

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Insumos Farmacêuticos

Estudo farmacognóstico do cambucá
Plinia edulis (Vell.) Sobral - Myrtaceae

Tati Ishikawa

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:

Profa. Dra. Edna Tomiko Myiake Kato

São Paulo

2004

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Insumos Farmacêuticos

Estudo farmacognóstico do cambucá
Plinia edulis (Vell.) Sobral - Myrtaceae

Tati Ishikawa

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:

Profa. Dra. Edna Tomiko Myiake Kato

São Paulo

2004

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

179e	<p>Ishikawa, Tati</p> <p>Estudo farmacognóstico do cambucá <i>Plinia edulis</i> (Vell.). Sobral Myrtaceae / Tati Ishikawa. -- São Paulo, 2004. 128p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia. Orientador: Kato, Edna Tomiko Myiake</p> <p>1. Mirtaceas : Farmacognosia I. T. II. Kato, Edna Tomiko Myiake, orientador.</p> <p style="text-align: right;">615.3234 CDD</p>
------	--

Tati Ishikawa

Estudo farmacognóstico do cambucá
Plinia edulis (Vell.) Sobral - Myrtaceae

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Edna Tomiko Myiake Kato
Orientador/ Presidente

Profa. Dra. Elfriede Marianne Bacchi
1º Examinador

Profa. Dra. Maria Emília Maranhão Estelita
2º Examinador

São Paulo, 18 de fevereiro de 2004.

“É possível e normal um desalento. O que não é possível é que o desalento vire desencanto e passe a imobilizar.”

Paulo Freire, 1991

Aos meus pais, Mario e Guta, por todo o carinho, incentivo e apoio, o meu mais profundo amor e minha gratidão. Vocês possibilitaram a realização deste projeto.

Ao meu irmão Jim pela amizade e graça que tornaram mais leve a minha jornada.

A todos os amigos que me acompanharam e, em especial, às inseparáveis amigas, Raquel e Biba, pelo carinho, solidariedade e por compartilharem os momentos alegres e me confortarem nas ocasiões mais difíceis.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Edna Tomiko Myiake Kato pela orientação, paciência, amizade e compreensão.

À Profa. Dra. Elfriede Marianne Bacchi por todo o apoio e orientação.

À Profa. Dra. Sílvia Berlanga de Moraes Barros pela colaboração na realização do ensaio antioxidante.

Às Professoras Doutoras Mitsuko Taba Ohara e Telma Mary Kaneko pela disponibilização do laboratório para execução do ensaio antimicrobiano.

À Dra. Lúcia Rossi pela identificação da espécie.

A todos os trindadeiros, que me auxiliaram e abriram seus quintais para a coleta. Especial agradecimento para Clara Rosa de Jesus (Dona Clara) e Júlia Rosa da Apresentação (Vó Júlia) pelas histórias, prosa e graça.

Aos Professores Doutores Dominique C. H. Fisher, Paulo Chanel D. de Freitas, Vicente O. Ferro e Helena Onishi Ferraz pelo apoio e comentários que muito acrescentaram ao trabalho.

Aos funcionários Roberto de Jesus Honório e José de Sousa Sobrinho pelo auxílio e amizade.

Aos bibliotecários, Ângelo, Adriana e, em especial, à Leila Aparecida, pela ajuda e revisão bibliográfica.

À secretária Elisabete Claro de Souza Paiva por toda ajuda e simpatia.

Aos amigos Tânia, Cris e Adalton e aos técnicos Nilton, Kátia e Clarissa pelo companheirismo e auxílio.

Aos meus professores, que desde o início me incentivaram e despertaram minha curiosidade, especialmente à Vera Lúcia Duarte de Novais e Christine Janczur pelo amor à Química e à Biologia.

Aos amigos “unespianos”, ao Léo e a todas as pessoas que tornaram a realização deste trabalho possível.

Apoio financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

SUMÁRIO

	Páginas
1. INTRODUÇÃO	01
1.1. Generalidades	01
1.2. Família Myrtaceae	03
1.3. Subtribo Eugeniinae	05
1.4. <i>Plinia edulis</i>	30
2. OBJETIVOS	32
3. MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1. Coleta e Identificação da Espécie Vegetal	33
3.2. Material Botânico	33
3.3. Caracterização Macroscópica e Microscópica da Droga Vegetal	33
3.4. Óleo Volátil	34
3.5. Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)	35
3.6. Triagem Fitoquímica da Droga Vegetal e do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)	35
3.6.1. Alcalóides	36
3.6.2. Antraderivados	36
3.6.3. Compostos Esteroidais	37
3.6.4. Flavonóides	37
3.6.5. Óleo Volátil	38

	Páginas
3.6.6. Saponinas	38
3.6.7. Taninos	39
3.7. Índice de Espuma	41
3.8. Doseamento de Taninos na Droga Vegetal e no Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)	41
3.9. Doseamento de Flavonóides na Droga Vegetal e no Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)	44
3.10. Perfil Cromatográfico	46
3.11. Toxicidade Aguda	49
3.12. Atividade Antimicrobiana	50
3.13. Atividade Antioxidante	52
3.14. Atividade Antiúlceras Aguda	54
4. RESULTADOS	56
4.1. Caracterização Macroscópica e Microscópica da Droga Vegetal	56
4.2. Óleo Volátil	68
4.3. Rendimento do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)	69
4.4. Triagem Fitoquímica da Droga Vegetal e do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)	69
4.5. Índice de Espuma	71
4.6. Doseamento de Taninos na Droga Vegetal e no Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)	71

	Páginas
4.7. Doseamento de Flavonóides na Droga Vegetal e no Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)	71
4.8. Perfil Cromatográfico	71
4.9. Toxicidade Aguda	76
4.10. Atividade Antimicrobiana	80
4.11. Atividade Antioxidante	81
4.12. Atividade Antiúlcera Aguda	83
5. DISCUSSÃO	86
6. CONCLUSÕES	103
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Triterpeno ($2\alpha,3\beta,23,30$ -tetraidroxiolean-12-eno) e flavonol (3 – O – α – L – ramnopiranosídeo - 5, 7, 2' ,5' - tetraidroxidiidroflavonol) isolados de órgãos aéreos de <i>Plinia pinnata</i> L.	31
Figura 2. <i>Plinia edulis</i> . Hábito, ramo frutificado, droga vegetal.	59
Figura 3. Vista frontal da face adaxial e cortes transversais do mesofilo de <i>Plinia edulis</i>	60
Figura 4. Cortes transversais do mesofilo de <i>Plinia edulis</i>	61
Figura 5. Cavidades secretoras na lâmina foliar de <i>Plinia edulis</i>	62
Figura 6. Dissociação da lâmina foliar de <i>Plinia edulis</i>	63
Figura 7. Cortes transversais da nervura mediana de <i>Plinia edulis</i>	64
Figura 8. Cortes transversais da nervura mediana de <i>Plinia edulis</i>	65
Figura 9. Pecíolo de <i>Plinia edulis</i>	67
Figura 10. Perfil cromatográfico das frações obtidas a partir do EHEL de <i>Plinia edulis</i> usando o Sistema 1	73
Figura 11. Perfil cromatográfico das frações obtidas a partir do EHEL de <i>Plinia edulis</i> usando o Sistema 7	73

	Páginas
Figura 12. Perfil cromatográfico das frações obtidas a partir do EHEL de <i>Plinia edulis</i> usando o Sistema 8	74
Figura 13. Perfil cromatográfico das frações obtidas a partir do EHEL de <i>Plinia edulis</i> usando o Sistema 9	75
Figura 14. Consumo de água de camundongos fêmeas controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i> no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias	76
Figura 15. Consumo de água de camundongos machos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i> no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias	76
Figura 16. Consumo de ração de camundongos fêmeas controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i> no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias	77
Figura 17. Consumo de ração de camundongos machos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i> no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias	77
Figura 18. Variação da massa de camundongos fêmeas controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i> no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias	77

	Páginas
Figura 19. Variação da massa de camundongos machos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i> no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias	78
Figura 20. Massa relativa do coração e pulmões de camundongos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i> após 14 dias do ensaio de toxicidade aguda	79
Figura 21. Massa relativa do fígado de camundongos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado de <i>Plinia edulis</i> após 14 dias do ensaio de toxicidade aguda	79
Figura 22. Massa relativa dos rins de camundongos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i> após 14 dias do ensaio de toxicidade aguda	80
Figura 23. Curva representando a capacidade antioxidante (%) de diferentes concentrações do extrato liofilizado de <i>Plinia edulis</i> ($\mu\text{g/mL}$)	82
Figura 24. Reta de linearidade da atividade antioxidante para determinação do $Q_{1/2}$ do extrato liofilizado de <i>Plinia edulis</i>	82
Figura 25. Estômagos do grupo de ratos controles que receberam água por via oral no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol	83
Figura 26. Estômagos do grupo de ratos tratados com misoprostol na dose de 100 $\mu\text{g/kg}$ no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol	83

	Páginas
Figura 27. Estômagos do grupo de ratos tratados com uma dose de 400 mg/kg de extrato liofilizado de <i>Plinia edulis</i> no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol	84
Figura 28. Avaliação do Índice de Lesão Ulcerativa no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol após a administração via oral de água (controle), 100 µg/kg de misoprostol e 400 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado de <i>Plinia edulis</i> (EHEL)	84
Figura 29. Avaliação da Área Total de Lesão no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol após a administração via oral de água (controle), 100 µg/kg de misoprostol e 400 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado de <i>Plinia edulis</i> (EHEL)	85
Figura 30. Avaliação da Área Relativa de Lesão no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol após a administração via oral de água (controle), 100 µg/kg de misoprostol e 400 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado de <i>Plinia edulis</i> (EHEL)	85
Figura 31. Ponciretina: flavonóide ativo contra o <i>Helicobacter pylori</i> com concentração mínima inibitória do crescimento de 10-20 µg/mL	101

LISTA DE TABELAS

	Páginas
Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae)	06
Tabela 2. Porcentagem dos Componentes Químicos do Óleo Volátil Obtido a partir de Folhas Frescas de <i>Plinia edulis</i>	68
Tabela 3. Triagem Fitoquímica da Droga Vegetal e do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i>	70
Tabela 4. Massas e Rendimentos das Frações Obtidas a partir do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i>	71
Tabela 5. Avaliação da Atividade Antibacteriana do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i> frente a <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	81
Tabela 6. Avaliação da Atividade Antifúngica do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL) de <i>Plinia edulis</i> frente a <i>Aspergillus niger</i> e <i>Candida albicans</i>	81

RESUMO

Plinia edulis (Myrtaceae), popularmente conhecida como “cambucá”, é espécie medicinal empregada no tratamento de afecções da garganta por populações caiçaras. O trabalho teve como objetivo aprimorar o conhecimento da planta sob os aspectos farmacobotânicos, fitoquímicos e farmacológicos. O extrato hidroetanólico liofilizado, preparado com suas folhas, apresentou: classes de substâncias de interesse farmacológico (flavonóides – 0,99% e taninos – 31,35%); atividade antioxidante elevada no modelo de medida de produção do malonildialdeído, com $Q_{1/2}$ de 0,21 $\mu\text{g/mL}$; atividade antiúlcera extremamente significativa no modelo de indução por etanol acidificado, reduzindo o Índice de Lesão Ulcerativa (81,5%), a Área Total de Lesão (97,9%) e a Área Relativa de Lesão (97,6%), comparativamente ao controle, com prévia administração de uma dose de 400 mg/kg, por via oral. O extrato não inibiu o crescimento de *Aspergillus niger* e *Candida albicans* na concentração de até 2.000 $\mu\text{g/mL}$ e não inibiu o crescimento de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* na concentração de até 1.000 $\mu\text{g/mL}$. Na avaliação de toxicidade aguda, não provocou a morte de nenhum animal no período de ensaio, com uma concentração de até 5.000 mg/kg. A triagem fitoquímica da droga vegetal permitiu detectar flavonóides, taninos, saponinas e óleo volátil. O rendimento de óleo volátil, extraído de folhas frescas, foi de 0,02% (v/m) e sua análise evidenciou como componentes majoritários o epi- α -cadinol (21,72%), α -cadinol (20,22%) e trans-cariofileno (14,19%). As características macro e microscópicas importantes na identificação da droga vegetal foram: folhas cartáceas, lanceoladas, com 14 a 17 cm de comprimento e 4 a 6 cm de largura, nervura mediana evidente e pontos translúcidos no limbo; mesofilo dorsiventral, idioblastos arredondados em número de 2 a 4 perpendiculares à face adaxial contendo drusas ou cristais prismáticos; folhas hipoestomáticas, com estômatos predominantemente anomocíticos; cavidades secretoras presentes em ambas as faces recobertas por um par de células com parede comissural ligeiramente sinuosa. Fotomicrografias ilustram o trabalho.

ABSTRACT

Plinia edulis (Myrtaceae), popularly known as “cambucá”, belongs to the medicinal species employed in the treatment of throat affections by the “caiçaras” (communities of fishermen families living on coastal towns). This work aims to improve the knowledge of the plant considering its pharmacobotanical, phytochemical and pharmacological aspects. The lyophilized hydroethanolic extract of the leaves showed substances with pharmacological interest (flavonoids – 0.99% and tannins – 31.35%); elevated antioxidant activity at malondialdehyde production measure model, with $Q_{1/2}$ of 0.21 $\mu\text{g/mL}$; extremely significant antiulcer activity at the acidified ethanol induction model, being able to decrease the Ulcerative Lesion Indices (81.5%), the Total Lesion Area (97.9%) and the Relative Lesion Area (97.6%), comparatively to the control, with previous oral administration of 400 mg/kg. The extract did not inhibit either the growth of *Aspergillus Niger* and *Candida albicans* in a concentration of 2,000 $\mu\text{g/mL}$ or the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in a concentration of 1,000 $\mu\text{g/mL}$. At the acute toxicity evaluation, no animals died at the oral administration assay of 5,000 mg/kg of extract. The phytochemical screening of the vegetal drug showed the presence of flavonoids, tannins, saponins and volatile oil. The content of volatile oil in fresh leaves was 0.02% (v/m) and the analysis showed, as main components, the epi- α -cadinol (21.72%), α -cadinol (20.22%) and trans-caryophyllene (14.19%). The most important characteristics to the vegetal drug identification were: chartaceous lanceolates leaves 14 to 17 cm long and 4 to 6 cm wide, evident midvein and translucent spots at the lamina, dorsiventral mesophyll, circular idioblasts in number of 2 to 4, perpendicularly to the adaxial surface, with druses or prismatic crystals, hypostomatic leaves, with anomocytic stomata predominantly, secretory cavities in both faces recovered by two cells with the commissural wall slightly sinuous. Photomicrographs illustrated the work.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Generalidades

As plantas desempenharam papel crucial na história da medicina e a sua utilização na cura de enfermidades é provavelmente tão antiga quanto a própria humanidade (LIPP, 2002).

Os vegetais não são usados apenas na alimentação e na medicina, mas também são empregados em rituais religiosos e considerados fontes de inspirações, mitos e símbolos (LIPP, 2002; SCHULTES e HOFMANN, 2000).

O conhecimento do homem sobre o uso de plantas medicinais provavelmente surgiu à medida que ele tentava suprir suas necessidades básicas, através das casualidades, tentativas e observações (ALMEIDA, 2003).

Algumas tradições populares sustentam que o uso de plantas na medicina foi aprendido pela observação do comportamento de outros animais. Admite-se que as andorinhas aplicam o suco de celidônia (*Chelidonium majus* L.), também chamada de erva-de-andorinha, nos olhos inflamados de suas crias. As tartarugas comem manjerona (*Majorana hortensis* Moench) quando são picadas por cobras e os chimpanzés da Tanzânia usam a aspília (*Aspilia* sp.) quando sentem dores abdominais (LIPP, 2002; DI STASI, 1996).

O que parece ser o registro mais antigo da utilização de plantas medicinais, o Pen Ts'ao, data de 2800 a.C. e foi escrito por um herborista chinês chamado Shen Nung. Neste documento estão descritos os usos de centenas de plantas medicinais na cura de diversas doenças (ALMEIDA, 2003).

Outro documento antigo e igualmente importante, o papiro egípcio de Ebers, traduzido pelo egiptólogo alemão Yorg Ebers, data de 1550 a.C. e inclui mais de 700 receitas médicas à base de produtos naturais (ALMEIDA, 2003; LIPP, 2002).

Dioscórides, botânico e físico grego, descreveu em *Materia Medica* (65 d.C.) mais de 580 plantas e suas 4.700 utilizações medicinais e

formas de ação. Sua obra foi decisiva no desenvolvimento da medicina européia do século XVII (LIPP, 2002).

Até o século XIX o homem conhecia como origem de matéria orgânica basicamente fontes vegetais, animais ou minerais e, desta forma, toda a história da cura encontrava-se intimamente ligada às plantas medicinais e aos recursos minerais (ALMEIDA, 2003)

Atualmente, estima-se que os produtos naturais e as preparações fitoterápicas sejam responsáveis por 25% do receituário médico nos países desenvolvidos e cerca de 80% nos países em desenvolvimento (GUERRA e NODARI, 2002).

O uso de plantas medicinais, especialmente na América do Sul contribui de forma significativa no atendimento básico à saúde. Contudo, muitas plantas são usadas no Brasil sem quaisquer evidências quanto à sua segurança ou eficácia (HOLETZ *et al.*, 2002).

O Brasil apresenta a maior biodiversidade vegetal do mundo, com mais de 120.000 plantas. No entanto, apenas 8% das espécies vegetais da flora brasileira foram estudadas em busca de compostos bioativos e 1.100 espécies vegetais foram avaliadas em suas propriedades medicinais (GUERRA e NODARI, 2002).

Soma-se a isto a perda de informações sobre as plantas medicinais nativas, já que estas têm sido alvo de progressiva destruição (ALMEIDA, 2003).

Desta forma, em contraposição à exuberância da flora brasileira observa-se um número reduzido de estudos na área. Este trabalho visa, portanto contribuir na ampliação do conhecimento de *Plinia edulis*, uma espécie nativa.

Na área de plantas medicinais brasileiras, o objetivo maior é conhecer melhor as espécies que ocorrem no país sob os aspectos botânicos, fitoquímicos e biológicos, acrescidos do estabelecimento de parâmetros para o controle de qualidade, tanto das drogas vegetais, como dos extratos. A falta de estudos na área pode levar ao uso incorreto ou equivocado de vegetais.

Em trabalhos recentemente desenvolvidos, os extratos polares de folhas de mirtáceas têm apresentado atividades biológicas promissoras. Segundo SILVA (2001), o extrato hidroetanólico de *Myrciaria glomerata* Berg. mostrou atividade antioxidante *in vitro* muito mais elevada que a vitamina E, além de seu óleo volátil evidenciar atividade contra bactérias gram-positivas e negativas.

MARKMAN (2002) verificou que o extrato hidroetanólico de *Campomanesia xanthocarpa* Berg, outra mirtácea, apresentou, igualmente à espécie vegetal anterior, atividade antioxidante também elevada em relação à vitamina E e atividade antiúlcera promissora. Em ensaio *in vitro*, o extrato foi capaz de inibir a oxidação da LDL (lipoproteína de baixa densidade). Os dois extratos não mostraram toxicidade aguda em ensaios *in vivo*.

As duas espécies vegetais estudadas sob os aspectos fitoquímicos e farmacológicos foram caracterizadas farmacobotanicamente para facilitar sua identificação quando transformadas em droga vegetal.

Baseando-se em princípios quimiossistemáticos como ferramenta na busca de substâncias ativas, a experiência adquirida com estas duas espécies permite almejar a busca de plantas da mesma família vegetal com atividades biológicas e substâncias de maior potencial terapêutico.

Aliada à abordagem quimiossistemática, a etnociência endossa a realização deste trabalho, já que folhas de *P. edulis* são usadas popularmente contra afecções de garganta.

1.2. Família Myrtaceae

A família vegetal Myrtaceae compreende cerca de 3500 espécies distribuídas em aproximadamente 100 gêneros, dentre os quais 21 gêneros são indígenas e subespontâneos e apenas 2 gêneros são cultivados no Brasil (BARROSO, 1984).

As mirtáceas brasileiras podem ser reconhecidas por apresentarem porte arbóreo ou arbustivo, folhas estipuladas, opostas, simples, com pontos translúcidos e nervura mediana geralmente proeminente. As nervuras secundárias em geral são visíveis, com frequência são proeminentes e apresentam-se em número reduzido. As flores são

brancas, raramente rosas, avermelhadas ou violáceas. As pétalas são livres ou raramente unidas, em número de 4 a 5. As flores apresentam muitos estames e o ovário é ínfero. Os frutos apresentam-se como bagas com uma ou mais sementes (LANDRUM e KAWASAKI, 1997).

Diversas mirtáceas são exploradas com fins alimentícios, cosméticos e farmacêuticos (RIZZINI e MORS, 1976; HOEHNE, 1946; CORRÊA, 1926). Estudos ressaltam suas propriedades antimicrobianas (ANESINI e PEREZ 1993; NDOUNGA *et al.*, 1994; 1992), hipoglicemiantes (JORGE, AGUIAR e SILVA, 2000; AL-ZAID *et al.*, 1992) e anti-virais (RNA e JOSHI, 1993).

A distribuição é mundial, embora a maior parte das espécies ocorra na Austrália e nas Américas (especialmente na América tropical) (JOLY, 1966).

No Brasil são abundantes em todo o território, sendo muito conhecidas, especialmente por seus frutos edúlos, como é o caso da goiaba e do araçá (*Psidium*), da jabuticaba (*Myrciaria*), da pitanga, uvaia e grumixama (*Eugenia*), do cambucá (*Plinia*), da gabioba (*Campomanesia*) e do cambuci (*Paivaea*). Entre os gêneros de maior destaque estão também o do cravo-da-Índia (*Syzygium*) e do eucalipto (*Eucalyptus*) (BARROSO, 1984; JOLY, 1966; HOEHNE, 1946).

Os componentes químicos de maior valor econômico em Myrtaceae são os terpenóides. Óleos voláteis destilados de flores e folhas de diversos membros da família, como por exemplo, o óleo de eucalipto, apresentam uso medicinal amplamente difundido e elevada importância econômica (METCALFE e CHALK, 1950).

A família Myrtaceae pode ser subdividida em duas subfamílias: Myrtoideae (frutos em bagas ou drupas) e Leptospermoideae (frutos em cápsulas loculíidas). Myrtoideae inclui os gêneros *Myrtus*, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Pseudocaryophyllus* e *Syzygium*. À subfamília Leptospermoideae pertencem *Eucalyptus*, *Leptospermum* e *Melaleuca*. (CRONQUIST, 1981; DAHLGREEN, 1980; TAHKTAJAN, 1980).

Segundo LANDRUM e KAWASAKI (1997), todas as mirtáceas brasileiras estão subordinadas à subfamília Myrtoideae e à tribo Myrteae, que pode ser dividida em três subtribos nativas:

- Subtribo Myrciinae, que inclui os gêneros *Calyptranthes*, *Gomidesia*, *Marlierea*, *Myrceugenia* e *Myrcia*;
- Subtribo Myrtinae, que inclui os gêneros *Acca*, *Accara*, *Blepharocalyx*, *Calycolpus*, *Campomanesia*, *Mosiera*, *Myrrhinium*, *Pimenta*, *Psidium* e *Ugni*;
- Subtribo Eugeniinae, que inclui os gêneros *Calycorectes*, *Eugenia*, *Hexachlamys*, *Myrcianthes*, *Myrciaria*, *Neomitranthes*, *Paramyrciaria*, *Plinia* e *Siphoneugena*.

1.3. Subtribo Eugeniinae

A revisão da literatura inclui artigos a partir de 1970 e limitou-se aos componentes químicos e atividades biológicas dos gêneros encontrados no Brasil pertencentes à subtribo Eugeniinae (Tabela 1). Esta restrição deve-se ao grande número de estudos envolvendo mirtáceas.

Tabela 1. Componentes Químicos e estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>Calycorectes psidiiflorus</i> (Berg.) Sobral	Folhas e caule		Inibição da enzima xantina oxidase	THEODULOZ <i>et al.</i> , 1988
	Folhas	miricetina 3- <i>o</i> -ramnoglicosídeo, miricitrina, rutina e quercitrina		SCHMEDA-HIRSCHMANN, 1995
<i>Eugenia bacopari</i> Legrand	Folhas		Atividade antimicrobiana	LIMBERGER <i>et al.</i> , 1998
<i>E. banderensis</i> Urb.	Folhas	18 componentes do óleo essencial (majoritário: <i>t</i> -murulol)		BELLO <i>et al.</i> , 1995
<i>E. biflora</i> (L.) DC.	Folhas	β -amirino e eucaliptino		GOTTLIEB, SILVA e MAIA, 1972
<i>E. caryophyllata</i> Thunb.	Botões Florais	eugeniino (1,2,3-trigaloil 4,6-hexahidroxidifenoil β - <i>D</i> -glicopiranose)		NONAKA, HARADA e NISHIOKA, 1980

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. caryophyllata</i>	Botões Florais	isobiflorina e biflorina	Atividade antifúngica	GUÉRIN e RÉVEILLÈRE, 1985
	Botões florais			ZHANG e CHEN, 1997
	Flores		Atividade anti- <i>Helicobacter pylori</i>	BAE <i>et al.</i> , 1998
	Botões florais	taninos e cromonas	Atividade anticonvulsivante	POURGHOLAMI <i>et al.</i> , 1999
	Botões florais		Atividade antioxidante (inibição do óxido nítrico)	YOKOZAWA, CHEN e TANAKA, 2000
	Botões florais		Atividade inibitória da fusão vírus-celular	KIM <i>et al.</i> , 2001
	Planta inteira		Atividade antibacteriana	LARHSINI <i>et al.</i> , 2001

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. caryophyllata</i>	Óleo volátil comercial	eugenol	Atividade antifúngica	NÚÑEZ, D'AQUINO e CHIRIFE, 2001
	Casca		Inibição da ciclooxigenase-2 e óxido nítrico sintetase	HONG <i>et al.</i> , 2002
	Folhas		Inibição da glicosilação protéica e atividade antioxidante	KIM e KIM, 2003
	Lenho		Supressão da ciclooxigenase-2	KIM <i>et al.</i> , 2003
<i>E. caryophylluss</i> Spreng.	Flores		Atividade tóxica e mutagênica	MAHMOUD, ALKOFABI e ABDELAZIZ, 1992

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. caryophylluss</i>	Óleo volátil comercial	eugenol, metileugenol, cariofileno, metil-furfural, vanilina	Inibição da oxidação de lipoproteínas de baixa densidade	TEISSEDRE e WATERHOUSE, 2000
<i>E. crebrinervis</i>	Lenho	ácido elágico, ácido asiático, ácido arjunólico, α -amirino e β -amirino		BANNON, EADE e SIMES, 1976
<i>E. cristata</i> Wr.	Folhas	35 componentes do óleo volátil (majoritário: limoneno)		PINO <i>et al.</i> , 2001
<i>E. dysenterica</i>	Folhas	42 componentes do óleo volátil (majoritários: β -cariofileno, α -humuleno, limoneno, α -tujeno, α -terpineol e óxido de β -cariofileno)	Atividade antifúngica	COSTA <i>et al.</i> , 2000
	Folhas		Atividade antifúngica	SOUZA <i>et al.</i> , 2002

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. edulis</i>	Frutos	Determinação de pectinas		BELESKI-CARNEIRO, ALQUINI e REICHER, 2000
<i>E. florida</i> DC.	Folhas	29-hidroxiplatan-28-ato de β -D-glicosila		JUNGES <i>et al.</i> , 1999
<i>E. glaucicalyx</i> Merrill	Casca		Inibição da enzima topoisomerase I e II	WALL <i>et al.</i> , 1996
<i>E. grandis</i>	Folhas	1-o-galoilcastalagina		NONAKA <i>et al.</i> , 1987
<i>E. gustavioides</i>	Lenho	ácido cratególico, ácido asiático, ácido arjunólico, ácido oleanólico, ácido ursólico, ácido 2 α hidroxiursólico, α -amirino e β -amirino		BANNON, EADE e SIMES, 1976
	Lenho	polifenóis e triterpenóides (ácido elágico, ácido maslínico e tirucalol)		YAZAKI, 1977

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. jambolana</i> Lamarck			Atividade hipoglicemiante	RANDRIAMAMPANDRY e ROMAROJAONA, 1972
	Flores	ácido oleanólico	Inibição da capacidade de fertilização (espermatogênese)	RAJASEKARAN <i>et al.</i> , 1988
	Sementes		Atividade hipoglicemiante	AL-ZAID <i>et al.</i> , 1991
	Flores	ácido oleanólico	Inibição da cardiotoxicidade induzida por adriamicina	BALANEHRU e NAGARAJAN, 1992
	Frutos	peptideoglicano e oligossacarídeo	Atividade antidiabética	KELKAR e KAKLIJ, 1996/97
	Casca		Atividade antidiarréica	MUKHERJEE <i>et al.</i> , 1998

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. jambolana</i>	Sementes	polifenóis, flavonóis glicosilados acilados	Atividade anti-hiperglicêmica	GROVER, VATS e RATHI, 2000
	Sementes		Avaliação da glicemia, função hepática e função renal	GROVER <i>et al.</i> , 2001
	Folhas		Atividade antidiabética	MAHMOUD <i>et al.</i> , 2001
	Folhas		Prevenção da hiperglicemia e hiperinsulinemia	PEPATO <i>et al.</i> , 2001
	Sementes		Atividade hipoglicemiante	VIKRANT <i>et al.</i> , 2001
	Sementes		Atividade hipoglicemiante	DAMASCENO <i>et al.</i> , 2002

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. jambolana</i>	Sementes, folhas, frutos	miricetina 3-O-4''-acetil)- α -L-ramnopiranosídeo	Revisão da atividade antidiabética	GROVER, YADAV e VATS, 2002
	Sementes		Prevenção de catarata no diabetes	RATHI <i>et al.</i> , 2002
	Folhas			TIMBOLA <i>et al.</i> , 2002
	Sementes		Atividade hipoglicemiante	KAR, CHOUDHARY e BANDYOPADHYAY, 2003
	Sementes		Atividade hipoglicemiante e hipolipidêmica	SHARMA <i>et al.</i> , 2003

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. jambos</i> L.	Frutos	17 constituintes do óleo volátil (12 álcoois, 2 aldeídos, 2 éteres cíclicos e uma cetona)		LEE, SWORDS e HUNTER, 1975
	Sementes	lecitina termoestável	Capacidade aglutinante	TÁBORA e BERTRAND, 1980
	Folhas	flavonóides glicosilados (quercetina e miricetina 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -xilopiranosil(1 \rightarrow 2)- α - <i>L</i> -ramnopiranosídeos)		SLOWING <i>et al.</i> , 1994
	Folhas		Atividade antiinflamatória	SLOWING, CARRETERO e VILLAR, 1994
	Folhas	miricetina e quercetina, 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -xilopiranosil-(1-2)- α - <i>L</i> -ramnopiranosídeos	Atividade antiinflamatória	SLOWING, CARRETERO e VILLAR, 1996

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. jambos</i>	Folhas	derivados do ácido elágico (3,3',4'-tri-O-ácido metilelágico-4-O-β-D-glicopiranosídeo e 3,3',4'-tri-O-ácido metilelágico		CHAKRAVARTY <i>et al.</i> , 1998
	Folhas		Indução de apoptose em células leucêmicas humanas	YANG, LEE e YEN, 2000
<i>E. javanica</i> Lamk.	Folhas	40 componentes do óleo volátil (majoritários: γ-terpineno, α-pineno, p-cimeno)		SUKSAMRARN e BROPHY, 1987
<i>E. kurzii</i> Duthie	Órgãos aéreos	3-C-metilapigenina 5-O-ramnosídeo e 3-C-metil-luteolina 5-O-ramnosídeo		PAINULY e TANDON, 1983
<i>E. malaccensis</i> L.	Folhas e casca		Atividade antimicrobiana	LOCHER <i>et al.</i> , 1995

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. moraviana</i> Berg.	Folhas e caule	ácido 6 α -hidroxibetulínico, ácido platânico, ácido betulínico e β -sitosterol		LUNARDI <i>et al.</i> , 2001
<i>E. nítida</i> Camb.	Folhas	30 componentes do óleo volátil (majoritários: <i>D</i> -4-ol germacreno e γ -elemeno)		MARTINS, ALEGRIO e CASTRO, 1999
<i>E. ovalifolia</i> Camb.	Folhas	44 componentes do óleo volátil (majoritários: globulol e viridiflorol)		GODOY, ALEGRIO e DUARTE, 1999
<i>E. pitanga</i> (Berg) Kiaerskou	Folhas, caule e frutos		Inibição da enzima xantina oxidase	THEODULOZ <i>et al.</i> , 1988
<i>E. pluriflora</i> DC.	Folhas		Atividade antimicrobiana	LIMBERGER <i>et al.</i> , 1998

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. puniceifolia</i> (HBK) DC.	Folhas, caule e frutos		Inibição da enzima xantina oxidase	THEODULOZ <i>et al.</i> , 1988
	Folhas	miricetina 3- <i>o</i> -ramnoglicosídeo, miricitrina, rutina e quercitrina		SCHMEDA-HIRSCHMANN, 1995
	Folhas	34 componentes do óleo volátil (majoritário: β -cariofileno)		MAIA, ZOGHBI e LUZ, 1997
<i>E. pyriformis</i> Camb.	Folhas e caule		Inibição da enzima xantina oxidase	THEODULOZ <i>et al.</i> , 1988
	Folhas	miricitrina, rutina e quercitrina		SCHMEDA-HIRSCHMANN, 1995
	Folhas		Atividade antimicrobiana	KUBOTA, OHARA e BACCHI, 2001

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. sandwicensis</i> A. Gray	Caule	triterpenóides	Atividade quimiopreventiva no câncer	GU <i>et al.</i> , 2001
<i>E. stipitata</i>	Frutos	30 componentes do óleo volátil (majoritário: <i>D</i> -germacreno)		FRANCO e SHIBAMOTO, 2000
<i>E. umbelliflora</i> Berg.	Frutos	Determinação de antocianinas (delfinidina, cianidina, petunidina, pelargonidina, peonidina e malvidina glicosiladas)		KUSHOSKI <i>et al.</i> , 2002
<i>E. uniflora</i> L.	Folhas	quercitrina, quercetina, miricitrina, miricetina	Inibição da enzima xantina oxidase e determinação da DL ₅₀	SCHMEDA-HIRSCHMANN <i>et al.</i> , 1987
	Folhas		Avaliação do metabolismo lipídico	FERRO <i>et al.</i> , 1988

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. uniflora</i>	Folhas	35 componentes do óleo volátil (majoritário: furanodieno; inéditos: selina-1,3,7(11)-8-trienona, oxidoselina-1,3,7(11)-8-trienona)	Inibição da enzima xantina oxidase	THEODULOZ <i>et al.</i> , 1988
	Folhas			WEYERSTAHL <i>et al.</i> , 1988
	Folhas		Atividade antimicrobiana	ADEBAJO, OLOKE e ALADESANMI, 1989
	Folhas		Atividade antimalárica	AGBEDAHUNSI e ALADESANMI, 1993
	Folhas		Atividade antiinflamatória, analgésica, antibacteriana, antifúngica e avaliação da toxicidade aguda	SCHAPOVAL <i>et al.</i> , 1994

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. uniflora</i>	Folhas	miricitrina e quercitrina	Capacidade antidiarréica	ALMEIDA <i>et al.</i> , 1995
	Caule			SCHMEDA-HIRSCHMANN, 1995
	Folhas	21 componentes do óleo essencial (majoritários: selina-1,3,7(11)-8-trienona, oxidoselina-1,3,7(11)-8-trienona)	Avaliação da contração em duodeno de rato	GBOLADE, HESANMI e ALADESANMI, 1996
	Folhas			MORAIS <i>et al.</i> , 1996
	Folhas		eugeniflorinas D1 e D2	
	Folhas		Avaliação da vasodilatação da Aorta torácica	WAZLAWIK <i>et al.</i> , 1997

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. uniflora</i>	Folhas		Atividade hipoglicemiante e hipotriglicéridemiante	ARAI <i>et al.</i> , 1999
	Folhas		Atividade anti-hipertensiva	CONSOLINI, BALDINI e AMAT, 1999
	Frutos	Determinação de pectinas		BELESKI-CARNEIRO, ALQUINI e REICHER, 2000
	Folhas	galocatequina, oenoteína B, eugeniflorinas D ₁ e D ₂	Inibição da enzima EBV DNA polimerase	LEE <i>et al.</i> , 2000
	Folhas		Inibição da enzima α -glicosidase	MATSUMURA <i>et al.</i> , 2000
	Folhas		Avaliação da capacidade tripanocida	ADEWUNMI <i>et al.</i> , 2001

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. uniflora</i>	Folhas	Teores de carotenóides e fenólicos totais, antocianinas e flavonóis	Ação sobre o funcionamento cardiovascular (atividade anti-hipertensiva)	CONSOLINI e SARUBBIO, 2002
	Folhas		Atividade antimicrobiana	HOLETZ <i>et al.</i> , 2002
	Frutos			LIMA, MÉLO e LIMA, 2002
	Folhas		Atividade antifúngica	SOUZA <i>et al.</i> , 2002
	Partes aéreas		Atividade antioxidante	VELÁSQUEZ <i>et al.</i> , 2003
<i>E. uruguayensis</i> Camb. var. <i>uruguayensis</i>	Folhas	60 componentes do óleo volátil (majoritários: limoneno, 1,8-cineol e α -pineno)		DELLACASSA <i>et al.</i> , 1997

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>E. uruguayensis</i>	Folhas		Atividade antimicrobiana	LIMBERGER <i>et al.</i> , 1998
<i>Hexachlamys edulis</i> (Berg.) Kaus. et Legr.	Folhas, caule e frutos		Inibição da enzima xantina oxidase	THEODULOZ <i>et al.</i> , 1988
	Folhas	miricetina 3- <i>o</i> -ramnoglicosídeo, miricitrina, rutina e quercitrina		SCHMEDA-HIRSCHMANN, 1995
	Folhas	desmantina-1, epigalocatequina-3- <i>o</i> -galato, pentagaloliglicose	Inibição da enzima xantina-oxidase	SCHMEDA-HIRSCHMANN <i>et al.</i> , 1996
<i>Myrcianthes cisplatensis</i> (Camb.) Berg.	Folhas		Atividade antimicrobiana	LIMBERGER <i>et al.</i> , 1998
	Folhas	28 componentes do óleo volátil (majoritários: 1,8-cineol e limoneno)		ZYGADLO <i>et al.</i> , 1997

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>M. cisplatensis</i>	Folhas		Atividade antiviral	KOTT <i>et al.</i> , 1999
	Folhas	26 componentes do óleo volátil (majoritário: 1,8-cineol)		LORENZO <i>et al.</i> , 2001
	Folhas		Atividade antimicrobiana	PENNA <i>et al.</i> , 2001
<i>M. coquimbensis</i> (Barnéoud) Landrum <i>et</i> Grifo	Folhas	36 componentes do óleo volátil (majoritário: limoneno)		TUCKER, MACIARELLO e LANDRUM, 2002
<i>M. fragrans</i> (Sw.) McVaugh		21 componentes do óleo volátil (majoritários: α -pineno, limoneno, 1-8-cineol, α -terpineol)		PINO <i>et al.</i> , 2000
<i>M. pungens</i> (Berg.) Legrand	Folhas	29 componentes do óleo volátil (majoritários: 1,8-cineol e limoneno)		ZYGADLO <i>et al.</i> , 1997

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>M. pungens</i>	Folhas		Atividade antimicrobiana	KUBOTA, OHARA e BACCHI, 2001
<i>Myrcianthes</i> sp.	Folhas	2-heptanol, α -pineno, β -pineno, limoneno, cineol, α -terpineol	Citotoxicidade contra células tumorais humanas	SETZER <i>et al.</i> , 1999
<i>Myrciaria cauliflora</i>	Folhas		Atividade antimicrobiana	KUBOTA, OHARA e BACCHI, 2001
<i>M. cuspidata</i> Berg.	Folhas e caule		Inibição da enzima xantina oxidase	THEODULOZ <i>et al.</i> , 1988
<i>M. dubia</i>	Frutos	ácido ascórbico e deidroascórbico, açúcares reduzidos, aminoácidos, sólidos solúveis, macronutrientes, antocianinas		ZAPATA e DUFOUR, 1993

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>M. dubia</i>	Frutos	21 componentes do óleo volátil (majoritários: α -pineno, d -limoneno)		FRANCO e SHIBAMOTO, 2000
	Frutos	epigallocatequina, galato epigallocatequina, epicatequina, galato epicatequina	Atividade antioxidante e citoprotetora	SANDOVAL, MELCHOR e OKUHAMA, 2001
<i>M. jaboticaba</i> Berg.	Frutos	carboidratos, ácidos orgânicos e antocianinas		TREVISAN, BOBBIO e BOBBIO, 1972
<i>M. tenella</i> (DC.) Berg	Folhas		Atividade mutagênica	FERREIRA e VARGAS, 1999
<i>M. trunciflora</i>	Frutos	Determinação de pectinas		BELESKI-CARNEIRO, ALQUINI e REICHER, 2000
<i>Neomitranthes cordifolia</i> (D. Legr.) D. Legr.	Folhas	24 componentes do óleo volátil (majoritários: β -cariofileno, (E)- β -farneseno)		APEL <i>et al.</i> , 2001b

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>Paramyrciaria delicatula</i> (DC) Kausel	Folhas		Atividade antimicrobiana	LIMBERGER <i>et al.</i> , 1998
<i>Plinia dermatodes</i> Urb.	Folhas	componentes do óleo volátil (majoritário: óxido de cariofileno)		BELLO <i>et al.</i> , 2001
	Folhas	29 componentes do óleo volátil (majoritário: óxido de cariofileno)		PINO <i>et al.</i> , 2003
<i>P. pinnata</i> L.	Órgãos aéreos	5,7,2',5'-tetraidroxiflavonol 3-O- α -L-ramnopiranosídeo, miricetina, miricitrina, ácido oleanólico, α -amirina, β -amirina		MENDEZ <i>et al.</i> , 1994
	Folhas	miricetina, miricetina-3-ramnosídeo, diidroflavonol		LANÇAS <i>et al.</i> , 1996

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>P. pinnata</i>	Órgãos aéreos	2 α ,3 β ,23-30-tetrahidroxiolean-12-eno, miricetina, miricitrina, ácido oleanólico, α -amirina, β -amirina		MENDEZ <i>et al.</i> , 1997
<i>P. rivularis</i> (Camb.) Rotman	Folhas, caule e frutos		Inibição da enzima xantina oxidase	THEODULOZ <i>et al.</i> , 1988
<i>P. rubrinervis</i> Urb.	Folhas	componentes do óleo volátil (majoritários: α -pineno, <i>p</i> -cimeno, α -terpineol, α -canfoneal) 19 componentes do óleo volátil (majoritários: α -pineno, <i>p</i> -cimeno, α -terpineol)		BELLO <i>et al.</i> , 2001 PINO <i>et al.</i> , 2002

Tabela 1. Componentes Químicos e Estudos Biológicos dos Gêneros Encontrados no Brasil Pertencentes à Subtribo Eugeniinae (Myrtaceae) (Continuação).

Espécie Vegetal	Órgão Vegetal	Componentes Químicos	Atividades Biológicas	Referências Bibliográficas
<i>P. rupestris</i> Ekm. & Urb.	Folhas	componentes do óleo volátil (majoritário: epi- α -murulol)		BELLO <i>et al.</i> , 2001
<i>P. trunciflora</i> (Berg.) Kausel	Folhas, caule e frutos		Inibição da enzima xantina oxidase	THEODULOZ <i>et al.</i> , 1988
<i>Siphoneugena reitzii</i> D. Legr.	Folhas		Atividade antimicrobiana	LIMBERGER <i>et al.</i> , 1998
	Folhas	27 componentes do óleo volátil (majoritários: α -pineno, β -pineno)		APEL <i>et al.</i> , 2001a

1.4. *Plinia edulis*

P. edulis, espécie pertencente à família Myrtaceae, subfamília Myrtoideae, tribo Myrteae e subtribo Eugeniinae (LANDRUM e KAWASAKI, 1997) é conhecida popularmente como cambucá, cambucá verdadeiro, cambucazeiro (LORENZI, 1992; CORRÊA, 1926)..

O gênero *Plinia* distribui-se na América Central, do Caribe ao Brasil, onde apresenta cerca de 20 espécies (LANDRUM e KAWASAKI, 1997).

A palavra cambucá é de origem tupi-guarani (DICIONÁRIO BRASILEIRO, 1976; BUENO, 1968). Sua etimologia representa a união de ka'a (árvore, erva, mata) e puka (abrir-se), fazendo referência aos frutos que se partem quando maduros (BUENO, 1968; BOUDIN, 1966).

Eugenia edulis Vellozo (LORENZI, 1992; SOBRAL, 1985; INDEX KEWENSIS, 1995), *Marlierea edulis* Niedenzu (SOBRAL, 1985), *Myrciaria edulis* (Vellozo) Skeels (SOBRAL, 1985), *Myrciaria plicato-costata* Berg. (LORENZI, 1992) e *Rubachia glomerata* Berg. (SOBRAL, 1985) constam como sinônimos científicos.

P. edulis apresenta de 5 a 10 metros de altura, com tronco curto de 30 a 40 cm de diâmetro, copa densa e piramidal, sendo conveniente para o paisagismo, embora seu crescimento seja lento. Pode ainda ser empregada em reflorestamentos mistos destinados à recomposição de áreas degradadas. Os frutos, fixados nos caules e ramos, são muito saborosos para consumo *in natura*, sendo apreciados por várias espécies de pássaros. Sua ocorrência é característica e exclusiva da floresta pluvial atlântica, do Rio de Janeiro até Santa Catarina (LORENZI, 1992).

As folhas de *P. edulis* são usadas, sob forma de infusões, no tratamento de afecções da garganta por populações caiçaras. No entanto, a espécie foi pouco estudada em relação à constituição química de suas folhas. Nas bases de dados consultadas (*Chemical Abstracts, Index Medicus, Lilacs, Web of Science, Portal Capes, Probe, Scielo*) apenas um estudo envolvendo a espécie foi encontrado e não se referia às folhas do

vegetal, mas sim à presença de pectinas em seus frutos (BELESKI-CARNEIRO *et al.*, 2000).

Estudos biológicos ou fitoquímicos são escassos inclusive para outras espécies deste gênero. THEODULOZ *et al.* (1988), estudando *Plinia rivularis* e *P. trunciflora*, espécies empregadas tradicionalmente no tratamento de gota, verificaram que os extratos polares destas plantas, constituídos de misturas complexas de flavonóides, apresentaram fraca atividade inibitória sobre a enzima xantina oxidase.

A partir de órgãos aéreos de *Plinia pinnata* foram isolados diversos polifenóis conhecidos, assim como duas substâncias inéditas: um flavonol (3-O- α -L-ramnopiranosídeo-5,7,2',5'-tetraidroxidiidroflavonol) e um triterpeno (2 α ,3 β ,23,30-tetraidroxiolean-12-eno) (Figura 1) (MENDEZ *et al.*, 1997; 1994).

Até o momento não foi reportada a caracterização morfo-histológica de folhas de *P. edulis* transformadas em droga vegetal, que segundo a RDC 17 (BRASIL, 2000), é definida como a planta ou suas partes que após processos de coleta são submetidas à estabilização e secagem, podendo ser íntegras, rasuradas, trituradas ou pulverizadas.

Literatura com descrições detalhadas que permitam a morfodiagnose de outras espécies de *Plinia* também é escassa (JORGE *et al.*, 1996).

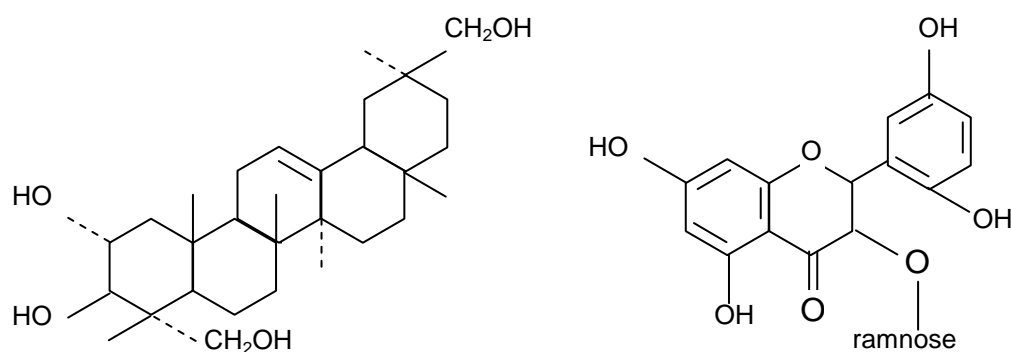


Figura 1. Triterpeno (2 α ,3 β ,23,30-tetraidroxiolean-12-eno) e flavonol (3-O- α -L-ramnopiranosídeo-5,7,2',5'-tetraidroxidiidroflavonol) isolados de órgãos aéreos de *Plinia pinnata* L.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo ampliar o conhecimento sobre a espécie vegetal *Plinia edulis*, sob propósitos específicos:

- 2.1. Caracterizar macro e microscopicamente a droga vegetal;
- 2.2. Realizar o estudo químico do óleo volátil;
- 2.3. Caracterizar os principais grupos de substâncias e determinar o perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL);
- 2.4. Realizar a quantificação de taninos e de flavonóides na droga vegetal e no extrato (EHEL);
- 2.5. Avaliar a toxicidade aguda, a atividade antimicrobiana, antioxidante e antiúlcera do extrato (EHEL).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Coleta e Identificação da Espécie Vegetal

O material vegetal foi coletado em Trindade, 2º Subdistrito de Paraty, Rio de Janeiro, Brasil. Os ramos, floridos e/ou frutificados, foram preparados visando a obtenção de exsiccatas. Após a identificação, a exsicata foi depositada no herbário do Instituto de Botânica de São Paulo, tendo sido registrada como SP-356.472.

3.2. Material Botânico

As folhas de *Plinia edulis* empregadas na triagem fitoquímica e no preparo do extrato hidroetanólico liofilizado foram coletadas no período da tarde, no mês de janeiro e submetidas à secagem em estufa com circulação de ar a cerca de 45 °C. A seguir, foram reduzidas a pó semifino (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988) em moinho de facas e martelos de marca Thomas.

3.3. Descrição Macroscópica e Microscópica da Droga Vegetal

A descrição macroscópica das folhas foi efetuada à vista desarmada ou com auxílio de lupa estereoscópica Willd. As mensurações foram feitas com auxílio de régua. A terminologia empregada foi baseada nos sistemas adotados por HICKEY (1973) e RIZZINI (1960-61).

A morfologia interna foi observada com o auxílio de microscópio de luz Olympus. A descrição anatômica das folhas foi realizada em cortes preparados com material fresco, estocado em etanol 70% (BERLYN e MIKSCHE, 1976) e na droga vegetal.

Nos testes histoquímicos executados foram empregadas as soluções de floroglucinol clorídrico, fucsina básica e safranina para lignina (OLIVEIRA e AKISUE, 2000; SASS, 1951); de Sudam III para lipídios, cutina e suberina (SASS, 1951); de azul de Astra e de hematoxilina de Delafield para celulose (ROESER, 1972; JOHANSEN, 1940); de cloreto férrico para compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940); e de lugol para amido (BERLYN e MIKSCHE, 1976).

Na obtenção das preparações semipermanentes foram empregadas amostras seccionadas no sentido transversal e longitudinal tangencial, à mão livre na porção proximal, mediana e distal do pecíolo e na região do terço mediano inferior da lâmina foliar plenamente desenvolvida. Os cortes histológicos foram diafanizados com solução de hipoclorito de sódio 20 % e tratados, após lavagem, com água acética 0,5%. Os cortes foram corados com soluções de fucsina básica e azul de Astra ou azul de Astra e safranina e montados em glicerina-água (1:1) (OLIVEIRA e AKISUE, 2000; ROESER, 1972).

A dissociação dos tecidos foi obtida pelo método de FRANKLIN (1945), que consiste de maceração em mistura de água oxigenada 20 V e ácido acético glacial na proporção de 1:1, em estufa a 60 °C. O macerado foi mantido em estufa até a dissociação ser observada e a epiderme dissociada, após lavagem, foi corada e montada como descrito para as preparações semipermanentes.

A documentação foi realizada empregando-se fotomicroscópio Nikon.

3.4. Óleo Volátil

As folhas frescas de *Plinia edulis* foram coletadas no período da manhã, nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro e mantidas sob refrigeração até o momento da extração do óleo volátil.

Extração

O óleo volátil foi extraído utilizando o Método I da FARMACOPÉIA BRASILEIRA (1988), cujo processo consiste em arraste pelo vapor de água (hidrodestilação) com o auxílio do aparelho de Clevenger modificado por WASICKY (1963). As folhas frescas de *P. edulis* foram rasuradas e a extração foi realizada por 4 horas.

Identificação dos Componentes Químicos

A análise qualitativa do óleo foi feita utilizando-se o cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (Shimadzu, QP-5000), provido de coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), gás de

arraste hélio com fluxo de 1 mL/min e programação de temperaturas adequadas para separação.

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist 62 lib.), literatura específica (McLAFFERTY e STAUFFER, 1989) e através da comparação dos índices de retenção (ADAMS, 1995).

3.5. Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)

A droga vegetal pulverizada e tamisada foi submetida à percolação segundo método descrito na FARMACOPÉIA BRASILEIRA (1988).

Em um percolador, 2.870 g do pó da droga foram mantidos em maceração com etanol 70% por 24 horas. Foi realizada a percolação com fluxo de 3 mL/min usando o mesmo solvente como extrator. A solução hidroetanólica foi concentrada em rotavapor Büchi a 40-45 °C sob pressão reduzida para a eliminação do etanol e em seguida foi liofilizada em equipamento de marca Edwards.

O extrato liofilizado foi homogeneizado através de tamis nº 40, 35 meshes/polegada, abertura de 0,417 mm, marca Tyler. Em seguida, o liofilizado tamisado foi acondicionado em frascos de vidro e armazenado em dessecador.

Este extrato foi empregado na triagem fitoquímica, determinação do índice de espuma, doseamento de taninos e flavonóides, avaliação do perfil cromatográfico e na avaliação da toxicidade aguda, da atividade antimicrobiana, antioxidante e antiúlcera aguda.

3.6. Triagem Fitoquímica da Droga Vegetal e do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)

As triagens fitoquímicas da droga vegetal pulverizada e do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) foram realizadas para avaliar-se a presença de alcalóides, antraderivados, compostos esteroidais, flavonóides, saponinas

e taninos. Os métodos empregados foram preconizados por FARNSWORTH (1966) e MATOS (1988).

3.6.1. Alcalóides

A 2,0 g do pó da droga foram adicionados 10 mL de água destilada e ácido clorídrico 0,2N, até pH ácido. O conjunto foi aquecido até fervura por 2 minutos. O filtrado foi transferido para um funil de separação e em seguida foi adicionado hidróxido de amônio 10% até pH alcalino. A solução foi extraída com 2 porções de 10 mL de éter etílico, em funil de separação. A fração etérea foi concentrada em rotavapor Büchi e ao resíduo foram acrescentados 2 mL de HCl 0,2N, seguindo-se os testes de precipitação com os reativos de Bertrand (ácido silicotúngstico a 5%), Bouchardat (solução aquosa de iodo em iodeto de potássio), Dragendorff (solução aquosa de ácido nítrico 6%, subnitrito de bismuto 8% e iodeto de potássio 23%) e Mayer (solução de cloreto férrico a 1,3% e iodeto de potássio 5%).

O mesmo procedimento descrito acima foi realizado empregando-se 2,0 g do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL).

O aparecimento de precipitado após a adição dos reagentes foi considerado como indicativo da presença de alcalóides na droga vegetal ou no extrato (EHEL).

3.6.2. Antraderivados

A 2,0 g do pó da droga foram adicionados 10 mL de ácido sulfúrico 2N e o conjunto foi aquecido até fervura por 2 minutos. O filtrado foi transferido para um funil de separação e extraído com 10 mL de éter etílico. A fase etérea foi transferida para um tubo de ensaio e foram adicionados 2 mL de solução aquosa de hidróxido de sódio 2N.

O mesmo procedimento descrito acima foi realizado empregando-se 2,0 g do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL).

O aparecimento de coloração vermelha intensa na fase aquosa após agitação foi considerado como indicativo da presença de antraquinonas na droga vegetal ou no extrato (EHEL) (Reação de Borntraeger).

3.6.3. Compostos Esteroidais

A 2,0g do pó da droga foram adicionados 20 mL de etanol 50% e o conjunto foi aquecido até fervura por 1 minuto e filtrado a seguir. O processo foi repetido por 2 vezes. Aos filtrados reunidos foram adicionados 10 mL de solução saturada de acetato básico de chumbo. Após a agitação a mistura permaneceu em repouso até sedimentação do precipitado formado. O sobrenadante foi transferido para um funil de separação e extraído com 2 porções de 15 mL de clorofórmio. A fração clorofórmica foi filtrada através de sulfato de sódio anidro e 3 mL foram concentrados em rotavapor Büchi. O resíduo foi retomado com cerca de 0,5 mL de ácido acético R e transferido para um tubo de ensaio contendo 1 mL de ácido sulfúrico concentrado.

O mesmo procedimento descrito acima foi realizado partindo-se de 2,0 g do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) solubilizados em 60 mL de etanol 50%.

O aparecimento de coloração vermelho-acastanhada na região de contato dos dois líquidos foi considerado reação positiva para a identificação do núcleo esteroidal (Reação de Liebermann-Burchard).

3.6.4. Flavonóides

A 2,0g do pó da droga foram adicionados 15 mL de etanol 70% e o conjunto foi aquecido até fervura por 2 minutos e filtrado. O mesmo procedimento foi realizado empregando-se 2,0 g do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL). Estas soluções foram utilizadas nas reações para identificação de flavonóides a seguir:

Reação com Cloreto de Alumínio

As soluções foram gotejadas em papel de filtro em duas áreas distintas. Em uma das áreas foi adicionada uma gota de solução etanólica de cloreto de alumínio 5%. O papel de filtro foi observado sob luz ultravioleta no comprimento de onda de 366nm. O desenvolvimento ou intensificação da fluorescência na zona de contato com a solução de cloreto de alumínio foi considerado reação positiva para flavonóides.

Reação de Shinoda

Às soluções previamente obtidas foram adicionados dois a três fragmentos de magnésio metálico e 1 mL de ácido clorídrico concentrado. O desenvolvimento de coloração rósea à vermelha foi considerado como indicativo da presença de flavonóides.

Reação com Hidróxidos Alcalinos

A 2 mL das soluções previamente obtidas foram adicionados 0,5 mL de solução de hidróxido de sódio 1N. A intensificação da coloração amarela foi considerada como indicativo da presença de flavonóides.

3.6.5. Óleo Volátil

Avaliação Organoléptica

A droga vegetal e o extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) foram triturados entre os dedos. O desprendimento de odor aromático foi considerado indicativo da presença de óleo volátil.

Avaliação do Hidrodestilado com Sudam III

Um anel metálico de 1,5 cm de diâmetro por 0,5 cm de altura, contendo a droga vegetal em pó umedecida, foi colocado sobre uma lâmina microscópica. Sobre o anel foi colocada outra lâmina e o conjunto foi levado ao aquecimento em chapa. Ao condensado formado na lâmina superior foi adicionado Sudam III e uma lamínula foi sobreposta para a observação microscópica.

O mesmo procedimento descrito acima foi realizado empregando-se o extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL).

A presença de gotículas vermelho-alaranjadas dispersas no meio aquoso foi considerada indicativa da presença de substâncias lipofílicas voláteis.

3.6.6. Saponinas

A 0,5 g do pó da droga foram adicionados 20 mL de água destilada e o conjunto foi aquecido até ferver por 2 minutos. Após resfriamento foi filtrado para balão volumétrico de 50 mL, mantendo-se o

sólido no béquer. O procedimento foi repetido com porções de 10 mL de água destilada até que o volume do balão fosse completado.

Uma solução aquosa semelhante foi feita partindo-se do 0,5 g do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) solubilizados em água em balão volumétrico de 50 mL.

Os extratos aquosos a 1% obtidos foram utilizados para a avaliação da presença de saponinas na droga vegetal e no extrato (EHEL).

Espuma

Em um tubo de ensaio provido de tampa foram colocados 5 mL da solução aquosa obtida da droga vegetal. O tubo foi agitado vigorosamente por 15 segundos e deixado em repouso por 15 minutos.

O mesmo procedimento descrito acima foi realizado empregando-se a solução aquosa obtida a partir do extrato (EHEL).

A verificação de uma camada de espuma persistente de ao menos 1 cm foi considerada indicativa da presença de glicosídeos saponínicos.

Hemólise

Cinco mililitros da solução aquosa obtida da droga vegetal foram previamente isotonzados com cloreto de sódio e colocados em um tubo de ensaio com 2 mL de uma suspensão de sangue bovino desfibrinado 2% em solução fisiológica.

O mesmo procedimento descrito acima foi realizado empregando-se a solução aquosa obtida a partir do extrato (EHEL).

O tubo foi homogeneizado e após uma hora de repouso foi avaliada a ocorrência de hemólise.

3.6.7. Taninos

A 1,0g do pó da droga vegetal foram adicionados 50 mL de água destilada, o conjunto foi aquecido, mantido em fervura por 5 minutos e filtrado. O mesmo procedimento descrito acima foi realizado empregando-se 1,0 g do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL).

Alíquotas das soluções aquosas obtidas a partir da droga vegetal e do extrato (EHEL) foram separadas para a realização dos ensaios de identificação descritos a seguir.

Avaliação Organoléptica

As soluções foram avaliadas quanto ao sabor adstringente. A presença de adstringência foi considerada como indicativa da presença de taninos.

Reação com Alcalóides

A uma alíquota de 2 mL de cada solução aquosa obtida foram adicionadas 1 gota de ácido clorídrico a 10% e 5 gotas de solução aquosa de sulfato de quinina a 0,1%. O desenvolvimento de precipitado foi considerado reação positiva.

Reação com Acetato de Chumbo

A 2 mL de cada solução aquosa obtida foram adicionadas 3 gotas de solução aquosa de acetato de chumbo 10%. O desenvolvimento de precipitado foi considerado reação positiva.

Reação com Acetato de Cobre

A uma alíquota de 2 mL de cada solução aquosa obtida foram adicionadas 2 a 3 gotas de solução aquosa de acetato de cobre 3%. O desenvolvimento de precipitado foi considerado reação positiva.

Reação com Sais de Ferro

A 2 mL de cada solução aquosa obtida foram adicionados 5 mL de água destilada e 2 a 3 gotas de solução de cloreto férrico 2%. O desenvolvimento de precipitado ou a mudança de coloração foram considerados reação positiva.

Reação com Gelatina

A 2 mL de cada solução aquosa obtida foram adicionados 1 gota de ácido clorídrico 10% e 0,5 mL de gelatina 2,5%, gota a gota. O desenvolvimento de precipitado foi considerado indicativo da presença de taninos.

3.7. Índice de Espuma

A 0,5 g do pó da droga foram adicionados 20 mL de água destilada e o conjunto foi aquecido até fervura por 2 minutos. Após resfriamento foi filtrado para balão volumétrico de 50 mL. O procedimento foi repetido com porções de 10 mL de água destilada até que o volume do balão fosse completado. Uma solução aquosa semelhante foi feita partindo-se do 0,5 g do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) solubilizado em água em balão volumétrico de 50 mL. Estes extratos aquosos a 1% obtidos foram utilizados para a determinação do Índice de espuma da droga e do extrato (EHEL).

Dez tubos de ensaio de dimensões semelhantes foram empregados e 5 mL da solução aquosa 1% obtida da droga vegetal foram adicionados no primeiro e no segundo tubos. A todos os tubos, com exceção do primeiro, foram adicionadas alíquotas de 5 mL de água destilada. O segundo tubo foi homogeneizado e 5 mL da solução foram transferidos para o terceiro tubo. O processo foi realizado seqüencialmente até o décimo tubo. Cinco mililitros do décimo tubo foram desprezados, de forma que todos os tubos continham 5 mL de uma solução em diferentes diluições (1/100; 1/200; 1/400; 1/800; 1/1.600; 1/3.200; 1/6.400; 1/12.800; 1/25.600; 1/51.200). Todos os tubos foram agitados no sentido longitudinal, vigorosamente por 15 segundos e deixados em repouso por 15 minutos. O mesmo procedimento de diluição e agitação foi realizado com a solução aquosa 1% obtida a partir do extrato (EHEL). Após o repouso os tubos foram observados e anotada a menor diluição capaz de provocar uma camada de espuma persistente de 1 cm de altura. O índice de espuma é o valor da diluição.

3.8. Doseamento de Taninos na Droga Vegetal e no Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)

O doseamento de taninos na droga vegetal e no extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) foi realizado conforme preconizado pela EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2001). O resultado foi expresso em porcentagem de taninos e o método baseia-se na reação colorimétrica dos

polifenóis com o ácido fosfomolibdotúngstico, utilizando-se como referência o pirogalol (Sigma).

Reagente Fosfomolibdotúngstico

Em um balão, foram adicionados 700 mL de água destilada e dissolvidos 100 g de tungstato de sódio e 25 g de molibdato de sódio. Sob resfriamento, foram adicionados 100 mL de ácido clorídrico e 50 mL de ácido fosfórico. O balão foi aquecido sob refluxo com condensador de bolas durante 10 horas. Foram adicionadas algumas gotas de bromo e a solução foi fervida durante 15 minutos para remoção do excesso de bromo. A solução foi resfriada, diluída com água destilada para 1000 mL em balão volumétrico e em seguida foi filtrada. O reagente preparado foi conservado em geladeira até o momento do uso.

Solução de Carbonato de Sódio

Em um balão volumétrico de 1 L, 290 g de carbonato de sódio foram solubilizados em água destilada.

Doseamento

A 0,750 g de droga vegetal foram adicionados 150 mL de água destilada. O conjunto foi aquecido em banho-maria por 30 minutos, resfriado e transferido quantitativamente para balão volumétrico de 250 mL. Após a decantação dos sólidos, o conjunto foi filtrado por papel de filtro de 125 mm de diâmetro. Foram descartados os 50 mL iniciais do filtrado (F1).

O mesmo procedimento descrito acima foi realizado utilizando-se 0,300 g de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) (F2).

Polifenóis Totais

Cinco mililitros do filtrado obtido a partir da droga vegetal (F1) foram diluídos com água destilada em balão volumétrico de 25 mL. A 2 mL desta solução foram adicionados 1 mL do reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água em balão volumétrico de 25 mL e o volume foi completado com a solução de carbonato de sódio. Após 30 minutos foi feita a leitura da absorbância a 760 nm (A_1), usando água como branco.

O mesmo procedimento foi realizado utilizando-se o filtrado obtido a partir do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) (F2).

Polifenóis Não Adsorvidos pelo Pó de Pele

A 10 mL do filtrado obtido a partir da droga vegetal (F1) foram adicionados 0,10 g de pó de pele Merck. O conjunto foi levado à agitação em agitador magnético durante 1 hora e em seguida foi filtrado através de papel de filtro. Cinco mililitros deste filtrado foram diluídos com água destilada em balão volumétrico de 25 mL. A 2 mL desta solução foram adicionados 1 mL do reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água em balão volumétrico de 25 mL e o volume foi completado com a solução de carbonato de sódio. Após 30 minutos foi feita a leitura da absorbância a 760 nm (A_2), usando água como branco.

O mesmo procedimento foi realizado utilizando-se o filtrado obtido a partir do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) (F2).

Padrão

Imediatamente antes do uso, 50,0 mg de pirogalol (Merck) foram diluídos em água em um balão volumétrico de 100 mL. A 2 mL desta solução foram adicionados 1 mL do reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água em balão volumétrico de 25 mL e o volume foi completado com a solução de carbonato de sódio. Após 30 minutos foi feita a leitura da absorbância a 760 nm (A_3), usando água como branco.

Cálculo

O teor de taninos foi calculado em porcentagem através da equação:

$$\% \text{ taninos} = \frac{62,5 (A_1 - A_2) m_2}{A_3 m_1}$$

onde: A_1 = valor de absorbância dos polifenóis totais a 760 nm; A_2 = valor de absorbância dos polifenóis não adsorvidos pelo pó de pele a 760 nm; A_3 = valor de absorbância do padrão de pirogalol a 760 nm; m_1 = massa do

pirogalol em gramas; m_2 = massa da amostra analisada (droga vegetal ou EHEL) em gramas.

3.9. Doseamento de Flavonóides na Droga Vegetal e no Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)

O doseamento de flavonóides na droga vegetal e no extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) foi realizado conforme preconizado pela FARMACOPÉIA BRASILEIRA (BRASIL, 2003). A porcentagem de flavonóides foi calculada em relação à quercetina.

Preparo da Solução de Metenamina

Dissolveu-se 0,1 g de metenamina em 20 mL de água.

Preparo da Solução de Cloreto de Alumínio

Dissolveram-se 2 g de cloreto de alumínio em 100 mL de metanol.

Preparo da Solução Metanólica de Ácido Acético

Cinco mililitros de ácido acético foram misturados a 100 mL de metanol.

Determinação de água

Dois gramas da droga vegetal e 2 g do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) foram levados à estufa a 100-105 °C, separadamente, por 5 horas. Após resfriamento em dessecador, a droga vegetal e o extrato (EHEL) foram pesados até que a massa entre as pesagens não diferisse em mais de 5 mg em 3 pesagens consecutivas. A determinação de água foi calculada em porcentagem em relação à massa da amostra inicial através da fórmula:

$$Pd = \frac{(mf - mi) \times 100}{mi}$$

onde: Pd = determinação de água em porcentagem; mi = massa inicial da amostra em gramas; mf = massa final da amostra, após a secagem, em gramas.

Doseamento

Uma massa de 0,4 g da droga vegetal foi aquecida à fervura sob refluxo durante 30 minutos com 20 mL de acetona, 1 mL da solução de metenamina e 2 mL de ácido clorídrico. A mistura foi filtrada por algodão para balão volumétrico de 100 mL. O resíduo da droga e o algodão foram extraídos mais duas vezes usando-se porções de 20 mL de acetona com aquecimento à fervura sob refluxo por 10 minutos. Os filtrados foram reunidos no balão e o volume foi completado para 100 mL com acetona.

A 20 mL da solução obtida foram adicionados 20 mL de água e 15 mL de acetato de etila, em funil de separação. A fase de acetato de etila foi recolhida e procederam-se mais 3 extrações empregando-se porções de 10 mL de acetato de etila. Após a reunião das fases de acetato de etila, foram realizadas 2 lavagens com porções de 50 mL de água. A fase orgânica foi completada com acetato de etila em balão volumétrico de 50 mL (solução mãe).

A 10 mL da solução mãe foi adicionado 1,0 mL da solução de cloreto de alumínio e o volume foi completado para 25 mL em balão volumétrico com a solução metanólica de ácido acético. Foi preparada uma solução de comparação (branco) diluindo-se 10 mL da solução mãe a 25 mL em balão volumétrico com solução metanólica de ácido acético.

Após 30 minutos foi lida a absorbância da amostra a 425 nm, utilizando-se a solução sem a adição do cloreto de alumínio como branco.

O mesmo procedimento para o doseamento de flavonóides foi realizado partindo-se de 0,4 g do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL).

Cálculo

O teor de flavonóides foi calculado em porcentagem como quercetina através da equação:

$$\% \text{ flavonóides} = \frac{A \times 62.500}{500 \times m \times (100 - Pd)}$$

onde: A = absorvância da amostra a 425 nm; m = massa da amostra em gramas; Pd = determinação de água da amostra em porcentagem.

3.10. Perfil Cromatográfico

Os perfis cromatográficos do extrato liofilizado de *Plinia edulis* (EHEL) e das frações (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e hidrolisada) foram determinados através de cromatografia em camada delgada.

Os sistemas cromatográficos utilizados foram descritos por WAGNER e BLADT (1996), MARKHAM (1982) e STAHL (1969) objetivaram delinear o perfil cromatográfico e avaliar a presença de substâncias através da comparação com um padrão.

Nas cromatografias realizadas, foram utilizados 2 μL de cada fração obtida diluída a 10% (m/v). Uma alíquota de 1 μL de uma solução de quercetina (Merck) diluída a 0,5% (m/v) em etanol 70% (v/v) foi usada como padrão.

Preparo das Amostras

Um cartucho com 50,0 g do EHEL foi submetido à extração em aparelho de Soxhlet com 500 mL de hexano por 4 horas. Após a extração, o conjunto foi seco em capela e submetido à extração com 500 mL de diclorometano nas mesmas condições descritas anteriormente.

O procedimento de secagem foi repetido, assim como o processo de extração usando como extrator 500 mL de acetato de etila e posteriormente 500 mL de metanol.

As frações obtidas (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) foram concentradas em rotavapor Büchi para cálculo dos rendimentos.

Foi obtida também uma fração hidrolisada do extrato (EHEL) (HARBORNE, 1998). A 5,0 g do EHEL foram adicionados 100 mL de

metanol 70% (v/v) e 100 mL de ácido clorídrico 2M. Esta solução foi levada à ebulição sob refluxo por 40 minutos.

A solução foi filtrada para um funil de separação e acrescentaram-se 200 mL de água destilada. A extração em funil de separação foi realizada utilizando-se duas porções de 150 mL de acetato de etila.

Os extratos de acetato de etila foram agrupados e concentrados em rotavapor Büchi para cálculo do rendimento da fração hidrolisada.

Cada fração (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e hidrolisada) foi diluída com o respectivo solvente a 10% (m/v).

Sistemas Cromatográficos

Os sistemas cromatográficos utilizados são descritos a seguir:

Sistema 1

Fase estacionária: Sílica gel GF (Merck) com espessura de 300 μm

Ativação: 110 °C, por 1 hora

Saturação da cuba: total

Desenvolvimento: ascendente, contínuo, com percurso de 12 cm

Fase móvel: clorofórmio/ acetona/ ácido fórmico (75:16,5:8,5)

Revelador: difenilboriloxietilamina a 1% em metanol + polietilenoglicol 4.000 a 5% em metanol (NP/PEG)

Visualização: UV 360 nm

Nos sistemas 2 a 5 os parâmetros das cromatografias realizadas foram idênticos aos empregados no Sistema 1, variando-se apenas as fases móveis.

Sistema 2

Fase móvel: clorofórmio/ etanol/ ácido acético (98:2:2)

Sistema 3

Fase móvel: clorofórmio/ acetona/ ácido fórmico (55:25:10)

Sistema 4

Fase móvel: acetato de etila/ ácido acético (95:5)

Sistema 5

Fase móvel: acetato de etila/ butanona/ ácido fórmico/ água (75:5:10:10)

Sistema 6

Suporte: celulose microcristalina (Merck) com espessura de 300 μm sem ativação

Saturação da cuba: total

Desenvolvimento: ascendente, contínuo, com percurso de 12 cm

Fase móvel: *n*-butanol/ ácido acético glacial/ água (40:10:50)

Revelador: difenilboriloxietilamina a 1% em metanol + polietilenoglicol 4.000 a 5% em metanol (NP/PEG)

Visualização: UV 360 nm

Sistema 7

Fase estacionária: Sílica gel GF (Merck) com espessura de 300 μm

Ativação: 110 °C, por 1 hora

Saturação da cuba: total

Desenvolvimento: ascendente, em 2 etapas, com percurso de 6 cm e 12 cm

Fases móveis: I – acetato de etila/ butanona/ ácido fórmico/ água (75:5:10:10)

II – acetato de etila/ ácido acético (95:5)

Revelador: difenilboriloxietilamina a 1% em metanol + polietilenoglicol 4.000 a 5% em metanol (NP/PEG)

Visualização: UV 360 nm

Nos sistemas 8 e 9 os parâmetros das cromatografias realizadas foram idênticos aos empregados no Sistema 7, variando-se apenas as fases móveis.

Sistema 8

Fases móveis: I – clorofórmio/ acetona/ ácido fórmico (55:25:10)

II – clorofórmio/ acetona/ ácido fórmico (75:16,5:8,5)

Sistema 9

Fases móveis: I – clorofórmio/ acetona/ ácido fórmico (55:25:10)

II – clorofórmio/ etanol/ ácido acético (98:2:2)

3.11. Toxicidade Aguda

Animais

No ensaio foram empregados 20 camundongos Swiss albinos adultos, com massa corpórea entre 20 e 40 g provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Os animais foram divididos em 4 grupos: 5 fêmeas nulíparas e não prenhas para teste, 5 fêmeas nas mesmas condições para controle, 5 machos para teste e 5 para controle.

Os animais foram mantidos em gaiolas apropriadas, em ciclo de claro-escuro de 12/12h com ração e água *ad libitum* por 5 dias antes do início do experimento.

Ensaio

A toxicidade aguda do extrato hidroetanólico liofilizado de *Plinia edulis* (EHEL) foi avaliada segundo método preconizado por BRITO (1994).

Após o período de adaptação, os animais foram submetidos a jejum de 6 horas anteriormente à administração do extrato. Durante 3 horas após a administração, os animais foram privados de alimento e água.

O extrato liofilizado de *P. edulis* foi diluído em água potável filtrada a uma concentração de 500 mg/mL e administrado aos animais do grupo tratado em um volume correspondente a 10 mL/kg de massa corpórea (equivalente a 5 gramas de extrato por quilograma de massa corpórea) (WITTHAWASKUL *et al.*, 2003; MONTEIRO *et al.*, 2001; HIRUMA-LIMA *et al.*, 2000). Os animais controle receberam os mesmos volumes (10 mL/kg de

massa corpórea) de água potável. A administração foi realizada por via oral, por gavagem, em dose única utilizando-se sonda gástrica.

Durante 30 minutos, os animais foram cuidadosamente observados em relação ao padrão de comportamento (depressão, excitação, convulsão, estereotipia, piloereção, diarreia). As observações repetiram-se depois de 1 hora da administração do extrato, 2 horas, 4 horas, 6 horas e posteriormente de 24 em 24 horas durante um período de 14 dias. Os dados foram registrados sistematicamente para cada um dos animais, assim como a massa corpórea. Durante todo o experimento o volume de água e ração consumidos foram medidos diariamente.

Ao final do ensaio, os animais foram mortos e necropsiados. As alterações macroscópicas dos órgãos foram avaliadas. Os órgãos (coração e pulmões, fígado e rins) foram pesados para determinação das massas relativas.

Análise dos Resultados

A variação da massa dos animais no decorrer do ensaio e as massas relativas dos órgãos determinadas ao final do experimento foram avaliadas estatisticamente. Os resultados foram submetidos à análise de variância, com nível crítico igual ou menor a 0,05 (5%) para rejeição da hipótese de nulidade, seguido de Tukey (SOKAL e ROHLF, 1969).

3.12. Atividade Antimicrobiana

Microrganismos

Os microrganismos utilizados no ensaio foram: *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Preparação dos Meios de Cultura

Os meios de caseína-soja (ágar e caldo) e Sabouraud-dextrose (ágar e caldo) foram preparados a partir do meio desidratado, conforme as instruções do fabricante (Difco).

Preparação do Inóculo

As bactérias foram incubadas em meio de ágar caseína-soja a 35 ± 1 °C, por 24 horas. Os fungos foram incubados em meio de ágar Sabouraud-dextrose a 20 - 25 °C, durante 48 horas para *C. albicans* e 5 dias para *A. niger*.

A massa celular resultante do crescimento foi recolhida em 9 mL de solução fisiológica estéril e a suspensão obtida foi submetida à contagem de microrganismos viáveis pela técnica de semeadura em profundidade.

Para tanto, foram realizadas diluições decimais seriadas da suspensão em solução fisiológica e alíquotas de 1 mL das diferentes diluições foram transferidas para placas de Petri em triplicata.

Os meios de cultura ágar caseína-soja (para bactérias) e ágar Sabouraud-dextrose (para fungos) foram fundidos e 15 - 20 mL foram vertidos sobre as placas.

As placas com bactérias inoculadas foram incubadas em estufa a 35 ± 1 °C durante 24 horas. As placas com fungos foram incubadas em estufa a 20 - 25 °C durante 48 horas para *C. albicans* e durante 5 dias para *A. niger*. Após a incubação foi efetuada a contagem das colônias.

O número de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) da suspensão foi determinado através da contagem das placas com 30 a 300 colônias para bactérias e levedura e 30 a 100 colônias para o bolor.

Determinando-se a concentração de microrganismos para cada suspensão foram efetuadas diluições em solução fisiológica estéril para a obtenção de inóculos com 100 UFC/mL.

Ensaio

A determinação da Concentração Mínima Inibitória do extrato liofilizado de *Plinia edulis* foi realizada através do método de diluição em meio líquido (WADT *et al.*, 1996)

Séries de 3 tubos contendo 9 mL de caldo caseína-soja para bactérias e Sabouraud-dextrose para fungos foram inoculados com 0,5 mL

de suspensão do microrganismo com 100 UFC/mL. Para cada série foram adicionadas alíquotas de 0,5 mL de solução do extrato ou substância-referência de concentração conhecida.

Como controle, foram preparadas séries constituídas de tubos apenas com o meio de cultura inoculado (controle negativo para inibição) e tubos apenas com o extrato sem o microrganismo (para avaliação da contaminação da amostra).

Os tubos foram incubados a 35 ± 1 °C para bactérias e a 20 - 25 °C para fungos durante período necessário para que houvesse turvação nos meios de controle negativo.

Nas mesmas condições do teste foram determinados os valores de concentração mínima inibitória do cloranfenicol para bactérias e anfotericina B para os fungos (controles positivos de inibição microbiana).

Subcultura

Após a turvação nos meios de controle negativo, ocorrida no ensaio descrito acima, foram realizadas subculturas dos tubos. Séries de 3 tubos contendo 9 mL de caldo caseína-soja para bactérias e Sabouraud-dextrose para fungos foram inoculados com uma alça de cada um dos tubos incubados anteriormente. Os tubos com a subcultura foram incubados a 35 ± 1 °C para bactérias e a 20 - 25 °C para fungos durante período necessário para que houvesse turvação nos meios de controle negativo.

3.13. Atividade Antioxidante

Animais

Foram usados ratos Wistar Hannover machos com massa corpórea entre 300 e 350g provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Ensaio

A presença de substâncias antioxidantes no extrato foi avaliada pela medida de TBARS (thiobarbituric acid reactants substances) formados através da reação entre o malonildialdeído (MDA) e o ácido tiobarbitúrico

(TBA) (BARROS *et al.*, 1996; STOCKS *et al.*, 1974; FEE e TEITELBAULM, 1972).

Homogenatos de cérebro de ratos, quando incubados em condições adequadas de oxigenação e temperatura sofrem peroxidação espontânea que pode ser avaliada pela produção de MDA através de medidas de TBARS. Desta forma, o produto da reação entre o TBA e o MDA produzido durante a quebra de lipídios peroxidados é determinado colorimetricamente (BARROS *et al.*, 1996).

Obtenção do Homogenato de Cérebro de Rato

Os animais foram anestesiados e submetidos à laparotomia. O cérebro foi perfundido através do coração com solução tampão fosfato 140 mM pH 7,4 a 4 °C.

O cérebro foi homogeneizado em 4 vezes o seu peso no tampão fosfato e centrifugado por 15 minutos a 3.000 rpm e 4 °C. O sobrenadante foi diluído em 3 vezes o seu volume com a solução tampão e o homogenato diluído foi usado para medir o malonildialdeído produzido pela quebra de lipídios peroxidados.

Medida de Malonildialdeído (MDA)

Frações de 3 mL do homogenato diluído foram transferidos para erlenmeyers de 25 mL e incubados durante 1 hora em banho a 37 °C com agitação na presença de diferentes concentrações do extrato hidroetanólico liofilizado de *Plinia edulis* (EHEL).

A capacidade antioxidante (CAOx%) foi calculada para cinco concentrações diferentes do extrato liofilizado (0,05 µg/mL; 0,10 µg/mL; 0,20 µg/mL; 0,41 µg/mL e 0,82 µg/mL) a partir de uma média de 4 leituras.

Um gráfico de dispersão foi traçado e através da reta de linearidade foi calculada a concentração do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) capaz de promover a inibição de 50% da autoxidação de homogenato de cérebro de ratos.

As medidas de TBARS (thiobarbituric acid reactants substances) foram determinadas de acordo com FEE e TEITELBAUM (1972). A capacidade antioxidante foi calculada em porcentagem relativamente a controles aos quais não se adiciona o extrato. Assim:

$$\%CAOx = 100 \left[1 - \frac{(TBARSa_{60} - TBARSa_0)}{(TBARSc_{60} - TBARSc_0)} \right]$$

onde, %CAOx = Capacidade antioxidante medida em porcentagem; TBARSa₆₀ = TBARS da amostra com a adição de extrato após 60 minutos de incubação a 37 °C sob banho com agitação; TBARSa₀ = TBARS da amostra com a adição de extrato antes da incubação; TBARSc₆₀ = TBARS da amostra sem a adição de extrato após 60 minutos de incubação (controle); TBARSc₀ = TBARS da amostra sem a adição de extrato antes da incubação.

3.14. Atividade Antiúlcera Aguda

Animais

No ensaio foram utilizados ratos Wistar Hannover machos pesando entre 150 e 180g provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Os animais foram mantidos em gaiolas apropriadas, em ciclo de claro-escuro de 12/12h com ração e água *ad libitum* por 5 dias antes do início do experimento.

Ensaio

A avaliação da atividade antiúlcera do extrato hidroetanólico liofilizado (EHFL) foi efetuada através do modelo de indução com ácido clorídrico e etanol (MATSUMOTO e YAMADA, 1991; MIZUI e DOTEUCHI, 1983).

Após o período de adaptação, os ratos foram mantidos em jejum durante 24 horas. Em seguida, foram administrados 400 mg/kg do extrato liofilizado em solução aquosa em um volume de 10 mL/kg aos animais por via oral (MARTINS, LIMA e RAO, 2002; LIU *et al.*, 2001; PAIVA *et al.*, 1998).

Para o grupo controle foi administrado o mesmo volume de água (10 mL/kg). Como controle positivo, o misoprostol foi utilizado por via oral na dose de 100µg/kg.

Trinta minutos depois, foi administrado, via oral, HCl 0,3M em etanol 60% como agente ulcerogênico. Após uma hora, os animais foram anestesiados e mortos com éter. Seus estômagos foram retirados, abertos pela curvatura maior e fixados entre placas de vidro para que as ulcerações fossem avaliadas.

A avaliação das ulcerações foi realizada através de três parâmetros: Índice de Lesão Ulcerativa, Área Total de Lesão e Área Relativa de Lesão.

O Índice de Lesão Ulcerativa foi determinado através da fórmula:

$$ILU = n_1 + 2n_2 + 3n_3$$

onde, ILU = Índice de Lesão Ulcerativa; n_1 = número de úlceras com área inferior a 1 mm²; n_2 = número de úlceras com área superior ou igual a 1 mm² e inferior ou igual a 3 mm²; n_3 = número de úlceras com área superior a 3 mm².

A Área Total de Lesão foi calculada somando-se as áreas de todas as úlceras e foi expressa em mm². Para a medida das áreas foi utilizado o programa Image Pro Plus.

A Área Relativa de Lesão foi calculada através da fórmula:

$$ARL = ATL/AT \times 100$$

onde, ARL = Área Relativa de Lesão expressa em porcentagem; ATL = Área Total de Lesão em mm²; AT = Área Total do estômago em mm².

Análise dos Resultados

Os resultados foram avaliados através de análise de variância, com nível crítico igual ou menor a 0,05 (5%) para rejeição da hipótese de nulidade, seguido de Tukey (SOKAL e ROHLF, 1969). Os dados expressos em porcentagem (Área Relativa de Lesão) foram previamente transformados em arcosseno para posterior análise estatística.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização Macroscópica e Microscópica da Droga Vegetal

Caracterização Macroscópica

A espécie empregada neste estudo apresenta aproximadamente 8 m de altura, com tronco curto de 30 a 40 cm de diâmetro, copa densa e piramidal. O tronco é de cor ferrugem, um pouco tortuoso e descamante (Figura 2A).

Os frutos, fixados nos caules e ramos, são arredondados, apresentam entre 3 a 5 cm de diâmetro e são amarelados quando maduros (Figura 2B).

As folhas são simples, opostas dísticas, inteiras e apresentam 14 a 17 cm de comprimento e 4 a 6 cm de largura. Quanto à forma podem ser lanceoladas a oblongo-lanceoladas, com predominância do formato lanceolado. O ápice é agudo ou cuspidado e a base pode se apresentar obtusa ou aguda, predominando esta última. O bordo é liso (Figura 2C).

A nervura mediana é bem evidente, sendo plana ou sub-imprensa na face adaxial e saliente na face abaxial. As nervuras secundárias dispõem-se em ângulos de cerca de 45°, caracterizando as folhas como peninérvias com a presença de nervura marginal. Segundo a classificação utilizada por HICKEY (1973), a venação é broquidodroma.

Tricomas tectores são observados principalmente nas nervuras e proximidades.

As folhas são cartáceas, verde-escuras e luzidias na face adaxial, e verde-foscas, mais claras, na face abaxial. Pontos translúcidos são observados no limbo.

O pecíolo possui contorno cilíndrico, com uma pequena concavidade na face adaxial, coloração verde-acinzentada a marrom clara, fosco e piloso, apresentando de 1,5 a 2,5 cm de comprimento e 0,15 a 0,2 cm de largura (Figura 2C).

Quando trituradas entre os dedos, as folhas despreendem suave odor aromático característico. Possuem sabor levemente adstringente.

Quando secas, tornam-se friáveis, foscas, planas ou recurvadas nas margens podendo apresentar coloração verde escura, acinzentada ou marrom.

Caracterização Microscópica

Lâmina foliar

A epiderme é uniestratificada. Na face adaxial, as células epidérmicas apresentam-se aproximadamente quadrangulares e, em vista frontal, ligeiramente sinuosas e espessadas (Figuras 3A, 3B, 3C, 4B, 4D e 5A). As células epidérmicas da face abaxial são proporcionalmente menores, arredondadas e, em vista frontal, apresentam parede espessa e ligeiramente sinuosa (Figuras 6A, 6B, 6C e 6D).

A cutícula que recobre as células epidérmicas nas duas faces é espessa e lisa (Figuras 3A, 3B, e 6C). A folha é hipoestomática e em vista frontal podem ser observados estômatos anomocíticos (Figuras 6A e 6D). Ocasionalmente encontram-se os paracíticos.

Cavidades secretoras ocorrem com maior frequência junto à face adaxial (Figuras 3C, 4A e 5A). Na face abaxial as cavidades secretoras ficam mais próximas da superfície foliar (Figura 5B). As células epidérmicas que recobrem as glândulas são dispostas em par com parede comissural ligeiramente sinuosa, o que pode ser observado em vista frontal (Figura 6C).

O mesofilo dorsiventral é formado por uma camada de parênquima paliçádico ocupando cerca de 1/5 da espessura do mesofilo e até 13 camadas de células de parênquima lacunoso, braciformes, dispostas no sentido horizontal, delimitando espaços intercelulares de tamanhos diversos (Figuras 4A e 5C).

Nas células paliçádicas foram detectadas gotículas de óleo empregando-se Sudam III. Idioblastos, arredondados ou ovalados, contendo drusas ou cristais prismáticos de oxalato de cálcio, são encontrados normalmente nesta região (Figuras 4B, 4C e 4D). Principalmente junto à face adaxial observam-se, por vezes, uma seqüência de 2 a 4 idioblastos dispostos perpendicularmente à superfície foliar (Figuras 4B e 4D). Em

tecido dissociado drusas e cristais prismáticos de tamanho variado podem ser observados (Figura 6E)

As drusas e os cristais prismáticos encontrados no parênquima lacunoso são proporcionalmente maiores do que os presentes no parênquima paliçádico.

Substâncias de caráter polifenólico, detectadas com a solução de cloreto férrico, podem ser observadas em algumas células da nervura mediana, em quantidade reduzida comparativamente ao mesofilo. São mais abundantes na face adaxial, principalmente no parênquima paliçádico (Figuras 3D, 7C e 7D).

A lâmina foliar de *Plinia edulis* possui na região mediana um feixe vascular central biclateral reniforme com as extremidades encurvadas, delimitado por uma bainha fibrosa (Figura 7A). Há presença de crescimento secundário na região. O floema, especialmente o externo, apresenta grande número de cristais prismáticos e raras drusas (Figuras 8C e 8D).

Em secção transversal, a nervura mediana apresenta contorno plano-convexo ou concavidade discreta na face adaxial. A região medular apresenta células parenquimáticas delimitando meatos. Drusas de tamanhos variados são freqüentes (Figuras 7A e 7D).

As células epidérmicas, na face adaxial da nervura mediana, alongam-se no sentido anticlinal; na face abaxial este alongamento não é perceptível (Figuras 8A e 8B).

Os tricomas tectores cônicos unicelulares lignificados ocorrem nas duas faces e são mais freqüentes e mais longos na nervura mediana. Os tricomas tectores cônicos foram observados em maior número na face abaxial e são recobertos por uma cutícula ornamentada (Figuras 8A e 8B). Desprendem-se com facilidade e, desta forma, podem ser observadas inúmeras bases de tricomas e alguns tricomas tectores lignificados ainda presentes em vista frontal (Figuras 6A e 6B).

Cavidades secretoras arredondadas, quando presentes na região da nervura mediana, ocorrem geralmente junto à face abaxial (Figura 7B).

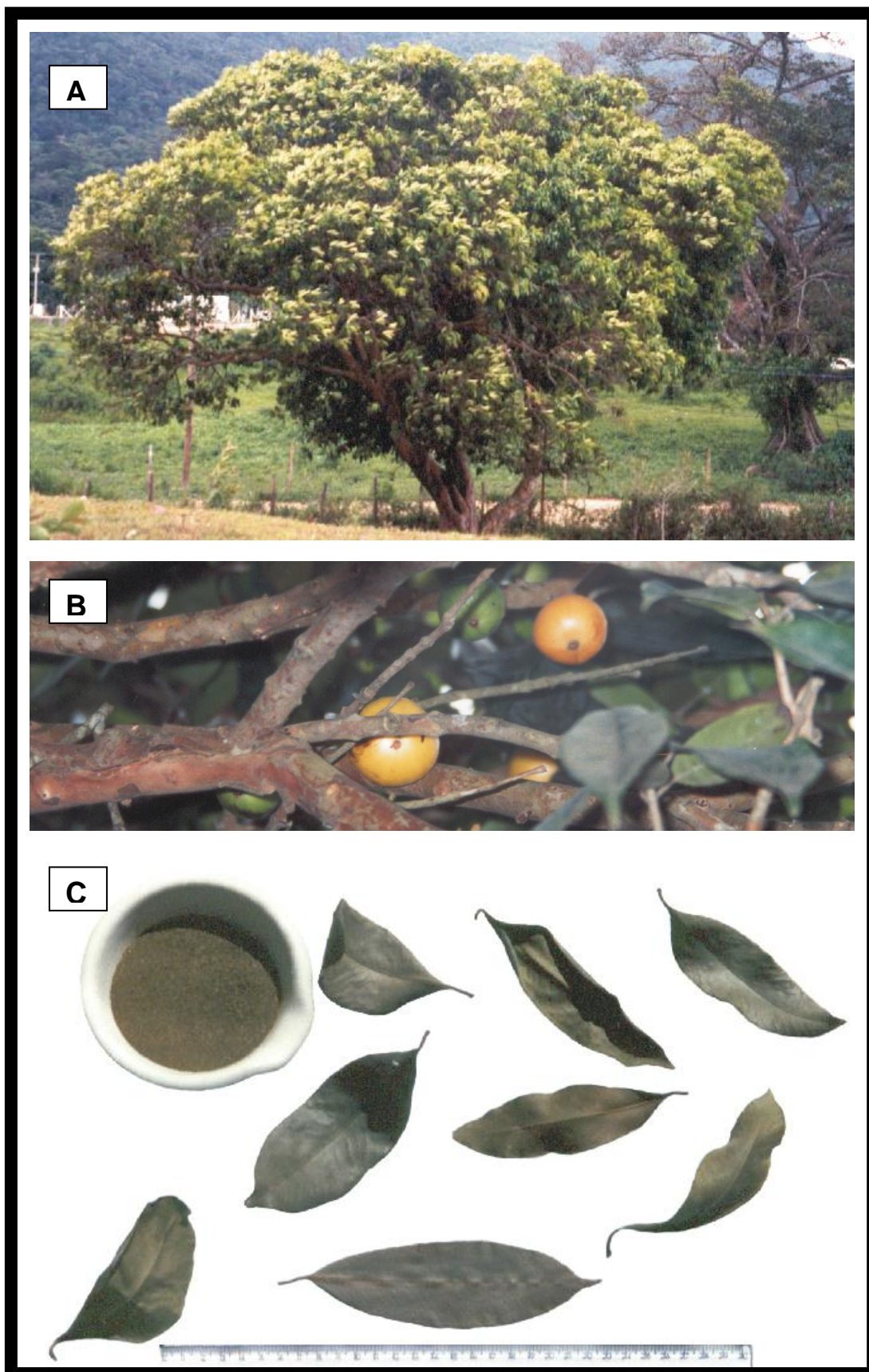


Figura 2. *Plinia edulis*; A: Hábito; B: Ramo frutificado; C: Droga vegetal.

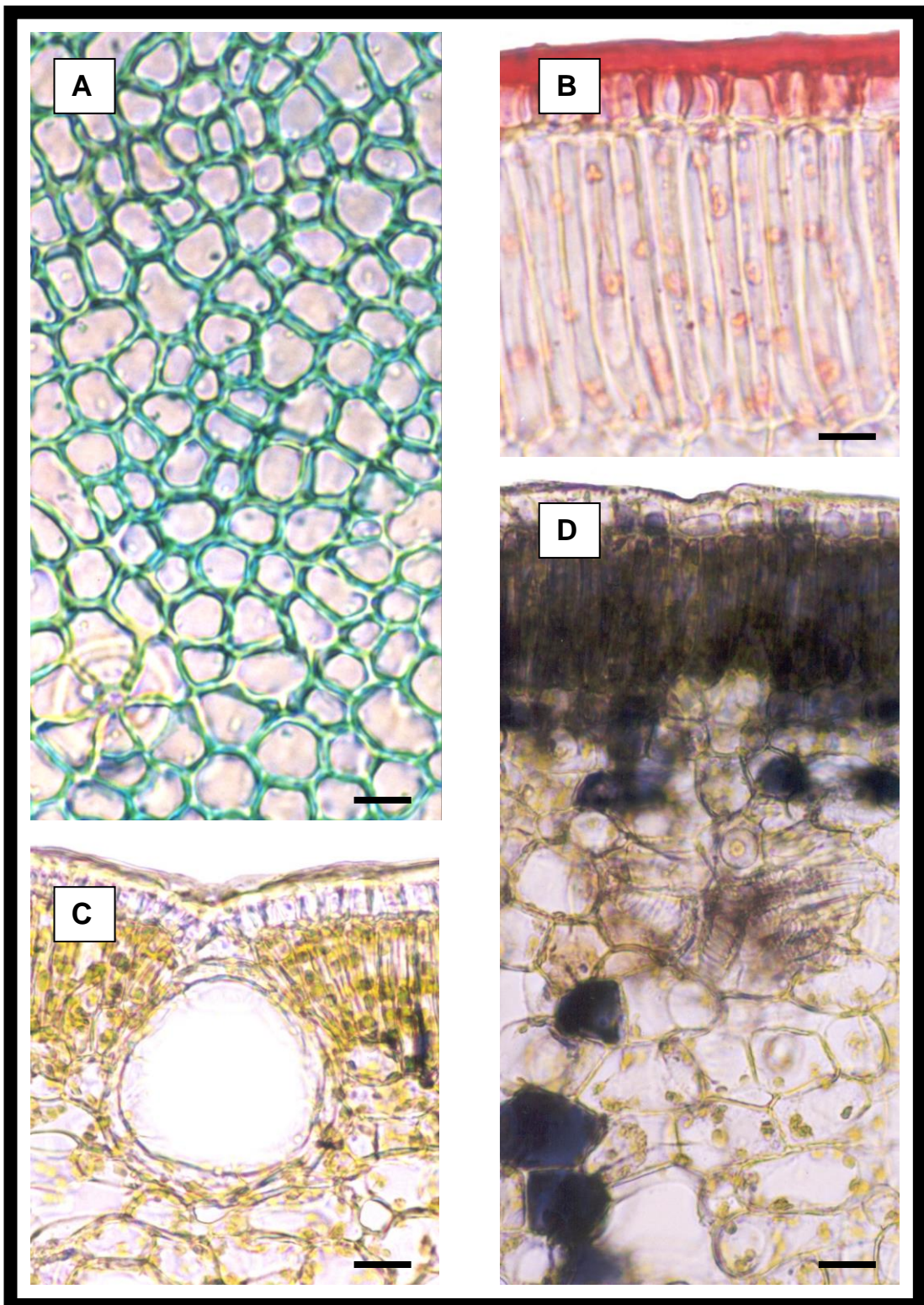


Figura 3. Vista frontal da face adaxial e cortes transversais do mesofilo de *Plinia edulis*; A: Vista frontal da face adaxial; B: Corte transversal evidenciando a cutícula com Sudam III; C: Corte transversal sem coloração evidenciando cavidade secretora; D: Polifenóis evidenciados com cloreto férrico; A, B: escala = 10 μm ; C, D: escala = 20 μm .

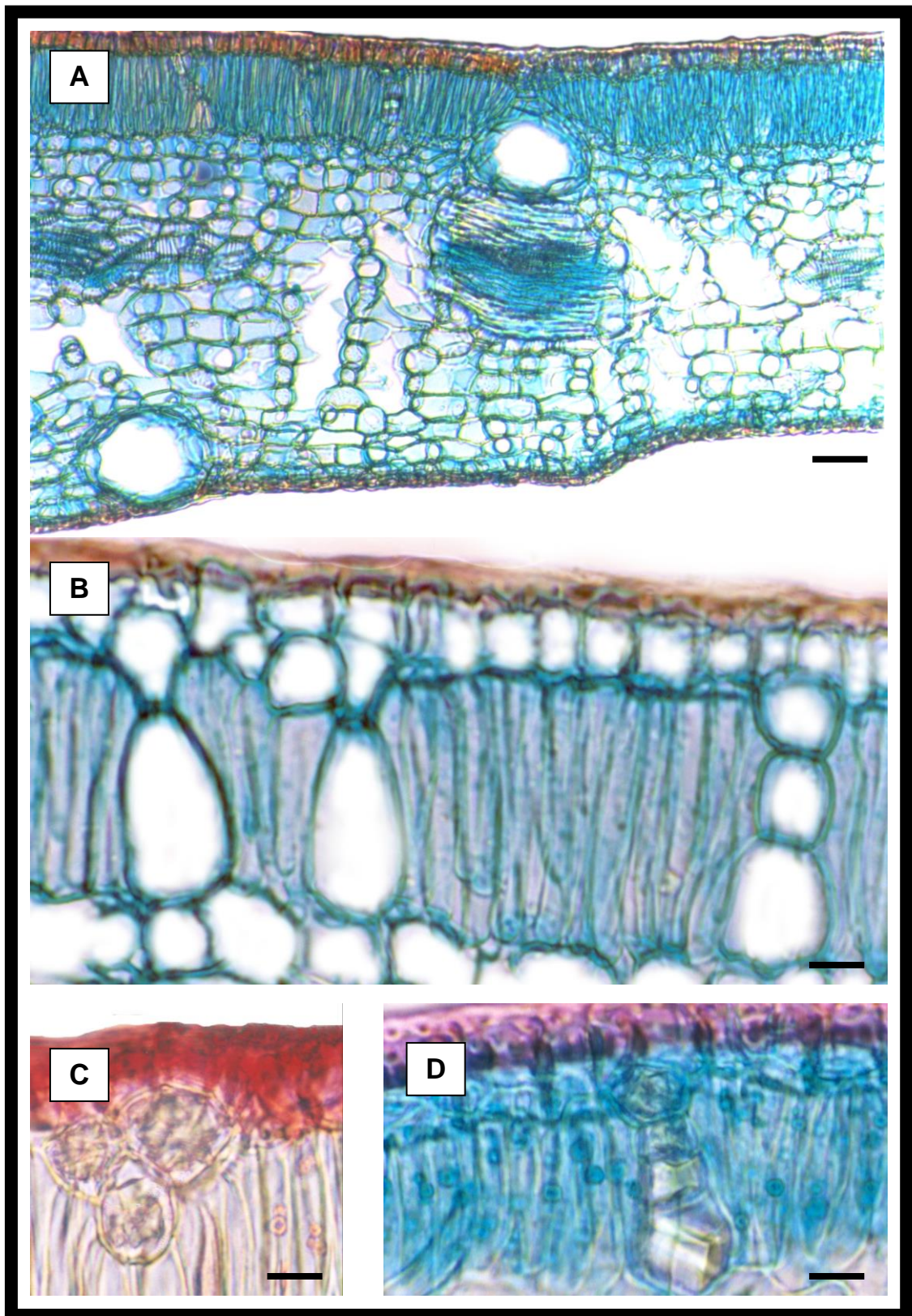


Figura 4. Cortes transversais do mesofilo de *Plinia edulis*; A: Cavidades secretoras; B: Idioblastos; C: Drusas; D: Cristais prismáticos e drusa; A: escala = 40 μm ; B, C, D: escala = 10 μm .

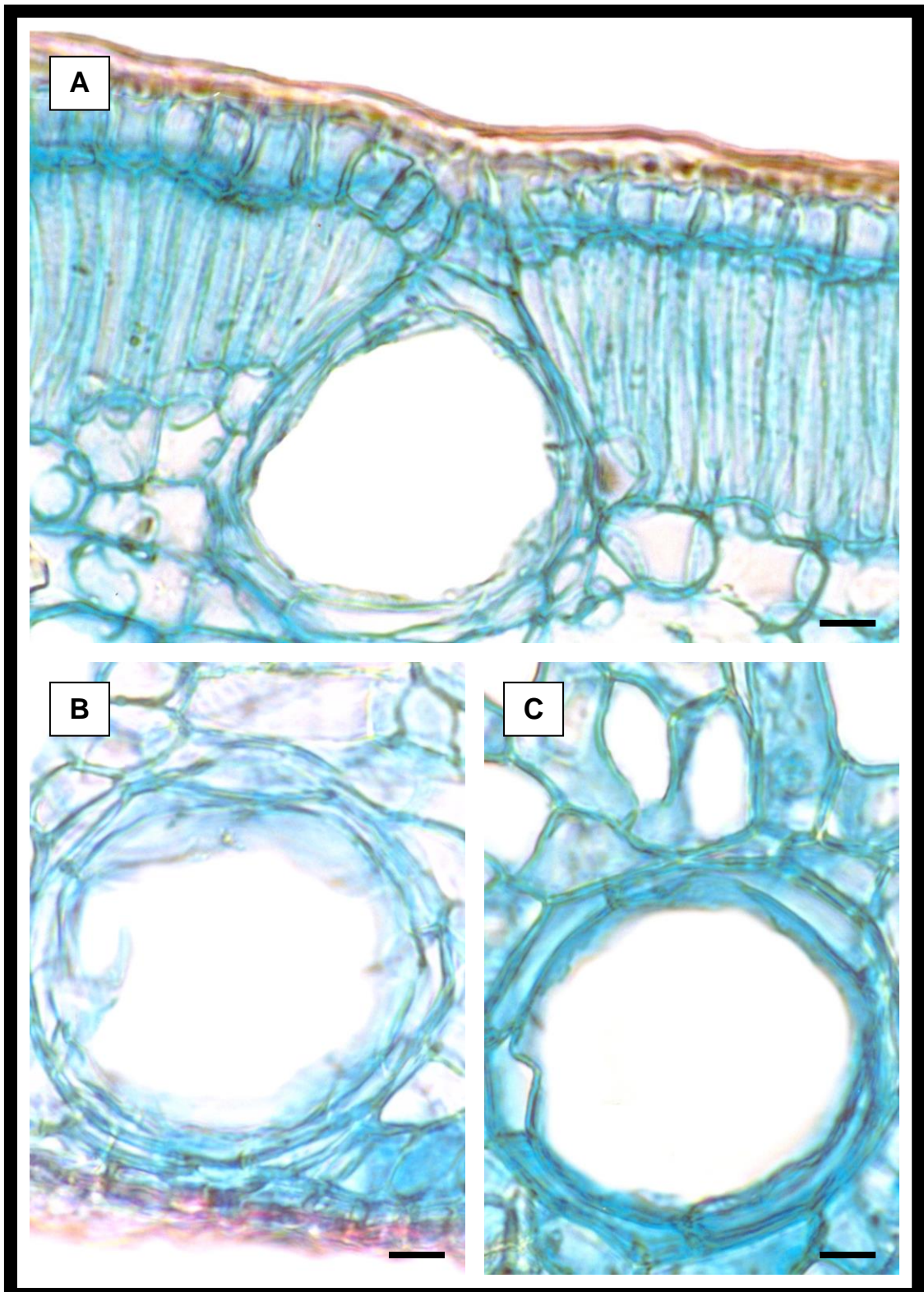


Figura 5. Cavidades secretoras na lâmina foliar de *Plinia edulis*; A: Corte transversal da face adaxial; B: Corte transversal da face abaxial; C: Vista frontal; escala = 10 μm .

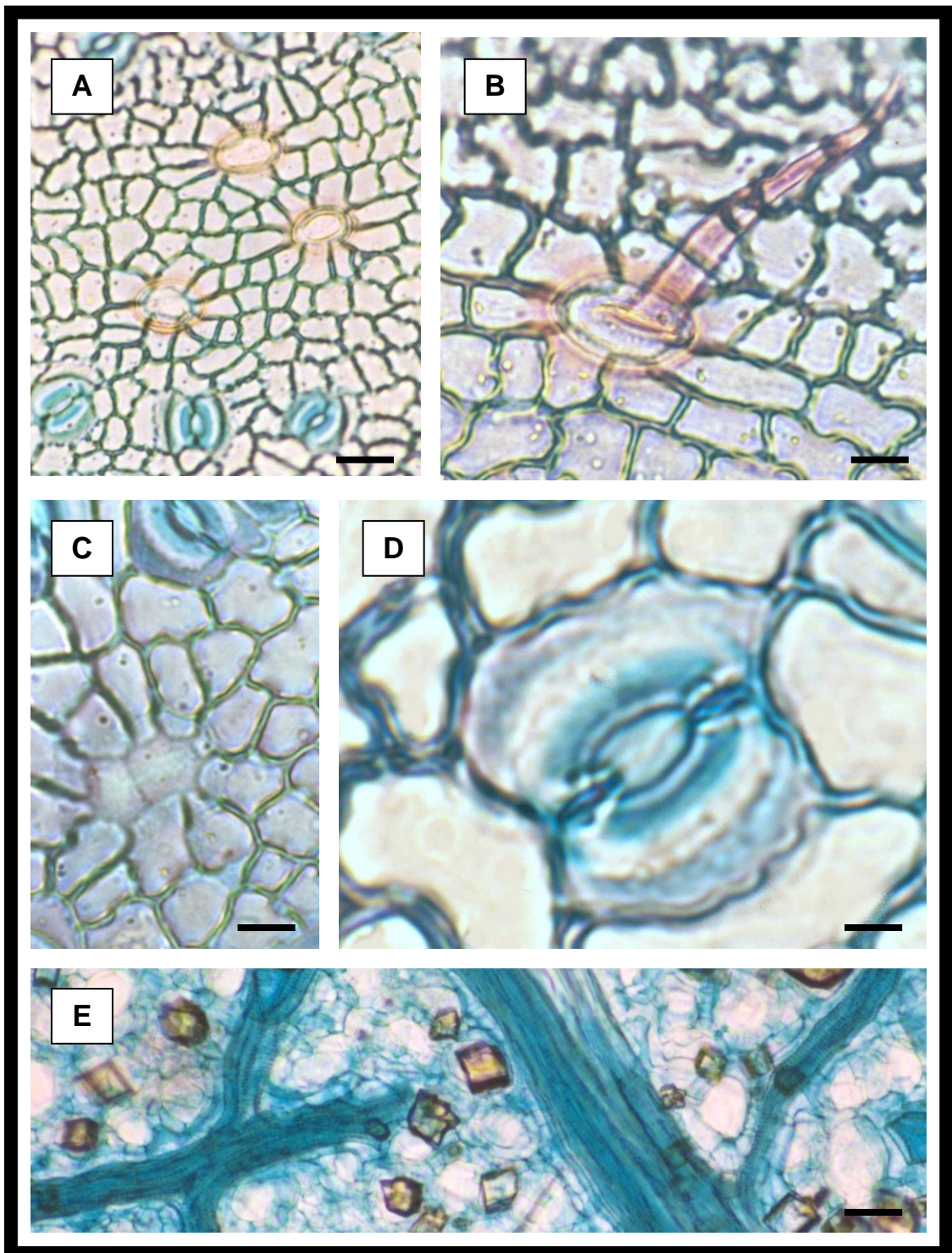


Figura 6. Dissociação da lâmina foliar de *Plinia edulis*; A: Bases de tricomas na face abaxial; B: Tricoma na face abaxial; C: Células sobre a cavidade secretora na face abaxial; D: Detalhe de estômato anomocítico na face abaxial; E: inclusões de oxalato de cálcio; A: escala = 20 μm ; B, C: escala = 10 μm ; D: escala = 4 μm ; E: escala = 40 μm .

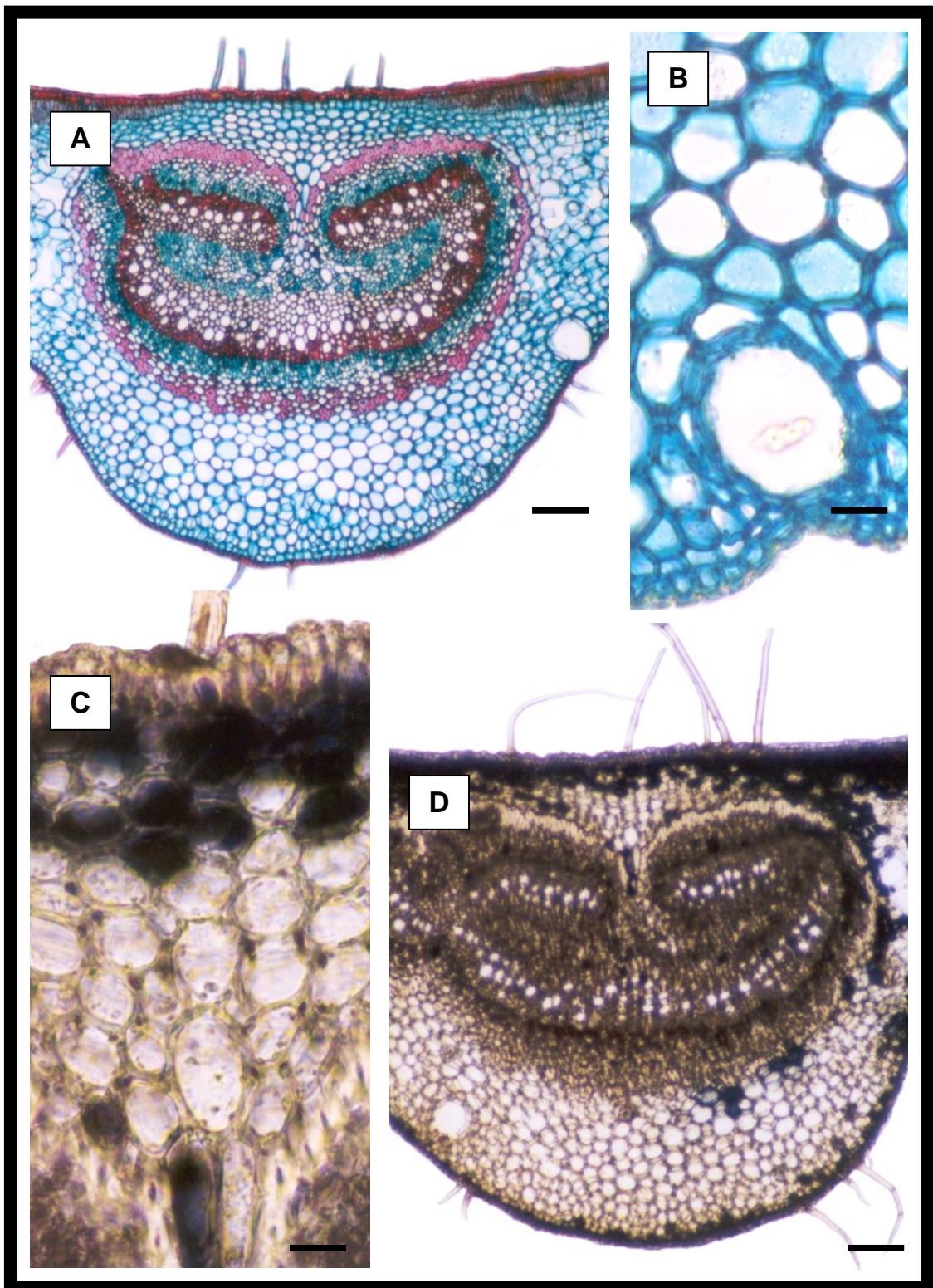


Figura 7. Cortes transversais da nervura mediana de *Plinia edulis*; A: Feixe vascular central bicolateral; B: Detalhe da cavidade secretora; C: Detalhe dos polifenóis na face adaxial; D: Polifenóis evidentes com cloreto férrico; A, D: escala = 100 µm; B, C: escala = 10 µm.

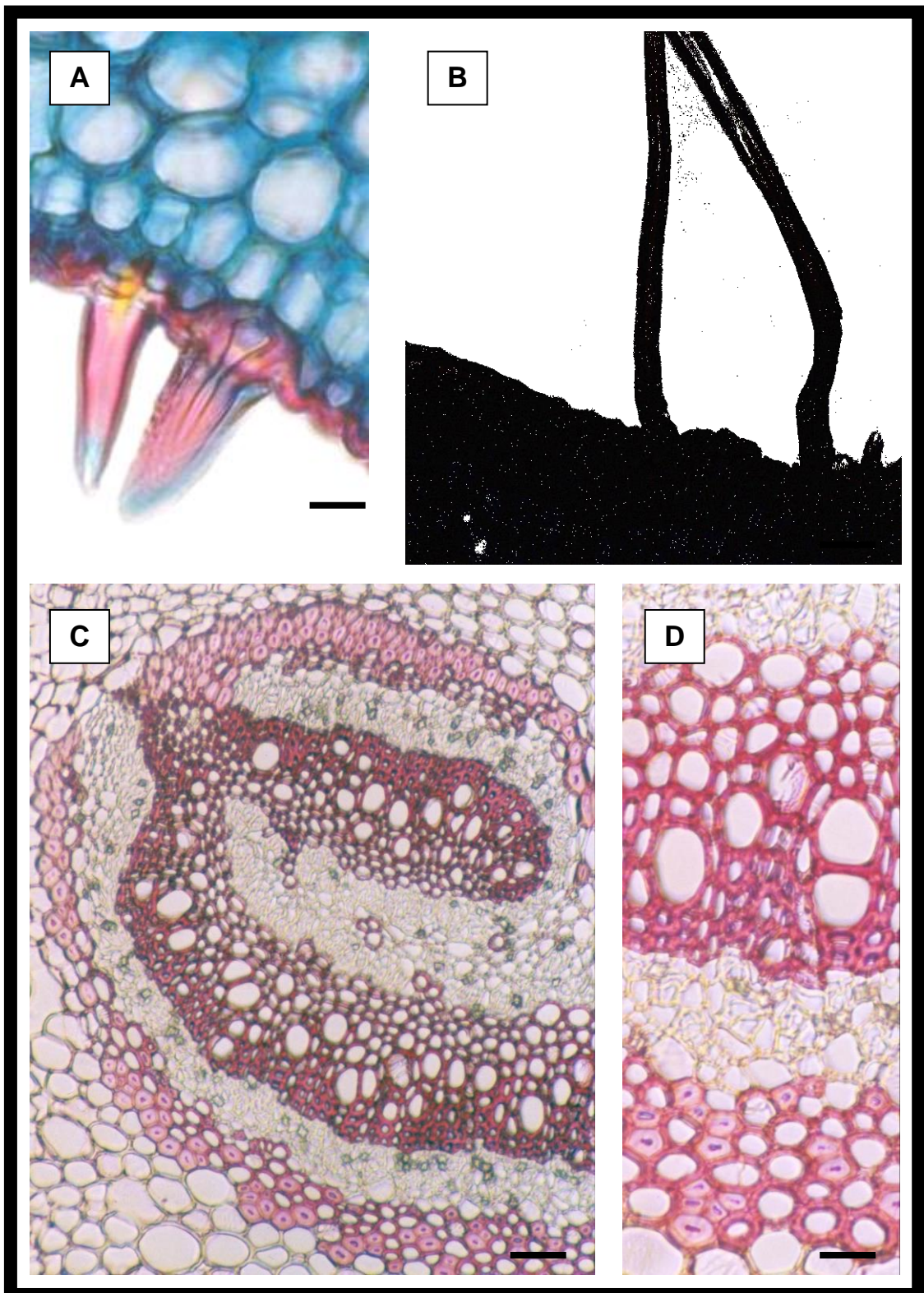


Figura 8. Cortes transversais da nervura mediana de *Plinia edulis*; A: Tricomas na face abaxial; B: Tricomas na face adaxial; C: Feixe vascular; D: Detalhe do cordão fibroso e inclusões de oxalato de cálcio; A: escala = 10 μm ; B, D: escala = 20 μm ; C: escala = 40 μm .

Pecíolo

As células epidérmicas apresentam-se alongadas no sentido anticlinal e recobertas por espessa camada cuticular (Figuras 9C e 9D). Tricomas tectores unicelulares lignificados são encontrados em grande número (Figura 9B).

Cavidades secretoras ocorrem com frequência, próximo à epiderme (Figura 9D). Drusas de tamanhos variados e cristais prismáticos são observados na região cortical. Estes últimos em menor número (Figura 9C).

O feixe vascular bicolateral apresenta formato reniforme com as extremidades encurvadas. Cristais prismáticos em grande número são observados na região floemática (Figura 9A). Após a dissociação do tecido, pode-se observar que os cristais prismáticos estão dispostos de maneira seqüencial, formando séries cristalíferas (Figura 9E).

Contornando o sistema vascular observam-se células de parede celulósica bastante espessa com a presença de algumas células com parede lignificada que são mais freqüentes na face adaxial do pecíolo (Figura 9A).

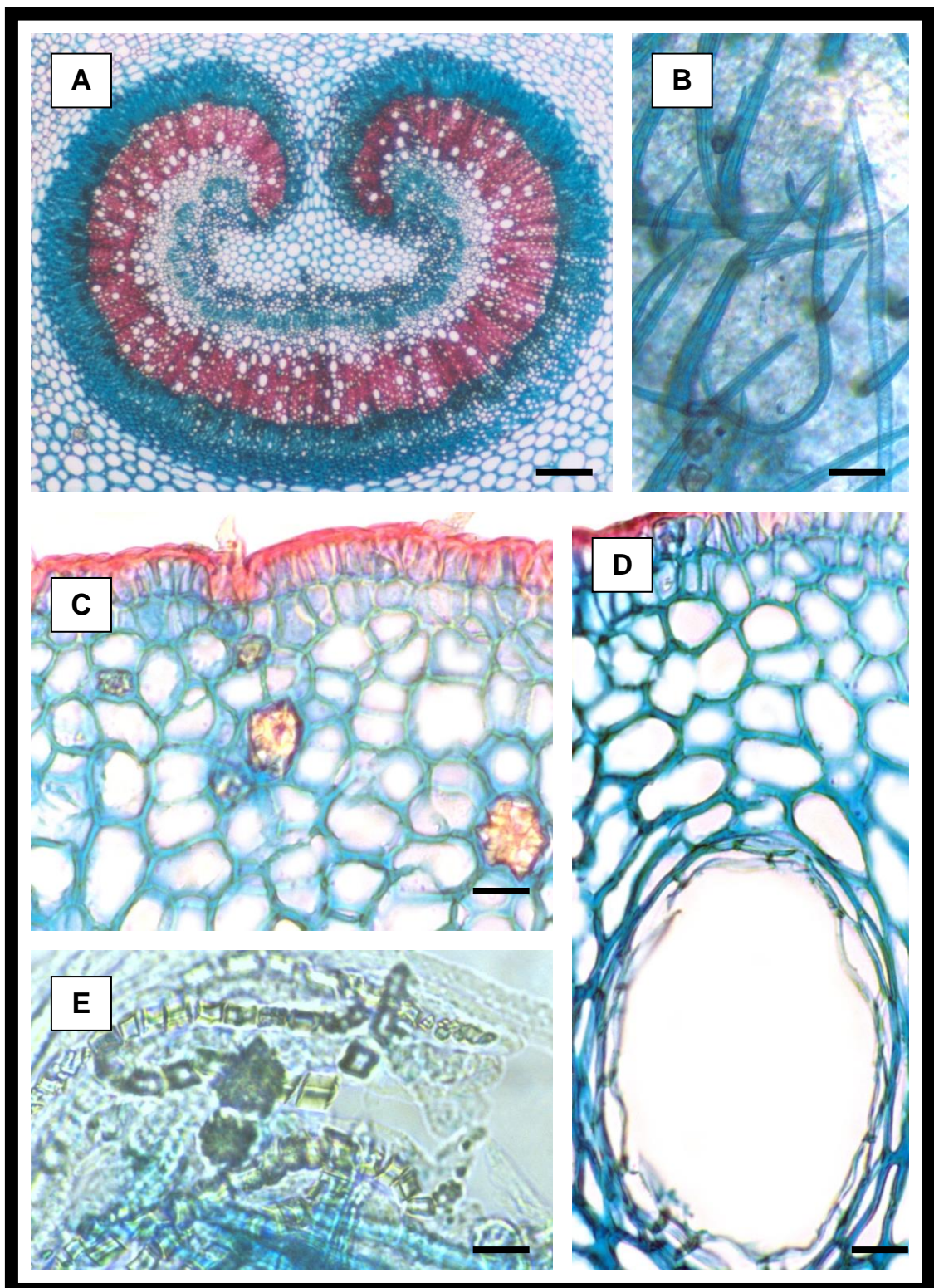


Figura 9. Pecíolo de *Plinia edulis*; A: Sistema vascular; B: Tricomas em tecido dissociado; C: Drusas; D: Cavidade secretora; E: inclusões de oxalato de cálcio em tecido dissociado; A: escala = 100 μm ; B: escala = 40 μm ; C, D, E: escala = 20 μm .

4.2. Óleo Volátil

Rendimento

O rendimento do óleo volátil, calculado a partir de uma média de 27 extrações, foi de 0,02% (v/m).

Identificação dos Componentes Químicos

Foram detectados 17 componentes do óleo volátil, dentre os quais foram identificados 15 componentes. Os majoritários foram o epi- α -cadinol (21,72%), o α -cadinol (20,22%) e o trans-cariofileno (14,19%). Os componentes identificados, assim como os respectivos índices de retenção e porcentagens estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2. Porcentagem dos Componentes Químicos do Óleo Volátil Obtido a partir de Folhas Frescas de *Plinia edulis*

Sustância	Índice de Retenção	Porcentagem (%)
1,8 cineol	1030	1,80
trans-cariofileno	1419	14,19
α -humuleno	1453	4,53
allo-aromadendreno	1461	1,98
α -selineno	1493	2,77
α -muroleno	1499	2,07
γ -cadineno	1514	1,78
δ -cadineno	1523	4,95
espatulenol	1576	1,22
globulol	1583	9,05
khusimona	1593	1,82
1-epi-cubenol	1628	2,60
epi- α -cadinol	1641	21,72
α -murulol	1646	4,03
α -cadinol	1654	20,22

4.3. Rendimento do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)

Foram obtidos 975 g de extrato liofilizado (EHEL), o que resulta em rendimento de 34% (m/m).

4.4. Triagem Fitoquímica da Droga Vegetal e do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)

Os resultados da triagem fitoquímica da droga vegetal estão expressos na Tabela 3. Na droga vegetal foram detectados flavonóides, óleo volátil, saponinas e taninos. No extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) foram detectados compostos esteroidais, flavonóides, saponinas e taninos.

Tabela 3. Triagem Fitoquímica da Droga Vegetal e do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHLE) de *Plinia edulis*

Grupos de Substâncias	Resultados	
	Droga Vegetal	EHLE
Alcalóides		
Bertrand	-	-
Bouchardat	-	-
Dragendorff	-	-
Mayer	-	-
Antraderivados		
Borntraeger	-	-
Compostos Esteroidais		
Liebermann-Burchard	-	+
Flavonóides		
Cloreto de alumínio	+	+
Shinoda	+	+
Hidróxidos alcalinos	+	+
Óleo volátil		
Organoléptico (odor)	+	-
Sudam III	+	-
Saponinas		
Espuma	+	+
Hemólise	-	-
Taninos		
Avaliação organoléptica (sabor)	+	+
Alcalóides	+	+
Acetato de chumbo	+	+
Acetato de cobre	+	+
Sais de ferro	+	+
Gelatina	+	+

Legenda: (+) = Reação positiva; (-) = Reação negativa.

4.5. Índice de Espuma

O Índice de Espuma foi de 400 para a droga vegetal e de 800 para o extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL).

4.6. Doseamento de Taninos na Droga Vegetal e no Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)

O teor de taninos foi de 8,57% para a droga vegetal e de 31,35% para o extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL).

4.7. Doseamento de Flavonóides na Droga Vegetal e no Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL)

O teor de flavonóides, calculado em porcentagem de quercetina, foi de 0,81% para a droga vegetal e de 0,99% para o extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL).

4.8. Perfil Cromatográfico

As massas e os rendimentos (m/m) das amostras obtidas através do fracionamento e hidrólise do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) estão expressos na Tabela 4.

Tabela 4. Massas e Rendimentos das Frações Obtidas a partir do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis*.

Frações	Massa (g)	Rendimento (%)
Hexano	1,37	2,7
Diclorometano	1,81	3,6
Acetato de Etila	1,18	2,4
Metanol	15,18	30,4
Hidrolisada	1,60	32,0

Os sistemas cromatográficos que permitiram melhor separação e determinação do perfil das frações obtidas a partir do EHEL foram o sistema 1 (fase estacionária: sílica gel GF; fase móvel: clorofórmio/ acetona/ ácido fórmico 75:16,5:8,5), sistema 7 (fase estacionária: sílica gel GF, fase móvel I:

acetato de etila/ butanona/ ácido fórmico/ água 75:5:10:10; fase móvel II: acetato de etila/ ácido acético 95:5), sistema 8 (fase estacionária: sílica gel GF, fase móvel I: clorofórmio/ acetona/ ácido fórmico 55:25:10; fase móvel II: clorofórmio/ acetona/ ácido fórmico 75:16,5:8,5) e sistema 9 (fase estacionária: sílica gel GF, fase móvel I: clorofórmio/ acetona/ ácido fórmico 55:25:10; fase móvel II: clorofórmio/ etanol/ ácido acético 98:2:2).

Os resultados das cromatografias são apresentados nas figuras 10 a 13.

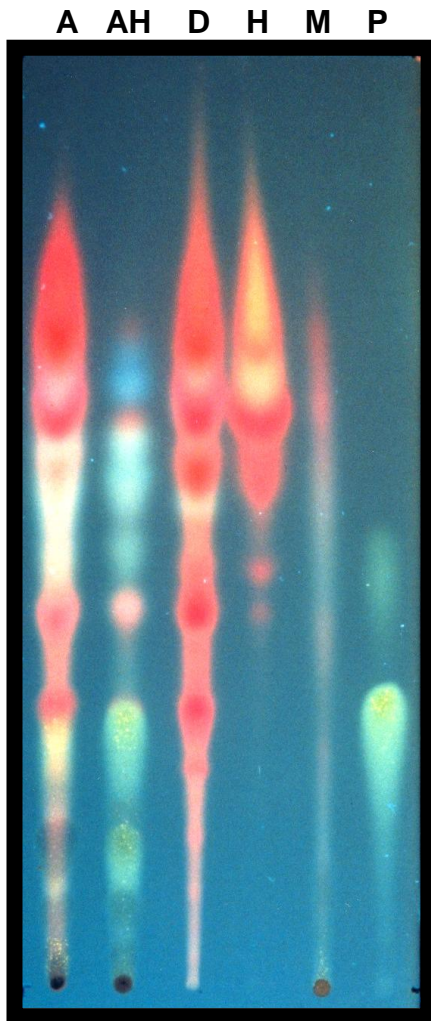


Figura 10. Perfil cromatográfico das frações obtidas a partir do EHEL de *Plinia edulis* usando o Sistema 1. Revelador: NP/PEG. Visualização: UV 360 nm. A = fração de acetato de etila; AH = fração hidrolisada; D = fração de diclorometano; H = fração hexânica; M = fração metanólica; P = padrão de quercetina 0,5% (m/v) em etanol 70% (v/v).

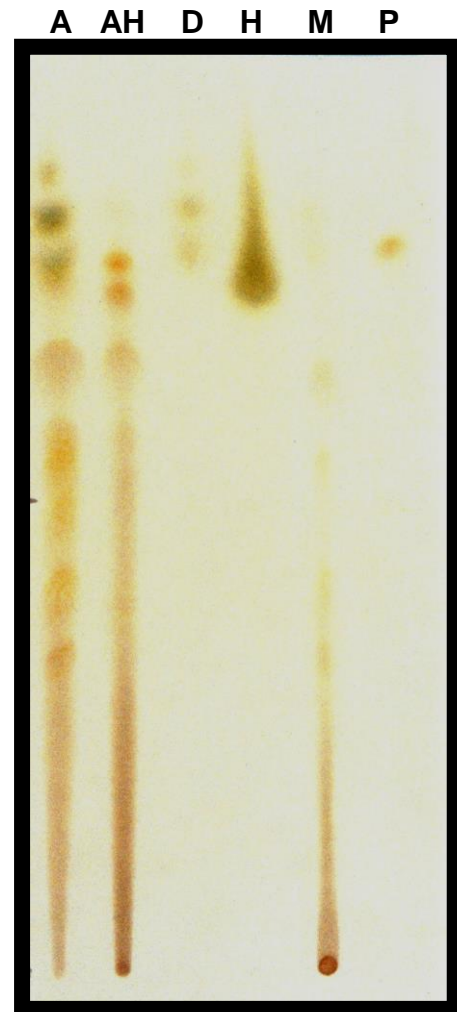


Figura 11. Perfil cromatográfico das frações obtidas a partir do EHEL de *Plinia edulis* usando o Sistema 7. Revelador: NP/PEG. Visualização: visível. A = fração de acetato de etila; AH = fração hidrolisada; D = fração de diclorometano; H = fração hexânica; M = fração metanólica; P = padrão de quercetina 0,5% (m/v) em etanol 70% (v/v).

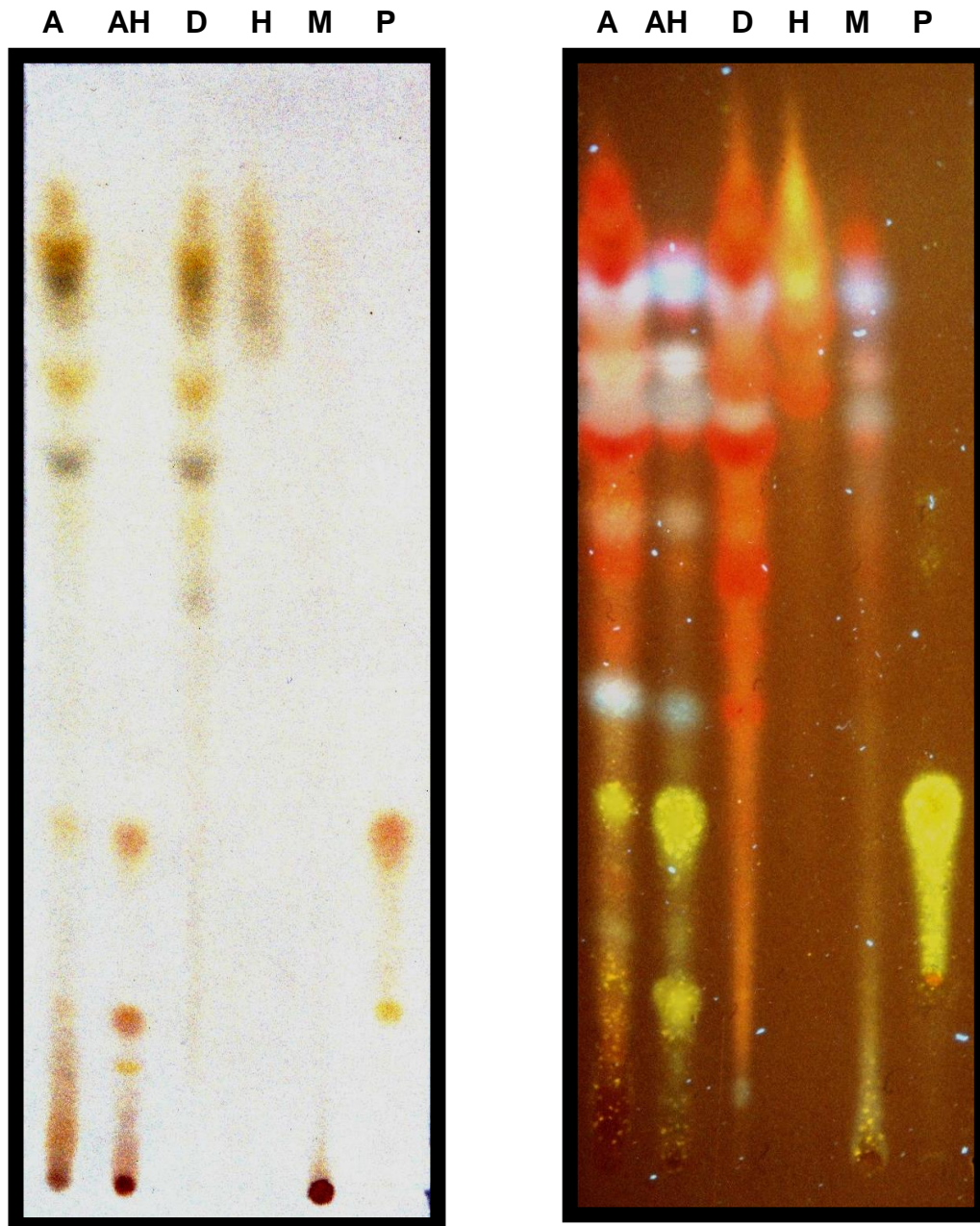


Figura 12. Perfil cromatográfico das frações obtidas a partir do EHEL de *Plinia edulis* usando o Sistema 8. Revelador: NP/PEG. A = fração de acetato de etila; AH = fração hidrolisada; D = fração de diclorometano; H = fração hexânica; M = fração metanólica; P = padrão de quercetina 0,5% (m/v) em etanol 70% (v/v). Visualização: visível e UV 360 nm.

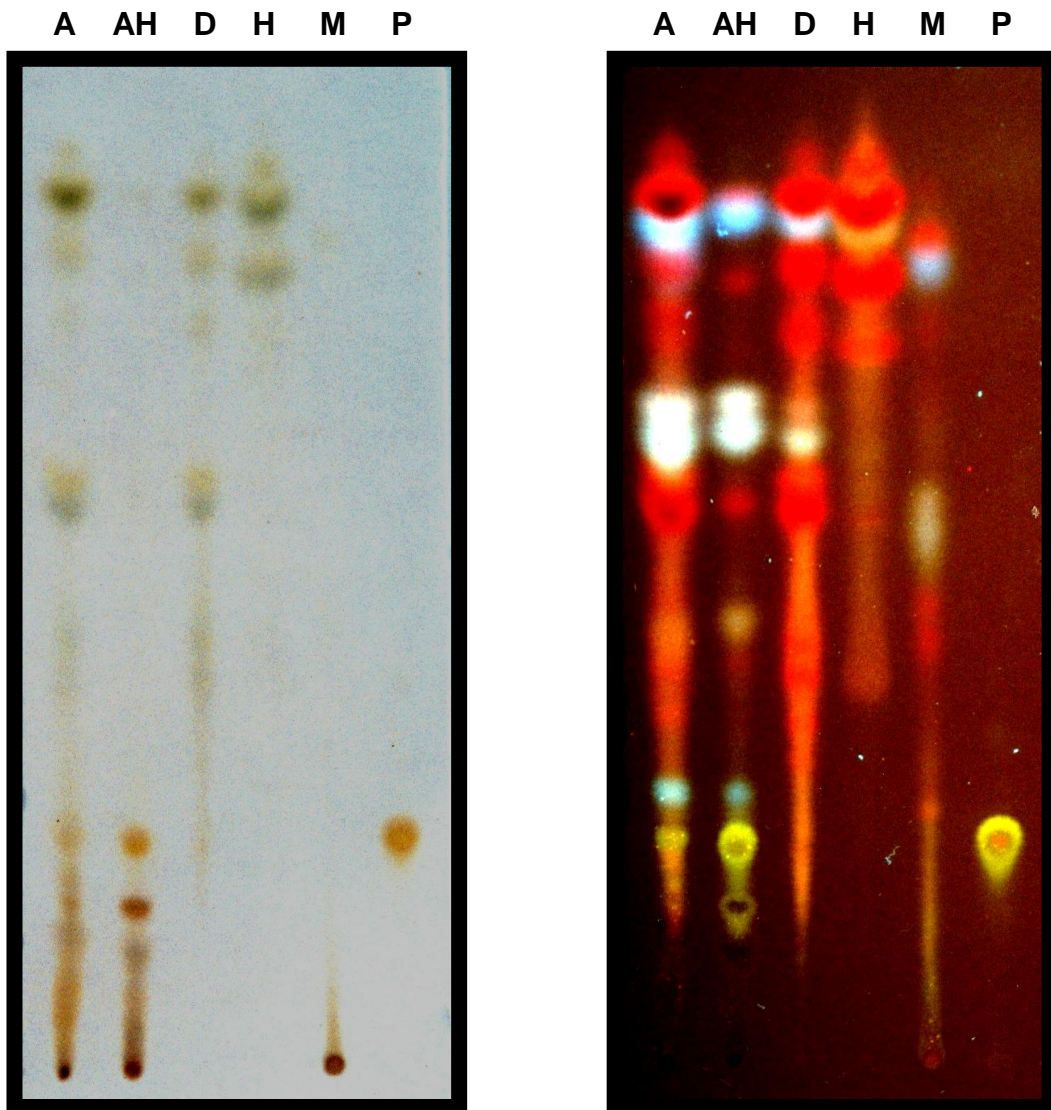


Figura 13. Perfil cromatográfico das frações obtidas a partir do EHEL de *Plinia edulis* usando o Sistema 9. Revelador: NP/PEG. A = fração de acetato de etila; AH = fração hidrolisada; D = fração de diclorometano; H = fração hexânica; M = fração metanólica; P = padrão de quercetina 0,5% (m/v) em etanol 70% (v/v). Visualização: visível e UV 360 nm.

4.9. Toxicidade Aguda

Após a administração de 5.000 mg do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) por quilograma de massa dos camundongos (animais tratados) e de água (animais controle) não houve salivação, tremores, convulsões, piloereção, coma, ou alteração significativa do comportamento dos animais tratados quando comparados ao controle, embora nas 24 horas iniciais os machos tratados tenham se apresentado mais letárgicos do que os machos controle. Após 24 horas o comportamento do grupo de animais tratados foi muito semelhante ao dos animais do grupo controle.

O consumo de água e ração do grupo controle e tratado, assim como a variação da massa dos animais são apresentados nas Figuras 14 a 19.

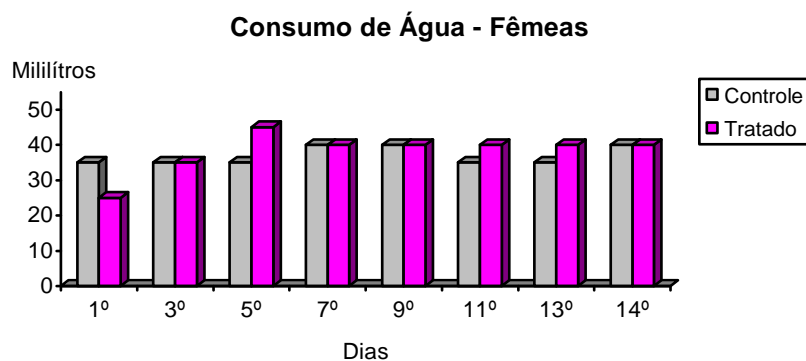


Figura 14. Consumo de água de camundongos fêmeas controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis* no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias.

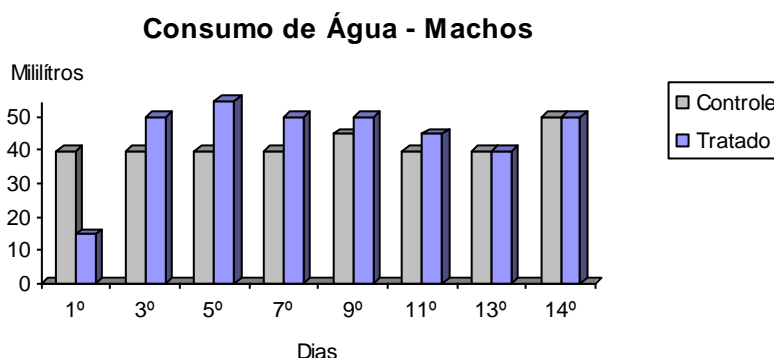


Figura 15. Consumo de água de camundongos machos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis* no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias.

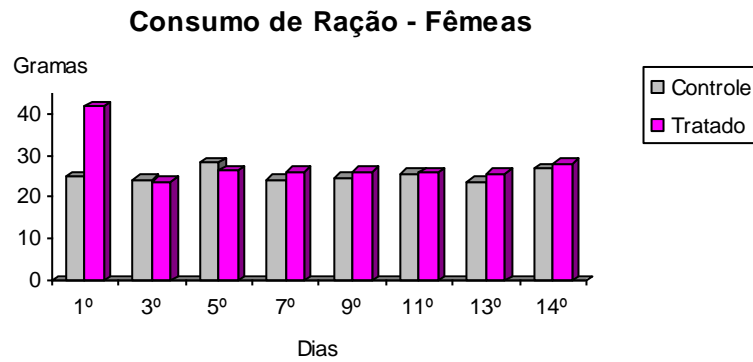


Figura 16. Consumo de ração de camundongos fêmeas controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis* no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias.

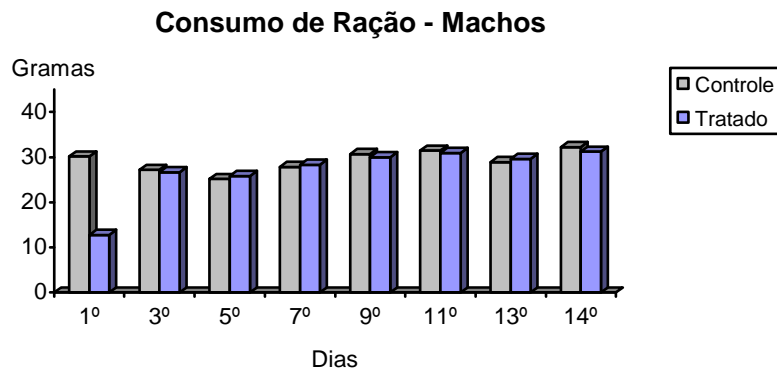


Figura 17. Consumo de ração de camundongos machos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis* no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias.

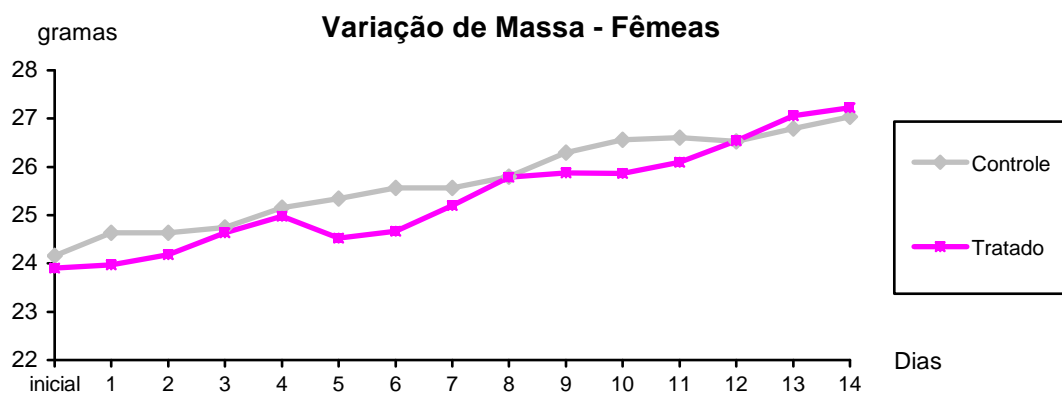


Figura 18. Variação da massa de camundongos fêmeas controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis* no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias.

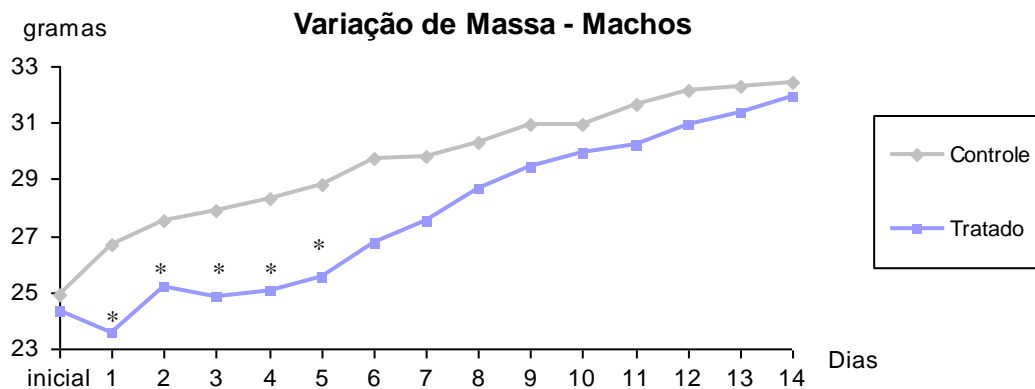


Figura 19. Variação da massa de camundongos machos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHÉL) de *Plinia edulis* no ensaio de toxicidade aguda durante 14 dias. $P < 0,05$ = resultado significativo (*) em relação ao controle.

A massa média dos machos tratados manteve-se inferior a dos machos controles durante todo o ensaio. Em análise estatística, a massa dos machos tratados foi significativamente menor em relação ao controle do 1º ao 5º dia depois do início do ensaio.

Não houve óbito dos animais durante os 14 dias de observação. Após este período, os animais foram mortos e necropsiados. Não foram observadas alterações macroscópicas nos órgãos dos animais controles ou tratados. Os órgãos (coração, rins, pulmões e fígado) foram pesados e foram calculadas as massas médias relativas dos mesmos. Os resultados estão expressos nas figuras 20, 21 e 22.

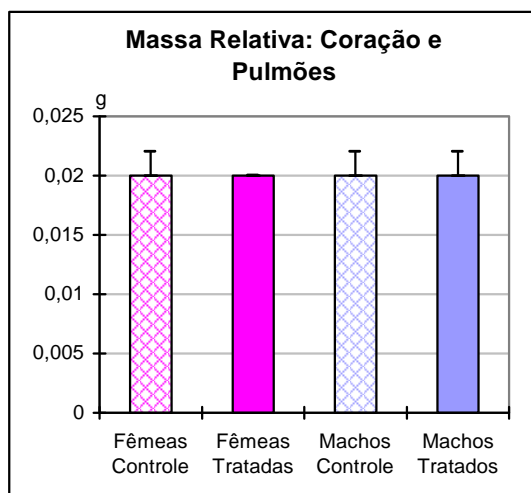


Figura 20. Massa relativa do coração e pulmões de camundongos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis* após 14 dias do ensaio de toxicidade aguda. Os valores são expressos como a média + erro padrão (n = 5). $P > 0,05$ = resultado não significativo em relação ao controle.

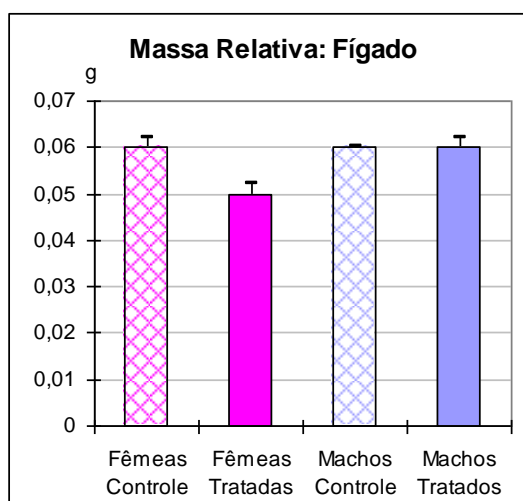


Figura 21. Massa relativa do fígado de camundongos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado de *Plinia edulis* após 14 dias do ensaio de toxicidade aguda. Os valores são expressos como a média + erro padrão (n = 5). $P > 0,05$ = resultado não significativo em relação ao controle.

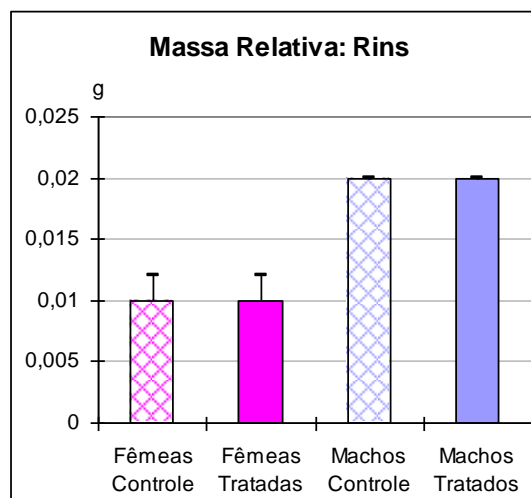


Figura 22. Massa relativa dos rins de camundongos controle e tratado com 5.000 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis* após 14 dias do ensaio de toxicidade aguda. Os valores são expressos como a média + erro padrão (n = 5). $P > 0,05$ = resultado não significativo em relação ao controle.

Em relação à massa relativa dos órgãos, a diferença entre a massa do coração e pulmão, fígado e rins de animais tratados e controles não foi estatisticamente significativa (Figuras 20, 21 e 22).

4.10. Atividade Antimicrobiana

O extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis* não apresentou atividade antibacteriana frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em uma concentração de até 1.000 $\mu\text{g/mL}$ e não foi capaz de inibir o crescimento de *Aspergillus niger* e *Candida albicans* em uma concentração de até 2.000 $\mu\text{g/mL}$ no ensaio para determinação da concentração mínima inibitória pelo método de diluição em meio líquido (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5. Avaliação da Atividade Antibacteriana do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis* frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Amostra	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Cloranfenicol 5 µg/mL	3-	3-
EHEL 1.000 µg/mL	3+	3+
Controle negativo	3+	3+
Controle de contaminação do EHEL	3-	3-

Legenda:

(3+) = 3 tubos com crescimento microbiano

(3-) = 3 tubos sem crescimento microbiano

Tabela 6. Avaliação da Atividade Antifúngica do Extrato Hidroetanólico Liofilizado (EHEL) de *Plinia edulis* frente a *Aspergillus niger* e *Candida albicans*.

Amostra	<i>A. niger</i>	<i>C. albicans</i>
Anfotericina B 1 µg/mL	3-	3-
EHEL 2000 µg/mL	3+	3+
EHEL 1000 µg/mL	3+	3+
Controle negativo	3+	3+
Controle de contaminação do EHEL	3-	3-

Legenda:

(3+) = 3 tubos com crescimento microbiano

(3-) = 3 tubos sem crescimento microbiano

4.11. Atividade Antioxidante

A concentração do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) capaz de promover a inibição de 50% da autooxidação de homogenato de cérebro de ratos ($Q_{1/2}$ ou CI_{50}) é de 0,21 µg/mL.

As figuras 23 e 24 mostram a atividade antioxidante e o gráfico de dispersão para obtenção do $Q_{1/2}$ com a equação da reta.

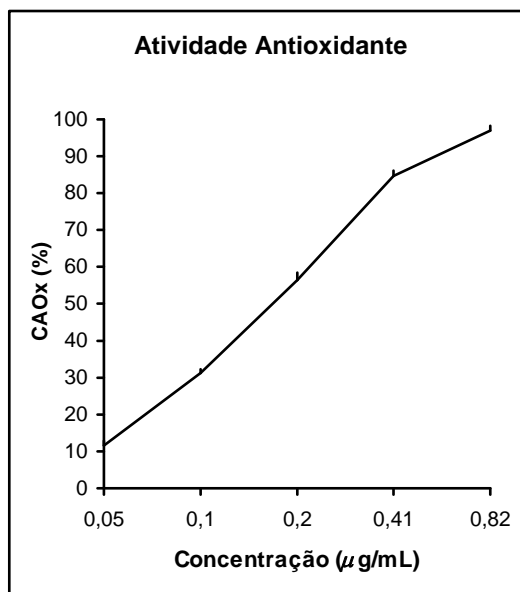


Figura 23. Curva representando a capacidade antioxidante (%) de diferentes concentrações do extrato liofilizado de *Plinia edulis* ($\mu\text{g/mL}$). Os valores representam a média + erro padrão ($n = 4$).

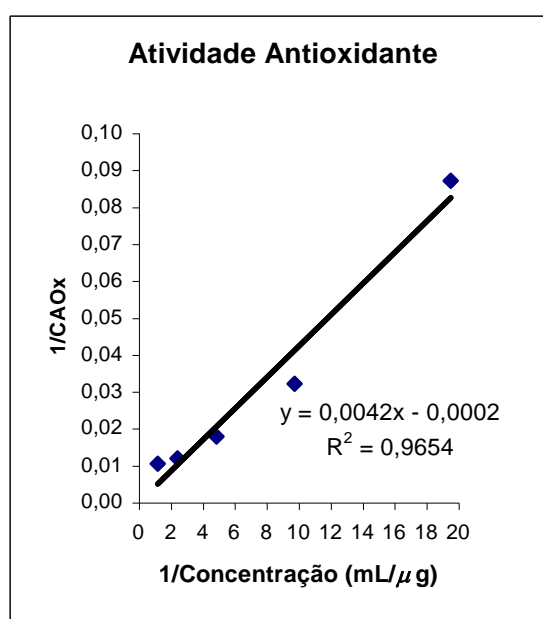


Figura 24. Retas de linearidade da atividade antioxidante para determinação do $Q_{1/2}$ do extrato liofilizado de *Plinia edulis*.

4.12. Atividade Antiúlcera Aguda

As Figuras 25, 26 e 27 apresentam os estômagos dos animais controle, tratados com misoprostol e tratados com o extrato liofilizado de *Plinia edulis* respectivamente.



Figura 25. Estômagos do grupo de ratos controles que receberam água por via oral no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol.



Figura 26. Estômagos do grupo de ratos tratados com misoprostol na dose de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol.



Figura 27. Estômagos do grupo de ratos tratados com uma dose de 400 mg/kg de extrato liofilizado de *Plinia edulis* no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol.

Na avaliação da atividade antiúlcera aguda, em todos os parâmetros avaliados (Índice de Lesão Ulcerativa, Área Total de Lesão e Área Relativa de Lesão), o extrato hidroetanólico liofilizado de *P. edulis* (400 mg/Kg) apresentou atividade protetora extremamente significativa nos testes estatísticos realizados em relação ao grupo controle (Figuras 28, 29 e 30).

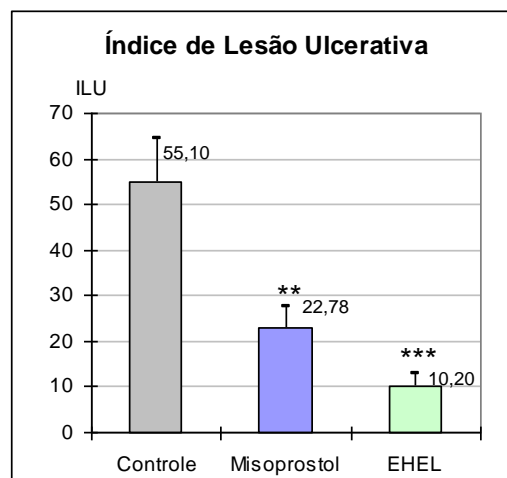


Figura 28. Avaliação do Índice de Lesão Ulcerativa no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol após a administração via oral de água (controle), 100 μ g/kg de misoprostol e 400 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado de *Plinia edulis* (EHEL). Os valores são expressos como a média + erro padrão (n = 10). P < 0,01 = resultado muito significativo (**) em relação ao controle; P < 0,001 = resultado extremamente significativo (***) em relação ao controle.

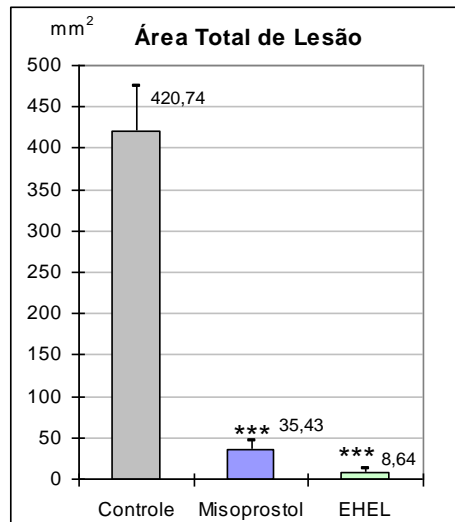


Figura 29. Avaliação da Área Total de Lesão no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol após a administração via oral de água (controle), 100 μ g/kg de misoprostol e 400 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado de *Plinia edulis* (EHDL). Os valores são expressos como a média + erro padrão (n = 10). P < 0,001 = resultado extremamente significativo (***) em relação ao controle.

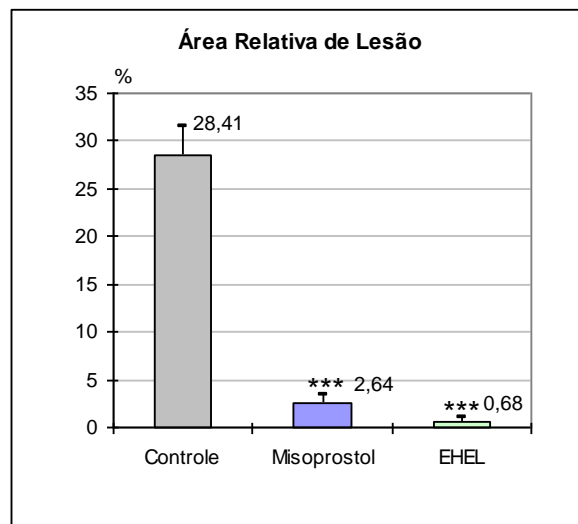


Figura 30. Avaliação da Área Relativa de Lesão no ensaio antiúlcera agudo com modelo de indução por ácido clorídrico e etanol após a administração via oral de água (controle), 100 μ g/kg de misoprostol e 400 mg/kg de extrato hidroetanólico liofilizado de *Plinia edulis* (EHDL). Os valores são expressos como a média + erro padrão (n = 10). P < 0,001 = resultado extremamente significativo (***) em relação ao controle.

5. DISCUSSÃO

O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo e contribui com cerca de 120.000 espécies das 350.000 a 550.000 existentes na flora mundial (DI STASI e HIRUMA-LIMA, 2002; GUERRA e NODARI, 2002).

Aproximadamente 2.000 espécies com ocorrência no Brasil são empregadas na medicina popular, mas apenas 10% destas foram estudadas do ponto de vista químico-farmacológico (DI STASI e HIRUMA-LIMA, 2002).

Embora o número de estudos na área tenha aumentado, estima-se que apenas 15 a 17% de todas as plantas do mundo foram avaliadas quanto ao seu potencial medicinal (GUERRA e NODARI, 2002).

Acredita-se que entre as 250.000 espécies de vegetais superiores, menos de 1% tenham sido estudadas farmacologicamente (GROVER, YADAV e VATS, 2002).

As plantas constituem uma importante fonte para a obtenção de substâncias biologicamente ativas e de moléculas protótipo para a síntese de um grande número de fármacos (GUERRA e NODARI, 2002).

Muitos dos fármacos usados atualmente no tratamento de doenças advêm direta ou indiretamente de plantas, como é o caso da aspirina, antimaláricos, antitumorais, digitálicos, etc. (GROVER, YADAV e VATS, 2002).

Estima-se que 80% da população brasileira encontram nos produtos de origem natural, especialmente nas plantas medicinais, a única fonte terapêutica, já que os altos preços tornam proibitivo o acesso de grande parte da população aos medicamentos industrializados (GUERRA e NODARI, 2002; DI STASI, 1996).

Apesar do uso popular difundido de plantas medicinais, nem sempre a planta utilizada corresponde àquela indicada terapeuticamente. Isto porque nomes populares variam conforme a região e um mesmo nome popular pode designar espécies vegetais distintas. Um exemplo é erva-cidreira, que pode ser usada para *Aloysia citrodora* Palau (Verbenaceae), *Lippia alba* L. (Verbenaceae), *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) e

Cymbopogus citratus (DC.) Stapf (Poaceae) (MENTZ e BORDIGNON, 2002).

A correta identificação da droga vegetal usada no preparo de extratos é, desta forma, imprescindível para a obtenção de um produto fitoterápico de qualidade. Qualquer droga empregada no preparo de medicamentos deve ser rigorosamente analisada em relação à sua identidade, sua pureza e seus princípios ativos (OLIVEIRA, AKISUE e AKISUE, 1998).

A identificação de uma droga vegetal sempre encerra a idéia de comparação. Assim, uma droga é identificada através da comparação com uma droga vegetal padrão, com descrições detalhadas existentes em farmacopéias ou em literatura especializada (OLIVEIRA, AKISUE e AKISUE, 1998).

Desta forma, as folhas de *Plinia edulis* foram caracterizadas farmacobotanicamente para facilitar sua identificação quando transformadas em droga vegetal.

Descrições morfo-anatômicas são raras para o gênero *Plinia*. Em um estudo envolvendo *Plinia glomerata* (Berg) Amsh (JORGE, FERRO e OLIVEIRA, 1996), pode-se observar algumas semelhanças e diferenças entre as duas espécies.

A morfologia foliar de *P. edulis* apresenta características comuns à família, tais como folhas simples, opostas, providas de pontos translúcidos. Aspectos que se destacam são a presença de idioblastos, em número de dois, três ou quatro, dispostos perpendicularmente à face adaxial contendo drusas ou cristais prismáticos. Disposição semelhante encontra-se descrita apenas em folhas de *Eugenia grandis* (KHATIJA, CUTLER e MOORE, 1992).

A disposição horizontal das células do parênquima lacunoso é outra característica diferencial da espécie, já que não foi observada em outras descrições de mirtáceas (MARKMAN, 2002; SILVA, 2001; JORGE, AGUIAR e SILVA, 2000; JORGE, FERRO e OLIVEIRA, 1996; JORGE, MARKMAN e SILVA, 1994; JORGE, 1992).

P. edulis e *P. glomerata* apresentam mesofilo dorsiventral com uma camada de células de parênquima paliçádico. No entanto, enquanto as folhas de *P. glomerata* apresentam colênquima na região da nervura mediana (JORGE, FERRO e OLIVEIRA, 1996), nas folhas de *P. edulis* este tecido não é observado (Figura 7A).

As folhas de *P. edulis* e *P. glomerata* (JORGE, FERRO e OLIVEIRA, 1996) são hipoestomáticas. Na primeira, os estômatos são anomocíticos, podendo receber a denominação de ciclocíticos, devido à dificuldade em se diferenciar as células subsidiárias das células-guarda e, embora sejam pouco comuns, já foram relatados para o gênero *Eugenia* (KHATIJAH, CUTLER e MOORE, 1992; VAN WIK, ROBBERTSE e KOK, 1982).

Os tricomas são tectores cônicos unicelulares nas duas espécies, contudo, em *P. edulis*, os tricomas estão presentes em toda a superfície foliar, enquanto em *P. glomerata*, na face adaxial, eles estão restritos à região da nervura mediana (JORGE, FERRO e OLIVEIRA, 1996).

As cavidades secretoras, freqüentes nas folhas de *P. edulis*, dispõem-se especialmente junto à face adaxial do limbo foliar.

Em diversas espécies de Myrtaceae, incluindo *Plinia*, as células epidérmicas que recobrem a glândula dispõem-se em par, com parede comissural levemente sinuosa. A parede comissural deste par de células pode variar entre as espécies, podendo ser quase reta, com pequeno “dente” na porção mediana, ou ainda em formato de “S” (JORGE, FERRO e OLIVEIRA, 1996; JORGE, MARKMAN e SILVA, 1994; METCALFE e CHALK, 1950).

A presença de substâncias polifenólicas, especialmente nas células parenquimáticas próximas à face adaxial, pode estar relacionada à sua capacidade em proteger os vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e visível, promovendo ainda proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias (ZUANAZZI, 2002).

O pecíolo com contorno aproximadamente cilíndrico e concavidade pouco acentuada na face adaxial, feixe vascular bicolateral

reniforme com as extremidades encurvadas, contornado por poucas células com parede celular lignificada principalmente na face adaxial, assemelha-se à estrutura de pecíolo descrita para *Eugenia leptostemon* (KHATIJAH *et al.*, 1992) e para outras espécies de mirtáceas (JORGE, AGUIAR e SILVA, 2000; JORGE, FERRO e OLIVEIRA, 1996; JORGE, MARKMAN e SILVA, 1994; JORGE, 1992; METCALFE e CHALK, 1979).

Sob a avaliação organoléptica, as folhas apresentam várias características comuns à família, como odor aromático pela presença de cavidades oleíferas, assim como sabor adstringente devido aos compostos tânicos.

Embora a detecção do óleo volátil tenha sido positiva e que, em cortes histológicos, as glândulas com material lipofílico tenham sido evidenciadas, o rendimento (v/m) do óleo volátil foi relativamente baixo quando comparado ao rendimento obtido em folhas de outras espécies de mirtáceas.

O teor obtido de folhas frescas de *Campomanesia xanthocarpa* coletadas ao final da frutificação foi de 0,11% (v/m) (MARKMAN, 2002), e o teor obtido para *Myrciaria glomerata* (SILVA, 2001), nas mesmas condições de coleta foi de 0,17% (v/m). Nestes casos os teores obtidos foram até 10 vezes maiores do que o obtido para *P. edulis*.

Em análise do óleo volátil de três diferentes espécies pertencentes ao gênero *Plinia* presentes na flora cubana, os principais componentes encontrados foram o óxido de cariofileno (62,1%) em *Plinia dermatodes* Urb., o α -pineno (19,9%), o *p*-cimeno (11,4%), o α -terpineol (10,9%) e o α -canfoneal (9,5%) em *Plinia rubrinervis* Urb. e o epi- α -murulol (22,1%) em *Plinia rupestris* Ekm. & Urb. (BELLO *et al.*, 2001).

A comparação entre os óleos voláteis extraídos de outras espécies do mesmo gênero mostra que o óleo volátil de *P. edulis* possui constituição diferente das demais espécies e, embora apresente o α -murulol (4,03%) como em *P. rubrinervis*, este não é majoritário em sua constituição.

A triagem fitoquímica da droga vegetal forneceu indicativo da presença de flavonóides, taninos, óleo volátil e saponinas. A triagem do

extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) forneceu indicativo de flavonóides, taninos, saponinas e compostos esteroidais.

Adicionalmente, os polifenóis foram observados em cortes histológicos tratados com solução de cloreto férrico, e o óleo volátil em cavidades secretoras coradas com Sudam III.

O resultado negativo para compostos esteroidais na droga vegetal pode ser atribuído à baixa concentração destas substâncias na droga, enquanto no extrato (EHEL) a concentração é maior, o que provocou reação positiva.

O extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) não apresentou reação positiva para óleo volátil. Este resultado pode ser devido ao processo extrativo, que envolveu etapas de maceração com etanol, percolação, evaporação sob aquecimento e liofilização, o que pode ter contribuído para a volatilização do óleo.

Os taninos presentes na droga vegetal e no extrato (EHEL) foram quantificados e os teores foram respectivamente de 8,57% e de 31,35%. Estes valores são relativamente altos, comparando-se aos teores encontrados em outras espécies da família. As folhas frescas de *Psidium guajava*, espécie conhecida por suas propriedades tânicas, apresentam teor de taninos em torno de 10% (ALMEIDA *et al.*, 1995) e a concentração de taninos na droga vegetal e no extrato liofilizado de *Campomanesia xanthocarpa* (2,86% na droga vegetal e 8,49% no extrato liofilizado) foi muito inferior quando comparada à *P. edulis* (MARKMAN, 2002).

O método empregado para a quantificação de flavonóides totais foi preconizado pela FARMACOPÉIA BRASILEIRA, quarta edição (BRASIL, 2003). Este método é empregado para a quantificação de flavonóides totais na droga vegetal constituída de caules alados, dessecados e fragmentados de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja).

Para *P. edulis*, o teor de flavonóides expresso em quercetina foi de 0,81% para a droga vegetal e de 0,99% para o extrato (EHEL). Para droga vegetal constituída de folhas secas de *Psidium guajava* L.

(Myrtaceae), o teor de flavonóides calculados como quercetina, não deve ser inferior a 1,0% (BRASIL, 2003).

Na obtenção das frações para determinação do perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL), optou-se pelo fracionamento em aparelho de Soxhlet. Este método foi escolhido após a comparação com frações obtidas a frio. As frações obtidas por extração em Soxhlet não só mantiveram o perfil cromatográfico como apresentaram manchas mais evidentes em relação às frações preparadas a frio.

Foram empregadas dezenas de sistemas cromatográficos, variando-se as fases fixas e eluentes na análise destas frações. Apenas os sistemas empregando cromato-placas de sílica gel GF e misturas de solventes, tais como clorofórmio, acetona e ácido fórmico (Sistema 1) e desenvolvimento em duas etapas com misturas de acetato de etila, butanona, ácido fórmico e água na primeira etapa e acetato de etila e ácido acético na segunda etapa (Sistema 7), clorofórmio, acetona e ácido fórmico na primeira e segunda etapas (Sistema 8) e clorofórmio, acetona e ácido fórmico na primeira etapa e clorofórmio, etanol e ácido acético na segunda etapa (Sistema 9) apresentaram melhor separação dos componentes das frações.

Sistemas empregando celulose ou poliamida e desenvolvimento ascendente em cunhas (STAHL, 1969) não apresentaram resultados satisfatórios.

Após inúmeras tentativas sem sucesso de utilização de sistemas com desenvolvimento ascendente contínuo, foram empregados sistemas com desenvolvimento em 2 etapas, procurando-se combinar fases móveis de caráter polar com outras menos polares na tentativa de otimizar o processo cromatográfico.

A hidrólise do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) foi realizada com o intuito de permitir melhor separação e visualização das geninas. Nas cromatografias realizadas, a fração hidrolisada, em diferentes sistemas, apresentou uma mancha com coloração e R_f coincidentes à quercetina (padrão) (Figuras 10 a 13). A fração com acetato de etila também

apresentou mancha coincidente à da quercetina em pelo menos dois sistemas cromatográficos (Figuras 12 e 13).

O uso de drogas vegetais é considerado por grande parte da população como inofensivo. Não há porque considerar uma planta medicinal inócua, se do reino vegetal são extraídas substâncias altamente tóxicas, como a estricnina, a digitoxina e os curares. As plantas medicinais usadas como medicamentos são xenobióticos, produtos estranhos ao organismo humano, devendo ser consideradas potencialmente tóxicas até prova em contrário (LAPA *et al.*, 2002).

Assim sendo, procedeu-se à avaliação da toxicidade do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *P. edulis* através do ensaio de toxicidade aguda na dose de 5.000 mg/kg em camundongos, por via oral. Nenhum animal morreu durante o ensaio e, desta forma, o extrato (EHEL) pode ser considerado pouco tóxico, segundo BRITO (1994). Este resultado é coerente com as classes de substâncias detectadas na triagem fitoquímica (óleo volátil, taninos, flavonóides e saponinas). As saponinas presentes na droga vegetal não provocaram hemólise em sangue bovino e a triagem não indicou a presença de classes de substâncias potencialmente tóxicas, como alcalóides e glicosídeos cardiotônicos.

A massa dos machos controles foi maior do que a dos machos tratados durante todo o experimento. Do primeiro ao quinto dia depois do início do ensaio, a massa dos machos tratados foi significativamente menor do que a dos machos controles (Figura 19). Essa diferença pode ter sido causada por uma diminuição no consumo de ração ocorrida nos 3 primeiros dias de ensaio (Figura 17).

A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *P. edulis* foi realizada através da determinação da concentração mínima inibitória por diluição em meio líquido. A escolha deste método foi feita para evitar o inconveniente da não difusão do extrato no ágar, no ensaio de medida do halo de inibição em meio sólido.

A subcultura foi realizada para avaliar se a turvação dos meios devia-se ao crescimento microbiano ou à precipitação de proteínas provocada pelo conteúdo tânico do extrato (EHEL).

Em um estudo envolvendo 16 espécies de mirtáceas para avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos voláteis, apenas 6 espécies apresentaram fraca inibição do crescimento de *Candida albicans*. Nenhuma das 16 amostras de óleos voláteis foi capaz de inibir totalmente esta levedura (LIMBERGER *et al.*, 1998).

No mesmo estudo, apenas 2 amostras apresentaram atividade contra *Escherichia coli*, com halos de inibição de 7 a 11 mm para o óleo extraído de folhas de *Paramyrciaria delicatula* e de 11 a 16 mm para o óleo de *Marlierea eugeniopsoides*. No entanto, *Staphylococcus aureus* parece ser mais suscetível à ação dos óleos, já que entre as 16 espécies analisadas, apenas o óleo obtido de *Eugenia uruguayensis* não foi capaz de inibir o crescimento do microrganismo (LIMBERGER *et al.*, 1998).

Os extratos metanólico, hidroetanólico 50%, aquoso e diclorometânico de folhas de *Myrcianthes cissplatensis* (Myrtaceae) também não foram capazes de inibir o crescimento de *C. albicans* ou *Aspergillus niger*. Apenas o extrato aquoso foi capaz de inibir o crescimento de *S. aureus* (PENNA *et al.*, 2001).

Já em estudo envolvendo o extrato hidroetanólico obtido das folhas de *Eugenia uniflora* (Myrtaceae), a concentração mínima inibitória (CMI) para *C. albicans* foi maior do que 1.000 µg/mL, mas frente à *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, as CMIs foram promissoras (31,2 µg/mL, 125 µg/mL e 31,2 µg/mL, respectivamente). No mesmo estudo, *E. uniflora* apresentou atividade moderada contra *S. aureus* e *E. coli*, com CMIs de 250 µg/mL e 500 µg/mL, respectivamente (HOLETZ *et al.*, 2002).

O extrato aquoso obtido de folhas de *Eugenia malaccensis* não foi capaz de inibir o crescimento de *S. aureus* e de *E. coli* no ensaio de difusão em ágar (LOCHER *et al.*, 1995).

Alguns estudos mostram que os taninos têm atividade antibacteriana e antifúngica (MELLO e SANTOS, 2002; BORRELLI e IZZO,

2000). As saponinas em geral apresentam a capacidade de complexar com esteróides e freqüentemente apresentam ação antifúngica (SCHENKEL, GOSMANN e ATHAYDE, 2002).

Embora no extrato de *P. edulis* tenham sido detectadas classes de substâncias com potencial atividade antimicrobiana, o EHEL não mostrou-se efetivo contra *E. coli* e *S. aureus* em uma concentração de até 1.000 µg/mL e não foi capaz de inibir o crescimento de *C. albicans* e *A. niger* em uma concentração de até 2.000 µg/mL no modelo experimental utilizado.

O ensaio para avaliação da atividade antimicrobiana foi realizado utilizando-se a droga vegetal e o extrato (EHEL) de *P. edulis*. A capacidade antimicrobiana do óleo volátil obtido a partir das folhas frescas não foi avaliada devido ao baixo teor encontrado, o que impossibilitava a realização do ensaio.

A não eficácia do extrato, observada no ensaio, pode justamente estar relacionada ao baixo teor de óleo, já que na maior parte das mirtáceas o óleo volátil é o grande responsável pela atividade antimicrobiana.

O emprego de folhas frescas de *P. edulis* por populações caiçaras no combate às afecções de garganta pode estar relacionado a uma ação sinérgica dos taninos, saponinas, flavonóides e óleo volátil. A atividade antioxidante pronunciada pode também estar envolvida na diminuição da inflamação, justificando a utilização nos processos infecciosos.

Apesar da utilização de um bolor, uma levedura, uma bactéria gram positiva e uma bactéria gram negativa na tentativa de abranger uma gama maior de microrganismos, a não inibição do crescimento das cepas empregadas no ensaio não pode ser extrapolada para outros microrganismos.

O extrato metanólico obtido de folhas de *Aleurites moluccana* (Euphorbiaceae) não inibiu o crescimento de *S. aureus*, mas, no mesmo ensaio, apresentou halo de inibição de 8 mm para *Streptococcus pyogenes* (LOCHER *et al.*, 1995). Desta forma, a possibilidade de que o extrato (EHEL) de *P. edulis* apresente atividade antimicrobiana não pode ser completamente descartada.

O oxigênio é a base da vida aeróbia. Pesquisas demonstram que os oxidantes exercem papel fundamental em processos como respiração mitocondrial, detoxificação microssomal, fagocitose, renovação da membrana, síntese de prostaglandinas e destruição de microrganismos patológicos por fagócitos (LANGSETH, 1995; FREI, 1994; MIQUEL, 1989).

Contraditoriamente, o oxigênio pode gerar subprodutos oxidantes altamente reativos, que promovem danos em diversos tipos de macromoléculas celulares, incluindo proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos. Estes danos podem ser os principais contribuintes de doenças degenerativas tais como câncer, catarata, envelhecimento, doenças cardiovasculares, diminuição da capacidade do sistema imune e disfunções cerebrais (LANGSETH, 1995; FREI, 1994; MIQUEL, 1989).

Os oxidantes podem ser produzidos através de meios endógenos, tais como consumo de oxigênio molecular pelas mitocôndrias (formação de radical superóxido $O_2^{\cdot-}$, peróxido de hidrogênio H_2O_2 e radical hidroxila OH^{\cdot}); destruição de células infectadas por bactérias ou vírus através de fagócitos, (formação de radical de óxido nítrico NO^{\cdot} , $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 e radical hipoclorito $^{\cdot}OCl$); ação de peroxissomos; ou por ação de enzimas do citocromo P-450, que protegem o organismo contra substâncias químicas tóxicas, mas também geram subprodutos oxidantes que danificam o DNA (LANGSETH, 1995; FREI, 1994).

A taxa de oxidantes endógenos pode aumentar consideravelmente através de meios externos. Sais de ferro e cobre promovem a formação de radicais oxidantes a partir de peróxidos. Óxidos de nitrogênio, derivados de cigarro, e poluentes ambientais, além de radiação, luz ultravioleta, ozônio e alguns tipos de substâncias, tais como pesticidas, anestésicos e solventes industriais, também podem levar ao aumento de oxidantes (LANGSETH, 1995; FREI, 1994).

Devido à formação de oxidantes durante o processo inflamatório, infecções crônicas contribuem em cerca de um terço dos processos cancerígenos mundiais. Como exemplos tem-se a hepatite do tipo B e C como as maiores responsáveis pelo carcinoma hepatocelular ou ainda a

bactéria *Helicobacter pylori*, cuja presença em estômagos de mais de um terço da população mundial, parece ser a principal causa de câncer estomacal, úlcera e gastrite. Em alguns países foi observado que a infecção por *H. pylori* é assintomática, o que pode indicar que os efeitos da inflamação são pelo menos parcialmente suprimidos, possivelmente através de níveis adequados de antioxidantes presentes na dieta (FREI, 1994).

Substâncias antioxidantes podem ser produzidas pelo próprio metabolismo, tais como a glutathiona, o ubiquinol e o ácido úrico, ou podem estar presentes em alimentos, como frutas e vegetais, na forma de fenólicos. Embora essas substâncias não apresentem função nutricional conhecida, podem ser importantes na saúde humana devido às propriedades antioxidantes (LANGSETH, 1995).

O resultado negativo de inibição do crescimento microbiano do extrato (EHEL) de *P. edulis*, induziu a realização do ensaio para avaliação da atividade antioxidante, já que a capacidade antioxidante pode ser uma das responsáveis pelo uso das folhas da espécie no tratamento de afecções de garganta.

A avaliação da capacidade antioxidante do extrato (EHEL) foi realizada através do ensaio de inibição da lipoperoxidação de homogenato de cérebro de rato e o $Q_{1/2}$ (concentração capaz de inibir 50% da oxidação) obtido foi de 0,21 $\mu\text{g/mL}$.

Este resultado representa capacidade antioxidante muito superior a do α -tocoferol ($Q_{1/2}$ de 12,1 $\mu\text{g/mL}$) (BARROS *et al.*, 1996) e superior a capacidade antioxidante dos extratos das raízes, caule e folhas de *Piper regnellii* (Piperaceae) ($Q_{1/2}$ de 26,0 $\mu\text{g/mL}$; 64,4 $\mu\text{g/mL}$; e 13,3 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) (FREITAS, 2001).

A atividade antioxidante apresentada por extratos de raízes, caule e folhas de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. (Piperaceae), considerados muito promissores, com valores de $Q_{1/2}$ de 4,4 $\mu\text{g/mL}$, 19,3 $\mu\text{g/mL}$ e 38,5 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (BARROS *et al.*, 1996), também foi menor do que a atividade antioxidante do extrato de *P. edulis*.

Soma-se a isto o fato de que a maior inibição da oxidação de *Pothomorphe umbellata* foi obtida com o extrato das raízes (BARROS *et al.*, 1996), enquanto que no caso de *P. edulis* foram usadas folhas, sem necessidade, portanto de destruição do vegetal.

Em relação a outras mirtáceas, *Myrciaria glomerata* (SILVA, 2001) e *Campomanesia xanthocarpa* (MARKMAN, 2002) ($Q_{1/2}$ de 0,51 $\mu\text{g/mL}$ e de 0,29 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente), a capacidade antioxidante do EHEL de *P. edulis* também é maior.

A atividade antioxidante pronunciada do EHEL de *P. edulis* está intimamente relacionada às classes de substâncias detectadas na triagem fitoquímica. Os fenólicos presentes no EHEL (flavonóides, taninos e ácidos fenólicos), devido à estrutura química, são capazes de reagir com radicais livres. Reconhece-se que estes radicais são estabilizados por ressonância (LARSON, 1997).

Por muitos anos tem sido demonstrada a atividade antioxidante dos flavonóides, que parece envolver uma série de mecanismos de ação, incluindo a estabilização dos radicais livres e a complexação com íon metálico (LARSON, 1997). Apresentam importância farmacológica e a alguns representantes da classe são atribuídas propriedades anticarcinogênicas, antiinflamatórias, antialérgicas, antiulcerogênicas e antivirais, entre outras (ZUANAZZI, 2002).

Um estudo realizado envolvendo extratos aquosos de inúmeros vegetais demonstrou atividade antioxidante dos flavonóides, em ensaios *in vitro*. Após a hidrólise dos extratos, a atividade antioxidante foi mantida, indicando que os glicosídeos apresentam capacidade antioxidante semelhante à das agliconas no modelo de medida da produção de malonildialdeído (MDA) e no modelo de decomposição do β -caroteno. A quercetina, isolada dos extratos hidrolisados, foi considerada como o principal componente antioxidante nos modelos empregados (PRATT e WATTS, 1964).

Os taninos são outra classe de substâncias com pronunciada atividade antioxidante. São capazes de seqüestrar radicais livres e ainda

podem complexar com íons metálicos, tais como ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio e cálcio, entre outros. Os taninos, assim como flavonóides, interceptam as espécies reativas de oxigênio, formando complexos estáveis. São capazes de inibir a formação de radicais de ânion superóxido assim como dos radicais 1,1-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH), sendo possivelmente importantes na prevenção e no tratamento de doenças causadas pela peroxidação de lipídeos (MELLO e SANTOS, 2002; HASLAM, 1996).

Os radicais livres e a peroxidação lipídica atuam na formação das lesões gástricas agudas induzidas por etanol e, desta maneira, pode-se supor que a atividade antioxidante possa estar relacionada com a atividade antiúlcera, neste modelo de indução (LA CASA *et al.*, 2000; MARTÍN *et al.*, 1998; KVIETYS *et al.*, 1990; SALIM, 1990).

Desta forma, a capacidade antioxidante pronunciada do extrato (EHSL) de *P. edulis* induziu à realização do ensaio para a avaliação da atividade antiúlcera através do modelo de indução com etanol acidificado.

O mecanismo de formação das úlceras gástricas não foi completamente estabelecido e parece estar relacionado a um desequilíbrio entre os mecanismos agressores (secreção de ácido e pepsina e/ou infecção por *Helicobacter pylori*) e os mecanismos de proteção da mucosa (secreção de bicarbonato e muco, produção de prostaglandinas e aumento da circulação sanguínea) (BORRELLI e IZZO, 2000).

Os tratamentos das úlceras pépticas visam assim diminuir os fatores de agressão (ácido e pepsina, oxidantes, leucotrienos e fatores exógenos, tais como os antiinflamatórios não esteroidais) ou estimular as defesas da mucosa (muco, bicarbonato, fluxo sanguíneo normal, prostaglandinas e ácido nítrico) (BORRELLI e IZZO, 2000).

As úlceras pépticas, duodenais ou gástricas, atingem homens ou mulheres de países desenvolvidos ou em desenvolvimento. A incidência das úlceras gástricas vem progressivamente aumentando com as alterações na alimentação. O agravante no caso desta patologia é atingir a população economicamente ativa, que se encontra no ápice da atividade econômica (25 a 50 anos de idade).

As doenças gastrintestinais são uma das causas mais importantes de morbidade em populações de países em desenvolvimento. Os medicamentos existentes para o tratamento de úlcera gástrica são eficazes, mas de custo elevado, sendo inacessíveis para grande parte da população. Além disso, faltam medicamentos no mercado, capazes de promover a remissão total da doença (BORRELLI e IZZO, 2000).

O tratamento das úlceras pépticas almeja diminuir a dor, promover a cicatrização e retardar a recidiva (BORRELLI e IZZO, 2000).

O primeiro fármaco efetivo contra as úlceras gástricas, a carbenoxolona, foi obtido a partir de rizomas de alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*). Neste sentido, pode-se afirmar que o reino vegetal oferece uma fonte inesgotável para a descoberta de novos fármacos ou ainda de moléculas protótipo para síntese de substâncias farmacologicamente ativas, entre as quais, aquelas com atividade antiulcerogênica. Os medicamentos fitoterápicos podem representar uma alternativa de menor custo, com menores efeitos adversos no tratamento das úlceras gástricas ou mesmo servirem como adjuvantes às terapias existentes (BORRELLI e IZZO, 2000).

O extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *P. edulis* reduziu o Índice de Lesão Ulcerativa, a Área Total de Lesão e a Área Relativa de Lesão em 81,5%, 97,9% e 97,6%, respectivamente em comparação ao controle, apresentando resultados extremamente significativos em todos os parâmetros avaliados.

A propriedade antiulcerogênica, assim como a antioxidante, está diretamente relacionada às classes de compostos identificadas na triagem fitoquímica. Em estudos envolvendo taninos, flavonóides e saponinas, estas substâncias mostraram-se intimamente ligadas ao processo de gastroproteção (BORRELLI e IZZO, 2000; SAIRAN *et al.*, 2000; RAO e SURYAPRAKASAM, 1976).

A fração flavonoídica de *Dittrichia viscosa* (Compositae) apresentou atividade gastroprotetora (ALARCÓN DE LA LASTRA, LOPEZ e MOTILVA, 1993), assim como a quercetina (MARTÍN *et al.*, 1998; BEIL, BIRKHOLZ e SEWING, 1995; HAVSTEEN, 1983), a naringenina (MOTILVA,

ALARCÓN DE LA LASTRA e MARTÍN, 1994) e a rutina (LA CASA *et al.*, 2000).

Em modelo experimental com indução de lesão gástrica por etanol, a rápida e forte vasoconstrição venosa acompanhada de vigorosa dilatação arteriolar, provocam a formação de espécies reativas de oxigênio (LA CASA *et al.*, 2000).

A extrema reatividade dos radicais formados provoca um ataque aos constituintes celulares essenciais, promovendo a formação de compostos tóxicos, tais como epóxidos, aldeídos e novas espécies reativas de oxigênio, o que induz severas alterações celulares, provocando a morte celular. Substâncias capazes de inibir a formação ou de capturar radicais livres formados são, desta forma, agentes antiulcerogênicos potenciais (LA CASA, *et al.*, 2000).

Nos modelos de indução de úlcera por etanol sugere-se que o efeito gastroprotetor dos flavonóides parece estar ligado à capacidade que estas substâncias têm de inibir a lipoperoxidação, de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes como a glutathione peroxidase e de combater os radicais livres (LA CASA *et al.*, 2000; MARTÍN *et al.*, 1998; ROBAK e GRYGLEWSKY, 1996; ABAD, BERMEJO e VILLAR, 1995).

Além disso, os flavonóides têm propriedades estabilizantes na membrana e alguns deles são capazes de aumentar o conteúdo de prostaglandinas e de muco no trato gástrico e de proteger a mucosa gástrica contra diferentes agentes necrosantes (LA CASA *et al.*, 2000; ALARCÓN DE LA LASTRA, MARTÍN e MOTILVA, 1994; IZZO *et al.*, 1994; MARTÍN *et al.*, 1994; ALARCÓN DE LA LASTRA, LOPEZ e MOTILVA, 1993; BOMBARDELLI e MORAZZONI, 1993).

A capacidade antimicrobiana de alguns flavonóides também pode estar relacionada à propriedade antiulcerogênica. BAE, HAN e KIM (1999), em ensaio *in vitro*, testaram a atividade de alguns flavonóides e seus metabólitos contra *Helicobacter pylori*. A ponciretina (Figura 31), hesperetina, naringenina e diosmetina foram ativos contra o *H. pylori*, sendo

que entre eles a ponciretina foi a mais potente, com concentração mínima inibitória do crescimento de 10-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

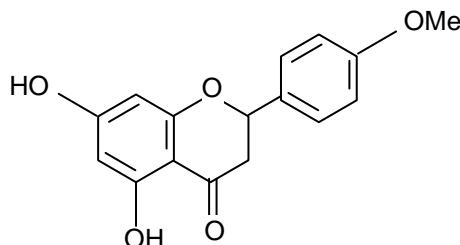


Figura 31. Ponciretina: flavonóide ativo contra o *Helicobacter pylori* com concentração mínima inibitória do crescimento de 10-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Em modelos experimentais de úlcera gástrica induzida por estresse e ligação de piloro, assim como em modelo de indução por ácido clorídrico e etanol, a quercetina foi capaz de prevenir a formação das lesões ulcerativas (DI CARLO *et al.*, 1994; IZZO *et al.*, 1994; MARTIN, MOTILVA e ALARCÓN DE LA LASTRA, 1993; ALARCÓN-DE-LA-LASTRA, MARTÍN e MARHUENDA, 1992; MARTIN *et al.*, 1988).

A quercetina foi capaz de aumentar as glicoproteínas na mucosa gástrica, aumentando a capacidade de defesa contra a agressão do etanol absoluto em modelo experimental (DI CARLO *et al.*, 1999). O estímulo da produção local de prostaglandinas também pode estar envolvido no aumento da produção do muco, reforçando a barreira protetora da mucosa gástrica (BORRELLI e IZZO, 2000).

Outros mecanismos envolvidos na proteção gástrica promovida pela quercetina incluem inibição da bomba de prótons (DI CARLO *et al.*, 1999), inibição da via da lipoxigenase (MORONEY *et al.*, 1988), inibição da síntese de PAF (fator de ativação de plaquetas) (IZZO *et al.*, 1994), inibição da peroxidação lipídica (ALARCÓN DE LA LASTRA, MARTÍN e MOTILVA, 1994) e propriedades seqüestrantes dos radicais livres associadas a um aumento da atividade da glutathione oxidase (MARTIN *et al.*, 1988).

Nas úlceras gástricas onde existe infecção por *Helicobacter pylori*, a quercetina também pode ter um papel no processo de cura, já que promove inibição dose-dependente do crescimento deste microrganismo (BEIL, BIRKOLZ e SEWING, 1995).

Os taninos apresentam atividade antiulcerogênica, creditada à propriedade que estas substâncias tem em formar complexos com proteínas. No caso das úlceras gástricas, o complexo tanino-proteína formado protege a mucosa do estômago contra a ação de bactérias, irritação química e irritação mecânica e, sob a camada protetora formada, a úlcera pode cicatrizar (MELLO e SANTOS, 2002; BORRELLI e IZZO, 2000).

Algumas saponinas exercem efeito protetor sobre a mucosa gástrica. A atividade gastroprotetora parece estar relacionada com o aumento da secreção de muco e de fatores de proteção da mucosa, já que estas substâncias parecem não promover inibição da secreção ácida (BORRELLI e, IZZO, 2000).

O extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) de *P. edulis* apresenta classes de substâncias de interesse farmacológico (flavonóides, taninos, saponinas e compostos esteroidais) e atividade antioxidante (avaliada pela inibição da peroxidação espontânea de homogenato de cérebro de rato) muito promissora.

Aliado a isto, o extrato (EHEL) apresentou baixa toxicidade e atividade antiúlcera extremamente significativa em relação ao controle, no modelo de indução agudo com etanol acidificado, em relação a todos os parâmetros avaliados (Índice de Lesão Ulcerativa, Área Total de Lesão e Área Relativa de Lesão).

Os resultados obtidos incentivam a realização de trabalhos posteriores priorizando o isolamento e a identificação das substâncias e a determinação dos possíveis mecanismos de ação relacionados especialmente às atividades antioxidante e antiulcerogênica.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões:

- As folhas apresentaram diversas características morfo-histológicas da família Myrtaceae (folhas cartáceas, lanceoladas, com pontos translúcidos no limbo; mesofilo dorsiventral; folhas hipoestomáticas, com estômatos predominantemente anomocíticos; cavidades secretoras recobertas por um par de células com parede comissural ligeiramente sinuosa; feixe vascular bicolateral), assim como particularidades que fornecem subsídios substanciais na morfodiagnose de drogas constituídas por *Plinia edulis*, tal como a presença de idioblastos arredondados, em número de 2 a 4, perpendiculares à face adaxial, contendo drusas ou cristais prismáticos.
- O rendimento do óleo volátil obtido a partir de folhas frescas de *P. edulis* foi de 0,02% (v/m) e a análise qualitativa do óleo evidenciou como componentes majoritários o α -cadinol (20,22%), o epi- α -cadinol (21,72%) e o trans-cariofileno (14,19%).
- A triagem fitoquímica da droga vegetal evidenciou a presença de flavonóides, taninos, saponinas e óleo volátil.
- A triagem fitoquímica do extrato hidroetanólico liofilizado (EHEL) evidenciou a presença de flavonóides, taninos, saponinas e compostos esteroidais.
- O teor de taninos na droga vegetal foi de 8,57% e de 31,35% no extrato (EHEL).
- O teor de flavonóides foi de 0,81% na droga vegetal e de 0,99% no extrato (EHEL).
- Na avaliação da toxicidade aguda não ocorreu morte de nenhum animal no período de ensaio com uma concentração de até 5.000 mg/kg de extrato (EHEL).

- O extrato (EHEL), no método de diluição em meio líquido, não foi capaz de inibir o crescimento de *Aspergillus niger* e *Candida albicans* em uma concentração de até 2.000 $\mu\text{g/mL}$ e não foi capaz de inibir o crescimento de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em uma concentração de até 1.000 $\mu\text{g/mL}$.
- O extrato (EHEL) apresentou atividade antioxidante elevada no modelo de medida da produção do malonildialdeído com $Q_{1/2}$ de 0,21 $\mu\text{g/mL}$.
- O extrato (EHEL) apresentou atividade antiúlcera extremamente significativa em todos os parâmetros avaliados no modelo de indução por etanol acidificado, reduzindo o Índice de Lesão Ulcerativa, a Área Total de Lesão e a Área Relativa de Lesão em 81,5%, 97,9% e 97,6%, comparativamente ao controle, em uma dose de 400 mg/kg, por via oral.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, M.J.; BERMEJO, P.; VILLAR, A. The activity of flavonoids extracted from *Tanacetum microphyllum* C. (Compositae) on soybean lipoxygenase and prostaglandin synthetase. *Gen. Pharmacol.*, New York, v.26, p.815-819, 1995.
- ADAMS, R.P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy*. Carol Stream: Allured Publ., 1995. 469p.
- ADEBAJO, A.C.; OLOKE, K.J.; ALADESANMI, A.J. Antimicrobial activities and microbial transformation of volatile oils of *Eugenia uniflora*. *Fitoterapia*, Milano, v.60, n.5, p.451-455, 1989.
- ADEWUNMI, C.O.; AGBEDAHUNSI, J.M.; ADEBAJO, A.C.; ALADESANMI, A.J.; MURPHY, N.; WANDO, J. Ethno-veterinary medicine: screening of nigerian medicinal plants for trypanocidal properties. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.77, p.19-24, 2001.
- AGBEDAHUNSI, J.M.; ALADESANMI, A.J. Effect of *Eugenia uniflora* on early malaria infection. *Fitoterapia*, Milano, v.64, n.2, p.174-175, 1993.
- ALARCÓN DE LA LASTRA, C.; LOPEZ, A. MOTILVA, V. Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Med.*, Stuttgart, v.59, p.497-501, 1993.
- ALARCÓN DE LA LASTRA, C.; MARTÍN, M.J.; MARHUENDA, E. Gastric anti-ulcer activity of silymarin, a lipoxygenase inhibitor, in rats. *J. Pharm. Pharmacol.*, Wallingford, v.44, p.929-931, 1992.
- ALARCÓN DE LA LASTRA, C.; MARTÍN, M.J.; MOTILVA, V. Antiulcer and gastroprotective effect of quercetin: a gross and histologic study. *Pharmacology*, Basel, v.48, p.56-63, 1994.
- ALMEIDA, C.E.; KARNIKOWSKI, M.G.O.; FOLETO, R.; BALDISSEROTTO, B. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. *Rev. Saúde Pública*, São Paulo, v.29, n.6, p.428-433, 1995.
- ALMEIDA, M.Z. *Plantas medicinais*. 2.ed. Salvador: EDUFBA, 2003. 216p.

- AL-ZAID, M.M.; HASSAN, M.A.M.; BADIR, N.; GUMAA, K.A. Evaluation of blood glucose lowering activity of three plant diet additives. *Int. J. Pharmacogn.*, Lisse, v.29, n.2, p.81-88, 1991.
- AL-ZAID, M.M.; HASSAN, N.M.; BADI, R.N. Evaluation of blood glucose lowering activity of three plant diet additives. *Int. J. Pharmacogn.*, Lisse, v.29, p.81-88, 1992.
- ANESINI, C.; PEREZ, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.39, p.119-128, 1993.
- APEL, M.; LIMBERGER, R.P.; SOBRAL, M.; MENUT, C.; HENRIQUES, A. Chemical composition of the essential oil of *Siphoneugena reitzii* D. Legr. *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.13, p.429-430, 2001a.
- APEL, M.A.; LIMBERGER, R.P.; SOBRAL, M.; MENUT, C.; HENRIQUES, A.T. Chemical composition of the essential oil of *Neomitranthes cordifolia* (D. Legr.) D. Legr. *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.13, p.250-251, 2001b.
- ARAI, I.; AMAGAYA, S.; KOMATSU, Y.; OKADA, M.; HAYASHI, T.; KASAI, M.; ARISAWA, M.; MOMOSE, Y. Improving effects of the extracts from *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.68, p.307-314, 1999.
- BAE, E.A.; HAN, M.J.; KIM, D.H. *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of some flavonoids and their metabolites. *Planta Med.*, Stuttgart, v.65, n.5, p.442-443, 1999.
- BAE, E.A.; HAN, M.J.; KIM, N.J.; KIM, D.H. Anti-*Helicobacter pylori* activity of herbal medicines. *Biol. Pharm. Bull.*, Tokyo, v.21, n.9, p.990-992, 1998.
- BALANEHRU, S.; NAGARAJAN, B. Intervention of adriamycin induced free radical damage. *Biochem. Int.*, New York, v.28, n.4, p.735-744, 1992.
- BANNON, C.D.; EADE, R.A.; SIMES, J.J.H. Extractives of Australian timbers. XVI. The Constituents of the wood of *Eugenia crebrinervis* (syn. *Syzygium crebrinerve*) and *Eugenia gustavioides* (syn. *Cleistocalyx gustavioides*). *Aust. J. Chem.*, Collingwood, v.29, p.1135-1141, 1976.

- BARROS, S.B.M.; TEIXEIRA, D.S.; AZNAR, A.E.; MOREIRA Jr., J.A.; ISHII, I.; FREITAS, P.C.D. Antioxidant activity of ethanolic extracts of *Pothomorphe umbellata*, l. Miq. (Pariparoba). *Cienc. Cult.*, São Paulo, v.48, n.1/2, p.114-116, 1996.
- BARROSO, G.M. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Vicososa: Universidade Federal de Vicososa, 1984. 277p.
- BEIL, W.; BIRKHOLZ, C.; SEWING, K.F.R. Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. *Arzneim.-Forsch.*, Aulendorf, v.46, n.6, p.697-700, 1995.
- BELESKI-CARNEIRO, E.B.; ALQUINI, Y.; REICHER, F. Pectins from the fruit of Myrtaceae. In: MATTOSO, L.H.C.; FROLLINI, E.; LEÃO, A., eds. *Natural polymers and composites*. São Pedro: UNESP/ EMBRAPA/USP, 2000. p.162-165. (Internacional Symposium on Natural Polymers and Composites, 3, São Pedro, 2000).
- BELLO, A.; PINO, J.; MARBOT, R.; URQUIOLA, A.; AGUERO, J. Volatile components of *Plinia* plants from western Cuba: *P. dermatodes* Urb., *P. rubrinervis* Urb. and *P. rupestris* Ekm and Urb. *Rev. CENIC, Cienc. Quim.*, Habana, v.32, n.3, p.139-141, 2001.
- BELLO, A.; RODRIGUEZ, M.L.; CASTIÑEIRAS, N.; URQUIOLA, A. Major components of the leaf oil of *Eugenia banderensis* Urb. *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.7, p.697-698, 1995.
- BERLYN, G.P.; MIKSCHE, J.P. *Botanical microtechnique and cytochemistry*. Ames: Iowa State University Press, 1976. 326 p.
- BOMBARDELLI, E.; MORAZZONI, P. The flavonoids: new perspectives in biological activities and therapeutics. *Chim. Oggi*, Milano, v.11, p.25-28, 1993.
- BORRELLI, F.; IZZO, A.A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.14, n.8, p.581-591, 2000.
- BOUDIN, M.H. *Dicionário de tupi moderno*. São Paulo: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Presidente Prudente, 1966. 342p.

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resoluções. Resolução da Diretoria Colegiada RDC n.17, de 24 de fevereiro de 2000. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/resol/2000/17_00rdc.htm. Acesso em: 20 out. 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resoluções. Resolução da Diretoria Colegiada RDC n.150, de 17 de junho de 2003. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Fascículo 4 da Parte II, da 4ª Edição da Farmacopéia Brasileira. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/150_03rdc.pdf. Acesso em: 20 out. 2003.
- BRITO, A.S. *Manual de ensaios toxicológicos in vivo*. Campinas: UNICAMP, 1994. p.11-40.
- BUENO, S. *Grande dicionário etimológico-prosódico da língua portuguesa*. São Paulo: Saraiva, 1968. 8v.
- CHAKRAVARTY, A.K.; DAS, B.; SARKAR, T.; MASUDA, K.; SHIOJIMA, K. Ellagic acid derivatives from the leaves of *Eugenia jambos* Linn. *Indian J. Chem.*, New Delhi, v.37B, p.1316-1318, 1998.
- CONSOLINI, A.E.; BALDINI, O.A.N.; AMAT, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.66, p.33-39, 1999.
- CONSOLINI, A.E.; SARUBBIO, M.G. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rat's heart. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.81, p.57-63, 2002.
- CORRÊA, M.P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1926. 3v.
- COSTA, T.R.; FERNANDES, O.F.L.; SANTOS, S.C.; OLIVEIRA, C.M.A.; LIÃO, L.M.; FERRI, P.H.; PAULA, J.R.; FERREIRA, H.D.; SALES, B.H.N.; SILVA, M.R.R. Antifungal activity of volatile constituents of

- Eugenia dysenterica* leaf oil. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.72, p.111-117, 2000.
- CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press, 1981. 1262p.
- DAHLGREEN, R.M.T. A revised system of classification of the angiosperms. *Bot. J. Linn. Soc.*, Sidcup, v.80, n.2, p.91-124, 1980.
- DAMASCENO, D.C.; LIMA, P.H.O.; GALHIANE, M.S.; VOLPATO, G.T.; RUDGE, M.V.C. Avaliação do efeito hipoglicemiante da sapogenina extraída de sementes de *Eugenia jambolana* Lam. *Rev. Bras. Plant. Med.*, Botucatu, v.4, n.2, p.46-54, 2002.
- DELLACASSA, E.; LORENZO, D.; MONDELLO, L.; COTRONEO, A. Uruguayan essential oils. Part VII. Composition of leaf oil of *Eugenia uruguayensis* Camb. var. *uruguayensis* (Myrtaceae). *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.9, p.295-297, 1997.
- DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A.A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.*, New York, v.64, p.337-353, 1999.
- DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A.A.; CAPASSO, F.; AUTORE, G. Effect of quercetin on the gastrointestinal tract in rats and mice. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.8, p.42-45, 1994.
- DI STASI, L.C., org. *Plantas medicinais: arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: UNESP, 1996. 230p.
- DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. 2.ed. São Paulo: UNESP, 2002. 604p.
- DICIONÁRIO brasileiro da língua portuguesa. 2.ed. São Paulo: Mirador Internacional, 1976. 2v.
- EUROPEAN Pharmacopoeia: supplement 2001. 3.ed. Strasbourg: Concil of Europe, 2001. 1705p.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988. pt.1.
- FARNSWORTH, N.R. Biological and phytochemical screening of plants. *J. Pharm. Sci.*, New York, v.55, p.225, 1966.

- FEE, J.A.; TEITELBAUM, H.D. Evidence that superoxide dismutase plays a role in protecting red blood cells against peroxidative hemolysis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Orlando, v.49, p.150-158, 1972.
- FERREIRA, I.C.F.S.; VARGAS, V.M.F. Mutagenicity of medicinal plant extracts in *Salmonella*/ microsome assay. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.13, p.397-400, 1999.
- FERRO, E.; SCHININI, A.; MALDONADO, M.; ROSNER, J.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. *Eugenia uniflora* leaf extract and lipid metabolism in *Cebus apella* monkeys. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.24, p.321-325, 1988.
- FRANCO, M.R.B.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some brazilian fruits: umbu-caja (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*), and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). *J. Agric. Food Chem.*, Columbus, v.48, n.4, p.1263-1265, 2000.
- FRANKLIN, G.L. Preparation of the thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature*, London, v.155, p.51, 1945.
- FREI, B., ed. *Natural antioxidants in human health and disease*. San Diego: Academic Press, 1994. 588p.
- FREITAS, P.C.D. *Atividade antioxidante de espécies medicinais da família Piperaceae: Pothomorphe umbellata (L.) Miq. E Piper regnellii (Miq.) DC.* São Paulo, 2001. 115p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- GBOLADE, A.A.; ILESANMI, O.R.; ALADESANMI, A.J. The contractile effects of the extracts of *Eugenia uniflora* on isolated rat duodenum. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.10, p.613-615, 1996.
- GODOY, R.L.O.; ALEGRIO, L.V.; DUARTE, A.A. Compositional analysis of the leaf oil of *Eugenia ovalifolia* Camb. (Myrtaceae). *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.11, p.570-572, 1999.
- GOTTLIEB, O.R.; SILVA, M.L.; MAIA, J.G.S. Eucalyptin from *Eugenia* and *Myrcia* species. *Phytochemistry*, Amsterdam, v.11, p.1185, 1972.

- GROVER, J.K.; VATS, V.; RATHI, S.S. Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.73, p.461-470, 2000.
- GROVER, J.K.; VATS, V.; RATHI, S.S.; DAWAR, R. Traditional indian anti-diabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozotocin induced diabetic mice. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.76, p.233-238, 2001.
- GROVER, J.K.; YADAV, S.; VATS, V. Medicinal plants of India with anti-diabetic potencial. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.81, p.81-100, 2002.
- GU, J.Q.; PARK, E.J.; LUYENGI, L.; HAWTHORNE, M.E.; MEHTA, R.G.; FARNSWORTH, N.R.; PEZZUTO, J.M.; KINGHORN, A.D. Constituents of *Eugenia sandwicensis* with potencial cancer chemopreventive activity. *Phytochemistry*, Amsterdam, v.58, p.121-127, 2001.
- GUÉRIN, J.C.; RÉVEILLÈRE, H.P. Activité antifongique d'extraits végétaux à usage thérapeutique. II. étude de 40 extraits sur 9 souches fongiques. *Ann. Pharm. Fr.*, Paris, v.43, n.1, p.77-81, 1985.
- GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 4.ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2002. p.13-26.
- HARBORNE, J.B. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. 3.ed. London: Chapman and Hall, 1998. 302p.
- HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: a possible modes of action. *J. Nat. Prod.*, Columbus, v.59, n.2, p.205-215, 1996.
- HAVSTEEN, B. Flavonoids: a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.*, New York, v.32, n.7, p.1141-1148, 1983.

- HICKEY, L.J. Classification of the architecture of dicotyledonous leaves. *Am. J. Bot.*, Columbus, v.60, n.1, p.17-33, 1973.
- HIRUMA-LIMA, C.A., GRACIOSO, J.S., BIGHETTI, E.J.B., ROBINEOU, L.G., BRITO, A.R.M.S. The juice of fresh leaves of *Boerhaavia diffusa* L. (Nyctaginaceae) markedly reduces pain in mice. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.71, p.267-274, 2000.
- HOEHNE, F.C. *Frutas indígenas*. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, 1946. 88p. (Publicação da série "D").
- HOLETZ, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS-FILHO, B.P. Screening of some plants used in brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.97, n.7, p.1027-1031, 2002.
- HONG, C.H.; HUR, S.K.; OH, O.J.; KIM, S.S.; NAM, K.A.; LEE, S.K. Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.83, p.153-159, 2002.
- INDEX kewensis plantarum phanerogamarum. Oxford: Clarendon Press, 1995. 2v.
- IZZO, A.A.; DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; CAPASSO, F.; AUTORE, G. Antiulcer effects of flavonoids. Role of endogenous PAF. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.8, p.179-181, 1994.
- JOHANSEN, D.A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p. (McGraw-Hill publications in the botanical sciences).
- JOLY, A.B. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 2.ed. São Paulo: Nacional, 1966. 634p. (Biblioteca Universitária. Série 3.a. Ciências puras, v.4).
- JORGE, I.F.J.; MARKMAN, B.E.O.; SILVA, C.B.M. Jambolão: *Syzygium cumini* (L.) Skeels. Elementos histológicos característicos das folhas, frutos e cascas. *Rev. Bras. Farm.*, Rio de Janeiro, v.75, n.2, p.38-39, 1994.

- JORGE, L.I.F. *Caracterização farmacobotânica e microscopia alimentar de seis espécies brasileiras de Myrtaceae jussieu*. São Paulo, 1992. 140p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.
- JORGE, L.I.F.; AGUIAR, J.P.L.; SILVA, M.L.P. Anatomia foliar de pedrahume-caá (*Myrcia sphaerocarpa*, *Myrcia guianensis*, *Eugenia puniceifolia* – Myrtaceae). *Acta Amazônica*, Manaus, v.30, n.1, p.49-57, 2000.
- JORGE, L.I.F.; FERRO, V.O.; OLIVEIRA, I. Exame diagnóstico das folhas e dos frutos de *Plinia glomerata* (Berg.) Amsh. (cabeludinha) e de *Eugenia pyriformis* Camb. (uvalha). *Rev. Bras. Farm.*, Rio de Janeiro, v.77, n.1, p.7-10, 1996.
- JUNGES, M.J.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F.; RODRIGUES-FILHO, E. The use of ^{13}C and ^1H -NMR in the structural elucidation of a new *nor*-lupane triterpene. *J. Braz. Chem. Soc.*, São Paulo, v.10, n.4, p.317-320, 1999.
- KAR, A.; CHOUDHARY, B.K.; BANDYOPADHYAY, N.G. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some indian medicinal plants in alloxan diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.84, p.105-108, 2003.
- KELKAR, S.M.; KAKLIJ, G.S. A simple two-step purification of antidiabetic compounds from *Eugenia jambolana* fruit pulp: proteolytic resistance and other properties. *Phytomedicine*, Jena, v.3, n.4, p.353-359, 1996/1997.
- KHATIJA, H.H.; CUTLER, D.F.; MOORE, D.M. Leaf anatomical studies of *Eugenia* L. (Myrtaceae) species from the Malay Peninsula. *Bot. J. Linn. Soc.*, Sidcup, v.108, p.137-156, 1992.
- KIM, H.J.; LEE, J.S.; WOO, E.R.; KIM, M.K.; YANG, B.S.; YU, Y.G.; PARK, H.; LEE, Y.S. Isolation of virus-cell fusion inhibitory components from *Eugenia caryophyllata*. *Planta Med.*, Stuttgart, v.67, p.277-279, 2001.
- KIM, H.Y.; KIM, K. Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts *in vitro*. *J. Agric. Food Chem.*, Columbus, v.51, n.6, p.1586-1591, 2003.

- KIM, S.S.; OH, O.J.; MIN, H.Y.; PARK, E.J.; KIM, Y.; PARK, H.J.; HAN, Y.N.; LEE, S.K. Eugenol suppresses cyclooxygenase-2 expression in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophage RAW264.7 cells. *Life Sci.*, New York, v.73, p.337-348, 2003.
- KOTT, V.; BARBINI, L.; CRUAÑES, M.; MUÑOZ, J.D.; VIVOT, E.; CRUAÑES, J.; MARTINO, V.; FERRARO, G.; CAVALLARO, L.; CAMPOS, R. Antiviral activity of argentine medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.64, p.79-84, 1999.
- KUBOTA, K.Y.D.; OHARA, M.T.; BACCHI, E.M. Determinação do valor de concentração mínima inibitória de tinturas vegetais pelo método de diluição em meio líquido utilizando microplacas. *LECTA*, Bragança Paulista, v.19, n.1/2, p.35-40, 2001.
- KUSKOSKI, E.M.; RUZZA, A.; ASUERO, A.G.; BRIGHENTE, M.C.; FETT, R. Determinación de antocianos en frutos de bacuaçu (*Eugenia umbelliflora* Berg) por cromatografía líquida de alta resolución. *Alimentaria*, Madrid, n.338, p.113-119, 2002.
- KVIETYS, P.R.; TWOHING, B.; DANZELL, J.; SPECIAN, R.D. Ethanol-induced injury to the rat gastric mucosa. Role of neutrophil and xanthine oxidase derived radicals. *Gastroenterology*, Orlando, v.98, p.909-920, 1990.
- LA CASA, C.; VILLEGAS, I.; ALARCON DE LA LASTRA, C.; MOTILVA, V.; MARTÍN, M.J. Evidente for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone against etanol induced gastric lesions. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.71, n.1/2, p.45-53, 2000.
- LANÇAS, F.M.; VILEGAS, J.H.Y.; GALHIANE, M.S.; SANTOS, R.M.; NOSSACK, A.C. Extracción de la fracción de flavonoides de *Plinia pinnata*, haciendo uso de fluidos supercriticos. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE CROMATOGRAFÍA, 6, Caracas, 1996. *Libro de resúmenes*. Caracas, 1996. res.25-D10.

- LANDRUM, L.R.; KAWASAKI, M.L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. *Brittonia*, New York, v.49, n.4, p.508-536, 1997.
- LANGSETH, L. Oxidants, antioxidants, and disease prevention. Brussels: ILSI, 1995. 24p. (ILSI Europe Concise Monograph Series). [Folheto].
- LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.; GODINHO, R.O.; LIMA, T.C.M. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 4.ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2002. p.183-198.
- LARHSINI, M.; LAZREK, O.H.B.; WATALEB, S.; BOUSAID, M.; BEKKOUCHE, K.; JANA, M. Antibacterial activity of some moroccan medicinal plants. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.15, p.250-252, 2001.
- LARSON, R.A. *Naturally occurring antioxidants*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1997. 195p.
- LEE, M.H.; CHIOU, J.F.; YEN, K.Y.; YANG, L.L. EBV DNA polymerase inhibition of tannins from *Eugenia uniflora*. *Cancer Lett.*, Amsterdam, v.154, p.131-136, 2000.
- LEE, M.H.; NISHIMOTO, S.; YANG, L.L.; YEN, K.Y.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. *Phytochemistry*, Amsterdam, v.44, n.7, p.1343-1349, 1997.
- LEE, P.L.; SWORDS, G.; HUNTER, G.L.K. Volatile components of *Eugenia jambos* L.; rose-apple. *J. Food Sci.*, Chicago, v.40, p.421-422, 1975.
- LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; LIMA, D.E.S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. *Sci. Agric.*, Piracicaba, v.29, n.3, p.447-450, 2002.
- LIMBERGER, R.P.; APEL, M.A.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL, E.E.S.; HENRIQUES, A.T. Investigação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de espécies da família Myrtaceae. *Rev. Bras. Farm.*, Rio de Janeiro, v.79, n.1/2, p.49-52, 1998.

- LIPP, F.J. *O simbolismo das plantas: cura e harmonia – simbolismo, rituais e tradições no oriente e no ocidente*. Köln: Taschen, 2002. 184p.
- LIU, X.M., ZAKARIA, M.N.M., ISLAM, M.W., RADHAKRISHNAN, R., ISMAIL, A., CHEN, H.B., CHAN, K., AL-ATTAS, A. Anti-inflammatory and anti-ulcer activity of *Calligonum comosum* in rats. *Fitoterapia*, Milano, v. 72, p. 487-491, 2001.
- LOCHER, C.P.; BURCH, M.T.; MOWER, H.F.; BERESTECKY, J.; DAVIS, H.; POEL, B.V.; LASURE, A.; BERGUE, D.A.V.; VLIETINCK, A.J. Anti-microbial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.49, p.23-32, 1995.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 351p.
- LORENZO, D.; DELLACASSA, E.; BONACCORSI, I.; MONDELLO, L. Uruguayan essential oils. Composition of leaf oil of *Myrcianthes cisplatensis* (Camb.) Berg. ("guaiabo colorado") (Myrtaceae). *Flavour Fragrance J.*, Bognor Regis, v.16, n.2, p.97-99, 2001.
- LUNARDI, I.; PEIXOTO, J.L.B.; SILVA, C.C.; SHUQUEL, I.T.A.; BASSO, E.A.; VIDOTTI, G.J. Triterpenic acids from *Eugenia moraviana*. *J. Braz. Chem. Soc.*, São Paulo, v.12, n.2, p.180-183, 2001.
- MAHMOUD, I.; ALKOFABI, A.; ABDELAZIZ, A. Mutagenic and toxic activities of several spices and some Jordanian medicinal plants. *Int. J. Pharmacogn.*, Lisse, v.30, n.2, p.81-85, 1992.
- MAHMOUD, I.I.; MARZOUK, M.S.A.; MOHARRAM, F.A.; EL-GINDI, M.R.; HASSAN, A.M.K. Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves. *Phytochemistry*, Amsterdam, v.58, p.1239-1244, 2001.
- MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; LUZ, A.I.R. Essential oil of *Eugenia puniceifolia* (HBK) DC. *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.9, p.337-338, 1997.

- MARKHAM, K.R. *Techniques of flavonoid identification*. London, New York: Academic Press, 1982. 113p. (Biological techniques series).
- MARKMAN, B.E.O. *Estudo farmacognóstico de Campomanesia xanthocarpa Berg. – Myrtaceae*. São Paulo, 2002. 162p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- MARTÍN, M.J.; ALARCON DE LA LASTRA, C.; MARHUENDA, E.; DELGADO, F. Anti-ulcerogenicity of the flavonoid fraction from *Ditrichia viscosa* (L.) W. Greuter, in rats. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.2, p.183-186, 1988.
- MARTÍN, M.J.; LA CASA, C.; ALARCON DE LA LASTRA, C.; CABEZA, J.; VILLEGAS, I.; MOTILVA, V. Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin. *Z. Naturforsch.*, Tubingen, v.53, n.1/2, p.82-88, 1998.
- MARTÍN, M.J.; MARHUENDA, E.; PÉREZ GUERRERO, C.; FRANCO, J.M. Antiulcer effect of naringin on gastric lesions induced by ethanol in rat. *Pharmacology*, Basel, v.49, p.144-150, 1994.
- MARTÍN, M.J.; MOTILVA, V.; ALARCON DE LA LASTRA, C. Quercetin and naringenin: effects on ulcer formation and gastric secretion in rats. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.7, p.150-153, 1993.
- MARTINS, D.T., LIMA, J.C., RAO, V.S. The acetone soluble fraction from bark extract of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville inhibits gastric acid secretion and experimental gastric ulceration in rats. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.16, n.5, p.427-431, 2002.
- MARTINS, R.C.C.; ALEGRIO, L.V.; CASTRO, R.N. Constituents of the essential oil of *Eugenia nitida* Camb. (Myrtaceae). *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.11, p.724-726, 1999.
- MATOS, F.J.A. *Introdução à fitoquímica experimental*. Fortaleza: Edições UFC, 1988. 128p.
- MATSUMOTO, T.; YAMADA, H. Effects of a polysaccharide fraction from the roots of *Bupleurum falcatum* L. on experimental gastric ulcer models in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol.*, Wallingford, v.43, p.699-704, 1991.

- MATSUMURA, T.; KASAI, M.; HAYASHI, T.; ARISAWA, M.; YASUNORI, M.; ARAI, I.; AMAGAYA, S.; KOMATSU, Y. α -glucosidase inhibitors from paraguayan natural medicine, ñangapiry, the leaves of *Eugenia uniflora*. *Pharm. Biol.*, Lisse, v.38, n.4, p.302-307, 2000.
- McLAFFERTY, F.W.; STAUFFER, D.B. *The Wiley/NBS registry of mass spectral data*. New York: John Wiley, 1989. 7v.
- MELLO, J.C.P.; SANTOS, S.C. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 4.ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2002. p.527-554.
- MENDEZ, J.; HASEGAWA, M.; BILIA, A.N.; MORELLI, I. 5,7,2',5'-Tetrahydroxydihydroflavonol 3-rhamnoside from *Plinia pinnata*. *Phytochemistry*, Amsterdam, v.36, n.4, p.1087-1088, 1994.
- MENDEZ, J.; HASEGAWA, M.; MORELLI, I.; BILIA, A.N. A new triterpene from the twigs of *Plinia pinnata*. *Fitoterapia*, Milano, v.68, n.5, p.461-462, 1997.
- MENTZ, L.A.; BORDIGNON, S.A.L. Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 4.ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2002. p.149-164.
- METCALFE, C.R.; CHALK, L. *Anatomy of the dicotyledons*. 2.ed. Oxford: Clarendon Press, 1979. 3v.
- METCALFE, C.R.; CHALK, L. *Anatomy of the dicotyledons*. Oxford: Clarendon Press, 1950. v.1.
- MIQUEL, J.; QUINTANILHA, A.T.; WEBER, H., eds. *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*. Boca Raton: CRC Press, 1989. v.1.
- MIZUI, T.; DOTEUCHI, M. Effect of a polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesion in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, Kyoto, v.33, p.939-945, 1983.

- MONTEIRO, M.H.D., GOMES-CARNEIRO, M.R., FELZENSZWALB, I., CHAHOUD, I., PAUMGARTTEN, F.J.R. Toxicological evaluation of a tea from leaves of *Vernonia condensata*. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.74, p.149-157, 2001.
- MORAIS, S.M.; CRAVEIRO, A.A.; MACHADO, M.I.L.; ALENCAR, J.W.; MATOS, F.J.A. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil from northeastern Brazil. *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.8, p.449-451, 1996.
- MORONEY, M.A.; ALCARAZ, M.J.; FOLDER, R.A.; CAREY, F.; HOULT, S.R.S. Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibition by anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. *J. Pharm. Pharmacol.*, Wallingford, v.40, p.787-792, 1988.
- MOTILVA, V.; ALARCÓN DE LA LASTRA, C.; MARTÍN, M.J. Ulcer protecting effects of naringenin on gastric lesions induced by ethanol in rats: role of endogenous prostaglandins. *J. Pharm. Pharmacol.*, Wallingford, v.46, p.91-94, 1994.
- MUKHERJEE, P.K.; SAHA, K.; MURUGESAN, T.; MANDAL, S.C.; PAL, M.; SAHA, B.P. Screening of anti-diarrhoeal profile of some plant extracts of a specific region of West Bengal, India. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.60, p.85-89, 1998.
- NDOUNGA, M.; BILALA, J.P.; OUABONZI, A. Antibacterial properties of aqueous extracts from *Syzygium* species. *Fitoterapia*, Milano, v.65, p.80-82, 1994.
- NDOUNGA, M.; OUABONZI, A.; Koubemba-Makambila, M.C.; MPATI, J.; BILALA, J.P. Activité bactériostatique et toxicité aiguë de *Syzygium brazzavillense* (Myrtaceae). *Plant. Med. Phytother.*, Paris, v.25, n.2/3, p.141-146, 1991.
- NONAKA, G.I.; HARADA, M.; NISHIOKA, I. Eugeniin, a new ellagitannin from cloves. *Chem. Pharm. Bull.*, Tokyo, v.28, n.2, p.685-687, 1980.

- NONAKA, G.I.; ISHIMARU, K.; WATANABE, M.; NISHIOKA, I.; YAMAUCHI, T.; WAN, A.S.C. Tannins and related compounds. 51. Elucidation of the stereochemistry of the triphenoyl moiety in castalagin and vescalagin and isolation of 1-O-galloyl castalagin from *Eugenia grandis*. *Chem. Pharm. Bull.*, Tokyo, v.35, n.1, p.217-220, 1987.
- NÚÑEZ, L.; D'AQUINO, M.; CHIRIFE, J. Antifungal properties of clove oil (*Eugenia caryophyllata*) in sugar solution. *Braz. J. Microbiol.*, São Paulo, v.32, p.123-126, 2001.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. *Fundamentos de farmacobotânica*. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 178p.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. *Farmacognosia*. São Paulo: Atheneu, 1998. 412p.
- PAINULY, P.; TANDON, S. Two 3-C-methylflavone glycosides from *Eugenia kurzii*. *Phytochemistry*, Amsterdam, v.22, n.1, p.243-245, 1983.
- PAIVA, L.A.F., RAO, V.S.N., GRAMOSA, N.V., SILVEIRA, E.R. Gastroprotective effect of *Copaifera langsdorffii* oleo-resin on experimental gastric ulcer models in rats. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.62, p.73-78, 1998.
- PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; CRUAÑES, M.C.; MUÑOZ, D.; CRUAÑES, J.; FERRARO, G.; GUTKIND, G.; MARTINO, V. Antimicrobial activity of argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.77, p.37-40, 2001.
- PEPATO, M.T.; FOLGADO, V.B.B.; KETTELHUT, I.C.; BRUNETTI, I.L. Lack of antidiabetic effect of a *Eugenia jambolana* leaf decoction on rat streptozotocin diabetes. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, Ribeirão Preto, v.34, p.389-395, 2001.
- PINO, J.; BELLO, A.; URQUIOLA, A.; GARCIA, S., ROSADO, A. Leaf oil of *Eugenia cristata* Wr. from Cuba. *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.13, p.407-408, 2001.

- PINO, J.A.; BELLO, A.; URQUIOLA, A.; AGUERO, J. Chemical composition of the leaf oil of *Plinia dermatodes* Urb. from Cuba. *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.15, p.23-24, 2003.
- PINO, J.A.; BELLO, A.; URQUIOLA, A.; CORREA, T.; ROSADO, A. Essential oil of *Plinia rubrinervis* Urb. from Cuba. *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.14, p.372, 2002.
- PINO, J.A.; ROSADO, A.; BELLO, A.; URQUIOLA, A.; GARCIA, G. Essential oil of *Myrcianthes fragrans* (Sw.) McVaugh from Cuba. *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.12, n.2, p.225-226, 2000.
- POURGHOLAMI, M.H.; KAMALINEJAD, M.; JAVADI, M.; MAJZOOB, S.; SAYYAH, M. Evaluation of the anticonvulsant activity of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* in male mice. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.64, p.167-171, 1999.
- PRATT, D.E.; WATTS, B.M. The antioxidant activity of vegetable extracts. I. Flavone aglycones. *J. Food Sci.*, Chicago, v.29, p.27-33, 1964.
- RAJASEKARAN, M.; BAPNA, J.S.; LAKSHMANAN, S.; NAIR, A.G.R.; VELIATH, A.J.; PANCHANADAM, M. Antifertility effect in male rats of oleanolic acid, a triterpene from *Eugenia jambolana* flowers. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.24, p.115-121, 1988.
- RANDRIAMAMPANDRY, RAMAROJAONA, J. Action hypoglycémiant de la Rotra (*Eugenia jambolana* Lamarck) sur le lapin avec diabète alloxannique. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.*, Madagascar, v.166, n.2, p.484-488, 1972.
- RAO, C.B.; SURYAPRAKASAM, S. Cardamonin and alpinetin from the seeds of *Amomum subulatum*. *Planta Med.*, Stuttgart, v.29, p.391-392, 1976.
- RATHI, S.S.; GROVER, J.K.; VIKRANT, V.; BISWAS, N.R. Prevention of experimental diabetic cataract by indian ayurvedic plant extracts. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.16, p.774-777, 2002.
- RIZZINI, C.T. Sistematização terminológica da folha. *Rodriguesia*, Rio de Janeiro, v.23/24, p.193-212, 1960/61.

- RIZZINI, C.T.; MORS, W.B. *Botânica econômica brasileira*. São Paulo: EPU, EDUSP, 1976. 207p.
- RNA, N.S.; JOSHI, M.N. Investigation of the antiviral activity of ethanolic extracts of *Syzygium* sp. *Fitoterapia*, Milano, v.63, p.542-544, 1993.
- ROBAK, J.; GRYGLEWSKY, R.J. Bioactivity of flavonoids. *Pol. J. Pharmacol.*, Warsaw, v.48, p.555-564, 1996.
- ROESER, K.R. Die nadel der schwarzkiefer. Massenprodukt und kunstwerk der natur. *Mikrokosmos*, Stuttgart, v.61, n.2, p.33-36, 1972.
- SAIRAN, K.; RAO, V.C.; BABU, D.M.; GOEL, R.K. Prophylatic and curative effects *Bacopa monniera* in gastric ulcer models. *Phytomedicine*, Jena, v.8, n.6, p.423-430, 2000.
- SALIM, A.S. Removing oxygen-derived free radicals stimulates healing of ethanol induced erosive gastritis in rat. *Digestion*, Basel, v.47, p.24-28, 1990.
- SANDOVAL, M.; MELCHOR, V.; OKUHAMA, N. Antioxidant and biological properties of *Myrciaria dubia*: role in cytoprotection. *Free Radical Biol. Med.*, New York, v.31, suppl.1, p.S37, r.92, 2001.
- SASS, J.E. *Botanical microtechnique*. 2.ed. Ames: Iowa State College Press, 1951. 228p.
- SCHAPOVAL, E.E.S.; SILVEIRA, S.M.; MIRANDA, M.L.; ALICE, C.B.; HENRIQUES, A.T. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.24, p.137-142, 1994.
- SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M.L. Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 4.ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2002. p.607-632.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Flavonoids from *Calycorectes*, *Campomanesia*, *Eugenia* and *Hexachlamys* species. *Fitoterapia*, Milano, v.66, n.4, p.372-374, 1995.

- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; THEODULOZ, C.; FRANCO, L.; FERRO, E.B.; ARIAS, A.R. Preliminar pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.21, p.183-186, 1987.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; ZÚÑIGA, J.; DUTRA-BEHRENS, M.; HABERMEHL, G. Xanthine oxidase inhibitory activity of flavonoids and tannins from *Hexachlamys edulis* (Myrtaceae). *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.10, 260-262, 1996.
- SCHULTES, R.E.; HOFMANN, A. *Plantas de los dioses: orígenes del uso de los alucinógenos*. 2.ed. México: Fondo de Cultura Económica, 2000. 208p.
- SETZER, W.N.; SETZER, M.C.; MORIARITY, D.M.; BATES, R.B.; HABER, W.A. Biological activity of the essential oil of *Myrcianthes* sp. nov. "black fruit" from Monteverde, Costa Rica. *Planta Med.*, Stuttgart, v.65, p.468-469, 1999.
- SHARMA, S.B.; NASIR, A.; PRABHU, K.M.; MURTHY, P.S.; DEV, G. Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.85, p.201-206, 2003.
- SILVA, M.G. *Estudo farmacognóstico de Myrciaria glomerata* Berg. – Myrtaceae. São Paulo, 2001. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- SLOWING, K.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Anti-inflammatory activity of leaf extracts of *Eugenia jambos* in rats. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.43, p.9-11, 1994.
- SLOWING, K.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Anti-inflammatory compounds of *Eugenia jambos*. *Phytother. Res.*, Bognor Regis, v.10, suppl., p.S126-S127, 1996.
- SLOWING, K.; SÖLLHUBER, M.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Flavonoid glycosides from *Eugenia jambos*. *Phytochemistry*, Amsterdam, v.37, n.1, p.255-258, 1994.

- SOBRAL, M. Alterações nomenclaturais. *Bol. Mus. Bot. Munic.*, Curitiba, v.63, p.1-4, 1985.
- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. San Francisco: W. H. Freeman, 1969. 776p. (A Series of books in biology).
- SOUZA, L.K.H.; OLIVEIRA, C.M.A.; FERRI, P.H.; SANTOS, S.C.S.; OLIVEIRA-JÚNIOR, J.G.; MIRANDA, A.T.B.; LIÃO, L.M.; SILVA, M.R.R. Antifungal properties of brazilian cerrado plants. *Braz. J. Microbiol.*, São Paulo, v.33, p.247-249, 2002.
- STAHL, E. *Thin-layer chromatography: a laboratory handbook*. 2.ed. Berlin: Heidelberg; New York: Springer-Verlag. 1969. 979p.
- STOCKS, J.; GUTTERIDGE, J.M.C.; SHARP, R.J.; DORMANDY, T.L. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids. *Clin. Sci. Mol. Med.*, Oxford, v.47, p.215-222, 1974.
- SUKSAMRARN, A.; BROPHY, J.J. The volatile oil of *Eugenia javanica* Lamk. *Flavour Fragrance J.*, Bognor Regis, v.2, n.1, p.37-40, 1987.
- TÁBORA, E.; BERTRAND, L. Aislamiento de una lectina termoestable de las semillas de *Eugenia jambos*. *Rev. Latinoam. Quim.*, Naucalpan de Juarez, v.11, p.134-136, 1980.
- TAHKTAJAN, A.L. Outline of classification of flowering plants. *Bot. Rev.*, Lancaster, v.46, n.3, p.225-359, 1980.
- TEISSEDE, P.L.; WATERHOUSE, A.L. Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties. *J. Agric. Food Chem.*, Columbus, v.48, n.9, p.3801-3805, 2000.
- THEODULOZ, C.; FRANCO, L.; FERRO, E.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Xanthine oxidase inhibitory activity of Paraguayan Myrtaceae. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.24, p.179-183, 1988.
- TIMBOLA, A.K.; SZPOGANICZ, B.; BRANCO, A.; MONACHE, F.D.; PIZZOLATTI, M.G. A new flavonol from leaves of *Eugenia jambolana*. *Fitoterapia*, Milano, v.73, p.174-176, 2002.

- TREVISAN, L.M.; BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. Carbohydrates, organic acids and anthocyanins of *Myrciaria jaboticaba*, Berg. *J. Food Sci.*, Chicago, v.37, p.818-819, 1972.
- TUCKER, A.O.; MACIARELLO, M.J.; LANDRUM, L.R. Volatile leaf oil of *Myrcianthes coquimbensis* (Barnéoud) Landrum et Grifo (Myrtaceae) of Chile. *J. Essent. Oil Res.*, Carol Stream, v.14, p.40-41, 2002.
- VAN WYK, A.E.; ROBBERTSE, P.J.; KOK, P.D.F. The genus *Eugenia* L. (Myrtaceae) in Southern Africa: the structure and taxonomic value of stomata. *Bot. J. Linn. Soc.*, Sidcup, v.84, p.41-56, 1982.
- VELÁZQUEZ, E.; TOURNIER, H.A.; BUSCHIAZZO, P.M.; SAAVEDRA, G.; SCHINELLA, G.R. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. *Fitoterapia*, Milano, v.74, p.91-97, 2003.
- VIKRANT, V.; GROVER, J.K.; TANDON, N.; RATHI, S.S.; GUPTA, N. Treatment with extracts of *Momordica charantia* and *Eugenia jambolana* prevents hyperglycemia and hyperinsulinemia in fructose fed rats. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.76, p.139-143, 2001.
- WADT, N.S.Y.; OHARA, M.T.; SAKUDA-KANEKO, T.M.; BACCHI, E.M. Ação antimicrobiana de *Leonurus sibiricus* L. *Rev. Bras. Farmacogn.*, São Paulo, v.5, p.167-174, 1996.
- WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. 2.ed. New York: Springer-Verlag, 1996. 384p.
- WALL, M.E.; WANI, M.C.; BROWN, D.M.; FULLAS, F.; OSWALD, J.B.; JOSEPHSON, F.F.; THORNTON, N.M.; PEZZUTO, J.M.; BEECHER, C.W.W.; FARNSWORTH, N.R.; CORDELL, G.A.; KINGHORN, A.D. Effect of tannins on screening of plant extracts for enzyme inhibitory activity and techniques for their removal. *Phytomedicine*, Jena, v.3, n.3, p.281-285, 1996.
- WASICKY, R. Uma modificação do aparelho de Clevenger para extração de óleos essenciais. *Rev. Fac. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo*, São Paulo, v.1, p.77-81, 1963.

- WAZLAWIK, E.; SILVA, M.A.; PETERS, R.R.; CORREIA, J.F.G.; FARIAS, M.R.; CALIXTO, J.B.; RIBEIRO-DO-VALLE, A.R.M. Analysis of the role of nitric oxide in the relaxant effect of the crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* in the rat thoracic aorta. *J. Pharm. Pharmacol.*, Wallingford, v.49, p.433-437, 1997.
- WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL-WEYERSTAHL, H.; CHRISTIANSEN, C.; OGUNTMEIN, O.; ADEOYE, A.O. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil. *Planta Med.*, Stuttgart, v.54, p.546-549, 1988.
- WITTHAWASKUL, P., PANTHONG, A., KANJANAPOTHI, D., TAESOTHIKUL, T., LERTPRASERTSUKE, N. Acute and subacute toxicities of the saponin mixture isolated from *Schefflera leucantha* Viguiet. *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.89, p.115-121, 2003.
- YANG, L.L.; LEE, C.Y.; YEN, K.Y. Induction of apoptosis by hydrolyzable tannins from *Eugenia jambos* L. on human leukemia cells. *Cancer Lett.*, Amsterdam, v.157, p.65-75, 2000.
- YAZAKI, Y. Polyphenols and triterpenoids of *Eugenia gustavioides* wood. *Phytochemistry*, Amsterdam, v.16, p.139-140, 1977.
- YOKOZAWA, T.; CHEN, C.P.; TANAKA, T. Direct scavenging of nitric oxide by traditional crude drugs. *Phytomedicine*, Jena, v.6, n.6, p.453-463, 1999/2000.
- ZAPATA, S.M.; DUFOUR, J.P. Camu-camu *Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh: chemical composition of fruit. *J. Sci. Food Agric.*, Bognor Regis, v.61, p.349-351, 1993.
- ZHANG, Y.; CHEN, Y. Isobiflorin, a chromone C-glucoside from cloves (*Eugenia caryophyllata*). *Phytochemistry*, Amsterdam, v.45, n.2, p.401-403, 1997.
- ZUANAZZI, J.A.S. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 4.ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2002. p.499-526.

ZYGADLO, J.A.; ROTMAN, A.D.; ALONSO, M.J.P.; NEGUERUELA, A.V.
Leaf oils of two *Myrcianthes* species from Argentina: *M. pungens* (Berg.)
Legrand and *M. cisplatensis* (Camb.) Berg. *J. Essent. Oil Res.*, Carol
Stream, v.9, p.237-239, 1997.