são comumente consumidos em muitas culturas. Várias pesquisas revelaram que essas frutas são benéficas para a saúde humana e, atualmente, tem havido um crescente interesse de pesquisa em relação aos produtos dessas frutas usados na alimentação humana. A coloração da casca dos frutos de *Plinia* intensificou a pesquisa científica sobre os compostos fitoquímicos presentes nestes frutos, bem como nos resíduos, há alguns anos, uma vez que sempre foi descartada pela indústria de suco e celulose. A cor da casca é diretamente influenciada pela presença expressiva de compostos antocianinas, quimicamente classificados como flavonoides, que são os principais pigmentos naturais para as cores rosa, vermelho, violeta e azul em vegetais, frutas, pétalas de flores e folhas (Passeri, Koes, Quattrocchio 2016; Fang 2015). As cascas de frutas das espécies de *Plinia* são conhecidas como uma das mais ricas fontes brasileiras de antocianinas. Alguns estudos demonstraram que os frutos das espécies de *Plinia* apresentam atividade antioxidante e significativo teor de antocianinas.

A estrutura da antocianina consiste em um núcleo heterocíclico C15 (cátion 2-fenilbenzopirílico ou antocianidina), geralmente ligado a pelo menos um resíduo de açúcar (Reynertson, Yang, Jiang, Basile, & Kennelly, 2008). Os frutos de algumas espécies de *Plinia* (conhecida popularmente como jabuticaba) são conhecidos como “Brazilian berry” devido à grande quantidade de antocianinas encontradas no epicarpo, principalmente cianidina-3-O-glicosídeo e delfinidina-3-O-glicosídeo (Wu, Dastmalchi, Long, & Kennelly, 2012).

Existem alguns estudos sobre a composição química de *P. cauliflora*, embora tenha sido relatada a presença de ácido ascórbico, taninos, cianidinas e glicosídeos de peonidina

(Reynertson et al., 2008). Os constituintes fitoquímicos do extrato metanólico da *P. cauliflora* foram caracterizados pelo método de LC-MS-TOF e vários polifenóis (cianidina-3-O-glicosídeo, delphinidina-3-O-glicosídeo, jabuticabina, 2- Ácido O- (3,4-di-hidroxibenzoil) - 2,4,6-tri-hidroxifenilacético, isoquercitrina, quercimeritrina, quercitrina, mirricitrina, ácido elágico e seringina foram identificados nos extratos da sua fruta. Além disso, sete galotaninos e dois derivados de ácido elágico foram identificados. O extrato hidro-etanólico das folhas de *P. cauliflora* contém vários compostos, incluindo principalmente derivados polioxigenados, como o éter gossipetina-3,8-dimetil-5-O-glicosídeo, éter de gossipantina-3,5-dimetil e miricetina-3,5,30-trimetil éter. Além disso, alguns ácidos orgânicos, como ácido oxálico, cítrico, tartárico, málico, fumárico, quínico e succínico foram detectados no extrato aquoso do epicarpo de *P. cauliflora* pelos modos GC e HPLC (Wu et al., 2012).

Outros compostos polifenólicos isolados do extrato metanólico de *P. cauliflora* são ácido gálico, ácido protocatecuico, epi-galocatequina-3-O-galato, quercetina-3-O-galactósido, kaempferol, quercetina), kaempferol-3-O-arabinofuranosido, quercetina-3-O-arabinofuranido e miricetina-3-O-ramnido (Hussein, Hashem, Seliem, Lindequist, & Nawwar, 2003).

O conteúdo de ácido elágico e fenóis totais diminui com o amadurecimento, e uma tendência similar foi observada para o teor total de tanino. Essa diminuição pode estar associada à perda de adstringência durante o amadurecimento da jabuticaba. Esse fenômeno é semelhante ao observado em outras frutas, como morangos (Abe, Lajolo, & Genovese, 2011).

Quando os extratos de frutos de *P. cauliflora* foram submetidos a fracionamento guiado por bioatividade utilizando o ensaio de DPPH, um depsídeo, 2 - [(3,4-dihidroxibenzoiloxi) -4,6-diidroxifenil] acetato de metila (jabuticabina), foi isolado (3a). Além disso, foram identificadas outras substâncias, como o ácido (2-O- (3,4-dihidroxibenzoil) -2,4,6-tri-hidroxifenilacético, a quercetina, isoquercitrina, quercimeritrina, quercitrina, rutina, mirricitrina, piranocianinas, ácido cinâmico, ácido O-cumárico, ácido gálico, ácido protocatecuico, metil protocatecuato e ácido elágico (Einbond, Reynertson, Luo, Basile, & Kennelly, 2004).

Várias espécies da família Myrtaceae são ricas em óleos essenciais, muitos dos quais possuem atividade antimicrobiana. Os constituintes dos óleos essenciais das folhas de *P. peruviana*, popularmente conhecida como "jabuticaba-de-cabinho", foi analisado por GC-FID-MS e 21 compostos foram identificados. Embora sesquiterpenos de hidrocarbonetos (24,79%) tenham sido identificados, os sesquiterpenos oxigenados foram os principais constituintes (48,09%). Os principais constituintes identificados foram b-cariofileno (8,2%),

biciclogermacreno (10,6%), globulol (10,8%) e cmuuroleno. Óleos essenciais de outras espécies de *Plinia* foram analisados e os principais compostos identificados foram os seguintes: β -cariofileno e seu óxido, óxido de cariofileno (39,3%) para óleo de *P. edulis*; β -cariofileno (9,2%) para *P. peruviana*; espatulenol (27,2%) (46) para o óleo de *P. cauliflora*; e óxido de α -bisabolol A para óleo de *P. cordifolia* (Apel, Sobral, Zuanazzi, & Henriques, 2006).

Ishikawa et al. (2008) relataram triterpenos em *P. edulis*. Ishikawa et al. (2014) realizaram um fracionamento guiado por bioensaio do extrato hidroalcoólico de *P. edulis*, o qual levou ao isolamento de outros triterpenos (ácido corosólico e lupeol), flavonóides (quercetina, quercetrina, mirricitrina) e ácido gálico.

Apel et al. 2006 avaliaram a composição química do óleo essencial de quatro espécies de *P. cauliflora*, *P. cordifolia*, *P. edulis* e *P. trunciflora*, coletados no Sul do Brasil. Os óleos essenciais foram obtidos das folhas frescas através da técnica de hidrodestilação. Os autores relataram que o rendimento dos óleos essenciais foi de 0,1% para as quatro espécies de *Plinia*. A análise qualitativa e quantitativa do óleo essencial, por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas, permitiu a identificação de cinquenta e dois componentes, representando 84,9 a 98,0% (86,5 para *P. edulis*; 84,9 para *P. cordifolia*; 92,1 para *P. cauliflora*; 98,0 para *P. trunciflora*) das amostras. Os autores mostraram que os óleos essenciais apresentaram pequenas quantidades de monoterpenos e para *P. edulis* este grupo estava ausente. As quatro espécies de *Plinia* foram caracterizadas pelo domínio de sesquiterpenos, especialmente sesquiterpenos oxigenados. Um grupo de hidrocarbonetos sesquiterpênicos com o núcleo cariofileno foi encontrado em todas as amostras em diferentes quantidades. Para *P. edulis*, β -cariofileno e seu óxido, óxido de cariofileno, estavam presentes em alta porcentagem (39,3%). Embora os óleos de *P. cordiflora* e *P. trunciflora* mostraram quantidades significativas de β -cariofileno (15,9% e 8,2%, respectivamente), a primeira espécie não apresentou alta quantidade de óxido de cariofileno (0,9%) e na segundo este composto estava ausente. Para *P. cauliflora*, observamos que o β -cariofileno estava presente em quantidades muito baixas (1,0%), enquanto seu óxido estava presente em uma alta porcentagem (21,6%).

Outro grupo encontrado em todas as amostras foi aquele com esqueleto de aromadendrane. O óleo de *P. cauliflora* apresentou altas porcentagens de espatulenol (27,2%) e epiglobulol (8,1%), enquanto o óleo de *P. trunciflora* apresentou 10,8% de globulol e 8,4% de epiglobulol e o óleo de *P. edulis* apresentou uma quantidade significativa de espatulenol (11,9 %). *P. cordifolia* foi a única amostra em que esse grupo estava presente em baixos

níveis (0,8%). Dois outros grupos foram encontrados no óleo de *P. trunciflora* em uma percentagem considerável: um composto com um núcleo germacreno, bicyclgermacrene (10,8%), e outro com um esqueleto muurolano, γ -muuroleno (9,2%). O óleo de *P. cordifolia* mostrou uma composição química distinta, sendo especialmente caracterizado por compostos com um núcleo bisabolane. Este grupo representa 41,3% do óleo, que foi dominado pelo óxido de α -bisabolol A (28,0%), seguido de pequenas quantidades de α -bisabolol óxido B (7,0%) e α -bisabolol (5,8%).

Vila et al. 2010 descreveram a composição química do óleo essencial de folhas frescas de *P. cerrocampaensis*, através da técnica de hidrodestilação. Segundo os autores o rendimento do óleo essencial foi de 0,64% (v/p). A análise qualitativa e quantitativa do óleo essencial, por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas, permitiu a identificação de quarenta componentes, representando mais de 91% da amostra total. O óleo essencial era muito rico em sesquiterpenos oxigenados (65,9%), especialmente α -bisabolol (42,8%), óxido de bisabolol B (10,3%) e trans-nerolidol (9,4%). Entre os monoterpenos, o linalol (10,3%) foi encontrado a maior porcentagem.

6. Atividades farmacológicas

Além das propriedades corantes, as antocianinas podem estar associadas a propriedades aromatizantes que melhoram a palatabilidade dos alimentos, levando a hábitos alimentares saudáveis. Existem vários artigos sobre estes pigmentos, relatando atividades anti-carcinogênicas, antioxidantes, antivirais e antiinflamatórias, que estão de acordo com as propriedades exibidas por alimentos que possuem considerável teor de antocianina. Além disso, as antocianinas são antimutagênicas e quimiopreventivas para o câncer e têm efeito sobre o diabetes tipo 2 e a doença de Alzheimer. O consumo de alimentos ricos em antocianinas tem sido associada a uma redução no ganho de peso, regulação de hormônios envolvidos na obesidade e melhora da resistência à insulina em camundongos (Prior et al., 2010). Portanto, extratos vegetais ricos em tais compostos são potencialmente úteis como terapêuticos.

Algumas espécies de *Plinia* têm sido estudadas por suas propriedades biológicas, incluindo antimicrobiana e anti-inflamatória.

6.1. Antimicrobiana

Souza-Moreira et al. (2010) avaliaram o efeito antimicrobiano de extratos orgânicos (50% etanol, 70% ethanol, acetone:water (7:3; v/v) and chloroform) das folhas de *Plinia*

cauliflora contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*. O método de difusão em ágar mostrou grandes zonas de inibição para extratos polares. No entanto, a determinação por CIM e CBM de extratos etanólico (50% e 70%) e extrato de Ac:H₂O mostraram atividade antibacteriana fraca, enquanto o o extrato CHCl₃ não apresentou atividade na maior concentração testada. Os extratos polares apresentaram grande atividade contra as espécies de *Candida* e *C. tropicalis* foi mais sensível a eles, uma vez que os valores de MFC foram os menores. O extrato de CHCl₃ não apresentou atividade na maior concentração testada.

Oliveira et al. (2011) avaliaram a ação antimicrobiana do extrato etanólico (70%) e das frações aquosas e acetato de etila das folhas de *P. cauliflora* contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus* e *Candida albicans*. Nos testes de difusão em ágar, a fração aquosa e o extrato bruto foram as amostras que apresentaram melhor atividade antimicrobiana contra a bactéria *S. aureus* e a levedura *C. albicans*, enquanto a fração acetato mostrou as menores zonas de inibição. Nenhuma amostra apresentou atividade inibitória contra *L. acidophilus*. Pode-se observar que a levedura foi mais sensível, com menores CIMs, embora as concentrações fungicidas mínimas fossem maiores.

Lago et al. (2011) estudaram a ação antimicrobiana dos óleos essenciais das folhas de *Plinia peruviana* contra as bactérias *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus equi* e *Staphylococcus epidermidis* e contras os fungos *Candida dubliniensis*, *Candida tropicalis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida albicans*, *Cryptococcus grubbii*, *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus neoformans* e *Saccharomyces cerevisiae*. Nenhuma das cepas Gram-negativas testadas foi inibida, mas duas cepas Gram-positivas (*S. equi* e *S. epidermidis*) apresentaram redução do crescimento na presença dos óleos essenciais. Por outro lado, várias espécies de patógenos oportunistas pertencentes ao gênero *Candida* e *Cryptococcus* e o organismo modelo *S. cerevisiae* foram inibidos pelo óleo essencial sob investigação. O óleo essencial de *P. trunciflora* apresentou um efeito notável, com exceção de *C. tropicalis*, *C. krusei* e dois sorotipos *Cryptococcus*, que não apresentaram inibição do crescimento. O óleo essencial de *P. trunciflora* foi mais eficiente contra *C. albicans* (CIM de 0,06 mg/mL). Isso pode ser de grande interesse farmacêutico, porque continua sendo a principal causa de doença em pacientes imunodeficientes (Blanco & Garcia, 2008). Um perfil semelhante foi detectado para *C. grubbii* (CIM de 0,12 mg/mL), que é o principal patógeno na meningite fúngica (Nielsen & Heitman ,2007). O óleo essencial de de *P. trunciflora* também demonstrou

notável atividade biológica contra *S. cerevisiae* (0,12 mg/mL) e *C. neoformans* (0,12 mg/mL). Do ponto de vista clínico, esses resultados podem ser importantes, pois esses óleos essenciais podem representar uma alternativa ao tratamento antimicrobiano.

Souza-Moreira et al. (2013) verificaram a ação antifúngica contra *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*, através do ensaio bioguiado, do extrato hidroalcoólico das folhas de *P. cauliflora*. O extrato hidroalcoólico de folhas de *P. cauliflora* foi inicialmente realizado por fracionamento do extrato bruto por extração líquido-líquido em diferentes frações de polaridade. A fração n-butanol foi mais biologicamente ativa contra as cepas de candida e fracionada, produzindo a subfração ativa F2. A purificação de F2 foi conseguida por uma combinação de Cromatografia de Contracorrente de Alta Velocidade (HSCCC) e Cromatografia Líquida de Elevado Desempenho de fase reversa semipreparativa (HPLC) e conduziu a purificação de um grande tanino hidrolisável denominado casuarinina. *C. krusei* foi mais suscetível às amostras de plantas do que as outras espécies. A fração N-butanol foi a fração mais ativa, com efeito inibitório no crescimento fúngico com CIMs na faixa de 19 a 156 µg / mL, dependendo da espécie. Este resultado orientou os autores a purificar e caracterizar ainda mais essa fração. O principal composto isolado de F2 por HPLC, a casuarinina, teve alguma atividade antifúngica e *C. krusei* foi a cepa mais suscetível.

Souza-Moreira et al. (2018) avaliaram a atividade antifúngica contra *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Metarhizium anisopliae*, *Microsporium canis* e *Trychophyton rubrum* do extrato hidroalcoólico, da fração acetato de etila e flavonoides das folhas de *P. cauliflora*. O extrato hidroalcoólico, fração acetato de etila e flavonoides mostraram atividade antifúngica, sendo o extrato hidroalcoólico mais ativo contra as espécies de fungos testadas.

Vila et al. (2010) avaliaram a atividade antibacteriana do óleo essencial das folhas de *P. cerrocampensis*. O óleo essencial exibiu a atividade antibacteriana mais forte contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* com valores CIM de 62,5 e 125 µg/mL, respectivamente. Este óleo essencial também mostrou potente atividade antimicrobiana contra três cepas de *H. pylori* (incluindo SS1, tradicionalmente usadas para ensaios in vivo), com valores de MIC e MBC de 62,5 µg/mL. Vale salientar que *H. pylori* é um patógeno gástrico cuja infecção está associada à gastrite superficial crônica, à ulceração péptica e ao câncer gástrico, infecta cronicamente mais da metade da população mundial.

Vila et al. (2010) também avaliaram a atividade antifúngica do óleo essencial das folhas de *P. cerrocampensis* contra leveduras (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans* e *Saccharomyces cerevisiae*), fungos filamentosos (*Aspergillus*

flavus, *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger*) e fungos dermatófitos (*Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*). Os fungos dermatófitos foram os mais sensíveis, particularmente *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *M. gypseum* com valores de CIM de 32, 62,5 e 125 mg/mL, respectivamente. A atividade antimicrobiana pode estar relacionada aos principais constituintes, principalmente α -bisabolol (Kedzia, 1991; Szalontai et al., 1976), linalol (Pattnaik et al., 1997; Sonboli et al., 2006) e nerolidol (Kubo et al., 1992) cujas propriedades antimicrobianas já foram relatadas anteriormente.

6.2 Atividades hipoglicêmica e hipolipidêmica

Lenquiste et al. (2012) avaliaram a atividade hipoglicemiante e hipolipidêmica do exocarpo do fruto de *P. cauliflora*. O consumo do exocarpo de *P. cauliflora* liofilizada aumentou HDL-colesterol (41,7% em animais alimentados com 2% do exocarpo liofilizado, quando comparado ao grupo controle) e reduzida resistência à insulina em ratos obesos (hiperinsulinemia foi menor em animais que receberam o exocarpo liofilizado). Dragano et al. (2013) também mostraram melhorias na sensibilidade a insulina em camundongos alimentados com alto teor de gordura após a ingestão do pó do exocarpo de *P. cauliflora* liofilizada.

Araújo et al. (2014) estudaram o efeito hipoglicemiante da farinha do exocarpo de *P. cauliflora*, os estudos mostraram que a farinha era composta por quantidades expressivas de fibras, fenólicos totais e antocianinas. A inclusão da farinha do exocarpo de *P. cauliflora* na dieta de ratos teve como resultado valores reduzidos de colesterol sérico e triglicérides (TG), aumento do HDL no soro e reduzido colesterol no fígado. A glicose sérica também apresentou valores reduzidos em comparação ao grupo controle, indicando que a farinha do exocarpo de *P. cauliflora* possui grande potencial hipolipemiante, especialmente na redução do colesterol sérico e TG. Segundo Leite-Legatti et al. (2012), o exocarpo do fruto de *P. cauliflora* apresenta expressiva quantidade de antocianinas, especialmente cianidina-3-O-glicosídeo e delphinidina-3-O-glicosídeo, que tem efeitos redutores lipídicos.

6.3 Atividade gastroprotetora

O extrato etanólico aquoso de folhas de *P. peruviana* (no artigo os autores chamam de *Myrciaria peruviana* var. *trunciflora* Mattos) não revelou toxicidade aguda em camundongos tratados com 5g/kg p.o. e também mostrou atividade antiúlcera promissora em ratos com úlceras induzidas por HCl/etanol (100, 200 e 400 mg/kg p.o.); revelando-se, assim, mais

potente que o lansoprazol. Os triterpenóides presentes nas folhas de *P. peruviana* provavelmente desempenha o papel gastroprotetor nos modelos induzidos por úlcera usados neste estudo (Ishikawa et al., 2008).

Ishikawa et al. (2014) realizaram um fracionamento guiado por bioensaio do extrato hidroalcoólico de *P. edulis*, o qual levou ao isolamento de triterpenos (ácido corosólico e lupeol), flavonóides (quercetina, quercetrina, mirricitrina) e ácido gálico. Os autores não realizaram ensaios com os compostos identificados uma vez que os rendimentos impossibilitaram tais ensaios, mas correlacionaram esses compostos à atividade gastroprotetora, confirmando assim o uso tradicional dessa espécie.

6.4 Atividade inseticida

Poucos trabalhos são reportados com atividade inseticida com espécies de *Plinia*. Vila et al. (2010) avaliaram a atividade larvicida (contra *Aedes aegypti*) do óleo essencial da folha de *P. cerrocampaensis*. O óleo essencial mostrou, nas concentrações de 100 e 500 mg/mL, 53% e 100% de mortalidade de larvas de *A. aegypti*, respectivamente, constituindo uma alternativa potencial ao controle químico convencional.

6.5 Citotoxicidade e toxicidade

Ishikawa et al. (2008) avaliaram a toxicidade do extrato etanólico aquoso de folhas de *P. peruviana* não revelou toxicidade aguda em camundongos quando tratados com 5g/kg p.o..

7. Conclusões e perspectivas

Apesar das evidências sobre o potencial das espécies de *Plinia* como fonte de obtenção de compostos úteis, poucos estudos sobre a composição química e atividade biológica das espécies pertencentes a este gênero foram relatados. Além disso, a maioria dos estudos existentes concentrou-se em *P. cauliflora* e *P. peruviana*, apesar disso, outras espécies possuem uma vasta diversidade de compostos bioativos. Portanto, mais investigações em outras espécies do gênero *Plinia* podem ser promissoras, pois a similaridade quimiotaxonômica dentro das espécies estudadas revela grande potencial na descoberta de novas moléculas com importância biológica.

Os dados descritos neste trabalho revelam várias espécies com grande potencial para aplicações alimentícias e farmacêuticas a alta diversidade molecular encontrada neste gênero, com várias propriedades que poderiam ser exploradas. Atividades biológicas como antioxidante, anti-inflamatória, hipoglicemiante, hipolipidêmica, antifúngica, antiproliferativa,

antibacteriana, anticolinesterásica, anti-Plasmodium e efeitos gastroprotetores têm sido relatadas e os principais compostos químicos correlacionados com essas propriedades têm sido isolados. O conhecimento obtido a partir desta revisão deve ser útil para uma maior exploração dos vários recursos do gênero *Plinia*.

Referências

- Apel, M.A., Sobral, M., Zuanazzi, J.A., Henriques, A., 2006. Essential oil composition of four *Plinia* species (Myrtaceae). **Flavour Fragr. J.** 21, 565–567.
- Blanco, J.L.; Garcia, M.E. Immune response to fungal infections. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 2008, 125, 47-70.
- Carvalho, A.J.S., Ishikawa, T., Gouvêa, C.M.C.P. 2012. Aqueous extract of *Plinia edulis* leaves: antioxidant activity and cytotoxicity to human breast cancer MCF-7 cell line. **S. Afr. J. Bot.** 81,1–7.
- Dragano NRV, Marques AC, Cintra DEC, et al.: Freeze-dried jaboticaba peel powder improves insulin sensitivity in high-fatted mice. **Br J Nutr** 2013;110:447–455.
- Donato, A.M., Morretes, B.L., 2013. *Plinia edulis* – leaf architecture and scanning electron micrographs. **Rev. Bras. Farmacogn.** 23, 410–418.
- Fang J. Classification of fruits based on anthocyanin types and relevance to their health effects. **Nutrition.** 2015; 31(11-12): 1301–1306.
- Govaerts, R., Sobral, M., Ashton, P., Barrie, F., Holst, B.K., Landrum, L., Matsumoto, K., Mazine, F.F., Lughadha, E.N., Proença, C., Soares-Silva, L.H., Wilson, P.G. & Lucas, E. (2010) World Checklist of Myrtaceae. **The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew.** Published on the Internet; <http://www.kew.org/wcsp/>. Accessed: 29 July 2010.
- The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-3. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 09 May 2018.
- Lago, J.H.G.; Souza, E.D.; Mariane, B.; Pascon, R.; Vallim, M.A.; Martins, R.C.C.; Baroli, A.A.; Carvalho, B.A.; Soares, M.G.; Santos, R.T.; Sartorelli, P. Chemical and Biological Evaluation of Essential Oils from Two Species of Myrtaceae — **Eugenia uniflora** L. and **Plinia trunciflora** (O. Berg) Kausel. **Molecules** 2011, 16, 9827-9837.
- Leite-Legatti AV, Batista AG, Dragano NRV, et al.: Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Res Intern** 2012;49:596–603.
- Lenquiste SA, Batista AG, Marineli RS, et al.: Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Res Intern** 2012;49:153–160.
- Lucena, R.F.P.; Nascimento, V.T.; Araújo, E.d.L.; Albuquerque, U.P.d. 2008. Local uses of native plants in an area of Caatinga vegetation (Pernambuco, NE Brazil). **Ethnobotany Research & Applications** 6: 3-14.

MACIEL, A.C., CARDOSO, N. *Cura, sabor e magia nos quintais da Ilha Grande*. Rio de Janeiro: EdUERJ, 2003. p.104.

NASCENTE, A.S. **Uso medicinal de frutos**. In: **BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. EMBRAPA. Artigos técnicos**. Available in: http://www.cpafrp.embrapa/Artigos/uso_medic.htm. Access : 01 mar 2008.

Nielsen, K.; Heitman, J. Sex and virulence of human pathogenic fungi. **Adv. Genet.** 2007, 57, 143-173.

Passeri V, Koes R, Quattrocchio, FM. New Challenges for the Design of High Value Plant Products: Stabilization of Anthocyanins in Plant Vacuoles. **Front Plant Science**. 2016; 7(153):168-177.

Vila R, Santana AI, Pérez-Rosés R et al (2010) Composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Plinia cerrocampanensis*, a new source of α -bisabolol. **Bioresources Technol.** doi:10.1016/j.biortech.2009.11.021

Tabela 1 – Espécie *Plinia* e seus respectivos sinônimos

Espécies	Sinônimos
<i>Plinia abeggii</i> (Urb. & Ekman) Urb.	<i>Eugenia abeggii</i> Urb. & Ekman
<i>Plinia ambivalens</i> M.Souza & Sobral	No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia anonyma</i> Sobral	<i>Plinia plicatocostata</i> (O.Berg) Amshoff
1. <i>Plinia baileyi</i> R.O.Williams ex R.S.Marsh.	<i>Myrciaria plicatocostata</i> O.Berg
2. <i>Plinia arenicola</i> Urquiola & Z.Acosta	No synonyms are recorded for this name
3. <i>Plinia baracoensis</i> Borhidi	No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia callosa</i> Sobral	No synonyms are recorded for this name
4. <i>Plinia caricensis</i> Urb.	No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia cauliflora</i> (Mart.) Kausel	<i>Myrciaria jaboticaba</i> (Vell.) O.Berg
	<i>Myrciaria cauliflora</i> (Mart.) O.Berg
	<i>Eugenia jaboticaba</i> (Vell.) Kiaersk.
	<i>Plinia jaboticaba</i> (Vell.) Kausel
	<i>Myrtus jaboticaba</i> Vell.
	<i>Myrtus cauliflora</i> Mart.
	<i>Myrcia jaboticaba</i> (Vell.) Baill.
5. <i>Plinia cerrocampanensis</i> Barrie	6. No synonyms are recorded for this name
7. <i>Plinia cidrensis</i> Urb.	8. <i>Plinia acutissima</i> var. <i>cidrensis</i> (Urb.) Borhidi
9. <i>Plinia clausa</i> McVaugh	10. No synonyms are recorded for this name
11. <i>Plinia coclensis</i> Barrie	12. No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia complanata</i> M.L.Kawas. & B.Holst	13. No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia cordifolia</i> (D.Legrand) Sobral	<i>Myrciaria cordifolia</i> D.Legrand
<i>Plinia coronata</i> (Mattos) Mattos	<i>Myrciaria coronata</i> Mattos
14. <i>Plinia costata</i> Amshoff	15. No synonyms are recorded for this name
16. <i>Plinia cubensis</i> (Griseb.) Urb.	17. <i>Calycorectes cubensis</i> Griseb.
	18. <i>Marlierea cubensis</i> (Griseb.) Krug & Urb.

20. *Plinia cuspidata* Gómez-Laur. & Valverde
 22. *Plinia darienensis* Barrie
Plinia delicata Antunes et al.
 25. *Plinia dermatodes* Urb.
19. *Myrcia cubensis* (Griseb.) Krug & Urb.
 21. No synonyms are recorded for this name
 23. No synonyms are recorded for this name
 24. No synonyms are recorded for this name
 26. *Plinia toscanosia* Urb.

Espécies	Sinônimos
27. <i>Plinia duplipilosa</i> McVaugh <i>Plinia edulis</i> (Vell.) Sobral	28. No synonyms are recorded for this name <i>Marlierea edulis</i> Nied. <i>Myrciaria edulis</i> (Vell.) Skeels <i>Plinia plicatocostata</i> (O.Berg) Amshoff <i>Rubachia glomerata</i> O.Berg
29. <i>Plinia ekmaniana</i> Urb. <i>Plinia espinhacensis</i> Sobral	30. No synonyms are recorded for this name
32. <i>Plinia gentryi</i> Barrie	31. No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia grandifolia</i> (Mattos) Sobral	33. No synonyms are recorded for this name
35. <i>Plinia guanacastensis</i> Barrie	34. <i>Myrciaria grandifolia</i> Mattos
<i>Plinia hatschbachii</i> (Mattos) Sobral	36. No synonyms are recorded for this name
38. <i>Plinia icardiana</i> Urb.	37. <i>Myrciaria hatschbachii</i> Mattos
<i>Plinia ilhensis</i> G.M.Barroso	39. No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia inflata</i> McVaugh	40. No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia involucrata</i> (O.Berg) McVaugh	41. No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia longiacuminata</i> Sobral	<i>Myrciaria involucrata</i> O.Berg
<i>Plinia marqueteana</i> G.M.Barroso	No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia martinellii</i> G.M.Barroso & M.Peron	No synonyms are recorded for this name
42. <i>Plinia microcycla</i> Urb.	No synonyms are recorded for this name
43. <i>Plinia moaensis</i> Borhidi	No synonyms are recorded for this name
44. <i>Plinia moralesii</i> Barrie	No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia muricata</i> Sobral	No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia nana</i> Sobral	No synonyms are recorded for this name

<i>Plinia nicaraguensis</i> Barrie	No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia oblongata</i> (Mattos) Mattos	<i>Myrciaria oblongata</i> Mattos
45. <i>Plinia orthoclada</i> Urb.	No synonyms are recorded for this name
46. <i>Plinia panamensis</i> Barrie	No synonyms are recorded for this name

Espécies	Sinônimos
<i>Plinia peruviana</i> (Poir.) Govaerts	<i>Myrciaria peruviana</i> (Poir.) Mattos <i>Guapurium fruticosum</i> Spreng. <i>Myrciaria guapurium</i> (DC.) O.Berg <i>Plinia trunciflora</i> (O.Berg) Kausel <i>Guapurium peruvianum</i> Poir. <i>Eugenia rabeniana</i> Kiaersk. <i>Eugenia guapurium</i> DC.
<i>Plinia phitrantha</i> (Kiaersk.) Sobral	<i>Plinia aureana</i> (Mattos) Mattos <i>Myrciaria aureana</i> Mattos <i>Eugenia phitrantha</i> Kiaersk. <i>Plinia aureana</i> (Mattos) Mattos <i>Myrciaria phitrantha</i> (Kiaersk.) Mattos
<i>Plinia pinnata</i> L.	<i>Eugenia pinnata</i> (L.) Druce <i>Eugenia plumieri</i> (O.Berg) Nied. <i>Jossinia pinnata</i> (L.) Heynh. <i>Marlierea glomerata</i> O.Berg <i>Myrciaria trinitatis</i> O.Berg <i>Plinia crocea</i> L. <i>Plinia pentapetala</i> L. <i>Stenocalyx plumieri</i> O.Berg
<i>Plinia pseudodichasiantha</i> (Kiaersk.) G.M.Barroso ex Sobral	<i>Plinia brachybotrya</i> (D.Legrand) Sobral <i>Plinia pauciflora</i> M.L.Kawas. & B.Holst
<i>Plinia rivularis</i> (Cambess.) Rotman	<i>Plinia baporeti</i> (D.Legrand) Rotman
47. <i>Plinia povedae</i> P.E.Sánchez	48. No synonyms are recorded for this name

Plinia pseudodichasiantha (Kiaersk.) G.M.Barroso ex Sobral

49. *Plinia punctata* Urb.

51. *Plinia puriscalensis* P.E.Sánchez & Q.Jiménez

53. *Plinia ramosissima* (Urb.) Urb.

Plinia rara Sobral

56. *Plinia recurvata* Urb.

Plinia renatiana G.M. Barroso e Peixoto

Plinia brachybotrya (D.Legrand) Sobral

Plinia pauciflora M.L.Kawas. & B.Holst

Eugenia pseudodichasiantha Kiaersk.

50. No synonyms are recorded for this name

52. No synonyms are recorded for this name

54. *Calyptanthes ramosissima* Urb.

55. No synonyms are recorded for this name

No synonyms are recorded for this name

No synonyms are recorded for this name

Espécies	Sinônimos
<i>Plinia rivularis</i> (Cambess.) Rotman	<i>Siphoneugena baporeti</i> (D.Legrand) Kausel <i>Myrcia granulata</i> R.O.Williams <i>Myrciaria rivularis</i> (Cambess.) O.Berg <i>Eugenia variifolia</i> Barb.Rodr. ex Chodat & Hassl. <i>Plinia baporeti</i> (D.Legrand) Rotman <i>Myrciaria hagendorffii</i> O.Berg <i>Eugenia rivularis</i> Cambess. <i>Myrciariopsis baporeti</i> (D.Legrand) Kausel <i>Myrciaria baporeti</i> D.Legrand <i>Eugenia hagendorffii</i> (O.Berg) Kiaersk. <i>Siphoneugena legrandii</i> Mattos & N.Silveira
<i>Plinia rogersiana</i> Mattos	57. No synonyms are recorded for this name
58. <i>Plinia rubrinervis</i> Urb.	59. No synonyms are recorded for this name
60. <i>Plinia rupestris</i> Ekman & Urb.	61. No synonyms are recorded for this name
62. <i>Plinia salamancana</i> (Standl.) Barrie	63. <i>Eugenia salamancana</i> Standl.
64. <i>Plinia salticola</i> McVaugh	65. No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia sebastianopolitana</i> G.M.Barroso	66. No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia spiciflora</i> (Nees & Mart.) Sobral	<i>Marlierea lateriflora</i> (DC.) D.Legrand <i>Calyptanthes lateriflora</i> DC. <i>Myrtus spiciflora</i> Spreng. <i>Eugenia spiciflora</i> Nees & Mart. <i>Rubachia lateriflora</i> (DC.) O.Berg <i>Marlierea spiciflora</i> (Nees & Mart.) Nied. <i>Rubachia spiciflora</i> (Nees & Mart.) O.Berg <i>Rubachia spiciflora</i> var. <i>grandifolia</i> O.Berg
<i>Plinia spirito-santensis</i> (Mattos) Mattos	67. <i>Myrciaria spirito-santensis</i> Mattos
68. <i>Plinia stenophylla</i> Urb.	69. No synonyms are recorded for this name
<i>Plinia subavenia</i> Sobral	70. No synonyms are recorded for this name

Tabela 2 – Sumário de uso tradicional de espécies de *Plinia*.

Espécie	Uso tradicional	Parte usada	Distribuição	Referência
<i>Plinia abeggii</i> (Urb. & Ekman) Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Caribe	-
<i>Plinia ambivalens</i> M.Souza & Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
<i>Plinia anonyma</i> Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
71. <i>Plinia arenicola</i> Urquiola & Z.Acosta	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
72. <i>Plinia baileyi</i> R.O.Williams ex R.S.Marsh.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Trinidad & Tobago	-
73. <i>Plinia baracoensis</i> Borhidi	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
<i>Plinia callosa</i> Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
74. <i>Plinia caricensis</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Haiti	-
<i>Plinia cauliflora</i> (Mart.) Kausel	O xarope ou decocção é usado contra tosses, diarreias e disenteria. Adstringente, diarréia, irritações da pele, inflamação do intestino e hemoptise.	Folhas e casca do caule; Exocarpo do fruto	Endêmica do Brasil, Bolívia e Paraguai	Agra, Freitas e Barbosa-Filho 2007; Agra et al. 2008; Reynertson et al. 2006
75. <i>Plinia cerrocampanensis</i> Barri e	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Panamá	-
76. <i>Plinia cidrensis</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Haiti	-

77.	<i>Plinia clausa</i> McVaugh	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Peru	-
78.	<i>Plinia coclensis</i> Barrie	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Panamá	-
	<i>Plinia complanata</i> M.L.Kawas. & B.Holst	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
	Espécie	Uso tradicional	Parte usada	Distribuição	Referência
	<i>Plinia cordifolia</i> (D.Legrand) Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
	<i>Plinia coronata</i> (Mattos) Mattos	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
79.	<i>Plinia costata</i> Amshoff	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica da Guiana, Guiana Francesa e Suriname	-
80.	<i>Plinia cubensis</i> (Griseb.) Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
81.	<i>Plinia cuspidata</i> Gómez-Laur. & Valverde	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica da Costa Rica e Panamá	-
82.	<i>Plinia darienensis</i> Barrie	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Panamá	-
	<i>Plinia delicata</i> Antunes et al.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
83.	<i>Plinia dermatodes</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
84.	<i>Plinia duplipilosa</i> McVaugh	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Peru	-
	<i>Plinia edulis</i> (Vell.) Sobral	Problemas de estômago e inflamação na garganta	Folha, casca e	Endêmica do	Nascente, 2008;

Espécie	Uso tradicional	Parte usada	Distribuição	Referência
85. <i>Plinia ekmaniana</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	exocarpo do fruto -	Brasil Endêmica do Haiti	Maciel, Cardoso, 2003 -
<i>Plinia espinhacensis</i> Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
86. <i>Plinia gentryi</i> Barrie	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Panamá	-
<i>Plinia grandifolia</i> (Mattos) Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
87. <i>Plinia guanacastensis</i> Barrie	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Costa Rica e Panamá	-
<i>Plinia hatschbachii</i> (Mattos) Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
88. <i>Plinia icardiana</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica da Republica Dominicana	-
<i>Plinia ilhensis</i> G.M.Barroso	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
<i>Plinia inflata</i> McVaugh	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil e Equador	-
<i>Plinia involucrata</i> (O.Berg) McVaugh	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil e Venezuela	-
<i>Plinia longiacuminata</i> Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
<i>Plinia marquetiana</i> G.M.Barroso	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do	-

SIQUEIRA, T.F.

Ação de flavonoides da casca do fruto maduro de *M. cauliflora*..

<i>Plinia martinellii</i> G.M.Barroso & M.Peron	Não há registro de uso tradicional	-	Brasil Endêmica do Brasil	-
89. <i>Plinia microcycla</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica da República Dominicana	-
90. <i>Plinia moaensis</i> Borhidi	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
91. <i>Plinia moralesii</i> Barrie	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica da Costa Rica	-
<i>Plinia muricata</i> Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
<i>Plinia nana</i> Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-

Espécie	Uso tradicional	Parte usada	Distribuição	Referência
<i>Plinia nicaraguensis</i> Barrie	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica da Costa Rica e Nicarágua	-
<i>Plinia oblongata</i> (Mattos) Mattos	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
92. <i>Plinia orthoclada</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
93. <i>Plinia panamensis</i> Barrie	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Panamá	-
<i>Plinia peruviana</i> (Poir.) Govaerts	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil, Uruguai e Argentina	-
<i>Plinia phitrantha</i> (Kiaersk.) Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
<i>Plinia pinnata</i> L.	Contra tosses, diarreias e disenteria. Adstringente, diarreia, irritações da pele e inflamação do intestino..	-	Caribe (Trinidad & Tobago) e América do Sul (Brasil, Venezuela, Equador e Suriname)	Nascente, 2008; Maciel, Cardoso, 2003
<i>Plinia pseudodichasiantha</i> (Kiaersk.) G.M.Barroso ex Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
94. <i>Plinia povedae</i> P.E.Sánchez	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica da Costa Rica, Nicarágua e Panamá	-

SIQUEIRA, T.F.

Ação de flavonoides da casca do fruto maduro de *M. cauliflora*..

95.	<i>Plinia punctata</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
96.	<i>Plinia puriscalensis</i> P.E.Sánchez & Q.Jiménez	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica da Costa Rica	-

Espécie	Uso tradicional	Parte usada	Distribuição	Referência
97. <i>Plinia ramosissima</i> (Urb.) Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
<i>Plinia rara</i> Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
98. <i>Plinia recurvata</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
<i>Plinia renatiana</i> G.M.Barroso & Peixoto	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
<i>Plinia rivularis</i> (Cambess.) Rotman	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil e Venezuela	-
<i>Plinia rogersiana</i> Mattos	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
99. <i>Plinia rubrinervis</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
100. <i>Plinia rupestris</i> Ekman & Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
101. <i>Plinia salamancana</i> (Standl.) Barrie	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Panamá	-
102. <i>Plinia salticola</i> McVaugh	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica da Costa Rica e Panamá	-
<i>Plinia sebastianopolitana</i> G.M.Barroso	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-

SIQUEIRA, T.F.

Ação de flavonoides da casca do fruto maduro de *M. cauliflora*..

<i>Plinia spiciflora</i> (Nees & Mart.) Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
<i>Plinia spiritosantensis</i> (Mattos) Mattos	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-
103. <i>Plinia stenophylla</i> Urb.	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica de Cuba	-
<i>Plinia subavenia</i> Sobral	Não há registro de uso tradicional	-	Endêmica do Brasil	-

Tabela 3 – Nomes publicados de *Plinia* que estão alocados em outros gêneros da família Myrtaceae.

Nome de <i>Plinia</i>	Nome aceito
104. <i>Plinia acunae</i> Borhidi & O.Muñiz	<i>Eugenia borhidiana</i> Z.Acosta
105. <i>Plinia acutissima</i> Urb.	<i>Myrciaria floribunda</i> (H.West ex Willd.) O.Berg
106. <i>Plinia asa-grayi</i> (Krug & Urb.) Urb.	<i>Myrciaria floribunda</i> (H.West ex Willd.) O.Berg
<i>Plinia crocea</i> Vell.	<i>Gomidesia jacquiniana</i> O.Berg*
	<i>Gomidesia crocea</i> (Vell.) Nied*
	<i>Myrcia crocea</i> Kiaersk.
<i>Plinia dussii</i> (Krug & Urb.) Urb.	<i>Siphoneugena dussii</i> (Krug & Urb.) Proença
<i>Plinia formosa</i> Urb.	<i>Myrciaria floribunda</i> (H.West ex Willd.) O.Berg
<i>Plinia fruticosa</i> Steyerm.	<i>Siphoneugena dussii</i> (Krug & Urb.) Proença
<i>Plinia glomerata</i> (O.Berg) Amshoff	<i>Myrciaria glomerata</i> O.Berg
<i>Plinia guildingiana</i> (Griseb.) Urb.	<i>Marlierea guildingiana</i> (Griseb.)
<i>Plinia haitiensis</i> Urb. & Ekman	<i>Myrciaria tenella</i> (DC.) O.Berg
<i>Plinia jambos</i> (L.) M.Gómez	<i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston
<i>Plinia montecristina</i> Urb. & Ekman	<i>Myrciaria tenella</i> (DC.) O.Berg
<i>Plinia pedunculata</i> L.f.	<i>Eugenia uniflora</i> L.
<i>Plinia petiolata</i> L.	<i>Eugenia uniflora</i> L.
<i>Plinia rubra</i> L.	<i>Eugenia uniflora</i> L.
<i>Plinia sintenisii</i> (Kiaersk.) Britton	<i>Marlierea sintenisii</i> Kiaersk.
<i>Plinia stictophylla</i> G.M.Barroso & Peixoto	<i>Neomitranthes stictophylla</i> (G.M.Barroso & Peixoto) M.Souza
<i>Plinia strigipes</i> (O.Berg) Sobral	<i>Myrciaria strigipes</i> O.Berg
<i>Plinia tetrapetala</i> L.	<i>Eugenia uniflora</i> L.

* = Sinônimos.

5 CONCLUSÕES DA TESE

- As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são o principal problema de saúde global e geram um elevado número de mortes prematuras e perda de qualidade de vida. saúde global e geram um elevado número de mortes prematuras e perda de qualidade de vida.
- Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante demonstrando a riqueza fenólica da casca do fruto atuando como eliminador de radicais livres, impedindo a propagação de suas reações em cadeia.
- O extrato de acetato de etila da casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* apresentou a melhor atividade antioxidante em diferentes mecanismos de ações analisados.
- A casca do fruto de *Myrciaria cauliflora* apresentou atividade antipirética, analgésica e normoglicêmica, indicando que os extratos foram tão bons quanto o padrão de cada teste antioxidante e o controle positivo de cada teste biológico, revelando a capacidade promissora do extrato.

REFERÊNCIAS

ABE, L. T.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Potential dietary sources of ellagic and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* (Vell. Berg)). **Journal of The Science of Food And Agriculture**, v. 92, n. 8, p. 1679-1687, 2012.

ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais: abordagem histórico-contemporânea**. 3 ed. Salvador: EDUFB. p. 34-66, 2011.

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. **F Research International**, v. 54, p. 468-477, 2013.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 35, n. 1, p. 64–71, 2012.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ANTUNES, B. M.; ROSSI, F. E.; INOUE, D. S.; NETO, J. C. R.; LIRA, F. S. Imunometabolismo e Exercício Físico: Uma nova fronteira do conhecimento. **Motric**, v.13, n. 1, p. 85-98, 2017.

ARTS, I. C. W.; HOLLMAN, P. C. H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **Am J Clin Nutr**, v. 81, n. 1, p. 317-325, 2005.

BAENA, R. C. Muito além dos nutrientes: o papel dos fitoquímicos nos alimentos integrais. **Diagn Tratamento**, v. 20, n. 1, p. 17-21, 2015.

BADKE, M. R.; BUDÓ, M. L. D. SILVA, F. M. RESSEL, L. B. Plantas Medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Esc. Ana Nery**, v. 15, n. 1, p. 132-139, 2011.

BAPTISTA, C. M. M.; MENEGHELLI, U. G; BORDINI, C. A.; SPECIALI, J. G. Cefaléia no Antigo Egito. **Migrâneas cefaleias**, v. 6, n. 2, p. 53-55, 2003.

BARNES, J. **Fitoterápicos**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 720p.

BARTFAI, T.; CONTI, B. Fever. **Scientific World Journal**, v. 10, p. 490–503, 2011.

BATISTA, L. M.; VALENÇA, A. M. G. A Fitoterapia no âmbito da atenção básica no SUS: Realidades e perspectivas. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**, v. 12, n. 2, p. 293-96, 2012.

BERTONI, V. M.; ZANARDO, V. P. S. BENI, G.C. Avaliação do perfil lipídico dos pacientes com dislipidemias atendidos no ambulatório de especialidades de nutrição. **Perspectiva**, v. 35, n. 129, p. 177-188, 2011.

BERG, O. Revision Myrtacearum Americae', **Linnaea**, v. 27, p. 1–128, 1855.

BITTENCOURT, L. C.; MELO, M. B. A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos na rede de atenção básica de saúde no município de Aracaju-SE. **Ciências Biológicas e de Saúde Unit**, v. 3, n. 3, p. 165-176, 2016.

BOARI-LIMA, A. J.; CORRÊA, A. D.; SACZK, A. A.; MARTINS, M. M.; CATILHO, R. O. Anthocyanins, Pigment Stability and Antioxidant Activity in Jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]. **Rev Bras Frutic**, v. 33, n. 3, p. 877-887.

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

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Conferência Nacional de Saúde, VIII. 1986**. Relatório Final. Brasília. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/8_CNS_Relatório%20Final.ppdf Acesso em 25/11/2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Decreto nº971, de 3 de maio de 2006**. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema único de Saúde. Brasília, 2006a.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº5813, de 22 de junho de 2006**. Aprova a Política de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. Brasília, 2006b.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Relatório do 1º Seminário Internacional de Práticas Integrativas e Complementares em Saúde: PNPIC**. Brasília, 2009. 196p. (Série C. Projetos, programas e Relatórios).

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº886, de 20 de maio de 2010**. Institui a Farmácia Viva no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Brasília, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022**. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Acolhimento à demanda espontânea: queixas mais comuns na Atenção Básica**. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica.– Brasília : Ministério da Saúde, 2012. 290 p. (Cadernos de Atenção Básica n. 28, Volume II).

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME)**. Brasília, 2013. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2012/prt533_28_03_2012.htm Acesso em nov. 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS: atitude de ampliação de acesso**. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. 2ed. Brasília,: Ministério da Saúde, 2015.

BRUCKI, S. M. D.; FROTA, N. A.; SCHESTATSKY, P; SOUZA, A. H.; CARVALHO, V. N.; MANREZA, M. L. G.; MENDES, M. F.; COMINI-FROTA, E.; VASCONCELOS, C.; TUMAS, V.; FERRAZ, H. B.; BARBOSA, E.; JURNO, M. E. **B Acad of Neurology**, Arquivos de neuro-psiquiatria, v. 73, n. 4, p. 371-374, 2015.

CACCIA-BAVA, M. C. C. G. G.; BERTONI, B. W.; PEREIRA, A. M. S.; MARTINEZ, E. Z. Disponibilidade de medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais nas unidades de

atenção básica do Estado de São Paulo: resultados do Programa Nacional de Melhoria do Acesso e da Qualidade da Atenção Básica (PMAQ). **Ciência S Coletiva**, v. 22, n. 5, p. 1651-1659, 2017.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **B J Biological Research**, v.33, p. 179-189, 2000.

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). **F Research Internat**, v. 70, p. 15-22, 2015.

CAROCHO, M. e FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **F Chem. Toxicol.**, v. 51, p. 15–25, 2013.

CARVALHO, A. C. B.; NUNES, D. S. G.; BARATELLI, T. G.; SHUQAIR, S. N. S. M. S. A. Q.; NETTO, E. M. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v. 11, p. 26-32. 2007.

CARVALHO, C. M.; MACEDO-COSTA, M. R.; PEREIRA, M. S.V.; HIGINO, J. S.; CARVALHO, L. F. P. C.; COSTA, L. J. Efeito antimicrobiano in vitro do extrato de jaboticaba [*(Myrciaria cauliflora)* (Mart.) O. Berg.] sobre estreptococos da cavidade oral. **Rev Bras PI Med**, v. 11, n. 1, p. 79-83, 2009.

CAVALCANTI, R. N.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction with a modifier of antioxidant compounds from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) byproducts: economic viability. **Procedia Food Sci**, v.1, p. 1672–1678, 2011.

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

COSTA, N. M. B; ROSA, C. O. B. **Alimentos Func**, Viçosa (MG): UFV, Ed. Newton Paiva, 2006. 202 p.

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

COSTA, F. I. B.; PORFIRIO, M. C. P.; OLIVEIRA, J. B.; SANTANA, G. A.; LAGE, R. S.; SILVA, M. V. Avaliação fitoquímica e screening da capacidade antioxidante de resíduos de umbu. **Rev B Prod Agroindustriais**, v. 17, n. 4, p. 341-348, 2015.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V., COLLINS, T. **Patologia Estrutural e Funcional**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2006.

DANNER, M.A., CITADIM, I.; FERNANDES JÚNIOR, A.A., ASSMANN, A.P., MAZARO, S.M., SASSO, S.A.Z. Formação de Mudas de Jaboticabeira (*Plinia* sp.) em diferentes substratos e tamanhos de recipientes. **Rev B Fruticultura**, v. 29, n. 1, p.179–182, 2007.

DILLARD, C. J.; GERMAN, B. Review-Phytochemicals: nutraceuticals and human health. **J Sci Food Agriculture**, v. 80, n. 12, p. 1744-1756, 2000.

DEGÁSPARI, C. H; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos. **Visão Acad**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DE MARTINO, L.; NAZZARO, F.; MANCINI, E.; DE FEO, V. In: PREEDY, V. R.; WATSON, R. R. (ed). 1º Ed. Essencial oils from Mediterranean Aromatic Plants. **The Medit Diet: An Evidence-Based Approach**. Londres: Elsevier, 2014. v. 58, p. 649-661.

DEWICK, P.M. The biosynthesis of C5-C25 terpenoid compounds. **Nat. Prod. Rep**, v. 19, n. 2, p. 181–222, 2002.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Rev Multiciência**, n.7, 2006.

DRAGANO, N. R. V.; MARQUES, A. C.; CINTRA, D. E. C.; SOLON, C.; MORARI, J.; LEITE-LEGATTI, A. V.; VELLOSO, L. A.; MARÓSTICA-JÚNIOR, M. R. Freeze-dried jaboticaba peel powder improves insulin sensitivity in high-fat-fed mice. **British J Nut**, p. 1-9, 2013. doi:10.1017/S0007114512005090.

EINBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X. D.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **F Chemistry**, London, v. 84, n. 1, p. 23-28, 2004.

ELSAYED, E. A.; ENSHASY, H. E.; WADAAN, M. A. M.; AZIZ, R. Mushrooms: A potential natural source of anti-Inflammatory compounds for medical applications. **Med inflammation**, v. 2014. Article ID 805841, 2014.

ELVIN-LEWIS. Should we be concerned about herbal remedies. **J Ethnopharmacology**, v. 75, p. 141–164, 2001.

ENGIN, A. B., TSATSAKIS, A. M, TSOUKALAS, D., ENGIN, A. Do flavanols-rich natural products relieve obesity-related insulin resistance?. **F Chem Toxicology**, 112, 157-167, 2017.

FEIN, A. **Nociceptors and the perception of pain**. University of Connecticut Health Center. 2014. 167p.

FERRARI, R. A.; COLUSSI, F; AYUB, R. A. caracterização de subprodutos da Industrialização do Maracujá - Aproveitamento das Sementes. **Rev. Bras. Frutic**, v. 26, n. 1, p. 101-102, 2004.

FONTELES, M. M. F.; FRANCELIN, E. V.; Luciana Kelly Ximenes dos SANTOS, L. K. X.; SILVA, K. M.; SIQUEIRA, R.; VIANA, G. S. B.; VASCONCELOS, S. M. M.; CLÉA, F.; SOUSA, F.; MONTEIRO, M. P. Reações adversas causadas por fármacos que atuam no sistema nervoso: análise de registros de um centro de farmacovigilância do Brasil. **Rev Psiq Clín**, v. 36, n. 4, p.137-44, 2009.

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 NMM Spectroscopy. **J. Braz. Chem. Soc**, vol. 23, n. 10, p. 1815-1822, 2012.

FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. Farmacologia Clínica. Fundamentos da Terapêutica Racional. 4ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

FDA. **FDA has reviewed possible risks of pain medicine use during pregnancy**, 2015. <<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/DrugSafety/UCM429119.pdf>> Acesso em 09/02/2018.

FREITAS, J. A. B.; FONTELES, M. M. F.; LIMA, M. E. S.; BACHUR, T. P. R.; CARVALHO, T. M. J. P. Medicamentos isentos de prescrição: perfil de consumo e os riscos tóxicos do paracetamol. **Revinter**, v. 10, n. 03, p. 134-154, 2017.

GBD. Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **Lancet**, v. 388, n. 10053, p. 1659-1724, 2016.

GIULIANO, I. C. B.; CARAMELLI, B. Dislipidemias na infância e na adolescência. **Rev Paulista de Ped**, v.29, n.4, p.275-85, 2008.

GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; RALL, T.W.; MURAD, F. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**, 11a ed. Rio de Janeiro: Grow-Hill, 2006.

GONÇALVES, A.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade microbiana de extrato de algumas arvores nativas. **Arq Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 35-358, 2005.

GORZALCZANY, S.; MARRASSINI, C.; MINO, J.; ACEVEDO, C.; FERRARO, G. Antinociceptive activity of ethanolic extract and isolated compounds of *Urtica circularis*. **J of Ethnopharmacology**, v. 134, p. 733-738, 2011.

GOZZOLI, V.; TREGGIARI, M. M.; KLEGER, G-R.; ROUX-LOMBARD, P.; FATHI, M.; PICHARD, C.; ROMAND, J-A. Randomized trial of the effect of antipyresis by metamizol, propacetamol or external cooling on metabolism, hemodynamics and inflammatory response. **Int Care Med**, v. 30, p. 401-407, 2004.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal Plants: traditions of yesterday. **Mol Aspects of Med**, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

GHOLAMNEZHAD, Z.; KEYHANMANESH, R.; BOSKABADY, M. H. Anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory aspects of *Nigella sativa* for its preventive and bronchodilatory effects on obstructive respiratory diseases: A review of basic and clinical evidence. **J Functional Foods**, v. 17, p. 910–927, 2015

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*. **A P J Tropical Disease**, p.667-670, 2012.

HARAGUCHI, L. M. M.; CARVALHO, O. B.; **Plantas Medicinais: do curso de plantas medicinais**. São Paulo: Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente. Divisão Técnica Escola Municipal de Jardinagem, 2010. 248p.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure activity relationships. **J Nutr Biochemistry**, v. 13, n. 9, p. 572-584, 2002.

HELFAND, W. H.; COHEN, D. L. **Pharmacy an illustrated history**, New York: Harry N. Abraams, 1990.

HENDRY, E. R., WORTHINGTON, T., CONWAY, B. R., LAMBERT, P. A. Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. **J Antimicrob Chemother**, v. 64, p. 1219-1225, 2009.

HERBARIUM. **Introdução à Fitoterapia: Utilizando adequadamente as plantas medicinais**. 2. ed. Colombo: Herbarium Lab. Bot. Ltda, 2011. 104p.

HERZOG, L.; PHILLIPS, S. G. Addressing concerns about fever. **Clin. Pediatr**, v. 50, p. 383–390, 2010.

HSU, Y. J.; LEE, T. H.; CHANG, C. L. T.; HUANG, Y. T.; YANG, W. C. Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract. **J Ethnopharmacol**, v. 122, n. 2, p.379–83, 2009.

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

KASOTE, D. M.; KATYARE, S. S.; HEGDE, M. V.; BAE, H. Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. **Int. J. Biol. Sci**, v. 11, n. 8, p. 982-991, 2015.

KARPANEN, T. J., WORTHINGTON, T., HENDRY, E. R., CONWAY, B. R., LAMBERT, P. A. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine digluconate alone and in combination with eucalyptus oil, tea tree oil and thymol against planktonic and biofilm cultures of *Staphylococcus epidermidis*. **J Antimicrob Chemother**, v. 62, n. 5, p. 1031-36, 2008.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

KUMAWAT, R.; SHARMA, S.; VASUDEVA, N.; KUMAR, S. In vivo anti-inflammatory potential of various extracts of *Sida tiagii* Bhandari. **A P J Tropical Biomedicine**, v. 2, p. 947-952, 2012.

KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M.L.; MELLO, J.C.P. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Rev Ciências Farmacêuticas Básica Apl**, v. 30, n. 3, p. 241-248, 2009.

LANDRUM, L.R.; KAWASAKI, M.L. The genera of Myrtaceae in Brasil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, n. 49, p. 508-536, 1997.

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 JÚNIOR, M.. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferativ e and antimutagenic activities. **F Research International**, v.49, n.1, 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.

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 **Arq Latinoamericanos Nutrição**, v. 58, n. 4, 2008.

LOPES, A. M.; EBINUMA, V. C. S.; MAZZOLA, P. G.; MAGALHÃES, P. O.; RANGEL-YAGUI, C. O.; PESSOA JR, A. Remoção de endotoxinas bacterianas: Um desafio na indústria biotecnológica. **Microb in Foco**, v. 19, p. 24-34, 2012.

LOPES, K. M. T.; NASCIMENTO, P. R. Cultura Popular e Ciência no Registro de Fitoterápicos. **Revinter**, v. 10, n. 02, p. 122-133, 2017.

MA, Q. Transcriptional responses to oxidative stress: Pathological and toxicological implications. **Pharmacol. Ther**, v. 125, p. 376–393.

MALTA, D. C.; FRANÇA, E.; ABREU, D. M. X.; PERILLO, R. D.; SALMEN, M.C.; TEIXEIRA, R. A.; PASSOS, V.; SOUZA, M. F. M.; MOONEY, M.; NAGHAVI, M. Mortality due to noncommunicable diseases in Brazil, 1990 to 2015, according to estimates from the Global Burden of Disease study. **São Paulo Med J**, v. 135, n. 3, p. 213-221, 2017.

MARTINS DE SÁ, L. Z. C.; CASTRO, P. F. S.; LINO, F. M. A.; MILTON J.C.; BERNARDES, M. J. C.; VIEGAS, J. C. J.; DINIS, T. C. P.; SANTANA, M. J.; ROMAO, W.; VAZ, B. G.; LIÃO, L. M.; GHEDINI, P. C.; MATHEUS L. ROCHA, M. L.; GIL, E. S. Antioxidant potential and vasodilatory activity of fermented beverages of jaboticaba berry (*Myrciaria jaboticaba*). **J functional foods**, v.8, n. 169–179, 2014.

MEIRA, N. A. N.; PEREIRA, N. P.; MACIEL, L. F.; OLIVEIRA, D. D.; NASCIMENTO, I. S.; SILVA, S. A. Flavonóides e Antocianinas em *Myrciaria cauliflora* (jaboticaba), visando à aplicabilidade estética. **Visão Acad**, v.17, n. 3, 2016.

MENDES; L. V. P.; EMMERICK, I. C. M.; LUIZA, V. L. Uso de medicamentos entre portadores de doenças crônicas: um estudo observacional no estado do Espírito Santo. **Rev. Bras. Farm**, v. 95, n. 2, p. 732 – 747, 2014.

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. **Rev B Medicina**, p. 66-81, 2008.

MICHEL, M. C. P.; GUIMARÃES, A. G.; PAULA, C. A.; REZENDE, S. A.; SOBRAL, M. E. G.; GUIMARÃES, D. A. S. Extracts from the leaves of *Campomanesia velutina* inhibits production of LPS/INF-J induced inflammatory mediators in J774A.1 cells and exerts anti-inflammatory and antinociceptive effects in vivo. **Rev Bras Farmacogn**, v. 23, p. 927-936, 2013.

MIGUEL, M. G. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. **Molecules**, v. 15, p. 9252-9287, 2010.

MISSICK, P. “Health and safety impacts of citrus-based terpenes in printed circuit board cleaning” The Massachusetts Toxics Use Reduction Institute, University of Massachusetts Lowell, Technical Report, n. 6, 1993.

MOREIRA, A. V. B; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Rev Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.

MURI, E. M. F.; SPOSITO, M. M. de M.; METSAVAHT, L. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and their local pharmacology. **Acta Fisiatr**, v. 16, n. 4, p. 186-190, 2009.

NAKAMURA, K. New investigator award of the neural control and autonomic regulation (ncar) section, 2010. Central circuitries for body temperature regulation and fever. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol**, v. 301, n. 5, p. 207-228, 2011.

NIVEN, D. J.; LEGER, C.; STELFOX, H. T.; LAUPLAND, K. B. Fever in the Critically III: A Review of Epidemiology, Immunology, and Management. **J. Intensive Care Med**, v. 27, n. 5, p.290–297, 2012.

NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, C. A.; MELLO, E. D.; MELLO, P. P.; MELLO, P. D.; ZORZO, R. A.; FILHO, D. R. Consenso da Associação Brasileira de Nutrologia sobre manejo da dislipidemia secundária à obesidade infanto-juvenil. **Int Jof Nutrology**, v. 10, n. 3, p. 7-24, 2017.

NUNES, C. R. M.; ALENCAR, G. O.; BEZERRA, C. A.; BARRETO, M. R. F.; SARAIVA, E. M. S. Panoramas das Intoxicações por Medicamentos no Brasil. **Rev. e-ciência**, v. 5, n. 2, p. 98-103, 2017.

OCDE-FAO. **Perspectivas Agrícolas no Brasil: desafios da agricultura brasileira 2015-2024**. Capítulo 2. Agricultura Brasileira: Perspectivas e Desafios – OCDEFAO 2015. Disponível em: <http://www.agri-outlook.org>. Acesso em 20/02/2018.

OGOINA, D. Fever, fever patterns and diseases called “fever” - A review. **J. Infect. Public Health**, v. 4, n.3. p. 108–124, 2011.

OLIVEIRA, V. P.; ESPESCHIT, A. C. R.; PELUZIO, M. C. G. Flavonoides e Doenças Cardiovasculares: Ação Antioxidante. **Rev Med Minas Gerais**, v. 16, n. 4, p. 234-238, 2006.

OLIVEIRA, F. C.; ALBUQUERQUE, U. P.; FONSECA-KRUEL, V. S.; HANAZAKI, N. Avanços nas pesquisas etnobotânicas no Brasil. **Acta bot. Bras**, v. 23, n. 2, p. 590-605, 2009.

OLIVEIRA, T. T.; SILVA, R. R.; DORNAS, W. C.; NAGEM, T. J. Flavonoides e Aterosclerose. **RBAC**, v. 42, n. 1, p. 49-54, 2010.

OLIVEIRA, L. A.; SOUZA-MOREIRA, T. M.; CEFALI, L. C.; CHIARI, B. G.; CORRÊA, M. A.; ISAAC, V. L. B.; SALGADO, H. R. N., PIETRO, R. C. L. R. Design of antiseptic formulations containing extract of *Plinia cauliflora*. **Brazilian J Pharm Sci**, v. 47, n. 3, p. 525-533, 2011.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos Secundários Vegetais e Benefícios Antioxidantes. **J Biotech Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

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. **Rev Br Plantas Mediciniais**. v.13, n.1, p.98-109, 2011

RAMOS, G. P.; APEL, M. A.; DE MORAIS, C. B.; CEOLATO, P. C.; SCHAPOVAL, E. E. S.; DALL'AGNOL, M.; ZUANAZZI, J. A. S. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of red clover *Trifolium pretense* dry extract. **B J Pharmacognosy**, v. 22, n. 1, p. 176-180, 2012.

RAHMAN, T.; HOSEN, I.; TOWHIDUL ISLAM, M. M.; SHEKHAR, H. U. Oxidative stress and human health. **Adv Bioscience Biotech**, v. 3, p. 997-1019, 2012.

RANDRIANARIVONY, Tabita N. et al. Randrianarivony, T. N., Ramarosandratana, A. V., Andriamihajarivo, T. H., Rakotoarivony, F., Jeannoda, V. H., Randrianasolo, A., & Bussmann, R. W. The most used medicinal plants by communities in Mahaboboka, Amboronabo, Mikoboka, Southwestern Madagascar. **J ethnobiology ethnomedicine**, v. 13, n. 1, p. 19, 2017.

RENAME – **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais**. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/renome_2010.pdf>. Acesso em setembro de 2017.

REYNERTSON, K. A.; WALLACE, A. M.; ADACHI, S.; GIL, R. R.; YANG, H.; BASILE, M. J.; ARMIENTO, J. D.; WEINSTEIN, B.; KENNELLY, E. J. Bioactive Depsides and Anthocyanins from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **J. Nat. Prod**, v. 69, n.1228-1230, 2006.

REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B. BASILE, M. J.; KENNELLY, M. E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible *Myrtaceae* fruits. **Food Chemistry**, v.109, N. 4, p.883-890, 2008.

ROCHA, A. P. C.; KRAYCHETE, D. C.; LEMONICA, L.; CARVALHO, L. R.; BARROS, G. A. M.; João Batista dos Santos GARCIA, J. B. S.; SAKATA, R, K. Dor: Aspectos Atuais da Sensibilização Periférica e Central. **Rev Bras Anestesiol**, v. 57, n. 1, p. 94-105, 2007.

SANTOS, J. E.; GUIMARÃES, A. C.; DIAMENT, J. Consenso Brasileiro Sobre Dislipidemias: Detecção, Avaliação e Tratamento. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.43, n.4, 1999.

SANTOS, D. R. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq Bras de Cardiol**, v. 77, p. 1-48, 2001.

SANTOS, B. S.; MELO-JÚNIOR, M. R.; PAIVA, M. H. S.; PIMENTA FILHO, A. A.; ARAUJO, T. F. S.; FLORÊNCIO, E. G.; AMÂNCIO, A. P.; MOTA, C. R. F. C.; BATISTA, C. B.; MIRANDA, M. D. P. A.; COSTA, J. S. C.; LIMA, V. L. M. Análise comparativa do perfil lipídico de homens do Estado de Pernambuco em relação às diretrizes brasileiras sobre dislipidemias. **Rev Bras Anal Clin**, v. 41, p. 295-297, 2009.

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

SANTOS, C.C.S., GUILHON, C.C., MORENO, D.S.A., ALVIANO, C.S., ESTEVAM, C.S., BRANK, A.F., FERNANDES, P.D. Anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant properties of *Schinopsis brasiliensis* bark, **J Ethnopharmacology**, v. 213, p. 176-182, 2018.

SASSO, S.A.Z.; CITADIN, I.; DANNER, M. A. Propagação de jaboticabeira por estaquia **Rev. Bras. Frutic**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 2, p. 577-583, 2010.

SBC – Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol**, v. 101, n. 4, supl 1, 2013.

SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol**, v. 109, n. 1, 2017.

SILVA, G. J. F.; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W.; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jaboticaba (*Myrciaria* ssp.). **Alimentos e Nutr**, v.21, n. 3, p. 429-436, 2010.

SILVA, J. C.; SARAIVA, S. R. G. L.; Raimundo Gonçalves de Oliveira JÚNIOR & JACKSON, R. G. O.; ALMEIDA, R. G. S. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. **Rev. Bras. Farm**, v. 94, n.1, p. 18-23, 2013.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacog Prod Natural Med**, Porto Alegre: Artmed, 2017. 486p.

SHAHIDI, F; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects, application**. Lancaster: Technomic, 1995. 331p.

SOUSA, C. M. M; SILVA, H. R; VIEIRA-JR, G. M; AYRES, M. C. C; COSTA, C. L. S; ARAÚJO, D. S; CAVALCANTE, L. C. D; BARROS, E. D. S; ARAÚJO, P. B. M; BRANDÃO, M. S; CHAVES, M. H. Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de cinco plantas medicinais. **Q Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Bot. Bras**, v. 20, n. 1, p. 135-142, 2006.

SPINOSA, H. S., GÓRNIK, S. L., BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 239-272.

SPOSITO, A. C.; CARAMELLI, B.; FONSECA, F. A.; BERTOLAMI, M. C.; AFIUNE NETO, A.; SOUZA, A. D. Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Brazilian Guideline for dyslipidemia and atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology. **Arq Bras Cardiol.**, v. 88, Supl. 1, p. 2-19, 2007.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINI, F.; LUCAS, E. *Myrtaceae* in: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 27 de nov. 2014. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 27 Nov. 2017.

TAMURA, K. M.; NASCIMENTO, L. P. R. Cultura Popular e Ciência no Registro de Fitoterápicos. **Revinter**, v. 10, n. 2, p. 122-133, 2017.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGUETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Rev Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297-304. 2008.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária: Uma Introdução**. 6ª ed. São Paulo: Editora Roca, 2002.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **B J Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 2, p. 289-306, 2006.

The Plant List. **A Working List of all Plant Species**. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-131794>> Acesso em 18/07/2018.

VALE, F. M. Dor. Novos aspectos fisiopatológicos e consequentes estratégias farmacológicas. **Rev Faculdade de Med Lisboa**, v. 5, n. 5, p. 291-304, 2000.

VALE, N. B. A farmacobotânica ainda tem lugar na moderna anestesiologia? **Rev Bras de Anestesiol**, v. 52, n. 3, p. 368-380, 2002.

VASCONCELOS, C. F. B.; MARANHÃO, H. M. L.; BATISTA, T. M.; CARNEIRO, E. M.; FERREIRA, F.; COSTA, J.; SOARES, L. A. L.; SÁ, M. D. C.; SOUZA, T. P.; WANDERLEY, A. G. Hypoglycaemic activity and molecular mechanisms of *Caesalpinia*

ferrea Martius bark extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. **J Ethnopharmacol**, v.137, n. 3, p. 1533–1541, 2011.

VERRI, Jr. W. A., CUNHA, T. M., PARADA, C. A., POOLE, F. Q. C., FERREIRA, S. H. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? **Pharmacology & Therap**, v. 112, p. 116-138, 2006.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonóides Antocianinas: Características e Propriedades na Nutrição e Saúde. **Rev Br Nutr Clinica**, v. 23, n. 2, p. 141-149, 2008.

VOLTARELLI, J. C. Febre e inflamação. **Medicina**, v. 27, n. 1, p. 7-48, 1994.

VUNDRU, S. S.; PRASAD, N.; PATEL, R.; RANI, V.; YADAV, U-C. S. **Free Radicals in Human Health and Disease: Gene – Enviroment Interaction in Oxidative Stress – Induced Pathologie**. p. 75-90. Springer: Índia, 2015.

WHO. International Conference on Primary Health Care (1978: Alma-Ata, URSS). **Report of the International Conference on Primary Health Care Jointly sponsored by the world health Organization and the United Nations Organization and United Nations Children’s Fund**. Geneva, 1978.

WHO. Traditional Medicine Strategy 2002-2005. Geneva: **World Health Organization**, 2005.

WHO. The World Health Report. Health Systems Improving Performance. Acesso em 27/11/2017 < http://www.who.int/whr/2000/en/whr00_en.pdf>. World Health Organization.

WU, S-B. DASTMALCHI, K.; LONG, C.; KENELLY, E. J. Metabolite Profiling of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other Dark-Colored Fruit Juices. **J A 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. **F Research International**, v. 54, p. 148-159, 2013.

ANEXO A

Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE.



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 08 de abril de 2015.

Ofício nº 30/15

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.ª Vera Lúcia de Menezes Lima**
Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Bioquímica – CCB
Processo nº 23076.005325/2015-95

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **“Ação de flavonoides purificados da casca de fruto maduro de *Myrciaria cauliflora* sobre o metabolismo bioquímico de modelo experimental de dislipidemias”**.

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do LIKA/UFPE; Animais: ratos heterogênicos; Linhagem: novergicus; Idade: 35-60 dias; Peso: 200-250g; Sexo: machos; Número total de animais: 40.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
SIAPE 1801584

ANEXO B

Instruções aos autores para submissão de artigo ao periódico *Fitos*

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Revista Fitos

E-ISSN: 2446-4775 e ISSN: 1808-9569 (Impressa)

Endereço: Av. Comandante Guarany, 447, Jacarepaguá, CEP 22775-903, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Telefone: 21- 3348.5598

E-mail: revistafitos@far.fiocruz.br.

A Revista Fitos publica artigos científicos originais sobre Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) em medicamentos da diversidade vegetal nas seguintes áreas do conhecimento: **Agroecologia, Botânica, Ciências Farmacêuticas** (Farmácia; Farmacotecnia; Análise e Controle de Medicamentos e afins); **Educação e Conhecimento; Etnociências** (Etnobotânica e Etnofarmacologia); **Engenharia de Medicamentos e Produtos Naturais; Farmacologia** (Farmacologia Clínica e Experimental); **Política e Gestão** (Políticas Públicas; Política e Planejamento Governamental; Crescimento Econômico e Saúde Pública); **Química; Toxicologia** e outras.

Revista Fitos

E-ISSN: 2446-4775 e ISSN: 1808-9569 (Impressa) Endereço: Av. Comandante Guarany, 447, Jacarepaguá, CEP 22775-903, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Telefone: 21- 3348.5598 E-mail: revistafitos@far.fiocruz.br.

A Revista Fitos publica artigos científicos originais sobre Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) em medicamentos da diversidade vegetal nas seguintes áreas do conhecimento: **Agroecologia, Botânica, Ciências Farmacêuticas** (Farmácia; Farmacotecnia; Análise e Controle de Medicamentos e afins); **Educação e Conhecimento; Etnociências** (Etnobotânica e Etnofarmacologia); **Engenharia de Medicamentos e Produtos Naturais; Farmacologia** (Farmacologia Clínica e Experimental); **Política e Gestão** (Políticas Públicas; Política e Planejamento Governamental; Crescimento Econômico e Saúde Pública); **Química; Toxicologia** e outras.

São aceitos manuscritos em **português, inglês e espanhol**, nos seguintes formatos: artigo original de pesquisa, artigo de revisão, comunicação breve, monografia de plantas medicinais, perspectiva, resenha e carta.

- **Artigos:** resultado de pesquisa experimental ou conceitual, respeitando fundamentação e metodologia científica, com o máximo de 6.000 palavras. Deverá ser estruturado com itens identificados com subtítulos de introdução, metodologia, resultados e/ou discussão e conclusão.

- **Revisão:** revisão crítica da literatura sobre temas pertinentes, com o máximo de 8.000 palavras. A submissão de revisões está sujeita somente ao convite ou à consulta prévia pelo editor de área.

- **Comunicação Breve:** relato de resultados preliminares de pesquisa, ou ainda resultados de estudos originais que possam ser apresentados como revisão ou na estrutura de artigo, mas de forma sucinta, com o máximo de 1.700 palavras.

Perspectivas: análises de temas conjunturais, de interesse imediato e sobre a importância do tema, em geral a convite da equipe editorial, com o máximo de 2.200 palavras.

- **Monografia de Plantas Medicinais:** visam agrupar, padronizar e sistematizar o conhecimento das características e propriedades das plantas medicinais para orientar registro nos órgãos de regulamentação. Texto contendo no máximo 3.500 palavras.

- **Resenhas:** resenha crítica de livro, dissertações, teses e outros, publicado nos últimos dois anos, com o máximo 1.200 palavras.

- **Cartas:** crítica a artigo publicado em números anteriores da Revista Fitos, com no máximo 700 palavras.

1. Informações gerais do manuscrito

- São publicados manuscritos científicos inéditos e originais e que não estejam em avaliação simultânea em nenhum outro periódico.
- Caso seja identificada a publicação ou submissão simultânea em outro periódico, o manuscrito será desconsiderado.
- Todos os autores deverão preencher o termo de Cessão de Direitos Autorais, que deverá ser inserido no sistema.
- Todo conceito e opiniões expressos nos artigos, bem como a exatidão e a procedência das citações, são de exclusiva responsabilidade dos autores.
- Informar no formulário de submissão, qualquer conflito de interesse que envolva o manuscrito.
- Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado de auxílio à pesquisa.
- Caso não tenha recebido financiamento, os autores devem declarar esta informação.
- Caso o trabalho envolva estudos em humanos ou animais deverão estar acompanhados dos seus respectivos Pareceres do Comitê de Ética de Pesquisa, tanto em Seres Humanos, quanto em Animais.
- Artigos que apresentem resultados parciais ou integrais de ensaios clínicos devem, obrigatoriamente, estar acompanhados do número e entidade de registro do ensaio clínico.

2. Formatação do manuscrito

- Redigidos em Word do MS Office doc, docx ou Write do Libre Office.
- Não serão recebidos artigos em formatos fechados para edição como PDF ou similares.
- **Página A4**, margem de **2 cm** em cada um dos **quatro lados**, incluindo **figuras, quadros e tabelas**.
- Letra em fonte **Arial**, tamanho **12**.
- Espaçamento **duplo** entre linhas em todo o artigo, incluindo os resumos e referências.
- Texto **justificado**.
- No manuscrito submetido, não deverão conter os dados de autoria e afiliação, para atender à avaliação às cegas.

3. Estrutura do manuscrito

- Os subtítulos que identificam cada item do manuscrito deverão ser escritos em negrito com a 1ª letra da primeira palavra em maiúscula.
- Não serão aceitas notas de rodapé.
- Siglas devem ser escritas por extenso, quando aparecem a primeira vez, no resumo, no abstract e no restante do manuscrito.

4. Título

- Deverá ser apresentado no idioma do manuscrito (português, inglês ou espanhol) e em inglês.
- Deverá estar de acordo com o conteúdo do trabalho, levando em conta o escopo da Revista.
- Deverá ser escrito com o máximo de 120 caracteres, incluindo espaços.
- Somente a 1ª letra da primeira palavra do título deverá ser escrita em maiúscula.
- A versão do título em inglês deverá conter as mesmas características da apresentação do título original.

5. Resumo e abstract

- Só não se aplica a resenhas e cartas.

- Apresentação concisa dos pontos relevantes do trabalho em um único parágrafo, expondo metodologia, resultados e conclusão.
- Deverá conter o máximo 200 palavras.
- Os resumos no idioma original do manuscrito deverão ser inseridos apenas no formulário de submissão.
- Terminada a inserção do resumo no formulário, o responsável pela submissão deverá alterar o idioma do formulário e preencher os campos traduzidos.
- No abstract, evitar traduções literais. Quando não houver domínio do idioma, consultar pessoas qualificadas.

6. Itens em Artigos e Comunicação Breve

- Os manuscritos de artigo e de comunicação breve, em caráter de apresentação de resultado de pesquisa, devem apresentar os itens de Introdução, de Materiais e Métodos, de Resultados e/ou Discussão e de Conclusão.

- A introdução deverá estabelecer com clareza o objetivo do trabalho e sua relação com outros trabalhos na mesma área. Deverá estar claro o referencial teórico adotado no texto. Extensas revisões da literatura deverão ser substituídas por referências às publicações mais recentes, onde estas revisões tenham sido apresentadas.
- No item Materiais e Métodos, a descrição deverá ser breve, porém suficientemente clara para possibilitar a perfeita compreensão e a reprodução do trabalho.
- Os Resultados deverão ser apresentados com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e, sempre que necessário, acompanhados de tabelas e figuras adequadas. Os dados, quando pertinentes, deverão ser submetidos a uma análise estatística.
- A Discussão deverá ser restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, evitando-se inferências não baseadas nos mesmos. Resultados e Discussão poderão ser apresentados num único item.
- A conclusão deverá ser destinada ao desfecho do raciocínio do autor, ressaltando as consequências de seu argumento e as principais contribuições da pesquisa.

7. Figuras/Tabelas

- As figuras, tabelas, quadros e figuras ilustrativas (gráficos, fotografias, desenhos, mapas, estruturas químicas), deverão ser citados no texto, indicados em letras maiúsculas seguidas por algarismo arábico, em negrito e entre parênteses, como exemplo (**TABELA 1, FIGURA 1...**).
- As tabelas, quadros e figuras deverão ser inseridas pelos próprios autores nos locais adequados, tão logo após a citação, e não no final do manuscrito.
- As **legendas** deverão ser informadas **acima das tabelas, quadros e figuras**.
- As informações inseridas nas tabelas e quadros deverão ser apresentadas com letra tamanho 10 e espaço simples.
- As tabelas não poderão conter linhas verticais nas laterais.
- Se os dados das tabelas, quadros e figuras não forem originais deverá ser informada a fonte sempre **abaixo**, tamanho 10, espaço simples.
- Os itens que compõem as figuras deverão estar legíveis e em boa resolução gráfica.
- Fotos com pessoas ou marcas identificáveis ou em lugares não públicos deverão ter autorização do uso de imagem.

8. Agradecimentos

- Este item é opcional e deverá vir antes das Referências.

9. Comunicações Verbais

- A transcrição de comunicações verbais de sujeitos decorrentes de entrevistas, ou similar, deverá estar em itálico, tamanho 10, entre aspas, na sequência do texto.
- As comunicações verbais não poderão estar identificadas e sim codificadas (Ex: Sujeito A, Sujeito 1), ou ser atribuído nome fictício com informação na metodologia. Tal dado deverá ser colocado ao final de cada frase, entre parênteses, sem itálico.

10. Citações

- Todas as citações deverão estar referenciadas no texto.
- Deverão seguir o estilo Vancouver.

- Deverão ser identificadas por números em sequência de citação e entre parênteses.
- Em citações múltiplas, os respectivos números deverão ser separados por vírgula, no caso de mais de duas citações sequenciais.
- No texto, a citação deverá ser inserida no parágrafo entre aspas.
- Com mais de três linhas deverá aparecer em parágrafo independente com recuo de margem de 4 cm à esquerda, fonte 10, espaço 1, com ou sem aspas.

• **Seção:** o autor deverá selecionar a seção correspondente ao formato de seu artigo.

11. Referências estilo Medline e PubMed

- As referências citadas no texto deverão ser listadas ao final do artigo em ordem numérica e alinhadas à margem esquerda do texto. Apresentar o respectivo número seguido por um ponto.
- As referências devem ser acompanhadas de hyperlinks CrossRef e PubMed quando houverem. Na ausência dos mesmos apresentar o hyperlink original da editora ou do texto consultado em [Link]. Consultar o **item 13**. Exemplo:

1. Carlini EA, Duarte-Almeida JM, Rodrigues E, Tabach R. Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemao, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). **Rev Bras Farmacogn.** 2010; 20 (5): 140-146. ISSN: 1981-528X. [CrossRef]

- Para instruções, consultar PATRIAS K, WENDLING D (Tech. Ed.). *Citing Medicine. The NLM Style Guide for Authors, Editors, and Publishers.* 2007. 2nd ed. Bethesda (MD): National Library of Medicine no link <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>.
- Destacar em negrito: o título de livro, o nome da revista/periódico em artigo e o número em legislação.
- Todas as referências deverão ser apresentadas de modo correto e completo.
- A veracidade das informações contidas na lista de referências é de responsabilidade do(s) autor(es).
- No caso de uso de software de gerenciamento de referências bibliográficas (EndNote, Zotero ou outros), o(s) autor(es) deverá(ão) converter as referências para texto.
- As referências deverão ser acompanhadas de hyperlink. Consultar o próximo item.

12. Processo de Submissão

12.1 – Passo 1. Iniciar Submissão

- **Seção:** o autor deverá selecionar a seção correspondente ao formato de seu artigo.
- **Idioma da submissão:** o autor deverá selecionar o idioma principal de seu manuscrito.
- **Condições para submissão e Declaração de Direito Autoral:** para avançar no processo de submissão, o autor deverá estar de acordo com todas as condições apresentadas.

12.1 – Passo 2. Transferência do Manuscrito

- O autor deverá selecionar o arquivo e clicar sobre o botão **TRANSFERIR**.
- Em seguida, quando o manuscrito aparecer sob o título “Arquivo submetido”, o autor poderá clicar sobre **SALVAR E CONTINUAR**.

12.3 – Passo 3. Inclusão de Metadados

12.3.1 - Autores e afiliação

Os dados de todos os autores deverão ser preenchidos **somente** no formulário de metadados da submissão, presente no passo 3 do processo de submissão do site da Revista Fitos (www.revistafitos.far.fiocruz.br), sendo dados obrigatórios: nome e sobrenome por extenso e e-mail.

- Preenchimento dos dados complementares dos autores: obrigatoriamente, número do ORCID ou ResearchID ou perfil no Google Acadêmico; e opcionalmente, Link do CV Lattes, Link do repositório Institucional, Link do site ou blog do grupo de pesquisa, Link do site do autor.
- Os demais autores deverão ser incluídos no mesmo formulário (Clicar no botão “incluir autor”)
- A ordem dos autores no formulário deverá corresponder à ordem de autoria do trabalho.
- As afiliações devem ser incluídas em hierarquias institucionais.

- Não colocar titulações e funções junto às afiliações.
- Em caso de duplo vínculo do autor, colocar somente o vínculo no qual a pesquisa foi desenvolvida.
- Em caso de cooperação, poderá colocar as duas instituições. Ressalta-se que a primeira deverá ser a de maior vínculo.
- Terminado o cadastramento de todos os autores, o responsável pela submissão deverá alterar o idioma do formulário e preencher os campos traduzidos.

12.3.2 - Título

- O título deverá ser inserido uma única vez para cada idioma no campo correspondente do Passo 3.
- Para alterar o idioma do formulário, vá ao topo da página e, no canto superior direito, selecione o idioma desejado e clique em SUBMETER.
- O procedimento deverá ser repetido para cada idioma.
- O título do artigo no formulário de submissão deverá corresponder ao título informado no manuscrito.

de submissão.

12.3.3 - Resumo e abstract

- Os resumos em português, inglês e espanhol (Abstract) deverão ser inseridos apenas no formulário de submissão (Passo 3).
- O resumo deverá ser inserido uma única vez para cada idioma no campo correspondente.
- Para alterar o idioma do formulário, vá ao topo da página e, no canto superior direito, selecione o idioma desejado e clique em SUBMETER.
- O procedimento deverá ser repetido para cada idioma.
- Só não se aplica a resenhas e cartas.
- Apresentação concisa dos pontos relevantes do trabalho em um único parágrafo, expondo metodologia, resultados e conclusão.
- Deve conter no máximo 200 palavras.
- No abstract, evitar traduções literais. Quando não houver domínio do idioma, consultar pessoas qualificadas.

12.3.4 - Indexação:

- **Área e subárea do Conhecimento:** o autor deverá informar a que área pertence seu manuscrito: **Agroecologia, Botânica, Ciências Farmacêuticas** (Farmácia; Farmacotecnia; Análise e Controle de Medicamentos e afins); **Educação e Conhecimento; Etnociências** (Etnobotânica e Etnofarmacologia); **Engenharia de Medicamentos e Produtos Naturais; Farmacologia** (Farmacologia Clínica); **Política e Gestão** (Políticas Públicas; Política e Planejamento Governamental; Crescimento Econômico e Saúde Pública); **Química e Toxicologia.**
- **Palavras-chave:** Inserir de quatro (4) a oito (8) palavras-chave que representem o conteúdo do manuscrito e facilite a recuperação da informação. As palavras-chave deverão ser escritas em português ou espanhol e inglês, fazendo a alteração de idioma do formulário, com a primeira letra em maiúscula e separadas por ponto.

12.4 – Passo 4. Transferência de Documentos Suplementares

- Arquivos suplementares contendo, por exemplo, figuras, tabelas, documentos com assinatura, etc, poderão ser transferidos nesta etapa.

12.5 – Passo 5. Confirmação da Submissão

- Para concluir a submissão do manuscrito pelo sistema da Revista Fitos, o autor deverá clicar sobre o botão CONCLUIR SUBMISSÃO.

Exemplos de referências

Artigo de Periódico

Carlini EA, Duarte-Almeida JM, Rodrigues E, Tabach R. Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemao, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). **Rev Bras Farmacogn.** 2010; 20 (5): 140-146. ISSN: 1981-528X.

Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood-leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. **Br J Cancer** 1996; 73:1006-12.

Se o número for suplementar ou especial, indique-os respectivamente pelos termos "Supl" ou "(nº esp.)" após o volume.

Artigo de periódico eletrônico

Autor. Título do artigo. Título da publicação seriada. [tipo de suporte]. Ano. Volume (n.º) [acesso dia, mês e ano]; paginação ou indicação de tamanho. Disponibilidade de acesso.

Clark SC. The industrial arts paradigm: adjustment, replacement or extinction?. *Journal of Technology Education* [online]. 1989 Fall [acesso 15 mar. 1995]; 1(1). Disponível em: URL: <http://scholar.lib.vt.edu/ejournals/JTE/v1n1/backup/clark.jte-v1n1.html>.

Artigo de jornal

Santos J. Alves dos. Por que luta Portugal na África. *O Estado de São Paulo* 1967 maio 28; p. 64.

Biblioteca climatiza seu acervo. *O Globo*, Rio de Janeiro, 1985 mar 4.; p.11, c.4.

Livro completo

Iverson C, Flanagan A, Fontanarosa PB, Glass RM, Glitman P, Lantz JC, et al. **American Medical Association Manual of Style: a guide for authors and editors**. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1998. ISBN-13: 9780195176339.

Livro em formato eletrônico

Autoria. Título. [suporte]. Produtor. Edição. Versão. Local (cidade): Editora; ano [acesso dia, mês e ano]. Disponibilidade de acesso.

Killings DB, ed. *Anglo-Saxon chronicle* [on-line]. Berkeley, United States: Berkeley Digital Library; 1995 July [acesso em 03 nov. 1998] Disponível em: URL: <http://sunsite.berkeley.edu>.

Capítulo de livro

Abbas AK, Lichtman AH. **Imunologia básica**. 2ª ed. São Paulo: Elsevier; 2007. ISBN: 9788535254914.

Capítulo de livro cujo autor é o mesmo da obra

Ronan CA. **História ilustrada da Ciência da Universidade de Cambridge**. Rio de Janeiro: Zahar; 1983. p. 30-5. ISBN: 9788585061685.

Capítulo de livro - autor/colaborador

cardiovascular global: da teoria à prática. 2ª ed. São Paulo: Lemos Editorial; 2000. p. 109-25.

Tese/Dissertação/Monografias

Autor. Título e subtítulo da tese. Localidade; ano de apresentação. Grau (tese, dissertação ou monografia) [Programa de Pós-Graduação em...] – Instituição onde foi apresentada.

Duque SS. Avaliação técnica de PCR na detecção de fatores de virulência *Escherichia coli* diarreio gênica empregando culturas fecais primárias. Rio de Janeiro; 2000. Mestrado [Programa de Pós-graduação em Biologia Molecular e Celular] - Instituto Oswaldo Cruz.

Lima N. Influência da ação dos raios solares na germinação do nabo selvagem. Campinas, 1991. Tese [Programa de pós-graduação em Ciências Agrárias] Universidade de Campinas.

Trabalho publicado em anais de eventos científicos

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, eds. *MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics*; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

Anais do 4º Congresso Paulista de Saúde Pública; 1993 jul. 10-14; São Paulo, Brasil. São Paulo: Associação Paulista de Saúde Pública; 1995.

Trabalhos aceitos para publicação (no prelo)

Nascimento E, Mayrink W. Avaliação de antígenos de *Cysticercus cellulosae* no imunodiagnóstico cisticercose humana pela hemaglutinação indireta. **Rev Inst Trop** 1984. (No prelo)

Trabalhos inéditos (submetidos à aceitação de uma editora, sem ter atingido a fase de publicação)

Silvestre P. Golpe de aríete: método gráfico. Belo Horizonte: Ed. UFMG; 1988. (Inédito)

Patente

Autor(s), seguido da expressão inventor (es); depositante. Título da patente. Sigla do País, seguido da expressão patente, e nº da mesma. Data de publicação da patente.

Paulo César da Fonseca, inventor. Produto Erlan LTDA., depositante. Ornamentação aplicada à embalagem. BR patente C.I.10-3-6. DI2300045. 12 set. 1983; 28 maio 1985.

Legislativa

Competência (país, estado ou cidade). Título. (especificação da legislação, número e data). Ementa. Título da publicação oficial. Local (cidade), data (dia, mês abreviado e ano). Seção, paginação.

Brasil. Ministério da Educação e Cultura. Secretaria da Cultura. **Portaria n.º 23**, de 26 de outubro de 1982.

Modifica o Plano Nacional de Microfilmagem de Periódicos Brasileiros criado pela **Portaria DAC n.º 31**, de 11 de dezembro de 1978. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, 1 dez. 1982; Seção 1, v.120, n.227, p.22438.

Base de Dados

BIREME. Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da saúde. Lilacs - Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde. Disponível em: [Link] Acesso em: 27 ago. 2009.

Documentos de Associações/Organizações

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). WHO Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic (H1N1) 2009. Influenza and other Influenza Viruses. 91p. Disponível em: [Link]. Acesso em: 28 ago. 2009.

13. Inserção de hiperlink

Cada referência bibliográfica deverá vir acompanhada dos hyperlinks das publicações ou citações de páginas da web. O grupo de link aceito é CrossRef, PubMed e Link, a ser apresentado nesta ordem, quando houver e com os termos entre colchetes.

Inserindo hyperlink [CrossRef]

Caso a referência citada possua o número DOI (Digital Object Identifier ou Identificador de Objeto Digital) o seu endereço terá o formato <http://dx.doi.org/númeroDOI>.

Souza MVN, Vasconcelos TA. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. UFF, **Quim Nova**. 2005; 28 (4): 28-678. [CrossRef]

No exemplo acima, a referência possui número DOI igual a 10.1590/S0100-40422005000400022.

Passo a passo: selecione apenas a palavra CrossRef (não inclua os colchetes), pressione Ctrl+K (MSWord para Windows) ou Command+K (MSWord para Mac OS) e cole o endereço <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422005000400022>. Por fim, a referência terá o seguinte formato:

Souza MVN, Vasconcelos TA. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. UFF, **Quim Nova**. 2005; 28 (4): 28-678. [CrossRef]

Inserindo hyperlink [PubMed]

Caso a referência possua, além do DOI, o número PubMed, este deve ter o formato:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/númeroPubMed>. O link PubMed pode ser obtido através do sítio:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>.

Orlikova B, Menezes JCJMDS, Ji S, Kamat SP, Cavaleiro JAS, Diederich M. Methylenedioxy flavonoids: assessment of cytotoxic and anti-cancer potential in human leukemia cells. **Eur J Med Chem**. Sep 12; 84:173-80. 2014. [PubMed]

Passo a passo: selecione apenas a palavra PubMed (não incluir os colchetes), pressione Ctrl+K (MSWord para Windows) ou Command+K (MSWord para Mac OS) e cole o endereço:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25016375>. Adicionalmente, esta referência também possui DOI, que é igual a 10.1016/j.ejmech.2014.07.003. A referência terá o seguinte formato:

Orlikova B, Menezes JCJMDS, Ji S, Kamat SP, Cavaleiro JAS, Diederich, M. Methylenedioxy flavonoids: assessment of cytotoxic and anti-cancer potential in human leukemia cells. **Eur J Med Chem**. Sep 12; 84:173-80. 2014. [CrossRef] [PubMed]

Inserindo hyperlinks [Link]

As referências que não possuírem [CrossRef] nem [PubMed] e estiverem disponíveis online, coloque a expressão disponível em e o endereço do artigo no hyperlink da palavra [Link]. Ao selecionar não inclua os colchetes.

dos Santos SA, de Carvalho MG, Braz-Filho R. Produtos de Oxidação do Sesquiterpeno Laevigatina. Atribuição dos Deslocamentos Químicos dos Átomos de Hidrogênio e Carbono-13. **Quim Nova**. 1995; 18(6): 525-528.

[Link]

Antes de submeter o manuscrito é importante testar todos os hiperlinks das referências;passando o mouse por cima dos hiperlinks verifique se os endereços informados estão corretos

ANEXO-C

Instruções aos autores para submissão de artigo ao periódico

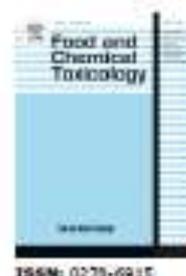
Food and Chemical Toxicology

FOOD AND CHEMICAL TOXICOLOGY

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Audience	p.2
• Impact Factor	p.2
• Abstracting and Indexing	p.2
• Editorial Board	p.2
• Guide for Authors	p.5



DESCRIPTION

Food and Chemical Toxicology (FCT), an internationally renowned journal, that publishes original research articles and reviews on **toxic effects**, in animals and humans, of natural or synthetic chemicals occurring in the human environment with particular emphasis on **food, drugs, and chemicals, including agricultural and industrial safety, and consumer product safety**. Areas such as safety evaluation of **novel foods and ingredients, biotechnologically-derived products, and nanomaterials** are included in the scope of the journal. FCT also encourages submission of papers on **inter-relationships between nutrition and toxicology** and on *in vitro* techniques, particularly those fostering the **3 Rs**.

The principal aim of the journal is to publish high impact, scholarly work and to serve as a multidisciplinary forum for research in toxicology. Papers submitted will be judged on the basis of scientific originality and contribution to the field, quality and subject matter. **Studies should address at least one of the following:** Adverse physiological/biochemical, or pathological changes induced by **specific defined** substances New techniques for assessing potential toxicity, including molecular biology Mechanisms underlying toxic phenomena Toxicological examinations of specific chemicals or consumer products, both those showing adverse effects and those demonstrating safety, that meet current standards of scientific acceptability

Authors must **clearly and briefly identify what novel toxic effect (s) or toxic mechanism (s)** of the chemical are being reported and what their **significance** is in the abstract. Furthermore, sufficient doses should be included in order to provide information on NOAEL/LOAEL values.

Manuscripts describing research involving the following areas will not be considered: materials/substances of only local interest materials/substances for which the chemical composition is not clearly defined only pharmacological properties, or potentially beneficial effects using *in vitro* or *in vivo* systems chemical analyses of toxins in foods without addressing the toxic implication to humans [risk assessment should be included] unrealistic human doses, inappropriate route of exposure, or *in vitro* experiments that do not reflect serum levels in humans

FCT is committed to the highest standards. Only papers that have not been previously published, that fit in the above mentioned scope, and that have been reviewed by experts in the field prior to publication will be accepted. Cover letters must state that the manuscript is new and original and not under consideration for publication elsewhere. Co-authors should be individuals who have contributed substantially to the content of the papers. All authors must declare any potential conflict of interest and all financial support.

GUIDE FOR AUTHORS

Your Paper Your Way

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article.

To find out more, please visit the Preparation section below.

INTRODUCTION

Food and Chemical Toxicology (FCT), an internationally renowned journal, aspires to publish original research articles and reviews on **toxic effects**, in animals or humans, of natural or synthetic chemicals occurring in the human environment with particular emphasis on **food, drugs, and chemicals, including agricultural and industrial safety, and consumer product safety**. Areas such as safety evaluation of **novel foods and ingredients, biotechnologically-derived products**, and **nanomaterials** are included in the scope of the journal. FCT also encourages submission of papers on **inter-relationships between nutrition and toxicology** and on *in vitro* techniques, particularly those fostering the **3 Rs**.

The principal aim of the journal is to publish high impact, scholarly work and to serve as a multidisciplinary forum for research in toxicology. Papers submitted will be judged on the basis of scientific originality and contribution to the field, quality and subject matter. Studies should address at least one of the following: Physiological, biochemical, or pathological changes induced by specific substances Techniques for assessing potential toxicity, including molecular biology Mechanisms underlying toxic phenomena Toxicological examinations of specific chemicals or consumer products, both those showing adverse effects and those demonstrating safety, that meet current standards of scientific acceptability

Manuscripts concerning materials/substances of only local interest for which the chemical composition of the material/substance is **not clearly defined** will **not** be considered. Manuscripts addressing only pharmacological properties, or only potentially beneficial effects using *in vitro* or *in vivo* systems, are not within the scope of the journal.

FCT is committed to the highest standards. Only papers that have not been previously published, that fit in the above mentioned scope, and that have been reviewed by experts in the field prior to publication will be accepted. Cover letters must state that the paper is new and original and not under consideration for publication elsewhere. Papers pending in other journals will not be considered. Co-authors should be individuals who have contributed substantially to the content of the papers.

Types of paper

The Journal's main purpose is the publication of papers reporting and interpreting original unpublished toxicological research, particularly studies promoting an understanding of the mechanisms underlying toxic effects or improvements in methods for predicting adverse effects. Papers reporting the toxicological examination of specific foods, chemicals or consumer products will be published, irrespective of the positive or negative nature of the results, provided the tests and reporting meet current standards of acceptability. In addition, Short Communications will also be considered, as will concise Interpretative Reviews of toxicological topics of contemporary significance. Letters to the Editor will be limited to comments on contributions already published in the journal; if a letter is accepted, a response (for simultaneous publication) will be invited from the authors of the original contribution. All Letters to the Editor should be submitted to the Editor in Chief, Jose L. Domingo through the online submission system of the Journal.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address

- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Human and animal rights

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans; [Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals](#). Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed.

Conflict of interest

Food and Chemical Toxicology follows the ICMJE recommendations regarding conflict of interest disclosures. All authors are required to report the following information with each submission: All third-party financial support for the work in the submitted manuscript. All financial relationships with any entities that could be viewed as relevant to the general area of the submitted manuscript. All sources of revenue with relevance to the submitted work who made payments to you, or to your institution on your behalf, in the 36 months prior to submission. Any other interactions with the sponsor of outside of the submitted work should also be reported. Any relevant patents or copyrights (planned, pending, or issued). Any other relationships or affiliations that may be perceived by readers to have influenced, or give the appearance of potentially influencing, what you wrote in the submitted work.

As a general guideline, it is usually better to disclose a relationship than not. This information will be acknowledged at publication in a Transparency Document. Additional information on the ICMJE recommendations can be found at: <http://www.icmje.org>. The form for conflict of interest disclosure can be downloaded [here](#), or at http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (if this link does not display properly in your browser, please right-click the link and select "Save Target As..." or "Save Link as..." from the popup menu.)

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

Each manuscript must also be accompanied by a cover letter outlining the basic findings of the paper and their significance. Furthermore, it is understood that with submission of this article the authors have complied with the institutional policies governing the humane and ethical treatment of the experimental subjects (i.e. animals and human subjects), and that they are willing to share the original data and materials if so requested.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information.](#)

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information.](#)

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are required to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of existing agreements are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our [universal access programs](#).
- No open access publication fee payable by authors.

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 2800**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our [green open access page](#) for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. [Find out more](#).

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Publishing Campus

The Elsevier Publishing Campus (www.publishingcampus.com) is an online platform offering free lectures, interactive training and professional advice to support you in publishing your research. The College of Skills training offers modules on how to prepare, write and structure your article and explains how editors will look at your paper when it is submitted for publication. Use these resources, and more, to ensure that your submission will be the best that you can make it.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Referees

The Editors require submissions by the authors of the names and addresses of 4 potential reviewers for this submission. The institutional address and e-mail address are required. At least 2 of the referees should be from a different country to the corresponding author's. The Editors reserve the right to use these or other reviewers.

PREPARATION

NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or layout that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

References

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.

Please ensure the text of your paper is double-spaced- this is an essential peer review requirement.

Figures and tables embedded in text

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. More information on types of peer review.

REVISED SUBMISSIONS

Use of word processing software

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Essential title page information

• **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

• **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

• **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Highlights

Please amend your research highlights so that they consist of 3 to 5 brief bullet points which convey the core findings of your work. Please ensure EACH bullet point does NOT exceed 125 characters (including spaces). An example is given below:

RESEARCH HIGHLIGHTS EXAMPLE:

* Research highlights are a mandatory field of a submitted paper & therefore should not exceed 85 characters including spaces.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Abbreviations should be used sparingly; they should be defined when first used in the paper but also listed in alphabetical order under *Abbreviations* as a footnote to the title page (see above).

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Nomenclature and units

All measurements should be expressed in metric, preferably SI, units. Test chemicals and enzymes must be clearly identified, IUPAC and CAS names being used, wherever possible with the aid of CAS Registry and EC numbers. Pesticides should be referred to be their ISO names and human and veterinary drugs by their INNs.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files. A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.
[Formats](#)

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in-press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support *Citation Style Language styles*, such as *Mendeley* and *Zotero*, as well as *EndNote*. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of *Mendeley Desktop* can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/food-and-chemical-toxicology>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the *Mendeley* plug-ins for *Microsoft Word* or *LibreOffice*.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website:

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. *Mendeley Data*, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39c1>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

For more information, visit the [Mendeley Data for journals](#) page.

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee of 500 USD is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your Data in Brief.

MethodsX

You have the option of converting relevant protocols and methods into one or multiple MethodsX articles, a new kind of article that describes the details of customized research methods. Many researchers spend a significant amount of time on developing methods to fit their specific needs or setting, but often without getting credit for this part of their work. MethodsX, an open access journal, now publishes this information in order to make it searchable, peer reviewed, citable and reproducible. Authors are encouraged to submit their MethodsX article as an additional item directly alongside the revised version of their manuscript. If your research article is accepted, your methods article will automatically be transferred over to MethodsX where it will be editorially reviewed. Please note an open access fee is payable for publication in MethodsX. Full details can be found on the [MethodsX website](#). Please use [this template](#) to prepare your MethodsX article.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. [More information and examples are available](#). Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Interactive plots

This journal enables you to show an Interactive Plot with your article by simply submitting a data file. [Full instructions](#).

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out when your accepted article will be published.

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>

ANEXO-D

Instruções aos autores para submissão de artigo ao periódico

*Revista Brasileira de Fruticultura***Revista Brasileira de
Fruticultura**ISSN 0100-2945 versão impressa
ISSN 1806-9967 versão online**INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

- [Forma e preparação de manuscritos](#)

Forma e preparação de manuscritos

1. A Revista Brasileira de Fruticultura (RBF) destina-se à publicação de artigos e comunicações técnico-científicos na área da fruticultura, referentes a resultados de pesquisas originais e inéditas, redigidas em português, espanhol ou inglês e/ou 1 ou 2 REVISÕES por número, de AUTORES CONVIDADOS.

2. É imperativo que todos os autores assinem a Declaração de encaminhamento, mencionando que: “OS AUTORES DECLARAM QUE O REFERIDO TRABALHO NÃO FOI PUBLICADO ANTERIORMENTE, OU ENCAMINHADO PARA PUBLICAÇÃO A OUTRA REVISTA E CONCORDAM COM A SUBMISSÃO E TRANSFERÊNCIA DOS DIREITOS DE PUBLICAÇÃO DO REFERIDO ARTIGO PARA A RBF.”

OBS: Trabalhos submetidos como artigo não serão julgados ou publicados na forma de Comunicação Científica, e vice-versa.

3. Os trabalhos podem ter no máximo até 6 (seis) autores e devem ser **encaminhados completo com o nome do(s) autor(es) sem abreviações** e notas de rodapé para nosso arquivo; formato em tamanho A4 (210 x 297mm), numerando linhas e páginas, margens de 2 cm, em espaço entre linhas de um e meio, fonte Times New Roman, no tamanho 13. O texto deve ser escrito corrido, separando apenas os itens como Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão, Agradecimentos e Referências, as Tabelas e Figuras em folhas separadas, no final do artigo após as Referências.

TAXA DE PUBLICAÇÃO:

a) No encaminhamento inicial (submissão), efetuar o pagamento de R\$ 150,00 e, com a aprovação do trabalho, o restante da taxa, sendo:

- b) • R\$ 100,00 por PÁGINA DIAGRAMADA para sócios (**PRIMEIRO/SEGUNDO AUTOR DEVERÁ SER SÓCIO**): Associe-se a SBF: <http://www.fruticultura.org/associe-se> ou
- R\$ 200,00 por PÁGINA DIAGRAMADA para não sócios;

Exemplo: A taxa de publicação para um artigo APROVADO de 12 páginas no Word, que depois de diagramado somará aproximadamente 8 páginas, será de R\$ 800,00 / sócio e R\$

1.600,00 / não sócio. O pagamento desta taxa deverá ser efetuado com o ACEITE DO TRABALHO.

d) O pagamento deverá ser efetuado por DEPÓSITO ou TRANSFERÊNCIA BANCÁRIA no **Banco do Brasil, agência nº 0269-0 e Conta-Corrente nº 8356-9** (enviar cópia do comprovante por e-mail, ou encaminhar como documento suplementar), **CNPJ: 51.8713960/0001-68.**

OBS: Para trabalhos denegados ou encerrados não será devolvido o pagamento inicial.

e) **SciELO on line publicação :** <https://mc04.manuscriptcentral.com/rbf-scielo>

f) Uma vez publicados, os trabalhos poderão ser transcritos, parciais ou totalmente, mediante citação da revista exclusivamente neste formato: **Nome dos autores, título do artigo, nome completo da revista (Revista Brasileira de Fruticultura), Jaboticabal (cidade), volume, número, paginação e ano.** As opiniões e conceitos emitidos nos artigos são de exclusiva responsabilidade do(s) autor (es).

g) **E-mail para dúvidas e contato:** rbfri@gmail.com; rbf@fcav.unesp.br
Telefones: (16)3209-7188/7609

4) Os artigos deverão ser organizados em: **Título, Nomes dos Autores COMPLETO (sem abreviações** e separados por vírgula, e no caso de dois autores, separadas por &), e no Rodapé da primeira página deverão constar a qualificação profissional de cada autor, cargo seguido da Instituição pertencente, endereço (opcional), **E-MAIL DE TODOS OS AUTORES (imprescindível)** e menções de suporte financeiro; Resumo (incluindo Termos para Indexação), Title, Abstract (incluindo Index Terms), Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão, Agradecimentos (opcional), Referências, Tabelas e Figuras (vide normas para tabelas e figuras). O trabalho deve ser submetido à correção de Português e Inglês, por profissionais habilitados, antes de ser encaminhado à RBF.

5) As Comunicações Científicas deverão ter estrutura mais simples com 8 páginas, texto corrido, sem destacar os itens (Introdução, Material, Resultados e Conclusões), exceto Referências.

6) As Legendas das Figuras e Tabelas deverão ser autoexplicativas e concisas. As legendas, símbolos, equações, tabelas, etc. deverão ter tamanho que permita perfeita legibilidade, mesmo numa redução de 50% na impressão final da revista; a chave das convenções adotadas deverá ser incluída na área da Figura; a colocação de título na Figura deverá ser evitada, se este puder fazer parte da legenda; as fotografias deverão ser de boa qualidade.

7) Nas Tabelas, devem-se evitar as linhas verticais e usar horizontais, apenas para a separação do cabeçalho e final das mesmas, evitando o uso de linhas duplas.

REFERÊNCIAS:

NORMAS PARA REFERÊNCIA (ABNT NRB 6023, Ago. 2002)

As **Citações de autores no texto** deverão ser elaboradas no seguinte formato:

- Quando os autores estão fora dos parênteses, deve ser citado com as letras minúsculas;
- No caso de dois autores, deve estar separadas por “e”;
- Quando estiver dentro dos parênteses às citações do nome dos autores devem ser todas em letras maiúsculas separadas por ponto e vírgula; quando mais de dois autores, citar o primeiro seguido de “et al.” (não use “itálico”).

As **Referências no fim do texto** deverão ser apresentadas em ordem alfabética das seguintes formas:

ARTIGO DE PERIÓDICO

AUTOR (es) (deve constar o nome de todos os autores, não usar et al.), Título do artigo.
Título do periódico, local de publicação, v., n., p., ano.

- **NO CASO DA CITAÇÃO SER DA RBF, obedecer na íntegra a Normatização abaixo:**

a) Nome dos autores, título do artigo, nome completo da revista (Revista Brasileira de Fruticultura), Jaboticabal (cidade), volume, número, paginação e ano.

- Exemplo:

DECONTI, D.; RIBEIRO, M. F.; RASEIRA, M. C.B.; PETERS, J. A.; BIANCHI, V. J.
Caracterização anatômico-fisiológica da compatibilidade reprodutiva de ameixeira-japonesa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.35, n.3, p.695-703, 2013.

ARTIGO DE PERIÓDICO EM MEIO ELETRÔNICO

AUTOR(es). Título do artigo. Título do Periódico, cidade, v., n., p., ano.

Disponível em:<endereço eletrônico>. Acesso em: dia mês (abreviado). Ano.

AUTOR(es). Título do artigo. Título do Periódico, local de publicação, v., n. p., ano. **CD-ROM.**

LIVRO

AUTOR(es). Título: subtítulo. Edição (abreviada). Local: Editora, ano. p. (total ou parcial).

CAPÍTULO DE LIVRO

AUTOR. Título do capítulo. In: AUTOR do livro. Título: subtítulo. Edição (abreviada).

Local: Editora, ano. páginas do capítulo.

LIVRO EM MEIO ELETRÔNICO

AUTOR(es). Título. Edição (abreviada). Local: Editora, ano. p. (total ou parcial).

Disponível em<endereço eletrônico>. Acesso em: dia mês (abreviado). Ano.

AUTOR (es). Título. Edição (abreviada). Local: Editora, ano. p. CD-ROM.

EVENTOS

AUTOR. Título do trabalho. In: NOME DO EVENTO, numeração, ano, local de realização.

Título... Local de publicação: editora, ano de publicação. p.

EVENTOS EM MEIO ELETRÔNICO

AUTOR. Título do trabalho. In: NOME DO EVENTO, numeração, ano, local de realização.

Título. Local de publicação: Editora, data de publicação. Disponível em:<endereço

eletrônico>. Acesso em: dia mês (abreviado) ano.

AUTOR. Título do trabalho. In: NOME DO EVENTO, numeração, ano, local de realização.

Título. Local de publicação: Editora, ano de publicação. **CD-ROM.**

DISSERTAÇÃO, TESES E TRABALHOS DE GRADUAÇÃO

AUTOR. Título. ano. Número de folhas ou volumes. Categoria da Tese (Grau e área de concentração)- Nome da faculdade, Universidade, ano.

8. NORMAS PARA TABELAS E FIGURAS:

TABELA - Microsoft Word 97 ou versão superior; Fonte: Times New Roman, tamanho 12; Parágrafo/Espaçamento simples; Largura da tabela em 10 ou 20,6 cm; título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word. **(ENVIAR TABELA NO FINAL DO ARTIGO, COMO TEXTO E NÃO COMO IMAGEM)**

GRÁFICO - Microsoft Excel/ Word 97 ou versão superior; Fonte: Times New Roman, tamanho 12; Parágrafo/Espaçamento simples; Largura da em 10 ou 20,6 cm; **Além de constar no FINAL do ARTIGO, o arquivo do gráfico deverá ser enviado separadamente, como imagem (na extensão jpg, tif ou gif com 300 dpi de resolução).** No caso de uma figura com 2,4,6 ou mais gráficos/figuras, estes deverão ser enviados em um

único arquivo de preferência gravados em JPG. O título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word. Podem ser coloridos.

FOTOS - Todas as fotos deverão estar com 300 dpi de resolução em arquivo na extensão: jpg, jpeg, tif ou gif; Além de estarem no corpo do trabalho, as fotos devem estar em arquivos separados; O título ou rodapé deverá ser digitado no **MS Word.**

FIGURAS OU IMAGENS GERADAS POR OUTROS PROGRAMAS - As imagens geradas por outros programas que não sejam do pacote Office Microsoft, devem estar com 300 dpi na extensão: **jpg, tif ou gif**; Largura de 10 ou 20,6 cm; O título ou rodapé deverá ser digitado no MS Word. Podem ser coloridas.