

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Priscila de Lima Paula

Desenvolvimento de formulações farmacêuticas a partir de folhas e ramos de *Plinia cauliflora*:
composições e usos

Juiz de Fora
2025

Priscila de Lima Paula

Desenvolvimento de formulações farmacêuticas a partir de folhas e ramos de *Plinia cauliflora*:
composições e usos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos Ativos.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Luiz Fabri

Coorientador: Prof. Dr. Ângelo Márcio Leite Denadai

Juiz de Fora

2025

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Paula, Priscila de Lima.

Desenvolvimento de formulações farmacêuticas a partir de folhas e ramos de *Plinia cauliflora*: composições e usos / Priscila de Lima Paula. -- 2025.

162 p. : il.

Orientador: Rodrigo Luiz Fabri Coorientador:
Ângelo Márcio Leite Denadai

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2025.

1. *Plinia cauliflora*. 2. Beta-ciclodextrina. 3. Anti-inflamatório. 4. Vasodilatador. 5. Complexos supramoleculares. I. Fabri, Rodrigo Luiz, orient. II. Denadai, Ângelo Márcio Leite, coorient. III. Título.

Priscila de Lima Paula

Desenvolvimento de formulações farmacêuticas a partir de folhas e ramos de *Plinia cauliflora*:
composições e usos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos Ativos.

Aprovada em **16 de maio de 2025**.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Rodrigo Luiz Fabri - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Ângelo Márcio Leite Denadai - Coorientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Gilson Costa Macedo

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dra. Luciana Moreira Chedier

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Marcelo Gonzaga de Freitas Araújo

Universidade Federal de São João del Rei

Dr. Renato Dantas de Medeiros

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Juiz de Fora, 14/04/2025.



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Luiz Fabri, Chefe de Departamento**, em 16/05/2025, às 09:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Moreira Chedier, Professor(a)**, em 16/05/2025, às 13:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gilson Costa Macedo, Professor(a)**, em 16/05/2025, às 13:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Gonzaga de Freitas Araújo, Usuário Externo**, em 16/05/2025, às 13:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Angelo Marcio Leite Denadai, Diretor(a)**, em 16/05/2025, às 14:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renato Dantas de Medeiros, Usuário Externo**, em 19/05/2025, às 11:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-UFJF (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **2348752** e o código CRC **0BA88EA8**.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmãos, por sempre acreditarem no meu potencial e me ensinarem, com amor e exemplo, o valor da dedicação e da persistência, pelo incentivo constante e por apoiarem minhas escolhas com carinho e confiança.

Ao Pepe, que está comigo hoje, sempre carinhoso, disposto a ajudar a aliviar os pesos do caminho e a me apoiar com palavras de incentivo e confiança. Sua crença no meu potencial e sua presença leve elevaram meu astral em muitos momentos difíceis. Minha gratidão por tanto.

Aos amigos que me acompanharam durante o mestrado e doutorado, em especial à Roberta, Laís e Rhaysa por estarem ao meu lado nos momentos mais desafiadores, oferecendo palavras de conforto, escuta atenta e amizade verdadeira.

Ao meu orientador Rodrigo, por abraçar este projeto com entusiasmo e sensibilidade, contribuindo para que ele se tornasse algo do qual me orgulho profundamente. Seu apoio foi fundamental para que eu alcançasse voos maiores.

Ao meu coorientador Ângelo, por sua leveza, profissionalismo e dedicação, sempre disponível, mesmo à distância, nos momentos em que mais precisei, seja para esclarecer dúvidas, seja para me ouvir treinar apresentações. Sua presença foi constante e valiosa em toda a minha formação.

Ao Delfino, técnico do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos (LPNB), por sua generosidade, disposição incansável em ajudar nos desafios do dia a dia experimental e pelas longas conversas que tornaram o ambiente de trabalho mais leve.

Aos colegas de trabalho, que tornaram a jornada mais leve, produtiva e enriquecedora, com parceria, companheirismo e boas memórias.

Agradeço à UFJF, uma universidade renomada que abriu as portas para mim; ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), pela oportunidade de concluir essa etapa tão importante da minha vida; ao LPNB pela forte contribuição com essa jornada e apoio durante a realização do projeto; e à CAPES, pelo apoio financeiro concedido por meio do processo nº 23071.909924/2021-41, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Brasil.

Aos professores e amigos que fiz na Espanha, durante o doutorado sanduíche, que me acolheram de coração aberto, fizeram-me sentir em casa e tornaram-se inesquecíveis. Levarei cada um com carinho por tudo que compartilhamos.

Aos professores com quem tive o privilégio de trabalhar, trocar experiências e aprender ao longo desse percurso. Em especial, aos professores: Luciana Chedier, Angela Resende, José M. Barbosa-Filho, Gilson Macedo, Vinicius Rocha, Guilherme Diniz, Thais Barradas, Michele Munk, Vera Maria Peters. Cada contribuição foi essencial para a construção deste trabalho.

A Deus, por me conceder saúde, força e sabedoria para crescer, aprender e persistir, mesmo diante dos desafios. E a todas as pessoas que, mesmo não mencionadas nominalmente, sabem o quanto foram importantes nesta trajetória e deixaram suas marcas na construção desta jornada.

RESUMO

Plinia cauliflora (DC.) Kausel, também nomeada como *Plinia peruviana*, é popularmente conhecida como “jabuticaba” e pertence à família Myrtaceae. A espécie é amplamente distribuída no Brasil, com potencial terapêutico reconhecido principalmente através das propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, vasodilatadoras e cicatrizantes. Contudo, a literatura científica concentra-se majoritariamente na investigação dos frutos, havendo escassez de dados relacionados às atividades biológicas de outros órgãos da espécie menos exploradas e subutilizadas, como folhas e ramos. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos farmacológicos e toxicológicos dos extratos etanólico das folhas (EEF) e ramos (EER) de *P. cauliflora*, bem como de seus complexos supramoleculares com β -ciclodextrina (EEF/ β CD e EER/ β CD), com foco em seu potencial terapêutico, especialmente quanto às atividades anti-inflamatória e vasodilatadora, por meio das vias tópica e oral, respectivamente. A formação dos complexos foi confirmada por técnicas espectroscópicas por RMN e Raman. A biodisponibilidade dos fenólicos foi examinada por digestão simulada *in vitro* pelo protocolo INFOGEST. Ensaios de toxicidade aguda e subcrônica foram avaliados em camundongos Swiss e a viabilidade celular *in vitro* em linhagens de macrófagos (J774A.1) e fibroblastos (L929) pelo método de MTT. A atividade anti-inflamatória foi analisada pela mensuração da produção de óxido nítrico (NO), corpúsculos lipídicos (CLs) e mediadores inflamatórios relacionados à sua biossíntese (TGF- β e PGE₂), além de interleucinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α). Os efeitos vasodilatadores foram investigados por meio de ensaios de relaxamento vascular *ex vivo* em anéis de aorta de ratos Wistar. Através da atividade vasodilatadora, todas as amostras exibiram efeito máximo (E_{max}) superior a 80%, possivelmente mediada pela via do NO. Neste trabalho, foram também desenvolvidas formulações tópicas contendo os extratos e seus complexos inseridos em base Lanette[®], as quais foram submetidas às caracterização físico-química e reológica por espectroscopia FTIR, análises térmicas (TGA/DTA) e ensaios viscoelásticos. As caracterizações físico-químicas demonstraram interações entre os componentes do extrato com a ciclodextrina. Na formulação, foi também possível identificar interações entre os componentes do extrato ou do complexo com a base Lanette[®]. Estudos junto ao modelo de digestão *in vitro* demonstraram que a complexação de EER com β CD conferiu maior estabilidade gástrica aos fenólicos, além de favorecer sua absorção intestinal. Os testes toxicológicos *in vivo* indicaram ausência de efeitos adversos significativos para EER e EER/ β CD (DL₅₀ > 1000 mg/Kg) e parâmetros bioquímicos e hematológicos sugestivos de adaptações fisiológicas, sem toxicidade hepática ou renal significativa, sendo EER/ β CD superior ao extrato. Para o ensaio de viabilidade celular *in vitro*, EEF/ β CD atenuou a citotoxicidade do EEF em concentrações elevadas para ambas linhagens celular. A atividade anti-inflamatória foi expressiva, com destaque para EEF/ β CD que reduziu 73,1% de NO, 67% de CLs, 88% de TGF- β e 52% de PGE₂, e se mostrou eficaz diante das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α . As formulações tópicas à base de Lanette[®] mostraram características macroscópicas satisfatórias e adequação para aplicação dermatológica. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que os extratos de *P. cauliflora*, isolados ou complexados com β CD, apresentam propriedades farmacológicas promissoras para o uso de condições inflamatórias e cardiovasculares. A complexação com β CD mostrou-se uma estratégia eficiente para otimização da estabilidade, biodisponibilidade e eficácia dos fenólicos. Estudos adicionais são recomendados para validar os achados em modelos *in vivo* e clínicos, bem como para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos nas atividades observadas.

Palavras-chave: *Plinia cauliflora*. β -ciclodextrina. Anti-inflamatório. Vasodilatador. Complexos supramoleculares.

ABSTRACT

Plinia cauliflora (DC.) Kausel, also known as *Plinia peruviana*, is commonly referred to as jabuticaba and is a member of the Myrtaceae family. The species is widely distributed in Brazil, and its therapeutic potential is recognized mainly through its antioxidant, anti-inflammatory, vasodilating and healing properties. However, the scientific literature has focused primarily on the study of the fruits, with limited data available on the biological activities of the less studied and underutilized parts of the plant, such as the leaves and branches. In this context, the present study aimed to evaluate the pharmacological and toxicological effects of the ethanolic extracts of the leaves (EEL) and branches (EEB) of *P. cauliflora*, as well as their supramolecular complexes with β -cyclodextrin (EEL/ β CD and EEB/ β CD). The study focused on their therapeutic potential, particularly in terms of anti-inflammatory and vasodilatory activities, via topical and oral administration, respectively. The formation of the complexes was confirmed by spectroscopic techniques including nuclear magnetic resonance (NMR) and Raman spectroscopy. The bioavailability of the phenolic compounds was evaluated by simulated *in vitro* digestion according to the INFOGEST protocol. Acute and subchronic toxicity assays were performed in Swiss mice, and *in vitro* cell viability was evaluated in macrophage (J774A.1) and fibroblast (L929) cell lines using the MTT assay. The anti-inflammatory activity was assessed by measuring nitric oxide (NO) production, lipid droplets (LDs) formation, and inflammatory mediators related to their biosynthesis (TGF- β and PGE₂), in addition to pro-inflammatory interleukins (IL-1 β , IL-6, IL-12, and TNF- α). The vasodilatory effects were assessed by *ex vivo* vascular relaxation assays using Wistar rat aortic rings. It was observed that all samples exhibited a maximal vasodilator effect (E_{max}) greater than 80%, possibly mediated by the NO pathway. Topical formulations were developed using the extracts and their complexes, which were incorporated into a Lanette[®] base. These formulations were then subjected to physicochemical and rheological characterization by FTIR spectroscopy, thermal analysis (TGA/DTA) and viscoelastic tests. The physicochemical characterizations confirmed interactions between the extract components and β CD. The formulations also identified the presence of interactions between the extract or complex components and the Lanette[®] base. Studies using the *in vitro* digestion model demonstrated that complexation of EEB with β CD resulted in enhanced gastric stability of the phenolic compounds and improved their intestinal absorption. *In vivo* toxicological studies showed no significant adverse effects for EEB and EEB/ β CD (LD₅₀ > 1000 mg/Kg), and biochemical and haematological parameters suggested physiological adaptations without relevant hepatic or renal toxicity, with EEB/ β CD showing superior safety compared to the free extract. In the *in vitro* cell viability assay, EEL/ β CD reduced the toxicity of EEL at higher concentrations in both cell lines. The anti-inflammatory activity was particularly noteworthy, especially for EEL/ β CD, which reduced NO by 73.1%, LDs by 67%, TGF- β by 88%, and PGE₂ by 52%. The study also demonstrated effective modulation of the cytokines IL-1 β , IL-6, IL-12 and TNF- α . The Lanette[®] based formulations demonstrated satisfactory properties for dermatological application. *P. cauliflora* extracts, whether isolated or complexed with β CD, exhibit pharmacological properties for managing inflammatory and cardiovascular conditions. Complexation with β CD enhances phenolic compounds' stability, bioavailability, and efficacy. Further studies are recommended to validate these findings in models and to elucidate the mechanisms underlying the observed activities.

Keywords: *Plinia cauliflora*. β -Ciclodextrin. Anti-inflammatory. Vasodilator. Supramolecular complexes.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Hábito de *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel cultivada na cidade de Belo Horizonte, nas coordenadas 19°52'30,8" S; 43°58'31,7" O e 820 metros de altitude 23
- Figura 2. *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel cultivada na cidade de Belo Horizonte. Detalhe dos frutos maduros e imaturos 24
- Figura 3. Ilustração das α , β e γ -ciclodextrinas 31
- Figura 4. Representação esquemática das estruturas das ciclodextrinas α , β e γ , com seus respectivos diâmetros de cavidade interna 32
- Figura 5. Representação esquemática da formação de complexo de inclusão entre uma molécula de ciclodextrina e um flavonoide 32
- Figura 6. Esquema de isolamento do leito arterial mesentérico. 1 - Artéria mesentérica sendo canulada. 2 - Isolamento do leito arterial mesentérico. 3 - Leito arterial mesentérico canulado e isolado. 4 - Leito arterial mesentérico no sistema de perfusão e medida da reatividade vascular 51
- Figura 7. Esquema representativo do sistema de perfusão do leito arterial mesentérico (LAM). O sistema é utilizado para avaliação *ex vivo* da reatividade vascular em segmentos do leito arterial mesentérico de ratos 52
- Figura 8. (A) Uma representação esquemática da posição dos hidrogênios na configuração troncocônica da β CD e (B) Espectros de ^1H -RMN da β CD, EER/ β CD e EER, (C) Espectros de ^1H -RMN da β CD, EEF/ β CD e EEF 59
- Figura 9. Espectro de Raman para β CD, extratos e complexo supramolecular dos ramos (A) e das folhas (B) 62
- Figura 10. Curvas dose-resposta cumulativas aos extratos das folhas (A) e dos ramos (B) de *Plinia cauliflora* e seus complexos supramoleculares em anéis de aorta isolada de ratos Wistar, pré-contraídos com norepinefrina 64
- Figura 11. Média do peso corporal (A), consumo de ração (B) e água (C) dos camundongos Swiss machos durante 14 dias de tratamento com EER, EER/ β CD e β CD. 69
- Figura 12. Consumo de água (A) e ração (B), e média do peso corporal (C) dos camundongos Swiss machos durante 42 dias de tratamento com EER, EER/ β CD e β CD. 70
- Figura 13. Fotomicrografia do fígado dos camundongos Swiss machos dos grupos basal (A) e EER 200 mg/Kg (B), com aumento de 40x, corados com hematoxilina-eosina após 42 dias de exposição no ensaio de toxicidade subcrônica 72

Figura 14. Fotomicrografia do fígado dos camundongos dos grupos basal (A), controle negativo (B), β CD (C), EER/ β CD 50 mg/Kg (D), EER/ β CD 100 mg/Kg (E), EER/ β CD 200 mg/Kg (F), com aumento de 40x, corados com hematoxilina-eosina após 42 dias de exposição no ensaio de toxicidade subcrônica	78
Figura 15. Fotomicrografia do fígado do camundongo tratado com EER 100 mg/Kg, corados com hematoxilina-eosina, com aumento de 40x, após 42 dias de exposição.	80
Figura 16. Cromatograma por HPLC-DAD do extrato etanólico das folhas (EEF) de <i>Plinia cauliflora</i>	103
Figura 17. Avaliação da viabilidade celular em 3 linhagens celulares murinas, fibroblastos L929, macrófagos J774A.1 e macrófagos isolados da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c, na presença de EEF, EEF/ β CD e β CD.....	105
Figura 18. Avaliação da produção de óxido nítrico (NO) em linhagem de macrófagos J774A.1 tratados com EEF, EEF/ β CD e β CD	108
Figura 19. Atividade anti-inflamatória de EEF, EEF/ β CD e β CD. A) Fotomicrografias de macrófagos corados com Nile Red. B) Quantificação por fluorimetria de corpúsculos lipídicos (CLs) utilizando a coloração com Nile Red. C) Dosagem de TGF- β . D) Dosagem de PGE ₂	110
Figura 20. Influência do tratamento com EEF, EEF/ β CD e β CD na produção das citocinas IL-1 β (A), TNF- α (B), IL-6 (C), IL-12 (D).....	113
Figura 21. Formulações à base de Lanette [®] contendo EEF, EEF/ β CD e β CD.	117
Figura 22. DTA (A) e TGA (B) das formulações à base de Lanette [®] contendo EEF, EEF/ β CD e β CD.	120
Figura 23. FTIR das formulações à base de Lanette [®] contendo EEF, EEF/ β CD e β CD.	123
Figura 24. Varredura oscilatória da amplitude de deformação, de 0,5 a 500 % (em escala logarítmica). Módulos G' e G'' plotados em função da tensão de cisalhamento oscilatória (σ_0) para formulações com EEF (A) e EEF/ β CD (B). C) Valores de tensão de escoamento obtidos a partir dos dados de amplitude do extrato ou complexo supramolecular	125
Figura 25. Varredura oscilatória da frequência de deformação, de 0,0 a 628 rad/s (0,0 a 100 Hz, em escala logarítmica). Módulos G' e G'' plotados em função da frequência de cisalhamento oscilatório (ω / Hz) para formulações com EEF (A) e EEF/ β CD (B). C) Dados de frequência crítica em função da concentração de extrato ou complexo supramolecular. Experimentos realizados a 87,92 rad/s (14 Hz) e 25 °C	128

Figura 26. Varredura de temperatura em modo oscilatório para formulações com EEF (A) e EEF/ β CD (B).....	131
Figura 27. A) e B) Experimentos de fluência para curto intervalo de tempo (0 a 1 s) respectivamente para as amostras sem e com β CD. Tensão constante de 5 Pa. C) e D) experimento de fluência em longo intervalo de tempo (de 0 a 900 s).....	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação dos grupos experimentais de camundongos Swiss machos submetidos à administração oral no ensaio de toxicidade aguda	54
Tabela 2. Identificação dos grupos experimentais de camundongos Swiss machos submetidos à administração oral no ensaio de toxicidade subcrônica.....	55
Tabela 3. Deslocamento químico dos sinais de ^1H para βCD , EER/ βCD e EEF/ βCD em D_2O a $25\text{ }^\circ\text{C}$ e variações nos valores de deslocamento químico dos átomos de hidrogênio na molécula de βCD	61
Tabela 4. Efeito máximo (E_{max}) da vasodilatação e dose inibitória de 50% do efeito da norepinefrina (ID_{50}).....	66
Tabela 5. Peso médio dos camundongos Swiss machos após 42 dias de tratamento com EER, EER/ βCD e βCD e peso médio dos principais órgãos extraídos após eutanásia.	74
Tabela 6. Parâmetros bioquímicos observados para toxicidade subcrônica em camundongos Swiss machos tratados com EER, EER/ βCD e βCD	76
Tabela 7. Parâmetros hematológicos observados para toxicidade subcrônica em camundongos Swiss machos tratados com EER, EER/ βCD e βCD	82
Tabela 8. Avaliação do conteúdo de fenólicos do EER e do EER/ βCD em condições de pré e pós-digestão e bioacessibilidade.....	84
Tabela 9. Equações das curvas de calibração dos padrões analíticos e respectivos coeficientes de correlação (R^2) obtidos na análise por HPLC-DAD.....	91
Tabela 10. Formulação padronizada da base Lanette [®]	97
Tabela 11. Aspectos visuais das formulações à base de Lanette [®] contendo EEF, EEF/ βCD e βCD	116
Tabela 12. Parâmetros térmicos (obtidos por DTA e TGA) para a primeira decomposição das formulações à base de Lanette [®] contendo EEF, EEF/ βCD e βCD , intervalo de 70 a $140\text{ }^\circ\text{C}$	121

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α CD: alfa-ciclodextrina

ABTS: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotazolina-6-ácido sulfônico)

ACh: Acetilcolina

AIES: Anti-inflamatórios esteroidais

AINES: Anti-inflamatórios não esteroidais

ALT: Alanina aminotransferase

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AST: Aspartato aminotransferase

β CD: Beta-ciclodextrina

CD(s): Ciclodextrina(s)

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

cGMP: Guanilato ciclase solúvel/monofosfato cíclico de guanosina

CN: Controle Negativo

CO₂: Dióxido de carbono (gás carbônico)

COX: Enzima ciclooxigenase

DCV: Doenças cardiovasculares

DL₅₀: Dose letal mediana

DMSO: Dimetilsulfóxido

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

ECA: Enzima conversora de angiotensina

EDRF: Fator de relaxamento derivado do endotélio

EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora*

EEF/ β CD: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com β -ciclodextrina

EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*

EER/ β CD: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com β -ciclodextrina

EFC: Extrato de fumaça de cigarro

ELISA: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

E_{max}: Efeito máximo

EROs: Espécies reativas de oxigênio

FTIR: Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

γ CD: Gama-ciclodextrina

GGT: Gama glutamil transpeptidase
GTP: Guanosina trifosfato
H₂O₂: Peróxido de hidrogênio
HP-βCD: 2-Hidroxiopropil-beta-ciclodextrina
HPLC-QTOF-MS: Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com tempo de voo.
ID₅₀: Dose inibitória de 50%
IL-1β: Interleucina-1-beta
IL-6: Interleucina-6
IL-8: Interleucina-8
IL-12: Interleucina-12
LDL: Lipoproteína de baixa densidade
L-NAME: N-nitro-L-arginina metil éster
LAM: Leito arterial mesentérico
LPS: Lipopolissacarídeo
MAPKs: Mitogen-Activated Protein Kinases (MAP Quinase)
MMP-1: Metaloproteinase de matriz 1
NE: Norepinefrina
NF-κB: Fator nuclear kappa B
NO: Óxido nítrico
NOS: Óxido nítrico sintase
O₂: Oxigênio
O₂⁻: Ânion superóxido
P.A.: Padrão analítico
PGE₂: Prostaglandina E2
PKG: Proteína quinase G
RMN: Ressonância Magnética Nuclear
SAECs: *Small Airway Epithelial Cells* (células epiteliais das vias aéreas inferiores)
sGC: Guanilato ciclase solúvel
SUS: Sistema Único de Saúde
TNF-α: Fator de Necrose Tumoral alfa
TGF-β: Fator de crescimento transformador beta
TGA: Termogravimetria

LISTA DE SÍMBOLOS

$\Delta\delta$: Variação nos valores de deslocamento químico.

%: Porcentagem.

Da: Daltons.

log $K_{o/a}$: Coeficiente de partição.

cm: Centímetro

cm⁻¹: Centímetro inverso ou número de onda (espectroscopia)

°C: Graus Celsius.

μg : Micrograma.

μL : Microlitro.

μm : Micrômetro.

μM : Micromolar.

g: Gramas

g/L: Grama por litro

h: Horas

Kg: Quilograma

M: Molar

mbar: Milibar (unidade de pressão atmosférica)

mg/Kg: Miligrama por quilograma.

mg/mL: Miligrama por mililitro.

MHz: Megahertz

min: Minutos

mL/min: Mililitro por minuto.

mm: Milímetro

mmHg: Milímetros de mercúrio.

mW: Megawatt

nm: Nanômetro.

nmol: Nanomole

pmol: Picomol

ppm: Partes por milhão

U/mL: Unidades por mililitro

U/L: Unidades por litro.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	18
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1	<i>PLINIA CAULIFLORA</i> (DC.) KAUSEL	22
2.2	ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE <i>PLINIA CAULIFLORA</i>	25
2.2.1	Atividade antioxidante	25
2.2.2	Atividade anti-inflamatória	27
2.2.3	Atividade vasodilatadora	28
2.3	CICLODEXTRINAS E SEUS COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES COM OS EXTRATOS VEGETAIS	30
2.4	FITOTERÁPICOS: FORMULAÇÕES ORAL E TÓPICA	35
	REFERÊNCIAS	39
3.	DIVISÃO DOS CAPÍTULOS	45
	CAPÍTULO 1	47
4.	OBJETIVOS	47
4.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
5.	MATERIAL E MÉTODOS	48
5.1	PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS (EEF E EER) E COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES (EEF/ β CD E EER/ β CD)	48
5.2	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) DOS EXTRATOS (EEF E EER) E COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES (EEF/ β CD E EER/ β CD)	49
5.3	RAMAN DOS EXTRATOS (EEF E EER) E COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES (EEF/ β CD E EER/ β CD)	49
5.4	USO DE ANIMAIS EM EXPERIMENTOS	50
5.5	ISOLAMENTO DO LEITO ARTERIAL MESENTÉRICO (LAM)	50
5.6	AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE DO LEITO ARTERIAL MESENTÉRICO (LAM) AOS EXTRATOS (EEF E EER) E COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES (EEF/ β CD E EER/ β CD)	51
5.7	TOXICIDADE AGUDA <i>IN VIVO</i> DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS	53
5.8	TOXICIDADE SUBCRÔNICA <i>IN VIVO</i> DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS	54

5.9	ANÁLISES HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS	55
5.10	ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS	56
5.11	ESTUDO DA DIGESTÃO <i>IN VITRO</i> E BIOACESSIBILIDADE DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS	56
5.12	ANÁLISE ESTATÍSTICA	57
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
6.1	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES DAS FOLHAS (EEF) E DOS RAMOS (EER/ β CD)	58
6.2	RELAXAMENTO VASCULAR	63
6.3	TOXICIDADE AGUDA E SUBCRÔNICA DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS	67
6.4	ESTUDO DA DIGESTÃO E BIOACESSIBILIDADE DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS	83
7.	CONCLUSÃO	86
	REFERÊNCIAS	87
	CAPÍTULO 2	89
8.	OBJETIVOS	89
8.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	89
9.	MATERIAL E MÉTODOS	90
9.1	PREPARAÇÃO DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	90
9.2	DETERMINAÇÃO DO PERFIL FENÓLICO DO EXTRATO DAS FOLHAS (EEF) POR HPLC-DAD	90
9.3	AQUISIÇÃO DE ANIMAIS	91
9.4	CULTURA DE CÉLULAS	91
9.5	VIABILIDADE CELULAR <i>IN VITRO</i> DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	92
9.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	93
9.6.1	Dosagem de óxido nítrico (NO) em macrófagos estimulados com LPS e IFN-γ	93

9.6.2	Avaliação da presença de corpúsculo lipídico em macrófagos estimulados com LPS e IFN-γ	94
9.6.3	Quantificação de TGF-β em macrófagos estimulados com LPS e IFN-γ	95
9.6.4	Quantificação de PGE₂ em macrófagos estimulados com LPS e IFN-γ	95
9.7	ATIVIDADE IMUNOMODULADORA DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	96
9.8	PREPARO DA BASE LANETTE [®]	96
9.9	INCORPORAÇÃO DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS NA BASE LANETTE [®]	97
9.10	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	97
9.10.1	Análise de centrifugação	98
9.10.2	Análises organolépticas	98
9.11	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	99
9.11.1	Potencial hidrogeniônico (pH)	99
9.11.2	Análise Térmica Diferencial (DTA) e Termogravimétrica (TGA)	99
9.11.3	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FTIR)	100
9.12	ANÁLISE REOLÓGICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	100
9.13	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS	101
10.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	102
10.1	PERFIL FENÓLICO DO EXTRATO DAS FOLHAS (EEF) POR HPLC-DAD	102
10.2	VIABILIDADE CELULAR DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	104
10.3	ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	107
10.4	CARACTERIZAÇÃO MACROSCÓPICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	115

10.5	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	119
10.5.1	Análise térmica (DTA e TGA)	119
10.5.2	Análise no FTIR	121
10.6	ANÁLISE REOLÓGICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS	123
10.6.1	Cisalhamento oscilatório e varredura de amplitude	124
10.6.2	Cisalhamento oscilatório e varredura de frequência	127
10.6.3	Cisalhamento oscilatório e rampa de temperatura	130
10.6.4	Experimento de fluência em curto intervalo de tempo	132
11.	CONCLUSÃO	135
	REFERÊNCIAS	136
12.	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	141
	APÊNDICE	143
	ANEXO	145

1. INTRODUÇÃO

Plantas medicinais ricas em fenólicos têm sido historicamente empregadas para fins terapêuticos, exibindo propriedades anti-inflamatórias eficazes no tratamento de diversas afecções cutâneas (Costa *et al.*, 2022; Mellou *et al.*, 2019). As espécies vegetais sempre desempenharam um papel relevante na história da medicina. A utilização de plantas com propósitos terapêuticos constitui uma das práticas medicinais mais antigas da humanidade, e muitos medicamentos contemporâneos têm sua origem direta ou indireta em produtos naturais (Hoffmann *et al.*, 2024). Estima-se que aproximadamente 40% dos fármacos atualmente disponíveis na clínica sejam derivados de metabólitos secundários de origem vegetal ou de suas estruturas químicas fundamentais (Calixto, 2019; Nguyen-Vo *et al.*, 2020). A biodiversidade brasileira, em particular, representa um vasto potencial para a descoberta de novos agentes terapêuticos, e as espécies da família Myrtaceae, como a *Plinia cauliflora*, têm despertado crescente interesse científico devido às suas propriedades farmacológicas e ao seu uso tradicional (Paula *et al.*, 2024).

A *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, também nomeada como *Plinia peruviana* e popularmente conhecida como “jabuticaba”, é uma espécie frutífera nativa da Mata Atlântica, amplamente distribuída no território brasileiro. Seus frutos são consumidos *in natura* e também utilizados na elaboração de diversos produtos alimentícios, como sucos, geleias, licores e vinhos, representando um importante recurso econômico e nutricional (Wang *et al.*, 2014). Adicionalmente à sua relevância alimentícia, diferentes partes da planta, incluindo cascas, sementes e bagaço, têm sido tradicionalmente empregadas na medicina popular no tratamento de distúrbios inflamatórios e gastrointestinais. Essa aplicação se deve à presença de substâncias bioativas relevantes, que conferem à espécie um importante potencial terapêutico (Galvão *et al.*, 2021; Inada *et al.*, 2020).

Esse potencial tem motivado uma série de investigações científicas, que evidenciam diversas propriedades farmacológicas atribuídas à espécie, incluindo atividades antioxidante (De Souza *et al.*, 2017; Paula *et al.*, 2021), anti-inflamatória (Zhao *et al.*, 2019; Paula *et al.*, 2021), cardioprotetora (Gasparotto Junior *et al.*, 2011), hipolipemiantes (Araújo *et al.*, 2014), antiproliferativa (Wang *et al.*, 2014) e antimutagênica (Leite-Legatti *et al.*, 2012). Tais evidências reforçam o potencial da *P. cauliflora* como candidata promissora para o desenvolvimento de fitoterápicos. Contudo, um dos principais desafios relacionados à aplicação de extratos vegetais em formulações farmacêuticas reside na baixa solubilidade em meio aquoso

e na instabilidade de muitas substâncias bioativas, fatores que podem comprometer sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, sua eficácia terapêutica (Moya-Ortega *et al.*, 2012; Wang, *et al.*, 2014).

Nesse contexto, sistemas de liberação com base em ciclodextrinas, especialmente a β -ciclodextrina (β CD), têm sido amplamente estudados como estratégia para melhorar a solubilidade, estabilidade e desempenho terapêutico de substâncias bioativas (Loftsson e Duchêne, 2007; Zhu *et al.*, 2016). A ciclodextrina é um oligossacarídeo cíclico com estrutura em forma de cone truncado, capaz de formar complexos de inclusão com moléculas hidrofóbicas por meio de interações não covalentes. A formação desses complexos pode resultar em maior estabilidade físico-química, proteção contra degradação e melhora na liberação e absorção dos princípios ativos (Uekama *et al.*, 1998; Brewster e Loftsson, 2007).

Alguns exemplos já documentados de formulações contendo CDs incluem o uso de α -ciclodextrina (α CD) com miconazol e β -ciclodextrina (β CD) com clorafenicol, betametasona, indometacina, nimesulida (Maxsulid[®]) e piroxicam (Cicladol[®]), com o propósito de melhorar a liberação e/ou permeação dos fármacos. Adicionalmente, a complexação de extratos vegetais com β CD tem se mostrado eficaz na potencialização da atividade farmacológica e na ampliação da aplicabilidade terapêutica dos mesmos (Moya-Ortega *et al.*, 2012). Estudos recentes indicam que metabólitos secundários derivados de extratos vegetais complexados com β CD apresentam maior estabilidade térmica, proteção contra oxidação e aumento da atividade biológica, como os alcaloides (Rocks *et al.*, 2012), os fenólicos (Zhao *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2011; Folch-Cano *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2013), os flavonoides (Kalogeropoulos *et al.*, 2009; Lanna *et al.*, 2016), bem como matrizes mais complexas, como óleos essenciais (Kfoury *et al.*, 2018; Rakmai *et al.*, 2018).

Fitoterápicos podem ser administrados por diferentes vias, sendo as formas oral e tópica as mais frequentemente utilizadas, a depender da formulação e do objetivo terapêutico (Brasil, 2021). No Brasil, encontram-se disponíveis no mercado diversos produtos de uso tópico, como o Acheflan[®] (*Cordia verbenacea*) e formulações à base de *Arnica montana*, *Copaifera langsdorffii*, *Calendula officinalis* e *Symphytum officinale* (Brasil, 2021). Nesse cenário, substâncias fenólicas têm se destacado como candidatas promissoras para formulações tópicas no tratamento de doenças inflamatórias cutâneas, devido à sua eficácia terapêutica e à toxicidade reduzida (Arshad *et al.*, 2016; Arshad *et al.*, 2019).

Os cremes, caracterizados como emulsões do tipo óleo em água (O/A), são amplamente utilizados para administração tópica devido à sua capacidade de proporcionar uma sensação

agradável na pele, favorecer a espalhabilidade dos ativos e manter a estabilidade da formulação por longos períodos, especialmente quando associados a agentes estabilizantes que controlam a cinética de instabilidade das emulsões (Al-Bawab *et al.*, 2006). A exemplo dessa forma farmacêutica, a base Lanette[®] é uma emulsão amplamente empregada na farmacotécnica como veículo em formulações dermatológicas e cosméticas. Sua versatilidade e compatibilidade com substâncias bioativas de origem vegetal, como extratos e óleos essenciais, conferem-lhe vantagens em relação a outras bases, tornando-a uma das primeiras opções para o desenvolvimento de formulações tópicas (Monteiro *et al.*, 2022). Estudos demonstram que ela é capaz de estabilizar e proteger essas substâncias, que frequentemente são sensíveis à oxidação ou degradação, garantindo a manutenção de suas propriedades terapêuticas (Rocha de Carvalho *et al.*, 2019). Além disso, sua estrutura facilita a liberação controlada dos ativos, melhorando sua absorção cutânea e, conseqüentemente, sua eficácia (Kauer *et al.*, 2020; Mota *et al.*, 2018).

A via oral também se destaca como rota importante para administração de fitoterápicos, sobretudo aqueles com efeitos cardiovasculares (Varum *et al.*, 2008). Polifenóis presentes em plantas medicinais apresentam efeitos vasodilatadores e cardioprotetores, atuando na manutenção da função endotelial, redução da pressão arterial, diminuição da agregação plaquetária e combate à oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Stoclet *et al.*, 2004; Pérez-Vizcaino e Duarte, 2010). Contudo, a eficácia de substâncias bioativas administrados por via oral depende da superação de barreiras como a baixa solubilidade e o metabolismo de primeira passagem (Chaud *et al.*, 2010; Celestino *et al.*, 2012). A formação de complexos supramoleculares com β CD representa, portanto, uma estratégia eficaz para melhorar a biodisponibilidade oral dessas substâncias (Szente e Szejtli, 2004; Moya-Ortega *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, o nosso grupo de pesquisa tem investigado o potencial farmacológico da *P. cauliflora*. Demonstrou-se previamente as atividades antioxidante e anti-inflamatória dos extratos etanólico das folhas (EEF) e ramos (EER) de *P. cauliflora*, bem como de seus complexos supramoleculares com β CD (Paula *et al.*, 2021; 2023; patente BR 10 2020 0183249). Esses resultados, corroborados por dados fitoquímicos que confirmam a presença de fenólicos, com ênfase nos flavonoides e taninos, foram compilados em uma revisão recente que destaca a importância do aproveitamento integral da espécie e os avanços científicos quanto às suas propriedades farmacológicas (Paula *et al.*, 2024) (Anexo).

Diante do exposto, o presente trabalho visa aprofundar a avaliação dos efeitos farmacológicos do (EEF) e de seu complexo com β CD (EEF/ β CD) para aplicação tópica, por

meio do desenvolvimento de formulações em creme base Lanette[®], com foco na sua atividade anti-inflamatória cutânea. Paralelamente, objetiva-se investigar o EER e seu complexo (EER/ β CD) para possível aplicação oral como fitoterápico vasodilatador no tratamento de doenças cardiovasculares.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A presente seção tem como objetivo apresentar os principais fundamentos teóricos e avanços científicos relacionados ao escopo deste trabalho. Inicialmente, são abordados aspectos botânicos, etnofarmacológicos e fitoquímicos de *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, destacando sua origem, distribuição e o conhecimento tradicional associado à espécie. Em seguida, são discutidas as evidências disponíveis na literatura quanto às atividades biológicas atribuídas a seus extratos, com ênfase nas ações antioxidante, anti-inflamatória e vasodilatadora.

Na sequência, são exploradas as propriedades físico-químicas e aplicabilidades das ciclodextrinas, especialmente no contexto da formação de complexos supramoleculares com substâncias bioativas de origem vegetal, visando à melhoria da estabilidade, solubilidade e biodisponibilidade dessas substâncias. Por fim, discute-se a importância das formulações fitoterápicas, com destaque para as vias de administração oral e tópica, considerando os desafios tecnológicos e terapêuticos envolvidos no desenvolvimento de produtos farmacêuticos à base de extratos vegetais.

2.1 *Plinia cauliflora* (DC.) KAUSEL

Plinia cauliflora (DC.) Kausel é popularmente conhecida como “jaboticaba” ou “jaboticabeira” (Flora do Brasil, 2025). A árvore frutífera (Figura 1) do bioma da Mata Atlântica pertence à família Myrtaceae, que compreende o total de 109 gêneros vegetais, e tem como sinônimos *Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts, *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel, *Eugenia cauliflora* (Mart.) DC.; *Eugenia jaboticaba* (Vell.) Kiaersk.; *Myrcia jaboticaba* (Vell.) Baill.; *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg; *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg; *Myrtus cauliflora* Mart.; *Myrtus jaboticaba* Vell.; e *Plinia jaboticaba* (Vell.) Kausel (Flora do Brasil, 2025; The Plant List, 2025). Trata-se de uma árvore de médio porte, que pode alcançar entre 10 e 12 metros de altura, com tronco liso, de coloração que varia do marrom claro ao bege acinzentado, frequentemente descamante e ramificado desde a base (Lorenzi *et al.*, 2006). Seus ramos são cilíndricos, delgados e glabros; as folhas simples, opostas, de consistência coriácea, com formato elíptico a oblongado, medindo entre 2 a 4 cm de comprimento e 0,6 a 2 cm de largura (Jesus *et al.*, 2004). Uma das características mais marcantes da espécie é sua floração cauliflora, na qual as flores se desenvolvem diretamente no tronco e em ramos lenhosos mais antigos.

Essas flores são pequenas, brancas, hermafroditas e compostas por numerosos estames, conferindo à planta uma aparência peculiar durante o florescimento (Lorenzi *et al.*, 2006).

Figura 1. Hábito de *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel cultivada na cidade de Belo Horizonte, nas coordenadas 19°52'30,8" S; 43°58'31,7" O e 820 metros de altitude.



Fonte: Paula *et al.*, 2024.

Os frutos (Figura 2) de *P. cauliflora* são bagas globosas, de coloração arroxeadas a negra quando maduras, medindo entre 1 e 4 cm de diâmetro e contendo de um a quatro sementes (Jesus *et al.*, 2004). Apresentam polpa suculenta, de coloração branca ou rosada, com sabor adocicado e aroma característico o que conferiu à jabuticabeira a nomeação coloquial de “Árvore de uvas brasileiras” (Wang *et al.*, 2014). A frutificação pode ocorrer várias vezes ao ano, dependendo das condições ambientais, especialmente em regiões com alta umidade e sombra parcial (Citadin *et al.*, 2010). A espécie ocorre predominantemente nas regiões Sudeste do Brasil, especialmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro, preferindo solos argilosos, bem drenados e ricos em matéria orgânica (Citadin *et al.*, 2010; Gasparotto Junior *et al.*, 2019). Além de sua importância como planta frutífera, *P. cauliflora* possui destaque na medicina tradicional brasileira.

Figura 2. *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel cultivada na cidade de Belo Horizonte. Detalhe dos frutos maduros e imaturos.



Fonte: Autoria própria.

Diversas partes da jaboticabeira são tradicionalmente utilizadas na medicina popular brasileira no tratamento de uma ampla variedade de enfermidades (Paula *et al.* 2024). As cascas dos frutos são comumente empregadas na forma de infusões no manejo de distúrbios gastrointestinais, como diarreias e disenterias, além de serem indicadas para o alívio de inflamações crônicas das amígdalas. Os frutos, por sua vez, são utilizados popularmente no tratamento de hemoptises e afecções respiratórias, incluindo tosse e asma (Wang *et al.*, 2014; Gasparotto *et al.*, 2019). Já as folhas e os ramos, embora comumente descartados para fins alimentícios, são amplamente valorizados no uso etnomedicinal, sobretudo em comunidades tradicionais. O uso popular dessas partes vegetais para o tratamento de disenteria e diarreia é particularmente difundido na região nordeste do Brasil (Agra *et al.*, 2008). Além disso, preparações caseiras como infusões e decocções são tradicionalmente utilizadas para o manejo de afecções cutâneas, bronquite e asma, sendo atribuídas a essas estruturas propriedades adstringentes e antioxidantes (Gasparotto Junior *et al.*, 2019; Souza-Moreira *et al.*, 2013).

Conforme relatos da literatura, *P. cauliflora* apresenta inúmeras atividades biológicas. Dentre elas, destacam-se as propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral (Duarte *et al.*, 2021; Paula *et al.*, 2021), antiparasitária (De Araújo *et al.*, 2014), leishmanicida, antidiarreica (Brito, 2019), antiobesidade (Moura *et al.*, 2021) e fotoprotetora (Cefali *et al.*, 2021). A grande diversidade de atividades biológicas da *P. cauliflora* está associada, em geral, à presença de fenólicos na planta (Paula *et al.*, 2024). As antocianinas, presentes nas cascas dos frutos, são representantes fenólicos que atuam como fortes agentes antioxidantes e anti-inflamatórios (Galvão *et al.*, 2021). Além disso, descreve-se que a jaboticabeira é rica em

flavonoides, procianidinas, ácidos fenólicos e taninos, os quais demonstraram ações antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antialérgica e antitumoral (Reynertson *et al.*, 2008; Paula *et al.*, 2021).

2.2 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Plinia cauliflora*

Investigações etnofarmacológicas possibilitaram a descoberta das propriedades terapêuticas do fruto, casca, tronco e semente de *P. cauliflora*, atualmente utilizadas no desenvolvimento de fitoterápicos, nutracêuticos e cosméticos (Neri-Numa *et al.*, 2018; Inada *et al.*, 2020). Muitas atividades biológicas dessa espécie foram atribuídas aos suas substâncias fenólicas (Paula *et al.*, 2024). Tais substâncias se destacam por quelar radicais oxidativos, podendo neutralizar espécies reativas através da doação de elétrons ou prótons e/ou sequestrar os catalisadores para formação de radicais livres, além de inibir a expressão de interleucina oito (IL-8) e metaloproteinase de matriz 1 (MMP-1) (Lenquiste *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2019).

Além de sua reconhecida atividade antioxidante, os fenólicos, particularmente os flavonoides, têm demonstrado efeitos cardioprotetores relevantes, incluindo propriedades anti-hipertensivas descritas na literatura. Evidências experimentais indicam que o consumo regular de flavonoides pode contribuir para a redução da pressão arterial, efeito associado à capacidade desses metabólitos secundários de inibir, *in vitro*, a enzima conversora de angiotensina (ECA). Esse mecanismo de ação, aliado às propriedades antioxidantes expressivas, reforça o potencial terapêutico dos flavonoides na prevenção e no manejo de doenças cardiovasculares (Gasparotto Junior *et al.*, 2011).

2.2.1 Atividade antioxidante

O estresse oxidativo consiste em um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), também conhecidas como radicais livres, e a capacidade do sistema antioxidante biológico de neutralizá-las de forma eficaz. Essa incapacidade de neutralização leva a um acúmulo de radicais livres, os quais, em níveis elevados, desencadeiam danos a componentes celulares essenciais, como lipídios, proteínas e DNA. Essa superprodução de radicais livres, frequentemente originada de um desequilíbrio no metabolismo energético celular, é reconhecidamente prejudicial à saúde, conforme demonstrado por Plaza e colaboradores (2016). A literatura científica tem consistentemente associado o estresse

oxidativo a uma variedade de condições patológicas de impacto significativo na saúde pública. Entre essas condições, destacam-se a diabetes mellitus tipo 2, uma desordem metabólica caracterizada pela hiperglicemia e frequentemente acompanhada de resistência à insulina (Ghosh e Konishi, 2007; Matsuzawa-Nagata *et al.*, 2008) e doenças cardiovasculares e hipertensão arterial (Harrison e Gongora, 2009), as quais representam importantes causas de morbidade e mortalidade em escala global (Brasil, 2023; WHO, 2024). Diante do aumento preocupante na incidência dessas doenças crônicas em todo o mundo, a pesquisa e o desenvolvimento de novos agentes antioxidantes que possam auxiliar na modulação do estresse oxidativo tornaram-se uma área de grande relevância e foco na investigação científica (Plaza *et al.*, 2016).

Diversos estudos apontam a atividade antioxidante de *P. cauliflora*, dentre os quais destaca-se as pesquisas realizadas por Plaza *et al.* (2016), Cefali *et al.* (2021) e Paula *et al.*, (2021), que analisaram a atividade antioxidante de diferentes estruturas vegetais da jabuticaba. Plaza *et al.* (2016) e Cefali *et al.* (2021) avaliaram a capacidade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico das cascas, respectivamente, utilizando os métodos *in vitro* de sequestro dos radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)). Ambos os estudos demonstraram que os extratos apresentam elevado potencial antioxidante, com eficiência superior a 90% na neutralização dos radicais testados. Adicionalmente, Plaza *et al.* (2016) realizaram a caracterização química das cascas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), identificando elagitaninos e galotaninos como os principais metabólitos responsáveis pela atividade antioxidante observada.

Cefali *et al.* (2021) investigaram a atividade antioxidante das cascas dos frutos de jabuticaba por meio de ensaios *in vitro* utilizando os radicais DPPH e ABTS. Os extratos demonstraram elevada capacidade de neutralização de radicais livres, com eficiência superior a 90% em ambos os testes. Com base nesses resultados, os autores destacaram o potencial do extrato como ingrediente ativo em formulações cosméticas, especialmente voltadas à prevenção do envelhecimento cutâneo precoce induzido pelo estresse oxidativo.

Paula *et al.* (2021) mostraram a atividade antioxidante dos extratos etanólico obtidos das folhas e ramos de *P. cauliflora*, evidenciando um desempenho promissor frente às diferentes vias de oxidação avaliadas. A ação biológica observada foi atribuída, principalmente, à presença de fenólicos, como flavonoides, taninos e ácidos fenólicos, abundantes nessas estruturas vegetais. Os autores destacam a necessidade de estudos adicionais para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas baseadas nesses extratos. O trabalho também ressalta a relevância

da investigação de partes subutilizadas da planta, como folhas e ramos, promovendo seu reaproveitamento e contribuindo para o avanço da bioeconomia nacional.

2.2.2 Atividade anti-inflamatória

A resposta inflamatória constitui um mecanismo fisiológico essencial, ativado em decorrência de lesões teciduais ou da exposição do organismo a patógenos e agentes nocivos. Esse processo envolve predominantemente a ativação das respostas imune inata e adaptativa, que atuam de forma coordenada para restaurar a homeostase tecidual (Rang *et al.*, 2012). A inflamação é caracterizada pela produção e liberação de diversos mediadores químicos, como as citocinas, quimiocinas e eicosanoides, os quais desempenham papel central na modulação da resposta inflamatória. Esses mediadores são responsáveis pelas manifestações clínicas típicas do processo inflamatório, incluindo dor, vermelhidão, edema, elevação da temperatura local e, em alguns casos, febre sistêmica (Rang *et al.*, 2012; Xiao *et al.*, 2021).

Embora a inflamação desempenhe um papel fundamental na defesa do organismo e na reparação tecidual, sua ativação exacerbada ou prolongada pode resultar em danos celulares e disfunções orgânicas. Nesses casos, torna-se imprescindível o uso de agentes farmacológicos com ação anti-inflamatória, com o objetivo de modular a resposta inflamatória, prevenir lesões adicionais aos tecidos e atenuar os sintomas clínicos, promovendo alívio ao paciente e favorecendo a recuperação funcional (Azab *et al.*, 2016).

Segundo evidências presentes na literatura científica, *P. cauliflora* apresenta potencial promissor para o desenvolvimento de novos agentes anti-inflamatórios de origem vegetal (Azab *et al.*, 2016; Paula *et al.*, 2021). Estudos conduzidos por Paula *et al.* (2021, 2023) demonstraram significativa atividade anti-inflamatória dos extratos etanólico obtidos das folhas e ramos da jabuticabeira, tanto em modelos *in vitro* quanto *in vivo*. No ensaio *in vitro*, utilizando macrófagos da linhagem J774A.1, observou-se uma inibição superior a 95% na produção de óxido nítrico (NO) em sobrenadante celular, na concentração de 125 µg/mL para ambos os extratos testados. No modelo *in vivo*, baseado na indução de edema auricular em camundongos Swiss por aplicação de óleo de cróton, os extratos promoveram uma redução inflamatória superior a 80% após seis horas de tratamento, apresentando eficácia comparável à dexametasona, utilizada como controle positivo ($p < 0,05$).

Diversas espécies de jabuticabeira têm sido objeto de estudos devido à presença de compostos fenólicos com potenciais atividades anti-inflamatória e antioxidante. Entre os

principais bioativos encontrados nos frutos, destacam-se a jabuticabina, a delfinidina-3-*O*-glicosídeo e a cianidina-3-*O*-glicosídeo, que demonstraram capacidade de suprimir a produção de interleucina-8 (IL-8) induzida por extrato de fumaça de cigarro (EFC) em células epiteliais das vias aéreas inferiores (*Small Airway Epithelial Cells*, SAECs), conforme evidenciado por Reynertson *et al.* (2006). Além disso, o ácido elágico, outro composto abundante na jabuticaba, mostrou-se eficaz na inibição da expressão da metaloproteinase de matriz 1 (MMP-1) e de IL-8 em ensaios *in vitro* (Dastmalchi *et al.*, 2012). Mais recentemente, Zhao *et al.* (2019) isolaram, a partir do tronco da jabuticabeira, um derivado do ácido elágico, o ácido 3,3'-dimetilelágico-4-*O*-sulfato, que apresentou significativa atividade anti-inflamatória em SAECs expostas à EFC. Estudos mais recentes corroboram esses achados, sugerindo que os extratos e substâncias isoladas da jabuticaba modulam a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-6, IL-8 e TNF- α , além de atuarem na regulação de vias de sinalização inflamatórias, como fator nuclear kappa B (NF- κ B) e MAP Quinase (MAPKs) (Inada *et al.*, 2021).

2.2.3 Atividade vasodilatadora

O endotélio vascular, composto por uma monocamada de células endoteliais que recobre internamente os vasos sanguíneos, exerce papel fundamental na regulação do tônus vascular e da hemostasia. Dentre os principais mediadores produzidos por essas células destaca-se o óxido nítrico (NO), um gás sinalizador de curta meia-vida com potente ação vasodilatadora e antitrombótica. O NO atua por meio da ativação da enzima guanilato ciclase solúvel (sGC) presente nas células do músculo liso vascular e nas plaquetas, promovendo a conversão do guanosina trifosfato (GTP) em guanosina monofosfato cíclico (cGMP). O aumento dos níveis intracelulares de cGMP ativa a proteína quinase G (PKG), que, por sua vez, promove a desfosforilação da cadeia leve da miosina, resultando no relaxamento do músculo liso e, conseqüentemente, na vasodilatação (Forstermann e Sessa, 2012; Lundberg e Weitzberg, 2022). Além disso, o NO inibe a agregação plaquetária e a proliferação de células musculares lisas, sendo considerado o principal fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF), liberado em resposta a estímulos físico-químicos como o cisalhamento do fluxo sanguíneo e agentes vasoativos (Cyr *et al.*, 2020).

Entretanto, em determinadas condições patológicas do sistema cardiovascular, observa-se um aumento significativo na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o ânion superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o que resulta na redução da

biodisponibilidade de substâncias vasodilatadoras sintetizadas pelo endotélio. Esse desequilíbrio redox compromete a função endotelial e contribui para a progressão de diversas doenças cardiovasculares. Nesse contexto, substâncias com atividade antioxidante despontam como alternativas promissoras para a prevenção e o tratamento dessas enfermidades, uma vez que podem atenuar os efeitos deletérios do estresse oxidativo por meio da neutralização ou redução da concentração de EROs (Larrosa *et al.*, 2010).

A regulação do tônus vascular desempenha papel fundamental no controle da pressão arterial, sendo crucial para a manutenção da homeostase cardiovascular. Nesse contexto, diversos estudos têm demonstrado que substâncias bioativas derivadas de plantas medicinais, como os polifenóis, apresentam efeitos hipotensores e vasodilatadores, contribuindo significativamente para a prevenção e o tratamento de doenças cardiovasculares (Iqbal *et al.*, 2023; Trindade *et al.*, 2022). Os polifenóis, amplamente distribuídos em frutas, vegetais e outras fontes vegetais, exercem suas ações benéficas por meio de múltiplos mecanismos, incluindo a modulação da função endotelial, a redução do estresse oxidativo e a melhoria da biodisponibilidade do NO, um potente vasodilatador endógeno. Além disso, evidências sugerem que a ingestão regular de alimentos ricos em polifenóis está associada a uma menor incidência de eventos cardiovasculares, como hipertensão arterial, aterosclerose e insuficiência cardíaca (Butnariu *et al.*, 2023; Nyulas *et al.*, 2024).

As doenças cardiovasculares (DCV) estão intrinsecamente associadas ao estresse oxidativo. Diante disso, há um crescente interesse na investigação de antioxidantes naturais derivados de metabólitos secundários de plantas medicinais, que têm demonstrado potencial na neutralização das EROs e na prevenção de processos patológicos relacionados ao estresse oxidativo. Estudos recentes destacam substâncias como flavonoides, carotenoides e ácidos fenólicos, presentes em diversas espécies vegetais, pelos seus efeitos cardioprotetores e capacidade de modular vias antioxidantes endógenas (Alum, 2025).

Estudos anteriores demonstraram que *P. cauliflora* apresenta elevado potencial antioxidante, o qual é majoritariamente atribuído à elevada concentração de fenólicos presentes em suas estruturas vegetais (Paula *et al.*, 2021 e 2023). Esse efeito antioxidante está relacionado à presença de múltiplos grupos hidroxila nessas substâncias, conferindo-lhes alta capacidade de doação de átomos de hidrogênio e de estabilização de elétrons desemparelhados, características fundamentais para a neutralização de espécies reativas de oxigênio (Barbosa *et al.*, 2010). Tais propriedades posicionam *P. cauliflora* como uma fonte promissora para investigações científicas voltadas ao desenvolvimento de terapias destinadas ao manejo de condições

inflamatórias e enfermidades cardiovasculares. Adicionalmente, evidências recentes indicam uma correlação entre os metabólitos secundários dessa espécie e a redução da pressão arterial, por meio da inibição da ECA, conforme observado em modelos experimentais *in vitro* (Gasparotto Junior *et al.*, 2011). Esses achados não apenas reforçam o potencial antioxidante da planta, como também evidenciam sua ação cardioprotetora, justificando sua relevância em pesquisas voltadas à saúde cardiovascular.

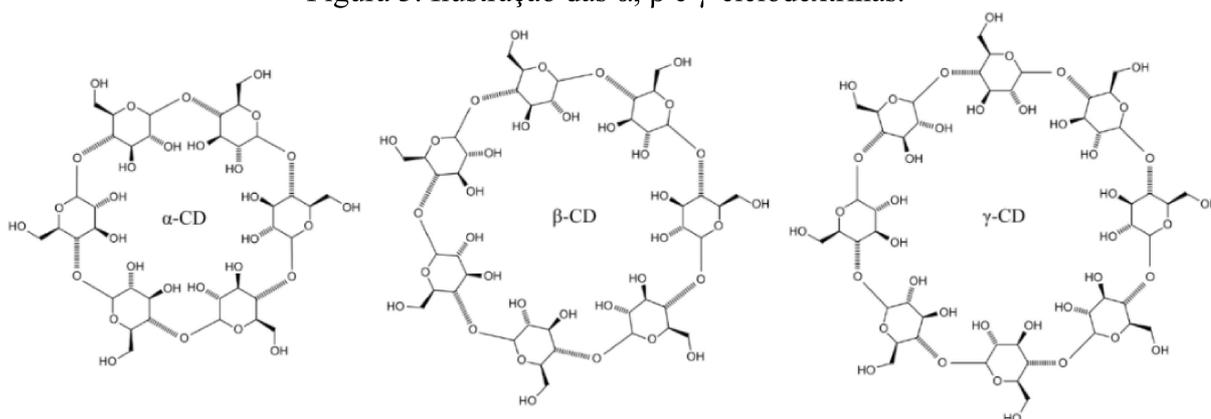
2.3 CICLODEXTRINAS E SEUS COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES COM OS EXTRATOS VEGETAIS

A ciência supramolecular, quando aplicada no contexto da nanotecnologia, resulta na formação de estruturas supramoleculares nanométricas. Tais sistemas exibem uma notável versatilidade, abordando tanto a estrutura de hóspede -hospedeiro quanto a sua interação com o meio, intensificando o campo de aplicação de materiais (Tomiotto-Pollissier *et al.*, 2017). A maioria dos sistemas supramoleculares contém, pelo menos, algum tipo de molécula anfifílica. Entende-se que substâncias anfifílicas possuem pelo menos duas características distintas: uma hidrofílica, formada por grupos polares ou iônicos; e uma hidrofóbica, tipicamente constituída por cadeias hidrocarbônicas (Denadai, 2005). Esse tipo de sistema confere a habilidade de estabelecer diversos tipos de interações intermoleculares devido à característica anfifílica das moléculas.

Ciclodextrinas (CDs) são importantes exemplos desses tipos de sistemas supramoleculares. São moléculas capazes de formar estruturas conhecidas como compostos de inclusão, geralmente aumentando a solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade de princípios ativos, além de atuarem como sistemas de liberação sustentada de fármacos e correlatos (Moya-Ortega *et al.*, 2012).

As CDs são oligossacarídeos cíclicos biodegradáveis, originados da degradação enzimática do amido. Elas englobam múltiplas unidades de α -D-glicose, sendo as variantes mais frequentes aquelas com 6, 7 ou 8 unidades de glicose, identificadas como α , β e γ ciclodextrinas, respectivamente (Figura 3). Elas são consideradas não tóxicas quando administradas por via oral em doses baixas a moderadas (Loftsson *et al.*, 2004; Salústio *et al.*, 2011).

Figura 3. Ilustração das α , β e γ -ciclodextrinas.



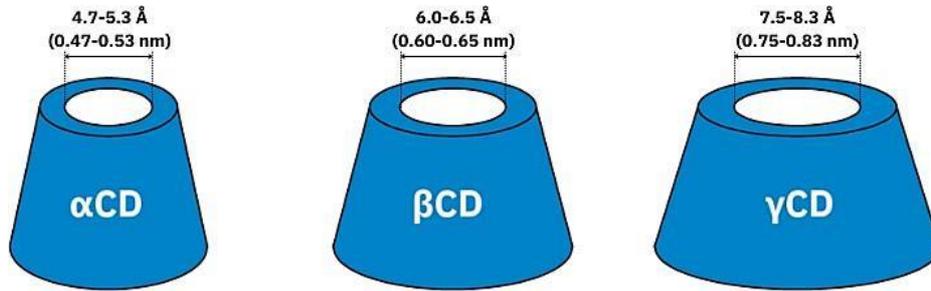
Fonte: Ciclodextrina (2023) em *Wikipedia*.

Elas apresentam uma estrutura quase rígida, resultado da limitação da flexibilidade das ligações C₁-O₁-C₄, o que lhes confere uma conformação característica não completamente cilíndrica, mas semelhante a um cone truncado oco (ou troncocônico). Nessa arquitetura molecular, os grupos hidroxila primários e secundários estão voltados para a superfície externa, conferindo caráter hidrofílico à parte externa da molécula. Em contraste, a cavidade interna permanece hidrofóbica, favorecendo a formação de complexos de inclusão com substâncias apolares ou pouco solúveis em água (Loftsson *et al.*, 2004; Lanna *et al.*, 2016).

O tamanho da cavidade das CDs e da molécula hóspede influencia diretamente a formação e a estabilidade dos complexos de inclusão (Figura 4). Com base em suas dimensões estruturais, a α CD é mais adequada para formar complexos com substâncias de baixo peso molecular ou com cadeias laterais alifáticas. A β CD, por sua vez, apresenta afinidade por moléculas aromáticas e heterocíclicas, enquanto a γ CD é capaz de acomodar moléculas maiores, como macrociclos e esteroides (Del Valle, 2004; Rao e Geckeler, 2011). Vale ressaltar que, em alguns casos, as interações podem ocorrer na superfície externa da ciclodextrina, sem necessariamente resultar na formação de um complexo de inclusão verdadeiro (Challa *et al.*, 2005).

Em relação ao seu tamanho, as CDs são oligossacarídeos cíclicos de natureza hidrofílica consideravelmente volumosas, com massa molecular relativamente elevada (entre 1000 e 2000 Da), o que restringe sua permeação direta pela barreira cutânea. No contexto da via tópica, essas moléculas podem exercer diversos papéis na melhoria da absorção de fármacos por meio de mecanismos diversos, tais como o aumento da solubilidade em um veículo ou, frequentemente, atuando como transportadores (Cal, 2008; Ferreira *et al.*, 2023).

Figura 4. Representação esquemática das estruturas das ciclodextrinas α , β e γ , com seus respectivos diâmetros de cavidade interna.

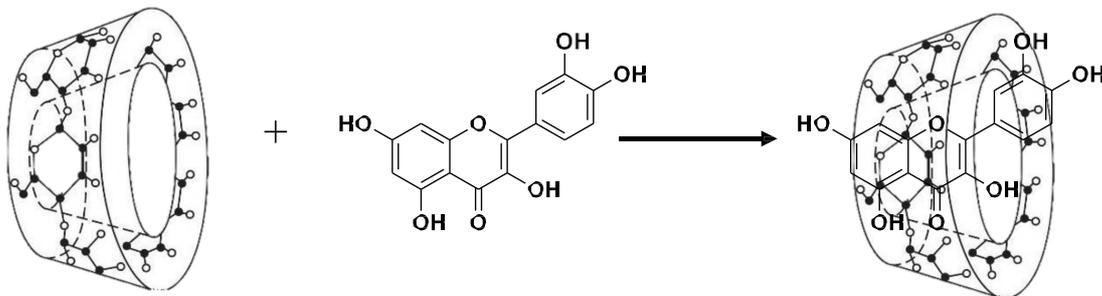


Fonte: Biosynth, 2025.

Sua relevância científica e tecnológica decorre da notável capacidade de formar complexos supramoleculares estáveis com moléculas bioativas presentes em extratos vegetais, os quais representam matrizes de composição química complexa. Substâncias fenólicas, por exemplo, frequentemente contêm múltiplos grupos hidroxila aromáticos em suas estruturas, geralmente hidrofóbicas, o que compromete sua solubilidade em meios fisiológicos e, conseqüentemente, limita sua aplicação farmacêutica (Pralhad; Rajendrakumar, 2004; Wang, Zhang, Deng *et al.*, 2014).

Nesse contexto, as CDs apresentam-se como uma alternativa promissora para encapsular esses metabólitos em concentrações adequadas, permitindo sua liberação gradual ao longo do tratamento e direcionando-os de maneira eficiente para alvos biológicos específicos (Lanna *et al.*, 2016). Além disso, a complexação com ciclodextrinas contribui significativamente para o aumento da estabilidade das substâncias ativas em meio fisiológico, favorecendo sua viabilidade em formulações farmacêuticas (Figura 5).

Figura 5. Representação esquemática da formação de complexo de inclusão entre uma molécula de ciclodextrina e um flavonoide.



Fonte: Autoria própria.

A aplicação de CDs no campo farmacêutico encontra-se amplamente consolidada na indústria atual, sendo impulsionada, em grande parte, por sua reconhecida ausência de toxicidade em humanos. Tal característica tem fomentado investigações voltadas à sua utilização como aditivo em formulações medicinais e nutricionais, abrindo perspectivas promissoras para a melhoria da estabilidade, solubilidade, biodisponibilidade e controle da liberação de substâncias bioativas (Abbas *et al.*, 2015; Neves, Hashemi e Prentice, 2015).

Somente as moléculas de fármaco dissolvidas são capazes de permear as membranas biológicas lipofílicas, como a mucosa gastrointestinal e a pele. Portanto, devem ser liberadas dos complexos supramoleculares com CDs para serem absorvidas. Quando um fármaco hidrofóbico entra em contato com a pele, ele se distribui ao longo da superfície da membrana (pele, mucosa ou córnea), enquanto as CDs permanecem no veículo devido à sua baixa afinidade com estrato córneo. Dessa forma, elas dificilmente são absorvidas pela pele, resultando na absorção apenas da fração livre do fármaco por difusão passiva, uma vez que a alta concentração e atividade do fármaco no exterior da membrana aquosa ou no veículo hidrofílico impulsiona a sua permeação cutânea. Isso estabelece um equilíbrio dinâmico entre a forma complexada do fármaco e sua fração dissolvida em solução (Cal, 2008; Loftsson *et al.*, 2015).

Diversas formulações ilustram esse potencial, tais como: α CD complexada com Miconazol e artemisinina; β CD com nimesulida e Piroxicam; HP- β CD com Celecoxibe; tadalafila complexada com β CD, HP- β CD e DM β CD; e γ CD com Coenzima Q10. Esses sistemas demonstraram avanços importantes na solubilização, estabilidade e liberação dos fármacos, bem como em sua permeação cutânea (Salústio *et al.*, 2011).

Já na administração oral de fármacos, que dependem fortemente do grau de solubilidade e à absorção gastrointestinal, as CDs desempenham um papel um tanto estratégico, pois elas são capazes de aumentar a solubilidade aquosa de fármacos pouco solúveis sem comprometer sua capacidade de permeação através das membranas biológicas (Loftsson e Brewster, 2012).

De acordo com o sistema *Biopharmaceutics Classification System* (BCS), as CDs são particularmente eficazes na melhora da absorção oral de fármacos classificados como Classe II, os quais apresentam baixa solubilidade em água, mas boa permeabilidade. No entanto, seu efeito é limitado em fármacos da Classe III, que já são solúveis em água, mas têm baixa permeabilidade. Em certos casos, as CDs podem até prejudicar a absorção de fármacos da Classe I, que possuem propriedades ideais de solubilidade e permeabilidade (Loftsson e Brewster, 2012).

Os derivados de CDs com aplicação farmacêutica oral incluem os derivados hidroxipropilados da β e γ CDs, a β CD metilada de forma aleatória, a β CD com sulfobutiléter e as chamadas ciclodextrinas ramificadas, como a glucosil- β CD. Enquanto a γ CD pode ser hidrolisada pelas amilases salivares e pancreáticas humanas, as α e β CDs naturais não possuem essa capacidade. No entanto, ambas podem ser fermentadas pela microbiota intestinal. Devido ao seu alto peso molecular e natureza hidrofílica, além de possuírem diversos doadores e aceptores de hidrogênio, as CDs não são absorvidas no trato gastrointestinal em sua forma intacta. Elas são consideradas não tóxicas quando administradas por via oral em doses baixas a moderadas (Loftsson *et al.*, 2004; Salústio *et al.*, 2011).

No setor farmacêutico, as ciclodextrinas podem ser usadas para reduzir ou evitar a irritação gastrointestinal e ocular, diminuir ou eliminar odores ou sabores desagradáveis dos fármacos, evitar interações droga-droga ou droga-aditivo ou converter óleos e medicamentos líquidos em pós microcristalinos ou amorfos (Loftsson *et al.*, 2004). O mecanismo de ação que descreve, simplificada, a função das ciclodextrinas na administração oral de medicamentos, principalmente quando o processo de complexação ocorre na proporção hospedeiro/hóspede de 1:1, baseia-se na constante de estabilidade, em um determinado meio de complexação aquoso, saturado com o fármaco, onde a concentração de fármaco livre é constante e igual à solubilidade intrínseca aparente do fármaco no meio aquoso, ou seja, as moléculas do fármaco ligadas à cavidade do CD estão em equilíbrio dinâmico com as moléculas livres do fármaco (Loftsson *et al.*, 2004; Cal, 2008; Loftsson *et al.*, 2016).

O emprego de CDs como sistemas de encapsulamento de substâncias bioativas derivados de plantas tem despertado crescente interesse na literatura científica, especialmente com o objetivo de otimizar a solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade de extratos vegetais ricos em polifenóis, flavonoides e outros metabólitos secundários (Suvarna *et al.*, 2022). Tais substâncias, apesar de seu reconhecido potencial terapêutico, frequentemente apresentam limitações farmacotécnicas significativas, como baixa solubilidade em meios aquosos, reduzida biodisponibilidade, instabilidade química e dissolução inadequada, o que compromete sua eficácia clínica. Nesse contexto, as CDs surgem como uma estratégia promissora, por atuarem como carreadores moleculares capazes de formar complexos de inclusão que conferem maior proteção e controle de liberação dos ativos. Além disso, seu uso é amplamente respaldado por dados de segurança e eficácia, sendo reconhecido por agências reguladoras internacionais, como a Food and Drug Administration (FDA) e a European Medicines Agency (EMA) (Loftsson e Brewster, 2012). Dessa forma, as CDs configuram-se como alternativas viáveis e

seguras para o desenvolvimento de sistemas inovadores de liberação de fitoterápicos, contribuindo para superar as barreiras associadas à aplicação terapêutica de produtos naturais.

2.4 FITOTERÁPICOS: FORMULAÇÕES ORAL E TÓPICA

Os fitoterápicos são definidos como medicamentos elaborados exclusivamente a partir de matérias-primas ativas de origem vegetal, cuja eficácia e segurança são comprovadas por evidências clínicas e a sua qualidade é assegurada por processos produtivos padronizados (Brasil, 2014). No Brasil, a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos estabelece diretrizes para a inserção desses produtos no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), com o objetivo de ampliar o acesso da população a terapias seguras, eficazes e baseadas na rica biodiversidade nacional (Brasil, 2006; Figueredo *et al.*, 2014). A proposta de integração da fitoterapia à prática médica tradicional não se configura como substituição aos medicamentos alopáticos já consagrados, mas sim como uma estratégia de diversificação das opções terapêuticas disponíveis aos profissionais de saúde. Trata-se de oferecer alternativas farmacológicas frequentemente mais acessíveis e com perfis terapêuticos complementares, que possam atender de forma mais abrangente às necessidades clínicas, ampliando o escopo de cuidados disponíveis à população (Hasenclever *et al.*, 2017).

O mercado brasileiro de fitoterápicos tem demonstrado crescimento expressivo, impulsionado tanto pela valorização de práticas terapêuticas naturais quanto pela extraordinária biodiversidade vegetal do país. Esse cenário favorável, no entanto, ainda enfrenta desafios significativos, como a necessidade de regulamentações mais claras, o fortalecimento de políticas públicas, investimentos contínuos em pesquisa e desenvolvimento, além da capacitação de profissionais da saúde para assegurar o uso racional, seguro e eficaz desses medicamentos (Figueredo *et al.*, 2014; Hasenclever *et al.*, 2017). Nesse contexto, o desenvolvimento de fitoterápicos a partir da pesquisa científica nacional assume um papel estratégico, não apenas na valorização dos recursos naturais brasileiros, mas também na promoção de alternativas terapêuticas inovadoras e acessíveis. A biodiversidade única do Brasil oferece um vasto repertório de espécies vegetais com potencial medicinal, constituindo uma fonte promissora de substâncias bioativas. A pesquisa nessa área contribui significativamente para a identificação, caracterização e validação farmacológica dessas substâncias, estabelecendo as bases científicas necessárias para a formulação de fitoterápicos seguros, eficazes e de qualidade. Além disso, tal abordagem promove o uso sustentável da

biodiversidade, alinhando inovação tecnológica e conservação ambiental (Brasil, 2010; Hasenclever *et al.*, 2017).

A forma mais comum de utilização dos fitoterápicos no Brasil ocorre por meio da administração oral em comprimidos, que correspondem a aproximadamente 70% do consumo, seguidos por chás (38,5%), cápsulas (29,1%) e outros formatos, como xaropes, cremes, pomadas e loções (IBGE, 2019). Essa predominância dos comprimidos pode ser atribuída a uma série de fatores interrelacionados. Em primeiro lugar, trata-se de uma forma farmacêutica de uso prático e conveniente, com fácil transporte, armazenamento e administração, o que favorece a adesão ao tratamento, sobretudo em ambientes urbanos. Além disso, comprimidos e cápsulas possibilitam maior precisão na dosagem e padronização da quantidade de princípios ativos, aspectos fundamentais para garantir a eficácia e a segurança terapêutica dos fitoterápicos (Saad *et al.*, 2021). Outro fator determinante é a maior estabilidade físico-química e microbiológica conferida por essas formas sólidas, que prolonga a vida útil dos produtos e reduz a necessidade de conservantes. Culturalmente, há também uma tendência crescente de associação das formas farmacêuticas sólidas com maior eficácia e modernidade, o que influencia positivamente a aceitação pelo consumidor (Rates, 2001).

Estudos demonstram que, independentemente do perfil sociodemográfico dos consumidores, o uso de fitoterápicos tende a ser predominantemente esporádico, voltado ao alívio de sintomas leves ou desconfortos passageiros. Notavelmente, a maior parte dos usuários não recorre a orientação médica formal para o consumo desses produtos, o que reforça a importância de estratégias de educação em saúde e regulamentação apropriada para garantir o uso seguro e eficaz dos fitoterápicos (Silva, Lima e Costa, 2024).

No Brasil, não há registros de medicamentos fitoterápicos com indicações terapêuticas aprovadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para o tratamento de doenças cardiovasculares, incluindo ações cardioprotetoras ou anti-hipertensivas. No entanto, a comunidade científica tem envidado esforços expressivos para comprovar o potencial terapêutico de diversas espécies vegetais no manejo dessas condições. Mesquita *et al.* (2017) demonstraram o efeito cardioprotetor do extrato das folhas de *Ginkgo biloba* em modelo experimental de hipertrofia cardíaca induzida. Em estudo semelhante, Braga *et al.* (2022) avaliou o efeito hipotensor da suspensão do extrato de folhas de *Psidium guajava* L. (goiabeira), evidenciando sua atividade sobre a pressão arterial. Da mesma forma, Conceição (2011) observou que o extrato hidroalcoólico de *Echinodorus macrophyllus*, popularmente conhecido

como “chapéu-de-couro”, foi capaz de normalizar a pressão arterial sistólica em ratos espontaneamente hipertensos, quando comparados aos animais normotensos.

Produtos à base de *Allium sativum* (alho) são, provavelmente, os fitoterápicos mais investigados no contexto da saúde cardiovascular, e numerosos estudos sugerem que, quando administrado em doses apropriadas, apresentam efeito consistente na redução da pressão arterial, sendo também utilizados como agente coadjuvante na prevenção da aterosclerose (Andrade *et al.*, 2022; Imaizumi *et al.*, 2023).

Quanto a produtos com base em jabuticaba, Lobo de Andrade *et al.* (2015) relataram que o extrato hidroalcoólico do fruto, além de apresentar efeito hipotensor e induzir relaxamento vascular por via do óxido nítrico endotelial, age diretamente sobre o músculo liso vascular e leva ao relaxamento independente do endotélio, evidenciando, portanto, que a mesma exerce efeitos cardiovasculares através de múltiplas vias dependentes e independentes do endotélio vascular (Lobo de Andrade *et al.*, 2015).

As doenças cardiovasculares permanecem como a principal causa de mortalidade no Brasil e no mundo (Brasil, 2023; WHO, 2024). Embora existam terapias farmacológicas eficazes, muitos pacientes enfrentam efeitos adversos indesejáveis ou têm acesso limitado a esses medicamentos, especialmente em contextos de vulnerabilidade socioeconômica. Nesse cenário, os fitoterápicos com atividade cardioprotetora despontam como alternativas promissoras. Apesar dos avanços na pesquisa, a maioria desses fitoterápicos ainda não foi incorporada ao SUS, e sua oferta permanece restrita. Tal panorama evidencia a necessidade de mais estudos clínicos robustos e de regulamentações que favoreçam a integração desses produtos às políticas públicas de saúde (Esteves *et al.*, 2020).

No que se refere aos fitoterápicos destinados ao uso tópico, o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira disponibiliza uma variedade de formulações oficinais, com o objetivo de garantir o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais pela população. Além disso, esse instrumento contribui para a expansão do desenvolvimento, produção e dispensação de medicamentos fitoterápicos com qualidade assegurada, tornando-os cada vez mais acessíveis (Brasil, 2021).

As formulações tópicas fitoterápicas têm sido amplamente utilizadas no tratamento de condições inflamatórias cutâneas, como dermatites, eczemas e lesões de pele. Espécies como *Hamamelis virginiana* (hamamélis) demonstram propriedades anti-inflamatórias relevantes, auxiliando na cicatrização de feridas e no alívio de irritações cutâneas (Amêndola *et al.*, 2024). No entanto, o desenvolvimento de novos fitoterápicos tópicos é essencial para a identificação

de substâncias bioativas com propriedades terapêuticas aprimoradas, capazes de otimizar a absorção cutânea e/ou reduzir a incidência de reações adversas. A incorporação de novas tecnologias e métodos de extração visa elevar a concentração dos princípios ativos, aumentar sua estabilidade e minimizar os efeitos colaterais, tornando os produtos mais seguros e eficazes.

A descoberta de novos fitoterápicos amplia o leque de opções terapêuticas para distintos perfis de pacientes e necessidades clínicas, ao mesmo tempo em que promove o uso sustentável da biodiversidade nacional. Essa abordagem não apenas agrega valor às espécies vegetais nativas, como também impulsiona o desenvolvimento de cadeias produtivas sustentáveis. No contexto global, tais iniciativas fortalecem a bioeconomia e contribuem para a conservação ambiental (Brasil, 2019; Hasenclever *et al.*, 2017).

Entretanto, o desenvolvimento de novas formulações tópicas enfrenta diversos desafios, entre os quais se destacam a padronização dos extratos vegetais, a estabilidade das substâncias ativas e a permeabilidade cutânea. A escassez de estudos clínicos de alta qualidade limita ainda mais a comprovação da eficácia e da segurança desses produtos, dificultando sua inserção no mercado e sua inclusão em programas de saúde pública. Os tratamentos convencionais para DCV e condições inflamatórias cutâneas, embora eficazes, podem estar associados a efeitos adversos relevantes e altos custos, o que pode comprometer a adesão terapêutica, especialmente entre populações mais vulneráveis.

Diante desse contexto, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de formulações fitoterápicas orais e tópicas com o objetivo de oferecer alternativas terapêuticas eficazes, seguras e acessíveis. A utilização de extratos vegetais padronizados, com atividade farmacológica comprovada, visa minimizar efeitos adversos e favorecer a adesão ao tratamento. A incorporação de sistemas carreadores, como as ciclodextrinas, busca aprimorar as propriedades físico-químicas e biológicas das substâncias, viabilizando formulações mais estáveis, seguras e com potencial para aplicações inovadoras. Ademais, ao valorizar a biodiversidade brasileira e fomentar a pesquisa científica nacional, esta proposta contribui para o fortalecimento da indústria de fitoterápicos no país, impulsionando a inovação no setor de saúde e promovendo o desenvolvimento sustentável.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. *et al.* Fabrication of polymeric nanocapsules from curcumin-loaded nanoemulsion templates by self-assembly. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 23, p. 81–92, 2015.
- ALUM, E. U. Role of phytochemicals in cardiovascular disease management: Insights into mechanisms, efficacy, and clinical application. **Phytomedicine Plus**, v. 5, n. 1, p. 100695, 2025.
- AMÊNDOLA, I. *et al.* *Hamamelis virginiana* L. extract presents antimicrobial and antibiofilm effects, absence of cytotoxicity, anti-inflammatory action, and potential to fight infections through the nitric oxide production by macrophages. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, n. 1, 2024.
- ANDRADE, D. R. P. *et al.* Propriedades terapêuticas do *Allium sativum*: uma revisão sistemática da literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 12, p. 78986–78999, 2022.
- AZAB, A.; NASSAR, A.; AZAB, A. Anti-Inflammatory Activity of Natural Products. **Molecules**, v. 21, n. 10, 2016.
- BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.
- BRAGA, D. C. DE A. *et al.* Effects of *Psidium guajava* L. leaves extract on blood pressure control and IL-10 production in salt-dependent hypertensive rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 155, p. 113796, 2022.
- BRASIL. ANVISA. **Farmacopeia Brasileira. Volume II - Monografias. Plantas Medicinais**. 6. ed. Brasília: Monografia do Barbatimão, 2019.
- BUTNARIU, M. *et al.* Plant-food-derived Bioactives in Managing Hypertension: From Current Findings to Upcoming Effective Pharmacotherapies. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 8, p. 589–617, 2023.
- CAL, K. Use of cyclodextrins in topical formulations: Practical aspects. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 3, p. 467–478, 2008.
- CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. suppl 3, 2019.
- CEFALI, L. C. *et al.* Jaboticaba, a Brazilian jewel, source of antioxidant and wound healing promoter. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 20, p. 100401, 2021.
- CHALLA, R. *et al.* Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. **AAPSharmSciTech**, v. 6, n. 2, p. E329-57, 2005.
- CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jabuticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 343–656, 2010.

CYR, A. R. *et al.* Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. **Critical Care Clinics**, v. 36, n. 2, p. 307–321, 2020.

DASTMALCHI, K.; FLORES, G.; WU, S.B.; *et al.* *Myrciaria vexator* fruits: Bioactive phenolics for potential COPD therapy. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 4549–4555, 2012.

DEL VALLE, E. M. M. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 9, p. 1033–1046, 2004.

ESTEVES, C. O. *et al.* Medicamentos fitoterápicos: prevalência, vantagens e desvantagens de uso na prática clínica e perfil e avaliação dos usuários. **Revista de Medicina**, v. 99, n. 5, p. 463–472, 2020.

FERREIRA, L. *et al.* Cyclodextrin-based dermatological formulations: Dermopharmaceutical and cosmetic applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 221, p. 113012, 2023.

FIGUEREDO, C. A. DE; GURGEL, I. G. D.; GURGEL JUNIOR, G. D. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, n. 2, p. 381–400, 2014.

FORSTERMANN, U.; SESSA, W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function. **European Heart Journal**, v. 33, n. 7, p. 829–837, 2012.

GASPAROTTO JUNIOR, A. *et al.* Antihypertensive effects of isoquercitrin and extracts from *Tropaeolum majus* L.: Evidence for the inhibition of angiotensin converting enzyme. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 2, p. 363–372, 2011.

GASPAROTTO JUNIOR, A. *et al.* *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel: A comprehensive ethnopharmacological review of a genuinely Brazilian species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 245, p. 112169, 2019.

GHOSH, D.; KONISHI, T. Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 16, n. 2, p. 200–8, 2007.

HARRISON, D. G.; GONGORA, M. C. Oxidative Stress and Hypertension. **Medical Clinics of North America**, v. 93, n. 3, p. 621–635, 2009.

HASENCLEVER, L. *et al.* A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 8, p. 2559–2569, 2017.

HOFFMANN, A. *et al.* Plantas medicinais. **Revista de Ciência Elementar**, v. 12, n. 4, 2024.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saúde: percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas**, 2019.

IMAIZUMI, V. M. *et al.* Garlic: A systematic review of the effects on cardiovascular diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 24, p. 6797–6819, 2023.

INADA, K.O.P. *et al.* Effect of high hydrostatic pressure and drying methods on phenolic

compounds profile of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel and seed. **Food Chemistry**, v. 309, 2020.

INADA, K.O.P.; LEITE, I.B.; MARTINS, A.B.N.; et al. Jaboticaba berry: A comprehensive review on its polyphenol composition, health effects, metabolism, and the development of food products. **Food Research International**, v. 147, p. 110518, 2021.

IQBAL, I. *et al.* Plant Polyphenols and Their Potential Benefits on Cardiovascular Health: A Review. **Molecules**, v. 28, n. 17, p. 6403, 2023.

JESUS, N. DE *et al.* Caracterização de quatro grupos de jaboticabeira, nas condições de Jaboticabal-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 482–485, 2004.

KAUER, D. P. *et al.* Experimental skin wound treatment with *Copaifera langsdorffii* Desf Kuntze (Leguminosae) extract and oil-resin in horses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 57, n. 3, p. e166095, 2020.

LOBO DE ANDRADE, D. M. *et al.* Vasorelaxant and Hypotensive Effects of Jaboticaba Fruit (*Myrciaria cauliflora*) Extract in Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1–8, 2015.

LOFTSSON, T. *et al.* Pharmacokinetics of cyclodextrins and drugs after oral and parenteral administration of drug/cyclodextrin complexes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 5, p. 544–555, 2016.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E. Cyclodextrins as Functional Excipients: Methods to Enhance Complexation Efficiency. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 9, p. 3019–3032, 2012.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E.; MÁSSON, M. Role of Cyclodextrins in Improving Oral Drug Delivery. **American Journal of Drug Delivery**, v. 2, n. 4, p. 261–275, 2004.

LORENZI, H. *et al.* **Brazilian fruits & cultivated exotics (for consumin in natura)**. 1. ed. São Paulo: [s.n.]. v. 1, 2006.

LUNDBERG, J. O.; WEITZBERG, E. Nitric oxide signaling in health and disease. **Cell**, v. 185, n. 16, p. 2853–2878, 2022.

MATSUZAWA-NAGATA, N. *et al.* Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. **Metabolism**, v. 57, n. 8, p. 1071–1077, 2008.

MESQUITA, T. R. R. *et al.* Cardioprotective Action of *Ginkgo biloba* Extract against Sustained β -Adrenergic Stimulation Occurs via Activation of M2/NO Pathway. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Saúde Brasil 2023: **Uma análise da situação de saúde e das doenças crônicas no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2022/09/doencas-cardiovasculares-principal-caoa-de-morte-no-mundo-pode-ser-prevenida>>. Acesso em: 8 jun. 2024.

- MONTEIRO, M. S. DE S. B. *et al.* Avaliação de bases galênicas desenvolvidas em uma farmácia universitária magistral. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 34, n. 4, p. 336–346, 2022.
- MOTA, A. H. *et al.* Design and evaluation of novel topical formulation with olive oil as natural functional active. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 23, n. 8, p. 794–805, 2018.
- MOYA-ORTEGA, M. D. *et al.* Cyclodextrin-based nanogels for pharmaceutical and biomedical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 428, n. 1–2, p. 152–163, 2012.
- NEVES, M. A.; HASHEMI, J.; PRENTICE, C. Development of novel bioactives delivery systems by micro/nanotechnology. **Current Opinion in Food Science**, v. 1, p. 7–12, 2015.
- NGUYEN-VO, T.-H. *et al.* Plant Metabolite Databases: From Herbal Medicines to Modern Drug Discovery. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 3, p. 1101–1110, 2020.
- NYULAS, K.-I. *et al.* Cardiovascular Effects of Herbal Products and Their Interaction with Antihypertensive Drugs—Comprehensive Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 12, p. 6388, 2024.
- PAULA, P. *et al.* Pharmacological investigation of antioxidant and anti-inflammatory activities of leaves and branches extracts from *Plinia cauliflora* (Jaboticaba). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 280, p. 114463, 2021.
- PAULA, P. *et al.* Jaboticaba (*Plinia cauliflora*): uma revisão de literatura sobre sua composição química e atividades biológicas. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 27, n. 1 Supl, p. 162–179, 2024.
- PLAZA, M. *et al.* Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: A pilot clinical study. **Food Chemistry**, v. 211, 2016.
- Plinia* in Flora e Funga do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB37142>>. Acesso em: 5 mai. 2025.
- PRALHAD, T.; RAJENDRAKUMAR, K. Study of freeze-dried quercetin–cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 34, n. 2, p. 333–339, 2004.
- RAO, J. P.; GECKELER, K. E. Cyclodextrin Supramacromolecules: Unexpected Formation in Aqueous Phase under Ambient Conditions. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 32, n. 5, p. 426–430, 2011.
- RATES, S. M. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 603–613, 2001.
- REYNERTSON, K.A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Quantitative

analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, vol. 109, n. 4, p. 883–890, 2008.

REYNERTSON, K.A; WALLACE, A.M; ADACHI, S.; GIL, R.R; YANG, H.; BASILE, M.J. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 1228-1230, 2006.

ROCHA DE CARVALHO, W. *et al.* *Pterodon emarginatus* hydroalcoholic extract: Antioxidant and photoprotective activities, noncytotoxic effect, and perspective of obtaining formulations with photochemoprotective activity. **Pharmacognosy Magazine**, v. 15, n. 64, p. 176, 2019.

SAAD, G. A., *et al.* **Fitoterapia Contemporânea: Tradição e Ciência na Prática Clínica** (3ª ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021.

SALÚSTIO, P. J. *et al.* Advanced Technologies for Oral Controlled Release: Cyclodextrins for Oral Controlled Release. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 4, p. 1276–1292, 2011.

SILVA, A. A.; LIMA, A. G. S.; COSTA, D. A. F. Percentual do consumo de medicamentos fitoterápicos durante e após pandemia entre os anos de 2020 e 2023 em uma farmácia escola na Cidade de Teresina, Estado do Piauí (PI), Brasil. **Research, Society and Development**, v. 13, n. 11, p. e103131147374, 2024.

SOUZA-MOREIRA, T. *et al.* Anti-Candida Targets and Cytotoxicity of Casuarinin Isolated from *Plinia cauliflora* Leaves in a Bioactivity-Guided Study. **Molecules**, v. 18, n. 7, 2013.

SUVARNA, V. *et al.* Complexation of phytochemicals with cyclodextrins and their derivatives-an update. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 149, p. 112862, 2022.

THE PLANT LIST, Published on the Internet, Disponível em:
<<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-161353>>. Version 1.1, Acesso em: 4 abr. 2025.

TOMIOTTO-POLLISSIER, F.; *et al.* Nanotechnology as a potential therapeutic alternative for schistosomiasis. **Acta Tropica**, v. 174, p. 64-71, 2017.

TRINDADE, M. A. DA *et al.* Medicinal plants with potential antihypertensive properties: emphasis on natural products from the Brazilian Cerrado. **Hoehnea**, v. 49, 2022.

VARUM, F.O.; BASIT, A.W.; SOUSA, J.; VEIGA, F. Mucoadhesion studies in the gastrointestinal tract to increase oral drug bioavailability. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 4, 2008.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519–528, 2005.

WANG, Y. J.; ZHANG, S.; DENG, H.; LIN, H. Q. Research progress of methods to improve the stability of procyanidins. **J. Guangdong Pharm. Univ.**, v. 30, n. 2, p. 245– 248, 2014.

WANG, W.-H. *et al.* Evaluation of the Antioxidant Activity and Antiproliferative Effect of the Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seed Extracts in Oral Carcinoma Cells. **BioMed Research**

International, v. 2014, 2014.

WHO. World Health Organization. **Cardiovascular diseases (CVDs) - Key facts**. Geneva: WHO, 2024. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>>. Acesso em: 23 abr. 2025.

XIAO, N. *et al.* Egg yolk oils exert anti-inflammatory effect via regulating Nrf2/NF- κ B pathway. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 274, p. 114070, 2021.

ZHAO, D.K. *et al.* Jaboticabin and Related Polyphenols from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) with Anti-inflammatory Activity for Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **J. Agric. Food Chem.**, v. 67, n. 5, p. 1513-1520. 2019.

3. DIVISÃO DOS CAPÍTULOS

Este trabalho foi estruturado com foco em duas vias distintas de administração: a atividade antioxidante e anti-inflamatória por via tópica, e a atividade vasodilatadora por via oral. Com o intuito de dar continuidade às investigações anteriores e proporcionar uma melhor compreensão da proposta, a tese está organizada em dois capítulos principais:

Capítulo 1 – Avaliação dos potenciais fitoterápicos orais dos extratos e complexos supramoleculares de ramos de *Plinia cauliflora*: atividade vasodilatadora, toxicidade e bioacessibilidade;

Capítulo 2 – Avaliação da atividade anti-inflamatória do extrato e complexo supramolecular obtidos das folhas de *Plinia cauliflora* e desenvolvimento de formulações tópicas.

A escolha dos extratos e complexos supramoleculares avaliados nos Capítulos 1 e 2 desta tese foi fundamentada em critérios farmacológicos, éticos e de viabilidade experimental, conforme exposto a seguir. No Capítulo 1, serão abordados a investigação do extrato etanólico dos ramos de *P. cauliflora* (EER) e seu complexo supramolecular com β -ciclodextrina (EER/ β CD), com ênfase na avaliação do potencial vasodilatador dessas amostras. Essa escolha se deve, primeiramente, à atividade vasodilatadora previamente observada para ambos, EER e EER/ β CD, sem diferenças estatisticamente significativas entre eles, o que direcionou o foco da investigação. Além disso, optou-se pela utilização das amostras dos ramos nesta etapa como estratégia para racionalizar o número de grupos experimentais submetidos à avaliação toxicológica *in vivo*, em consonância com as diretrizes do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA), que recomendam o uso ético e responsável de animais em pesquisa. Adicionalmente, o uso dessas amostras foi proposto para estudos voltados à investigação dos efeitos na hipertensão arterial em ratos, visando à potencial aplicação terapêutica no tratamento de doenças cardiovasculares.

Já no Capítulo 2, foram selecionados o extrato etanólico das folhas (EEF) e seu correspondente complexo supramolecular com β CD (EEF/ β CD) para o aprofundamento da atividade anti-inflamatória e o desenvolvimento de formulações tópicas. A escolha das folhas, em detrimento dos ramos, se justifica pela superioridade dos resultados obtidos em estudos anteriores, especialmente no modelo de edema de orelha induzido por óleo de cróton, durante o mestrado, em que o EEF demonstrou maior resposta anti-inflamatória. Apesar de ambos os extratos (EEF e EER) apresentarem atividade farmacológica relevante, conforme evidenciado nos estudos de Paula *et al.* (2021, 2023), as substâncias presentes nas folhas revelaram maior

potencial terapêutico no contexto inflamatório. Essa constatação orientou a seleção das amostras a serem aprofundadas nesta etapa, inclusive no tocante ao desenvolvimento de formulações tópicas, considerando a superioridade farmacológica demonstrada pelas amostras das folhas de *P. cauliflora* em comparação às dos ramos.

Portanto, a divisão entre os capítulos, bem como a seleção dos extratos e complexos utilizados em cada um, segue uma lógica experimental e ética, fundamentada em dados prévios, no desempenho farmacológico diferencial das amostras e na necessidade de otimização do uso de recursos biológicos.

CAPÍTULO 1 - AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS FITOTERÁPICOS ORAIS DOS EXTRATOS E COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES DE RAMOS DE *Plinia cauliflora*: ATIVIDADE VASODILATADORA, TOXICIDADE E BIOACESSIBILIDADE.

4. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade vasodilatadora *ex vivo*, a toxicidade aguda e subcrônica *in vivo*, bem como a bioacessibilidade *in vitro* do extrato e do complexo supramolecular obtidos dos ramos de *Plinia cauliflora*, visando à sua aplicação como potenciais agentes cardioprotetores.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar as interações moleculares entre a β -ciclodextrina e as substâncias dos extratos etanólico das folhas e dos ramos de *Plinia cauliflora* por meio da espectroscopia de ressonância magnética nuclear de prótons ($^1\text{H-RMN}$) e espectroscopia Raman;
- Avaliar a atividade vasodilatadora *ex vivo* dos extratos e complexos supramoleculares das folhas e dos ramos de *Plinia cauliflora*;
- Avaliar os parâmetros clínicos da toxicidade aguda e subcrônica do extrato e complexo supramolecular dos ramos de *Plinia cauliflora* em camundongos machos Swiss;
- Avaliar os parâmetros hematológico, bioquímico e histopatológico dos camundongos submetidos ao tratamento da toxicidade subcrônica com o extrato e complexo supramolecular dos ramos de *Plinia cauliflora*;
- Realizar o estudo da digestão simulada *in vitro* e a bioacessibilidade do extrato e complexo supramolecular dos ramos de *Plinia cauliflora*.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS (EEF E EER) E COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES (EEF/ β CD E EER/ β CD)

As folhas e ramos de *Plinia cauliflora* foram coletadas em outubro de 2021, na cidade de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, Brasil, localizada sob coordenadas 19°52'30,8" S; 43°58'31,7" O e 820 metros de altitude. Uma exsicata encontra-se depositada no Herbário BHCB da UFMG, sob voucher (BHCB) número 174029. O exemplar foi identificado como *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel (Myrtaceae) pelo professor Dr. Alexandre Salino, Curador do Herbário BHCB (UFMG) em 2014. Autorização SISGEN número A032F41.

Os extratos etanólico das folhas (EEF) e dos ramos de *P. cauliflora* (EER) foram preparados utilizando a metodologia descrita por Paula *et al.* (2021). Aproximadamente 2 Kg de material vegetal, incluindo folhas e ramos, foram desidratados em uma estufa a 45 °C por 48 h. Os ramos foram pulverizados, com uma granulometria de 0,84 mm, através de um moinho de facas com malha MESH 20, enquanto as folhas foram processadas em um liquidificador industrial. Em seguida, realizou-se a extração dos órgãos vegetais pulverizados, separadamente, por maceração estática imergindo todo o material no álcool etílico P.A., à temperatura ambiente, por 15 dias. A troca do solvente foi realizada em dias alternados. Os extratos etanólico brutos foram obtidos removendo o solvente com um evaporador rotatório da marca BUCHI Labortechnik AG (modelo V-700), operando sob pressão reduzida e mantendo a temperatura do banho-maria entre 45 e 55 °C. Os extratos secos (EEF e EER) foram armazenados em frascos de vidro fechados, sob refrigeração a 5 °C, até que as experiências fossem realizadas.

Os complexos supramoleculares das folhas (EEF/ β CD) e dos ramos (EER/ β CD) foram obtidos seguindo o procedimento delineado por Paula *et al.* (2023). Procedeu-se por meio da técnica de co-precipitação, seguida de liofilização. Inicialmente, foram pesados 1 g de cada extrato, individualmente, bem como duas pesagens de 1 g cada de β -ciclodextrina (β CD). A seguir, β CD foi dissolvida em 50 mL de água destilada, e os extratos foram dissolvidos, separadamente, em 50 mL de solvente orgânico na proporção de 1:4 de diclorometano:metanol até completa dissolução. Posteriormente, verteram-se as soluções dos extratos, cuidadosamente, nas soluções de β CD, sob agitação constante. As soluções dos complexos supramoleculares foram mantidas sob agitação por 24 h, à temperatura ambiente, com proteção da luz. Em seguida, retiraram-se os solventes das soluções em evaporador rotatório a 50 °C. As soluções aquosas contendo os complexos foram congeladas a -80 °C em placas de Petri de vidro para,

posteriormente, serem liofilizadas em liofilizador modelo Alphah 1-2 LD Plus (Fabricante Martin Christ - Alemanha), com capacidade do condensador de 2,0 Kg / 24 h e temperatura do condensador de -55 °C. A regulagem da pressão durante o processo de liofilização foi de 1 mbar. Ao final, ambas amostras foram armazenadas em frascos de vidro com tampas, protegidos da luz.

5.2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) DOS EXTRATOS (EEF E EER) E COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES (EEF/ β CD E EER/ β CD)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de prótons (^1H -RMN) foram obtidos a 25 °C, utilizando um espectrômetro Bruker de 500 MHz. As amostras de β -ciclodextrina (β CD), extratos das folhas (EEF) e dos ramos de *Plinia cauliflora* (EER) e seus complexos supramoleculares (EEF/ β CD e EER/ β CD) foram dissolvidas em água deuterada (D_2O) (Sigma-Aldrich). Os deslocamentos químicos dos sinais foram atribuídos em partes por milhão (ppm), sendo referenciados em relação ao sinal do solvente, que apresenta um deslocamento químico (δ) de 4,79 ppm.

5.3 RAMAN DOS EXTRATOS (EEF E EER) E COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES (EEF/ β CD E EER/ β CD)

Os espectros Raman da β -ciclodextrina (β CD), extratos das folhas (EEF) e dos ramos de *Plinia cauliflora* (EER) e seus complexos supramoleculares (EEF/ β CD e EER/ β CD) foram adquiridos, através da média de cinco varreduras, utilizando um espectrômetro Raman portátil (Enwave Optronics, Inc.), com excitação a 532 nm, potência do laser de 20 mW sobre a amostra e tempo de exposição de 20 segundos. Os espectros Raman com transformada de Fourier (FT-Raman) foram obtidos com um instrumento Bruker MultiRAM, equipado com um laser $\text{Nd}^{3+}/\text{YAG}$, operando a 1064 nm. O espectro final foi gerado a partir de 512 varreduras, com resolução espectral de 4 cm^{-1} e potência do laser de 150 mW. Todos os espectros foram adquiridos ao menos duas vezes para evitar possíveis decomposições fototérmicas, com base na intensidade e na posição das bandas observadas.

5.4 USO DE ANIMAIS EM EXPERIMENTOS

Todos os experimentos envolvendo animais foram conduzidos em conformidade com as diretrizes éticas estabelecidas para o cuidado e uso de animais em pesquisa, sendo previamente aprovados pelas respectivas Comissões de Ética das instituições envolvidas.

Os procedimentos realizados com ratos Wistar foram aprovados pela Comissão de Ética no Cuidado e Uso de Animais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), sob o protocolo nº CEUA/006/2020.

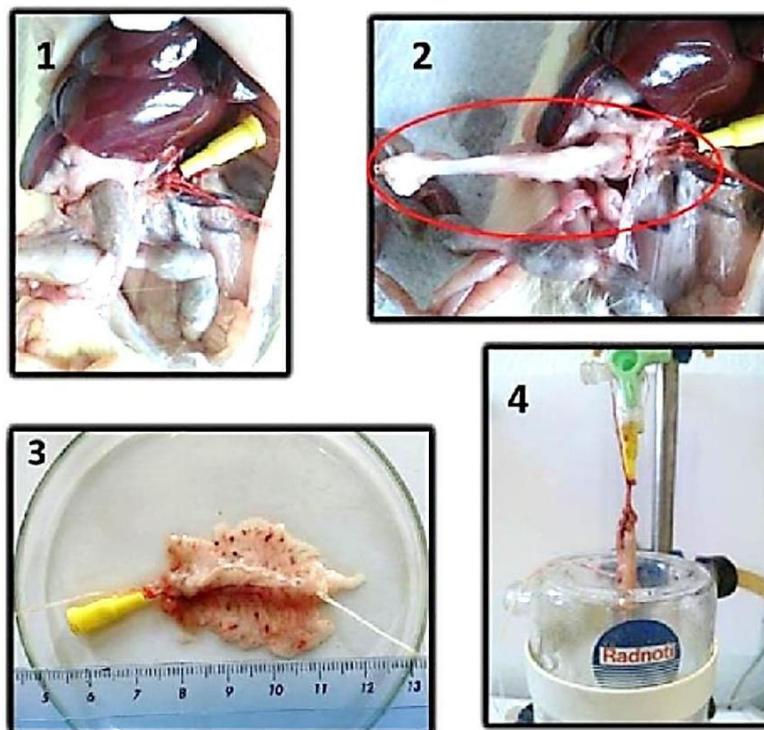
Já os experimentos conduzidos com camundongos Swiss foram submetidos à apreciação e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), sob os protocolos nº 006/2021 e nº 007/2021.

5.5 ISOLAMENTO DO LEITO ARTERIAL MESENTÉRICO (LAM)

Ratos Wistar de 11 semanas, provenientes do Biotério do Departamento de Farmacologia e Psicobiologia/IBRAG/UERJ foram mantidos em ambiente controlado com temperatura média de 23 ± 2 °C e umidade de $60 \pm 10\%$.

Após eutanásia, os ratos passaram por um procedimento de laparotomia. O LAM foi exteriorizado da cavidade abdominal e coberto com gaze umedecida em uma solução nutritiva de Krebs (g/L) modificada, composta por: 1 M de NaCl, 0,5 M de KCl, 0,5 M de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,1 M de MgSO_4 , 0,1 M de KH_2PO_4 , 1,86 g de NaHCO_3 e 1,42 g de $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (Resende *et al.*, 1997). Os ramos pancreático-duodenal, íleocólico e cólico direito da artéria mesentérica superior foram ligados e seccionados. O intestino delgado foi ligado e seccionado à altura do jejuno proximal e do íleo distal. A artéria mesentérica superior foi isolada na sua origem, à altura da artéria aorta abdominal e canulada com um tubo de polietileno (PE 50; Clay-Adams), de aproximadamente 4 cm de comprimento, preenchida com solução de Krebs heparinizada. Em seguida, o intestino delgado foi separado do leito vascular, cortando-se rente à borda intestinal, e a preparação lavada com solução de Krebs modificada. O procedimento de isolamento do leito arterial mesentérico pode ser visto na Figura 6.

Figura 6. Esquema de isolamento do leito arterial mesentérico. 1 - Artéria mesentérica sendo canulada. 2 - Isolamento do leito arterial mesentérico. 3 - Leito arterial mesentérico canulado e isolado. 4 - Leito arterial mesentérico no sistema de perfusão e medida da reatividade vascular.



Fonte: Bem, 2015.

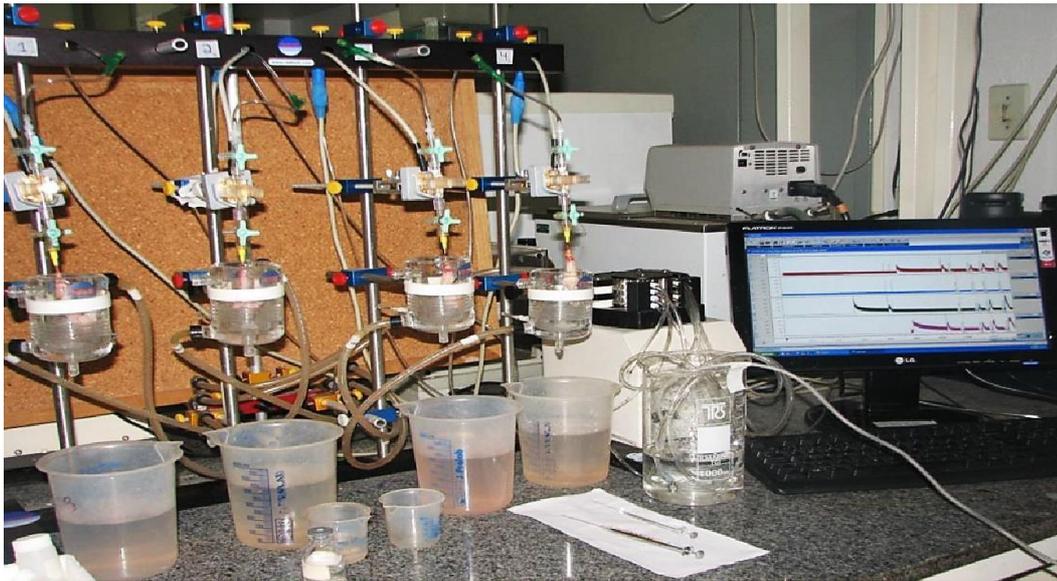
5.6 AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE DO LEITO ARTERIAL MESENTÉRICO (LAM) AOS EXTRATOS (EEF E EER) E COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES (EEF/ β CD E EER/ β CD)

Após o procedimento de isolamento, a preparação vascular foi colocada em uma cuba com volume de 10 mL e continuamente irrigada através de uma cânula inserida na artéria mesentérica superior. Essa cânula foi então conectada a uma bomba peristáltica (Model MINIPULS 3, Gilson[®]). A solução de Krebs, mantida a uma temperatura de 37 °C e enriquecida com uma mistura carbogênica (95% O₂ e 5% CO₂), foi infundida à velocidade constante de 4 mL/min, enquanto a pressão da perfusão era monitorada de forma contínua e registrada em um computador utilizando o programa PowerLab 4/30.

Antes de iniciar as experiências, houve um período de adaptação da preparação vascular de 30 min, no qual a pressão basal da perfusão foi mantida entre 20 e 40 mmHg, seguindo o protocolo estabelecido por Resende (1997). Durante essa fase, injeções de 120 μ mol de cloreto de potássio (KCl) foram administradas a cada 10 min até que uma resposta consistente fosse

obtida. Em seguida, deu-se início à pré-contração do LAM, na qual norepinefrina (NE) foi adicionada à solução de perfusão em uma concentração adequada ($30 \mu\text{M}$), de modo a manter a pressão da perfusão estável na faixa de 80-100 mmHg. O procedimento de perfusão do leito arterial mesentérico está ilustrado na Figura 7.

Figura 7. Esquema representativo do sistema de perfusão do leito arterial mesentérico (LAM). O sistema é utilizado para avaliação *ex vivo* da reatividade vascular em segmentos do leito arterial mesentérico de ratos.



Fonte: Bem, 2015.

Logo após a obtenção de uma resposta pressora induzida pela NE, a viabilidade do endotélio vascular foi testada, com a injeção de acetilcolina (ACh $0,01\text{-}300 \text{ pmol}$), a qual produz um efeito vasodilatador dependente da liberação de óxido nítrico (NO) pelas células endoteliais. A capacidade dilatadora direta do músculo liso vascular também foi avaliada, com a injeção de nitroglicerina (NG $1\text{-}300 \text{ nmol}$), substância que atua diretamente no músculo liso vascular, efeito este independente do endotélio.

Posteriormente, com o objetivo de avaliar a reatividade vascular aos extratos (EEF e EER) e complexos supramoleculares (EEF/ βCD e EER/ βCD) e, em seguida selecionar as amostras mais promissoras, foram realizadas curvas dose-resposta ($0,1 - 300 \mu\text{g}$) das amostras em solução hidroalcoólica (solução nominal de extrato a 1 mg/mL em 5% de etanol), onde a resposta aos agentes vasodilatadores foi expressa em termos de % de queda da resposta pressora induzida pela NE. As injeções *in bolus* das amostras foram realizadas por meio de um injetor acoplado ao sistema de perfusão, através de microseringas Hamilton de 10 e $100 \mu\text{L}$. O intervalo entre as injeções foi de aproximadamente 5 min , permitindo sempre o retorno e

estabilização da pressão de perfusão aos níveis anteriores, sendo as injeções administradas em volumes que variam de 5 a 50 μL . A análise foi realizada em quadruplicata e repetida ao menos duas vezes de forma independentes. A potência da vasodilatação foi determinada por meio dos valores de ID_{50} , correspondentes à dose necessária para inibir a resposta pressora da NE em 50%, expressa como média \pm desvio padrão em μg .

5.7 TOXICIDADE AGUDA *IN VIVO* DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS

Camundongos Swiss machos, com 30 dias de vida, pesando em média 25-35 g foram utilizados para o experimento de toxicidade aguda e subcrônica. Os animais provenientes do Centro de Biologia da Reprodução (CBR) da UFJF foram alojados em gaiolas e mantidos sob condições controladas de temperatura (22 ± 2 °C) e iluminação (ciclo de claro/escuro de 12 h) com livre acesso a água e ração.

Após o período de aclimação, os animais foram divididos aleatoriamente em nove grupos, com seis camundongos cada. Cada grupo foi designado de acordo com a amostra administrada, conforme descrito na Tabela 1. As doses selecionadas seguiram as diretrizes do protocolo OECD 425, que recomenda iniciar com a dose máxima de 2000 mg/Kg. Contudo, devido à dificuldade de solubilização das amostras em volume suficiente de veículo, não foi possível utilizar a dose de 2000 mg/Kg. Dessa forma, o experimento teve início com a dose de 1000 mg/Kg, sendo escolhidas outras duas doses inferiores para compor o delineamento experimental (OECD, 2008).

A administração oral foi de 1 mL da amostra por 100 g de peso do animal pelo método de gavagem (Bogdanske *et al.*, 2010). O animal foi observado durante as primeiras 24 h, nos períodos de 0, 15, 30 e 60 min, em seguida, a cada 4 h e, posteriormente, diariamente durante 14 dias após administração. Desde a 24^a hora e até os 14 dias após administração da dose, eles foram pesados para verificação da variação de peso e observados quanto aos parâmetros comportamentais, incluindo o consumo de ração e água. Ao fim do período de observação, todos os animais sobreviventes foram eutanasiados e necropsiados. Estudos histopatológicos dos órgãos acometidos seriam realizados se as necrópsias apresentassem alterações (Brasil, 2004; Costa-Silva *et al.*, 2008).

Tabela 1. Identificação dos grupos experimentais de camundongos Swiss machos submetidos à administração oral no ensaio de toxicidade aguda.

Amostras	Administração	Número de animais
Basal	Água filtrada	6
CN	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER 250 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER 500 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER 1000 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER/ β CD 250 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER/ β CD 500 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER/ β CD 1000 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
β CD 1000 mg/Kg	Água filtrada	6

Legenda: CN: Controle negativo. EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. β CD: β -ciclodextrina. Os grupos contendo o complexo supramolecular (EER/ β CD) receberam a amostra nas concentrações nominais de extrato de 250, 500 e 1000 mg/Kg. Fonte: Autoria própria.

5.8 TOXICIDADE SUBCRÔNICA *IN VIVO* DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS

A toxicidade subcrônica oral foi conduzida de acordo com Costa-Silva *et al.* (2008) e Fabri (2013), com algumas alterações. Os camundongos utilizados neste estudo apresentavam os mesmos parâmetros dos animais empregados no teste de toxicidade aguda e foram submetidos às mesmas condições de aclimatação descritas no item 5.7.

Seis camundongos foram escolhidos aleatoriamente e organizados em nove gaiolas cada para separação por grupos. Cada grupo foi identificado segundo a administração das amostras, conforme apresentado na Tabela 2. As doses de 200, 100 e 50 mg/Kg foram selecionadas com base nos resultados prévios de toxicidade aguda, visando garantir a segurança dos animais ao longo do tratamento subcrônico, permitindo a identificação de possíveis efeitos tóxicos de forma graduada e a estimativa de um nível de efeito adverso não observado (NOAEL).

A administração oral foi de 1 mL da amostra por 100 g de peso do corpo animal pelo método de gavagem (Bogdanske *et al.*, 2010). Os animais receberam uma dose diária de amostra durante 42 dias. Cada animal foi marcado e avaliado durante todo o período quanto ao seu peso corporal (semanal), as análises bioquímicas, hematológicas, e parâmetros comportamentais, incluindo o consumo de água e ração. Ao fim do período de observação, todos os animais sobreviventes foram eutanasiados e autopsiados. Os principais órgãos

acometidos foram coletados para a realização dos estudos histopatológicos (Brasil, 2004; Costa-Silva *et al.*, 2008).

Tabela 2. Identificação dos grupos experimentais de camundongos Swiss machos submetidos à administração oral no ensaio de toxicidade subcrônica.

Amostras	Administração	Número de animais
Basal	Água filtrada	6
CN	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER 50 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER 100 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER 200 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER/ β CD 50 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER/ β CD 100 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
EER/ β CD 200 mg/Kg	Tween 80 a 10% em água filtrada	6
β CD 200 mg/Kg	Água filtrada	6

Legenda: CN: Controle negativo. EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. β CD: β -ciclodextrina. Os grupos contendo o complexo supramolecular (EER/ β CD) receberam a amostra nas concentrações nominais de extrato de 50, 100 e 200 mg/Kg. Fonte: Autoria própria.

5.9 ANÁLISES HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS

No final do estudo de toxicidade aguda e subcrônica, todos os animais sobreviventes foram anestesiados por meio da injeção intraperitoneal (i.p.) de xilazina (30 mg/Kg) e cetamina (300 mg/Kg), para coleta de sangue via punção cardíaca, seguido de eutanásia. Para a análise dos parâmetros bioquímicos (glicose, triglicérides, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama glutamil transpeptidase (GGT), proteínas totais, ureia, albumina, creatinina e bilirrubina), o sangue foi submetido à centrifugação (10 min, a 3500 rpm), em eppendorffs com EDTA para obtenção do soro. Já para as análises hematológicas (hemoglobina, hematócrito, contagem de leucócitos totais, contagem diferencial de leucócitos – neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos), foi utilizado sangue total heparinizado. Os parâmetros bioquímicos e hematológicos foram determinados utilizando-se as recomendações de *kits* específicos para cada teste (Labtest[®]).

5.10 ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS

Os fígados coletados de cada animal do estudo de toxicidade subcrônica foram preservados em formol à 10% até o início do processamento histológico. As biópsias foram desidratadas, emblocadas em parafina e, com auxílio de um micrótomo, foram realizados cortes transversais, os quais foram corados com hematoxilina-eosina (HE). Foi utilizado o microscópio de marca Olympus BX51 e as fotomicrografias representativas de cada grupo foram obtidas no aumento de 20 e 40x utilizando o software *CellSens Standard*.

5.11 ESTUDO DA DIGESTÃO *IN VITRO* E BIOACESSIBILIDADE DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS

O protocolo de digestão simulada *in vitro* foi conduzido de acordo com a metodologia de Brodkorb *et al.* (2019), conforme proposto no protocolo INFOGEST 2.0. Na fase oral, 5 mL de cada amostra (1 mg/mL) foram incubados separadamente com fluido salivar a pH 7,0 a 37 °C por 2 min em banho-maria. Na fase gástrica, o pH foi ajustado para 3 com uma solução de HCl (1M), e foram adicionados fluido gástrico e pepsina (2000 U/mL; P7000, Sigma-Aldrich, MO, EUA) para obter um volume final de 24 mL, seguido de incubação a 37 °C em banho-maria por 2 h. Na fase intestinal, o pH foi ajustado para 7 com uma solução de NaOH (1M), e foram adicionados fluido intestinal, sais biliares com desoxicolato de sódio e colato de sódio (10 mM; C6750 e C1254, Sigma-Aldrich, MO, EUA), e pancreatina (100 U/mL; P7545, Sigma-Aldrich, MO, EUA) para um volume final de 48 mL. As análises foram realizadas em duplicata, e as amostras digeridas foram prontamente armazenadas a -20 °C.

Posteriormente, o teor de fenólicos totais nos sobrenadantes foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Paula *et al.* (2021). O teor total de fenólicos foi avaliado por espectroscopia na região do visível, utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (ThermoScientific SkanIt® Multiskan GO, versão do software 3.2), com leituras de absorvância a 770 nm. As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados expressos como média \pm desvio padrão, em mg de equivalentes de ácido tânico (EAT) por grama de extrato vegetal.

A fração bioacessível dos fenólicos foi calculada como a razão entre a quantidade de fenólicos presentes na fração solúvel, após as fases gástrica e intestinal da digestão, e a quantidade de fenólicos da amostra não digerida, correspondente ao conteúdo de fenóis totais

antes de serem submetidos ao teste de digestão, multiplicada por 100, conforme a seguinte fórmula (Valenzuela-González *et al.*, 2022):

$$\text{Bioacessibilidade} = \text{Fração solúvel} / \text{Amostra não digerida} \times 100$$

5.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os ensaios foram realizados, no mínimo, em triplicata e repetidos em pelo menos duas séries independentes. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. As comparações entre os grupos experimentais foram analisadas por meio de análise de variância (ANOVA) unidirecional (one-way), seguida do teste *Post hoc* de Bonferroni. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software GraphPad Prism[®], versão 8.0.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Substâncias fenólicas, como quercetina, rutina e derivados dos ácidos gálico e elágico, já foram identificados em *Plinia cauliflora* (jabuticaba) (Souza-Moreira *et al.*, 2013; Gasparotto Junior *et al.*, 2019; Paula *et al.*, 2021). A quercetina, em particular, tem sido amplamente estudada em razão de suas diversas atividades biológicas, incluindo efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e antiparasitários (D'Andrea, 2015; Paula *et al.*, 2024; De Souza *et al.*, 2017). O ácido elágico e seus derivados também são reconhecidos por suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, antiproliferativas e cardioprotetoras (Abe *et al.*, 2012; Fracassetti *et al.*, 2013; Souza-Moreira *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2019). De modo geral, os fenólicos desempenham um papel fundamental na promoção da saúde, atuando tanto na prevenção de doenças quanto na mitigação de danos celulares que podem desencadear ou agravar condições patológicas (Paula *et al.*, 2021; Link *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2013).

Por meio da análise de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (HPLC-QTOF-MS), Paula *et al.* (2021) identificaram uma ampla variedade de substâncias derivadas de taninos nos extratos etanólico das folhas (EEF) e dos ramos (EER) de *P. cauliflora*, com maior concentração dessas substâncias observadas nos ramos. De acordo com os autores, o EER apresentou uma predominância significativa de constituintes tânicos em comparação ao EEF. Entre as substâncias identificadas, destacam-se os taninos condensados, principalmente derivados de unidades de flavan-3-ol, como catequina e epigallocatequina, além dos taninos hidrolisáveis, incluindo derivados do ácido elágico, dilactona do ácido valoneico, casuarictina, tellimagrandina I e castalagina, bem como ácidos fenólicos derivados do ácido gálico. Esse perfil fitoquímico indica uma presença expressiva de substâncias fenólicas bioativas, reforçando a potencial relevância farmacológica dos extratos dos ramos de *P. cauliflora*.

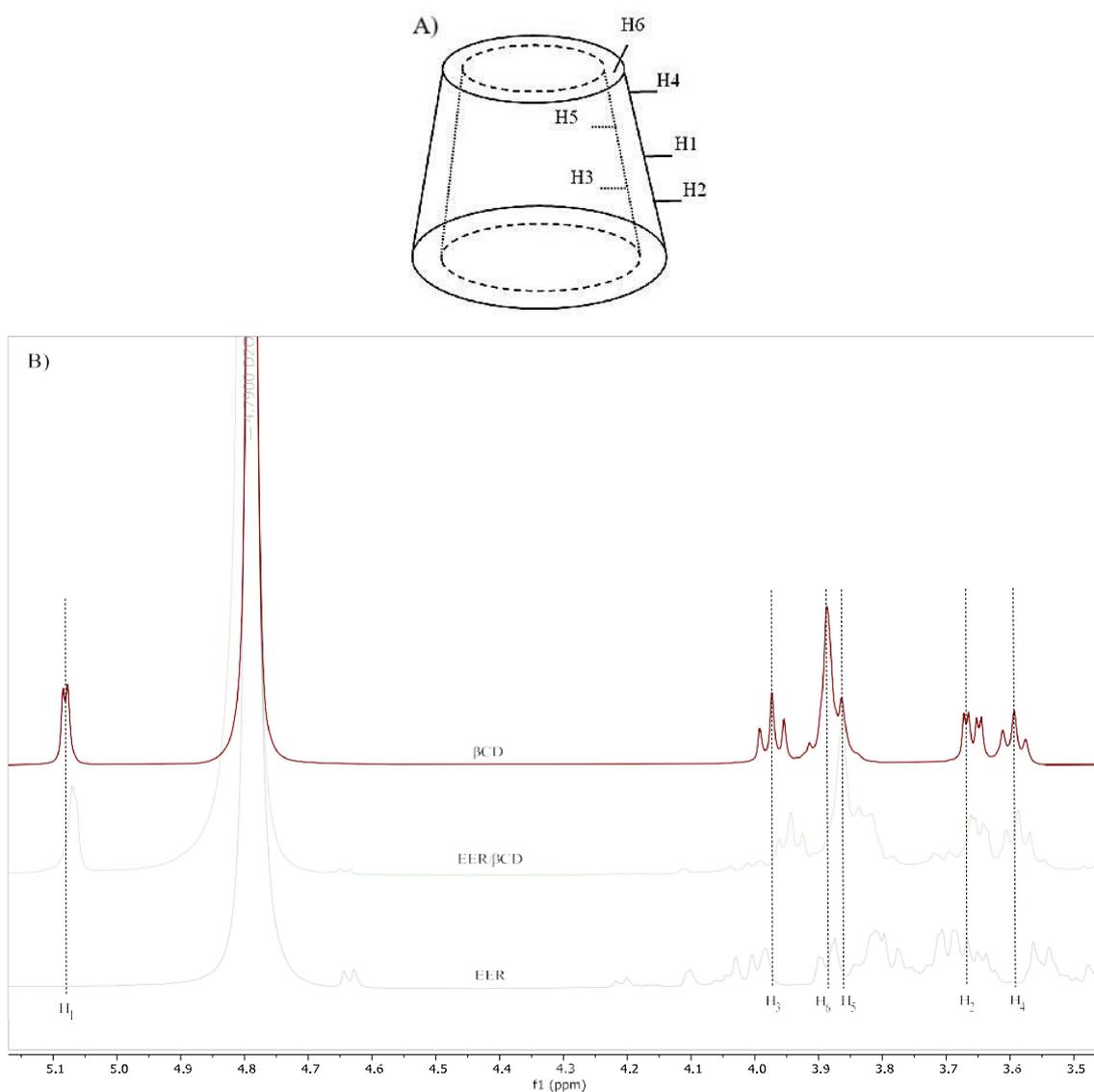
6.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS SUPRAMOLECULARES DAS FOLHAS (EEF) E DOS RAMOS (EER/ β CD)

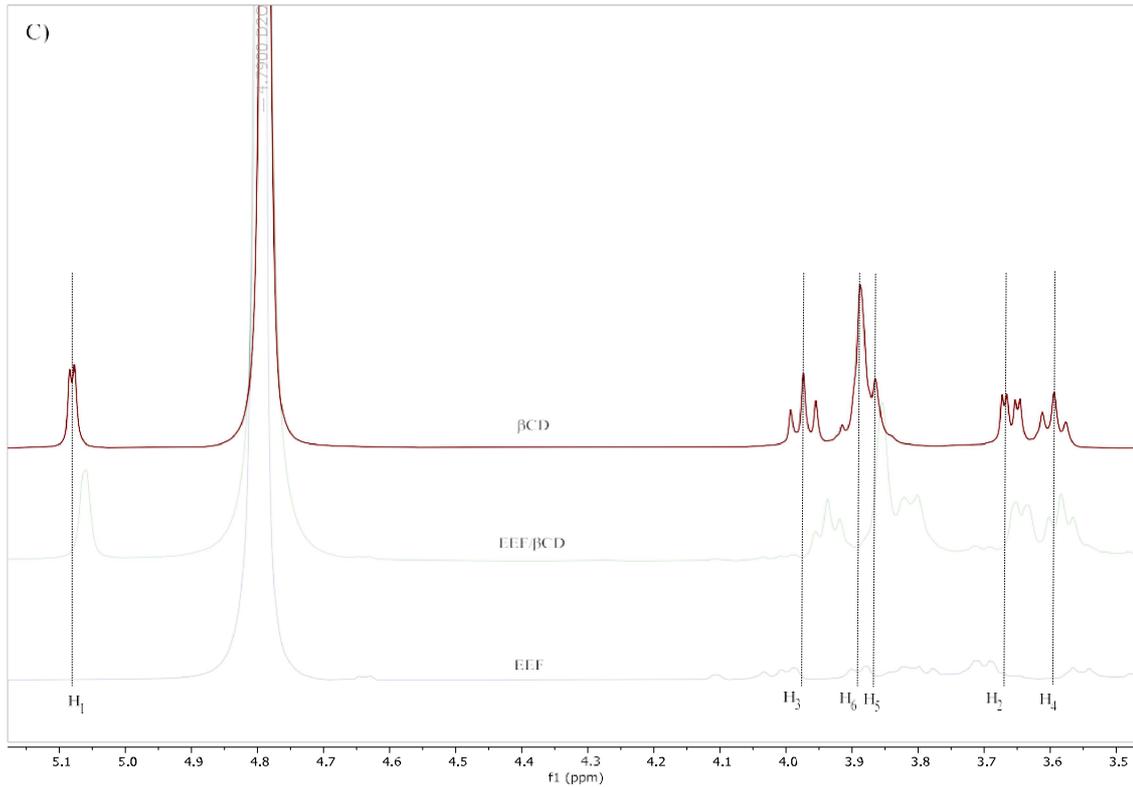
A encapsulação dos extratos das folhas (EEF) e dos ramos (EER) de *Plinia cauliflora* com β -ciclodextrina (β CD) foi avaliada por meio de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H -RMN), uma vez que a formação do complexo supramolecular induz alterações nos ambientes de prótons devido às interações intermoleculares de hidrogênio entre os grupos hidroxila da β CD e as substâncias presentes no extrato. A ilustração da estrutura

truncocônica da β CD, com a numeração dos átomos de hidrogênio apresentada na Figura 8 A, facilita a interpretação dos espectros de ^1H -RMN das amostras analisadas (Mokhtar; Adnan, 2012; Nguyen *et al.*, 2023).

As Figuras 8 B e C apresentam a sobreposição dos espectros de ^1H -RMN dos extratos e complexos supramoleculares dos ramos e das folhas, respectivamente, além do espectro da β CD isolada, bem como uma ampliação da região correspondente aos sinais das amostras. Conforme ilustrado, os espectros dos complexos (em verde) exibem sinais característicos tanto da β CD (em vermelho) quanto dos extratos (em azul), confirmando a presença desses constituintes na amostra analisada após o procedimento de formação do complexo.

Figura 8. (A) Uma representação esquemática da posição dos hidrogênios na configuração troncocônica da β CD e (B) Espectros de ^1H -RMN da β CD, EER/ β CD e EER, (C) Espectros de ^1H -RMN da β CD, EEF/ β CD e EEF.





Legenda: β CD: β -ciclodextrina. EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. EER: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. EEF: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora*. (A) Ilustração da β -ciclodextrina por Nguyen *et al.* (2023). Fonte: Autoria própria.

Ao analisar os valores de deslocamento químico apresentados na Tabela 3, observa-se uma variação nos sinais correspondentes à β CD após a formação dos complexos de inclusão com as substâncias dos extratos. Deslocamentos químicos observados nos prótons H₃ e H₅ indicam a possível presença de moléculas hospedeiras localizadas dentro da cavidade (Zhao *et al.*, 2016; Nguyen *et al.*, 2023). Além disso, prótons externos, como H₁, H₂, H₄ e H₆, também podem sofrer alterações químicas, uma vez que esses átomos provavelmente estão envolvidos na complexação com algumas moléculas dos extratos, dado que se trata de uma matriz complexa.

Após a encapsulação da β CD, foram observadas mudanças nos deslocamentos para o campo de alta frequência. Esse fenômeno é evidenciado pelos deslocamentos mais acentuados observados nos hidrogênios localizados na cavidade interna da ciclodextrina, seguindo a ordem H₅ > H₃ > H₆, para ambas amostras. As expressivas mudanças nas ligações de hidrogênio observadas nos complexos, em comparação à β CD isolada, sugerem fortemente a ocorrência de uma complexação supramolecular do tipo inclusão, em detrimento da formação de complexos de exclusão. Tais deslocamentos químicos estão relacionados a um processo de desblindagem,

diretamente associado ao aumento da intensidade do giro nuclear, o que pode ser causado por novas interações intermoleculares eficazes com a molécula hóspede.

Tabela 3. Deslocamento químico dos sinais de ^1H para βCD , EER/ βCD e EEF/ βCD em D_2O a $25\text{ }^\circ\text{C}$ e variações nos valores de deslocamento químico dos átomos de hidrogênio na molécula de βCD .

	βCD	EER/βCD	$\Delta\delta_{(\text{EER}/\beta\text{CD})}$	EEF/βCD	$\Delta\delta_{(\text{EEF}/\beta\text{CD})}$
	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)
H ₁	5,080	5,060	0,020	5,060	0,020
H ₂	3,669	3,649	0,020	3,644	0,025
H ₃	3,974	3,944	0,030	3,937	0,037
H ₄	3,595	3,589	0,006	3,584	0,011
H ₅	3,865	3,829	0,036	3,822	0,043
H ₆	3,887	3,864	0,023	3,855	0,032

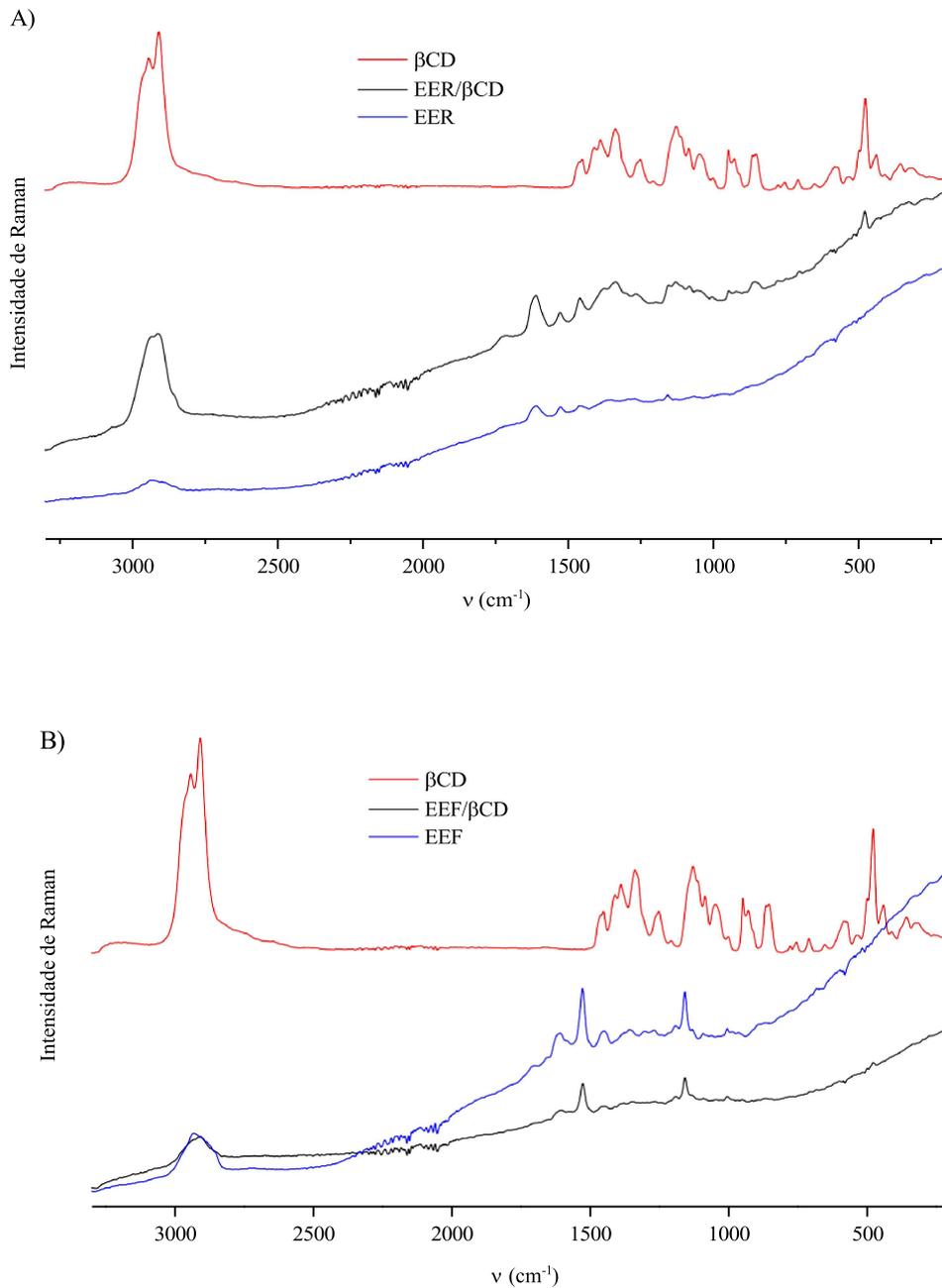
Legenda: βCD : β -ciclodextrina. EER/ βCD : extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. EEF/ βCD : extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. Fonte: Autoria própria.

Além da espectroscopia de RMN, as interações entre os componentes presentes nos extratos e a βCD foram investigadas, em fase sólida, por espectroscopia Raman. As regiões mais relevantes dos espectros são apresentadas na Figura 9. No espectro da βCD , observa-se a região do espectro entre 2900 e 2800 cm^{-1} , correspondente às vibrações de estiramento simétrico e assimétrico das ligações C-H dos grupos $-\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}_3$. A banda centrada em 1140 cm^{-1} refere-se à vibração de estiramento da ligação C-C, enquanto as bandas em 964 e 868 cm^{-1} são atribuídas, respectivamente, às vibrações de estiramento assimétrico e simétrico das ligações C-O-C (Kong *et al.*, 2024).

Nos espectros do EER e EER/ βCD (Figura 9 A), foram observadas bandas de absorção proeminentes em 2926 , 1611 , 1526 , 1461 e 1158 cm^{-1} . O aumento da intensidade das bandas no espectro do EER/ βCD sugere a formação do complexo supramolecular. No espectro do EER puro, a banda em 2926 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento conjugado C-H, enquanto as bandas em 1611 e 1526 cm^{-1} correspondem às ligações C=C dos anéis aromáticos; as bandas em 1461 e 1158 cm^{-1} referem-se, respectivamente, às vibrações de estiramento C-O e =C-H de grupos fenólicos e às vibrações de deformação no plano aromático (Aguilar-Hernández *et al.*, 2017; Deneva *et al.*, 2019). Cabe ressaltar que as bandas mais predominantes observadas são aquelas relacionadas à presença de fenólicos, provavelmente devido às vibrações de

alongamento das ligações aromáticas e dos grupos fenólicos (Deneva *et al.*, 2019; Pompeu *et al.*, 2018).

Figura 9. Espectro de Raman para β CD, extratos e complexo supramolecular dos ramos (A) e das folhas (B).



Legenda: β CD: β -ciclodextrina. EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. EER: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. EEF: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora*. Fonte: A autoria própria.

Nos espectros de EEF e EEF/ β CD (Figura 9 B), bandas proeminentes foram observadas em 2911, 1526 e 1157 cm^{-1} . A redução na intensidade das bandas observadas no espectro de EEF/ β CD indica a formação do complexo supramolecular, provavelmente devido às interações entre os componentes do extrato e a β CD. No espectro puro de EEF, as bandas em 1526 e 1157 cm^{-1} podem ser atribuídas às vibrações de estiramento conjugado C=C e C-C dos carotenoides, respectivamente (Schulz e Baranska, 2007). Esses sinais são característicos de sistemas polienos contendo nove ligações duplas conjugadas, que aumentam a atividade Raman e resultam em bandas fortes e bem definidas. Notavelmente, as características mais intensas observadas nos espectros estão associadas à presença de carotenoides. A banda em 2911 cm^{-1} , por outro lado, pode corresponder às vibrações de estiramento C-H de componentes lipídicos ou celulósicos presentes naturalmente no extrato das folhas (De Oliveira *et al.*, 2015).

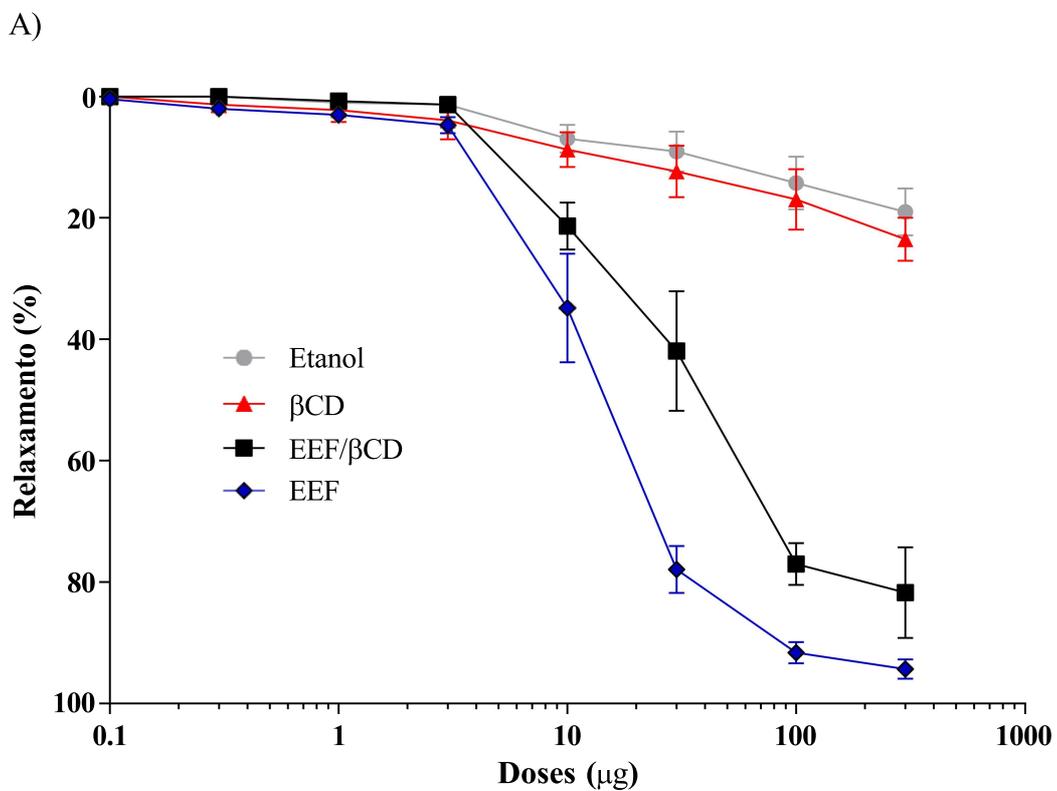
Embora a presença de fenólicos no extrato das folhas de *P. cauliflora* tenha sido previamente confirmada por Paula *et al.* (2021), não foram observadas, na presente análise, bandas características no espectro Raman que possam ser atribuídas a tais substâncias. Essa ausência pode ser justificada pela baixa intensidade de espalhamento Raman inerente aos fenólicos, os quais, de modo geral, apresentam menor polarizabilidade quando comparados a moléculas como os carotenoides (Schulz e Baranska, 2007; Schulz, Baranska, e Baranski, 2005). Ademais, em misturas complexas, sinais intensos provenientes de substâncias altamente ativas na espectroscopia Raman, como os próprios carotenoides, podem sobrepor-se e mascarar os sinais mais tênues associados aos constituintes fenólicos, dificultando sua identificação (Schulz e Baranska, 2007). Outro fator relevante consiste na possível emissão de fluorescência por parte dos fenólicos sob as condições de excitação empregadas, o que pode comprometer a qualidade espectral e obscurecer feições vibracionais sutis. Dessa forma, embora a presença de fenólicos no extrato seja reconhecida, sua detecção por meio da espectroscopia Raman pode ser limitada em função dessas características espectroscópicas intrínsecas (Wei, Chen, e Liu, 2015).

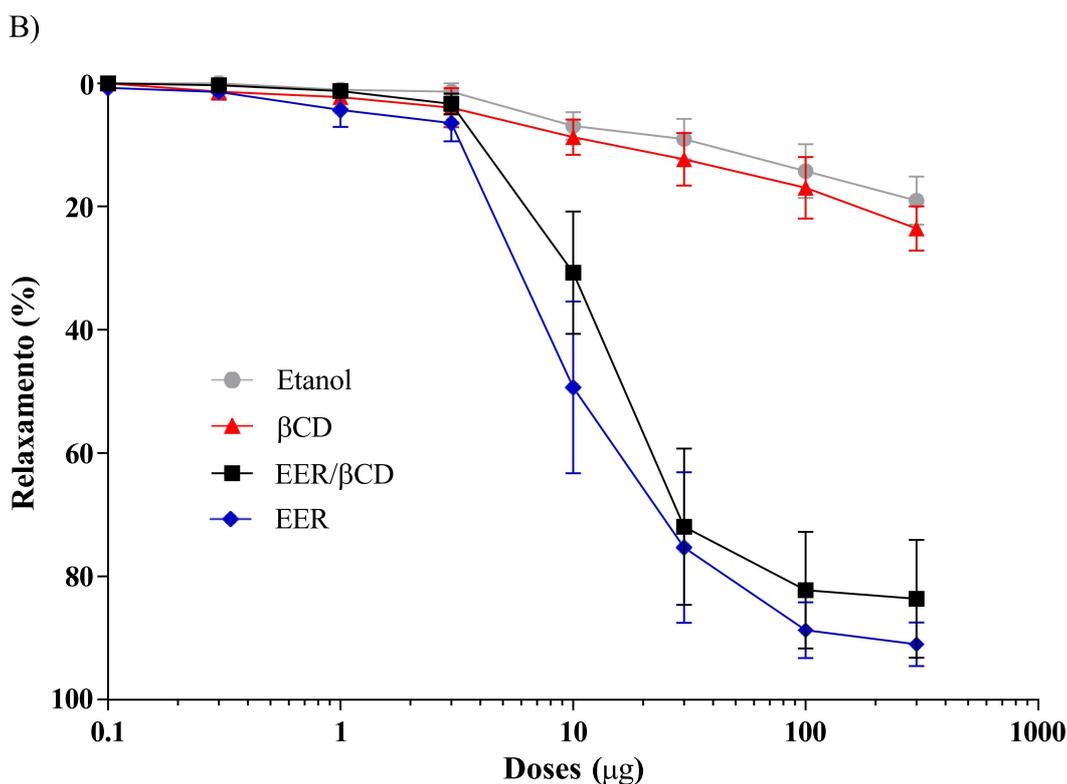
6.2 RELAXAMENTO VASCULAR

A vasodilatação é uma resposta tecidual fundamental, relacionada a diversos mecanismos fisiológicos do organismo, como o controle da temperatura corporal, da pressão arterial, da circulação sanguínea e da oxigenação celular. Essa resposta contribui para a proteção do tecido local, favorecendo a manutenção da homeostase e, conseqüentemente, auxiliando na prevenção de disfunções que podem desencadear processos patológicos (Rang *et al.*, 2012).

No presente estudo, a avaliação da atividade vasodilatadora foi realizada *ex vivo* a partir de anéis de aorta com endotélio íntegro, previamente contraídos com norepinefrina (NE) até o alcance do platô contrátil. A partir dessa contração estável, foram administradas doses crescentes das amostras (0,1-300 μg), possibilitando a construção da curva concentração-resposta e a análise da eficácia vasodilatadora dos extratos e complexos supramoleculares testados (Figura 10).

Figura 10. Curvas dose-resposta cumulativas aos extratos das folhas (A) e dos ramos (B) de *Plinia cauliflora* e seus complexos supramoleculares em anéis de aorta isolada de ratos Wistar, pré-contraídos com norepinefrina.





Legenda: EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora*. EEF/βCD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EER/βCD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. βCD: β-ciclodextrina. Os experimentos foram conduzidos na presença de endotélio funcional para avaliação do envolvimento da via endotelial na resposta vasorrelaxante. Os dados estão expressos como média ± desvio padrão (n = 4). Fonte: Autoria própria.

Os extratos, tanto livres quanto complexados com ciclodextrina, induziram o relaxamento em anéis de aorta com endotélio funcional, o que sugere um envolvimento do endotélio na mediação da resposta vasodilatadora, alcançando um efeito máximo (E_{max}) acima de 80% (Tabela 4) para todas as amostras, exceto βCD que apresentou E_{max} de 23,5%.

A ID_{50} é a dose das amostras que inibe a resposta pressora da NE em 50%, sendo um parâmetro farmacodinâmico que expressa a potência de substâncias vasodilatadoras, ou seja, substâncias com menor valor de ID_{50} são mais potentes, pois necessitam de uma menor dose para inibir o efeito. Na Tabela 4, observam-se que tanto os extratos quanto os complexos supramoleculares, com exceção da βCD isolada, foram capazes de demonstrar uma potência significativa de forma dependente da dose. A ordem de potência, do mais ao menos eficaz, foi: $EER > EEF > EER/\beta CD > EEF/\beta CD$. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os extratos livres ($p > 0,05$). No entanto, foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre o EEF e EEF/βCD, com $p < 0,05$.

Tabela 4. Efeito máximo (E_{max}) da vasodilatação e dose inibitória de 50% do efeito da norepinefrina (ID_{50}).

	Etanol	EEF	EEF/ β CD	EER	EER/ β CD	β CD
E_{max} (%)	19,0 \pm 3,84	94,3 \pm 1,49 ^{a,b,c}	81,7 \pm 7,36 ^a	91,0 \pm 3,52 ^{a,b}	83,6 \pm 9,46 ^a	23,5 \pm 3,46
ID_{50} (μ g)	-	15,5 \pm 2,68 ^b	29,9 \pm 4,65	11,1 \pm 2,48 ^b	16,4 \pm 2,91 ^b	-
N	3	4	4	4	4	4

Legenda: EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora*. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. β CD: β -ciclodextrina. N: número de animais testados. a – Diferença estatística em relação ao veículo (etanol) e a β CD ($p < 0,05$). b – Diferença estatística em relação a EEF/ β CD ($p < 0,05$). c – Diferença estatística em relação a EER/ β CD ($p < 0,05$). Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão ($n = 4$). ANOVA, seguido do teste de Bonferroni. Fonte: Autoria própria.

Estudos anteriores demonstraram que extratos vegetais ricos em fenólicos, como os da jabuticaba, podem induzir vasodilatação mediada por óxido nítrico (NO). Por exemplo, Lobo de Andrade *et al.* (2015) demonstrou que o extrato do fruto induziu hipotensão e promoveu relaxamento vascular dependente do endotélio. Os resultados sugerem que a principal via celular envolvida nesse efeito é a via do óxido nítrico/guanilato ciclase solúvel/monofosfato cíclico de guanosina (NO/sGC/cGMP), sendo esta a responsável pelo relaxamento induzido pelo extrato hidroalcoólico dos frutos da jabuticaba (Lobo de Andrade *et al.*, 2015).

Os dados encontrados em nosso estudo sugerem que, em concentrações mais elevadas, as substâncias presentes nos extratos podem atuar sobre alvos não específicos, contribuindo para o efeito vasodilatador observado. A confirmação direta da via envolvida na resposta vasodilatadora poderia ser obtida por meio do uso de um inibidor específico do óxido nítrico sintase (NOS), como o L-NAME. Essa substância é amplamente utilizada como controle positivo para bloqueio da produção de NO, e a reversão ou atenuação do efeito vasodilatador na sua presença é considerada uma forte evidência da participação da via NO (De Souza *et al.*, 2017). Dessa forma, estudos futuros serão essenciais para aprofundar a elucidação do mecanismo de ação e fortalecer a comprovação da atividade vasodilatadora desses extratos e complexos.

Os fenólicos, característicos das classes flavonoides e taninos, confirmados na prospecção fitoquímica por Paula *et al.* (2021) e identificado em quantidade significativa aqui neste estudo (Capítulo 2 - Figura 16), são responsáveis pela atividade vasodilatadora, devido às suas poderosas atividades antioxidantes e efeitos cardioprotetores (Larrosa *et al.*, 2010; Lobo de Andrade *et al.*, 2015). Além disso, fazendo uma análise comparativa em relação a diferença de potência da resposta vasodilatadora e a composição fitoquímica dos extratos, podemos

sugerir que a atividade biológica mais proeminente do extrato e complexo supramolecular dos ramos pode estar relacionado ao maior teor de unidades monoméricas de taninos, como os derivados dos ácidos elágico e gálico, descrito para o mesmo extrato por Paula *et al.* (2021). Isso se deve, pois essas substâncias são capazes de ativar a via do NO e de nucleotídeos cíclicos (cAMP e cGMP) gerando hipotensão e relaxamento vascular dependente do endotélio (Larrosa *et al.*, 2010; Lobo de Andrade *et al.*, 2015).

Outra questão de relevância para análise diz respeito à disponibilidade destas substâncias na sua forma livre no sistema digestivo, com o propósito de desenvolver uma possível formulação para administração oral. Apesar das sólidas evidências que sustentam os efeitos vasculares destas substâncias em ensaios *in vitro*, a escassez de evidências em modelos animais ou humanos é evidente. Também, é importante destacar que os resultados obtidos *in vitro* frequentemente não se alinham com os desfechos dos estudos conduzidos *in vivo*. Isto pode ser explicado pela baixa biodisponibilidade dos elagitaninos e ácido elágico. Segundo Larrosa *et al.* (2010), os principais subprodutos dos elagitaninos presentes na corrente sanguínea são as urolitinas, que são metabólitos do ácido elágico originados a partir da ação da microbiota. Esses metabólitos, ao contrário do seu precursor, perdem a capacidade de combater os radicais livres. Eles se encontram no plasma na forma de conjugados de glicuronídeo ou sulfato, apresentando concentrações que variam na ordem de nanomols (nM) (Larrosa *et al.* 2010).

Neste sentido, o complexo das substâncias presentes nos extratos com a β CD é uma estratégia interessante para aumentar a biodisponibilidade dessas substâncias no meio celular e, conseqüentemente, melhorar a sua atividade biológica. O complexo supramolecular dos ramos de jabuticaba (EER/ β CD) apresentou potência similar aos extratos, não havendo diferença estatística ($p > 0,05$). Por esse motivo, nosso grupo selecionou amostras dos ramos de *P. cauliflora* para dar continuidade aos estudos de administração oral, com foco na avaliação da toxicidade aguda e subcrônica, visando seu potencial como cardioprotetores promissores.

6.3 TOXICIDADE AGUDA E SUBCRÔNICA DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS

Garantir a segurança de um medicamento, não importando sua fonte, é essencial para promover a saúde. Por essa razão, as autoridades regulatórias de diversas nações têm preconizado a condução de pesquisas que validem tanto a eficácia quanto a segurança de

substâncias provenientes de plantas medicinais e produtos fitoterápicos (Fabri, 2013; Fabri *et al.*, 2012). No Brasil, os procedimentos de avaliação de toxicidade preliminar necessários para o registro e renovação de registro de produtos fitoterápicos são delineados pelo documento intitulado “Diretrizes para a condução de estudos pré-clínicos de toxicidade de produtos fitoterápicos,” elaborado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e divulgado por meio da Resolução RE 90/04. Este guia apresenta diretrizes para a realização de testes de toxicidade aguda e de exposição repetida (em períodos prolongados), bem como explora a avaliação de genotoxicidade, que se torna obrigatória quando há indicação de uso continuado ou prolongado em seres humanos (Brasil, 2004; Da Silva *et al.*, 2021).

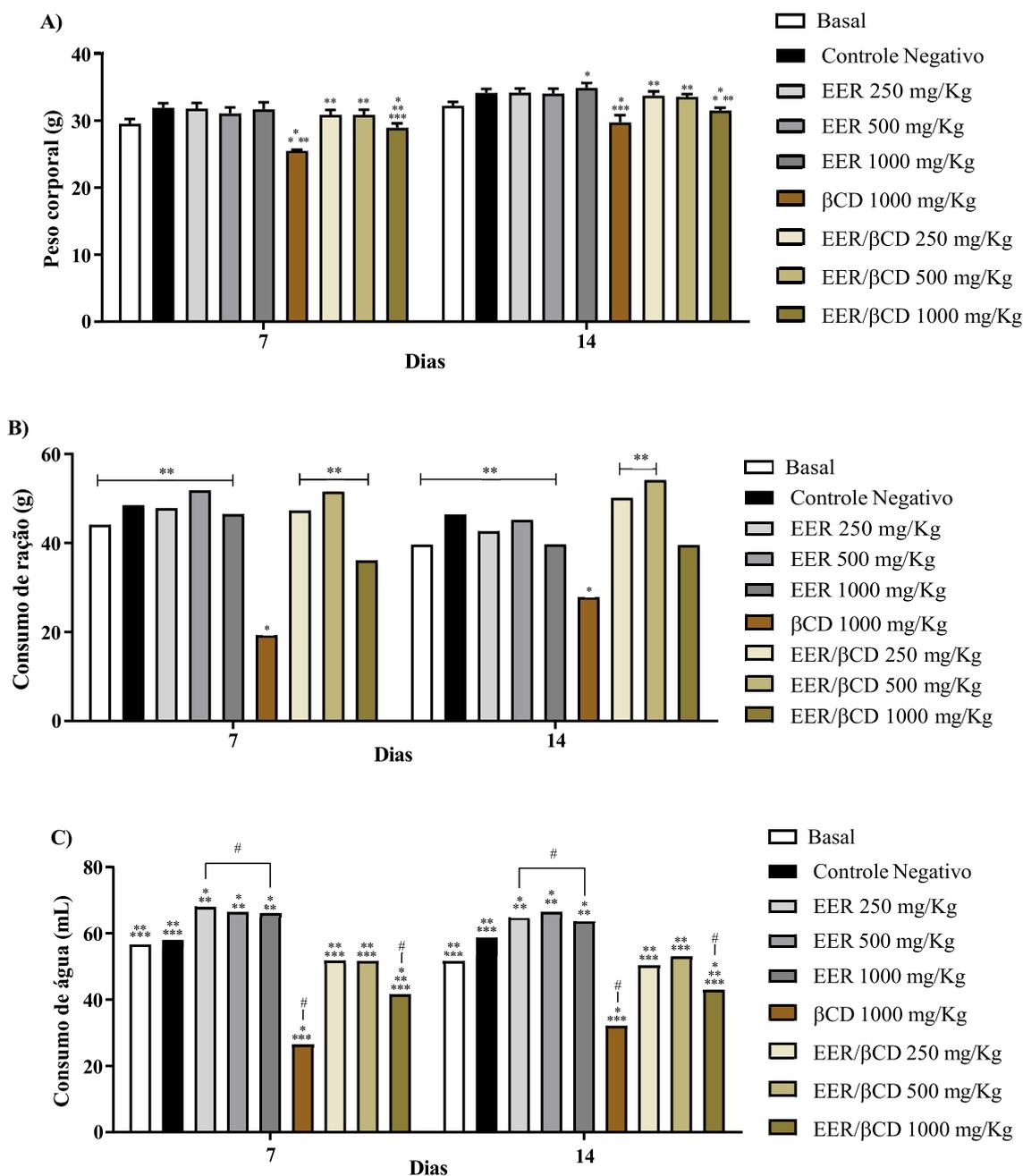
A avaliação da toxicidade aguda é um dos primeiros passos para determinar a segurança de novas substâncias, permitindo a identificação da dose letal mediana (DL_{50}) e a observação de efeitos tóxicos após administração única ou fracionada em uma ou mais vias de exposição. Conforme descrito pelas diretrizes brasileiras (Brasil, 2013), esses ensaios envolvem o monitoramento de animais de ambos os sexos ao longo de 14 dias após a administração, com análise de mortalidade e sinais clínicos.

No presente estudo, a administração oral do EER e EER/ β CD nas concentrações nominais de extrato de 250, 500 e 1000 mg/Kg, bem como da β CD isolada a 1000 mg/Kg, não resultou em óbitos durante o período de observação. Adicionalmente, não foram observadas alterações significativas no ganho de peso corporal (Figura 11 A), no consumo de ração e água (Figuras 11 B e C, respectivamente) ou em parâmetros comportamentais dos animais tratados ($p > 0,05$). As variações estatísticas entre os grupos são atribuídas à heterogeneidade natural entre os animais. Assim, a DL_{50} das amostras testadas para camundongos Swiss machos pode ser considerada superior a 1000 mg/Kg. De acordo com Da Silva *et al.* (2021), substâncias que não provocam mortalidade até a concentração de 1000 mg/Kg são classificadas como de baixa toxicidade, corroborando a segurança preliminar do extrato e seu complexo supramolecular.

Cabe destacar, entretanto, que no grupo β CD, dois animais apresentaram sinais clínicos adversos, incluindo postura contraída, piloereção, emissão de ruídos e respiração anormal, em decorrência de lesões internas provocadas durante o procedimento de gavagem, confirmadas após a necropsia. A separação desses animais e a consequente redução do número de indivíduos no grupo podem explicar as pequenas variações observadas nas médias de peso corporal e no consumo de água e ração, não havendo uma relação direta com a toxicidade da substância testada. Dessa forma, os resultados obtidos no ensaio de toxicidade aguda indicaram a

segurança preliminar do extrato e de seu complexo supramolecular, permitindo a definição de doses seguras para estudos subsequentes.

Figura 11. Média do peso corporal (A), consumo de ração (B) e água (C) dos camundongos Swiss machos durante 14 dias de tratamento com EER, EER/ β CD e β CD.

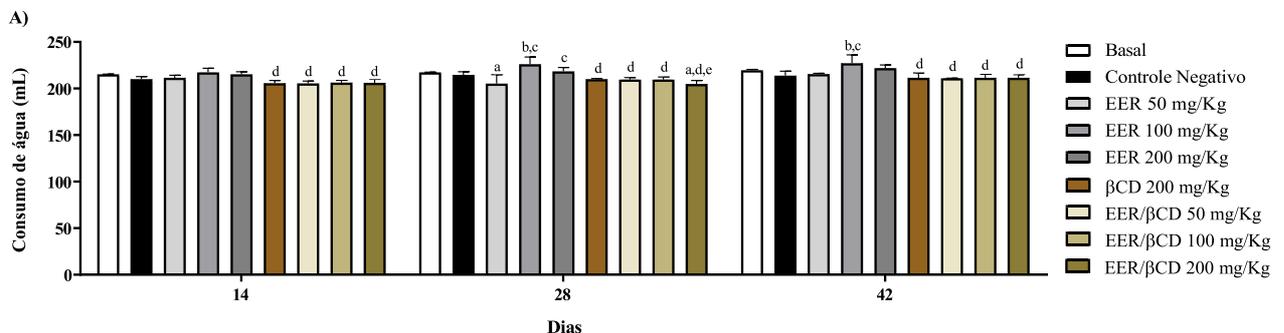


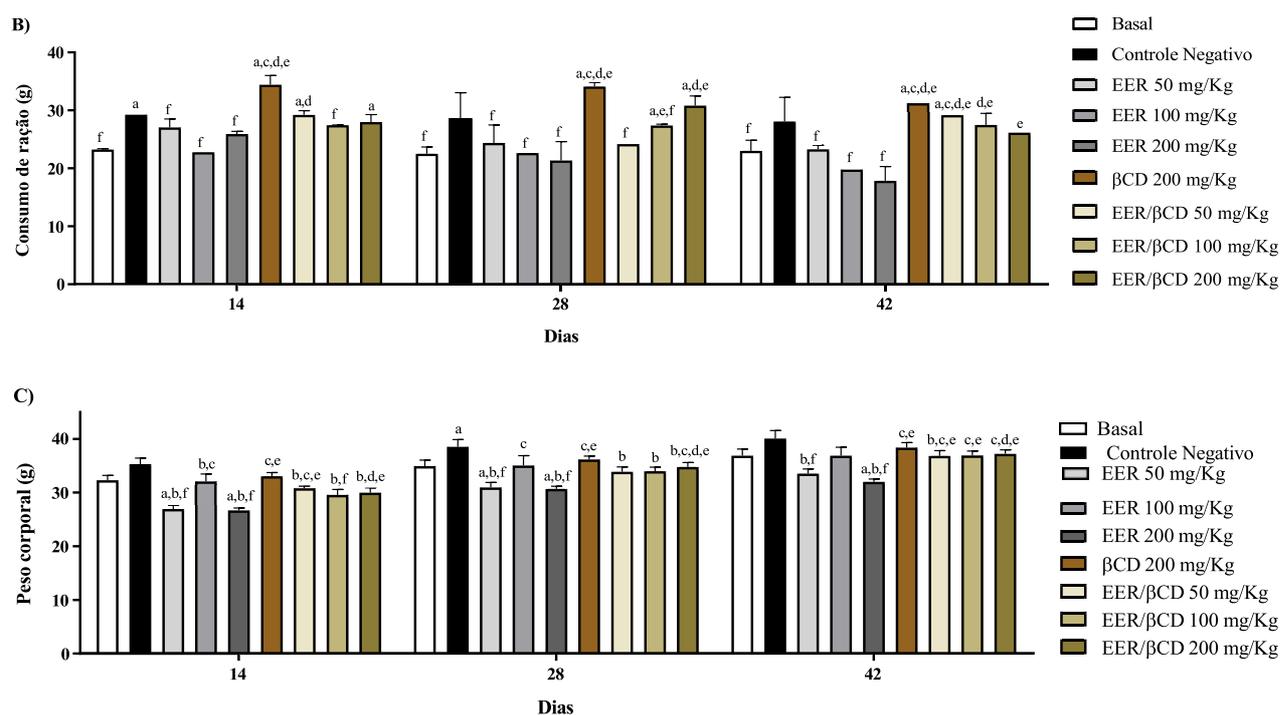
Legenda: EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. β CD: β -ciclodextrina. Basal: grupo de animais que receberam água. CN: Controle Negativo – grupo de animais que receberam veículo (10% de Tween 80 em água). *Diferença estatística em relação ao Basal e CN ($p < 0,05$). **Diferença estatística em relação a β CD 1000 mg/Kg ($p < 0,05$). ***Diferença estatística em relação ao EER 250, 500 e 1000 mg/Kg ($p < 0,05$). #Diferença estatística em relação ao EER/ β CD 250 e 500 mg/Kg ($p < 0,05$). Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão (n = 6). ANOVA seguido do teste de Bonferroni. Fonte: Autoria própria.

Nesse contexto, os estudos de toxicidade subcrônica tornam-se essenciais para caracterizar de forma mais abrangente o perfil toxicológico das substâncias, por meio da administração repetida ao longo do tempo. Esses ensaios possibilitam a identificação de possíveis efeitos tóxicos cumulativos, órgãos-alvo e alterações fisiológicas, evidenciadas através de parâmetros bioquímicos, hematológicos, anatômicos e histopatológicos. As doses empregadas nesse tipo de estudo são geralmente estabelecidas com base nos dados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda ou em testes piloto (Brasil, 2013).

Durante o tratamento subcrônico, a administração oral das mesmas amostras nas concentrações nominais de extrato de 50, 100 e 200 mg/Kg, bem como da β CD isolada a 200 mg/Kg, foi monitorada quanto ao impacto no consumo de água, ingestão de alimentos e ganho de peso corporal dos animais. A análise dos dados revelou que não houve alterações significativas no consumo de água entre os grupos experimentais ($p > 0,05$), indicando que o tratamento não comprometeu a hidratação ou a homeostase hídrica dos animais (Figura 12 A). Em contrapartida, o consumo de ração apresentou variações estatisticamente significativas (Figura 12 B), assim como observado no ensaio de toxicidade aguda. Essa diferença, no entanto, pode ser atribuída à heterogeneidade individual dos animais e não necessariamente a um efeito tóxico das amostras testadas. Especificamente, os animais tratados com β CD mostraram um aumento no consumo de ração em comparação ao grupo basal, embora sem reflexo em alterações significativas no ganho de peso corporal, sugerindo que a maior ingestão não resultou em distúrbios metabólicos adversos.

Figura 12. Consumo de água (A) e ração (B), e média do peso corporal (C) dos camundongos Swiss machos durante 42 dias de tratamento com EER, EER/ β CD e β CD.





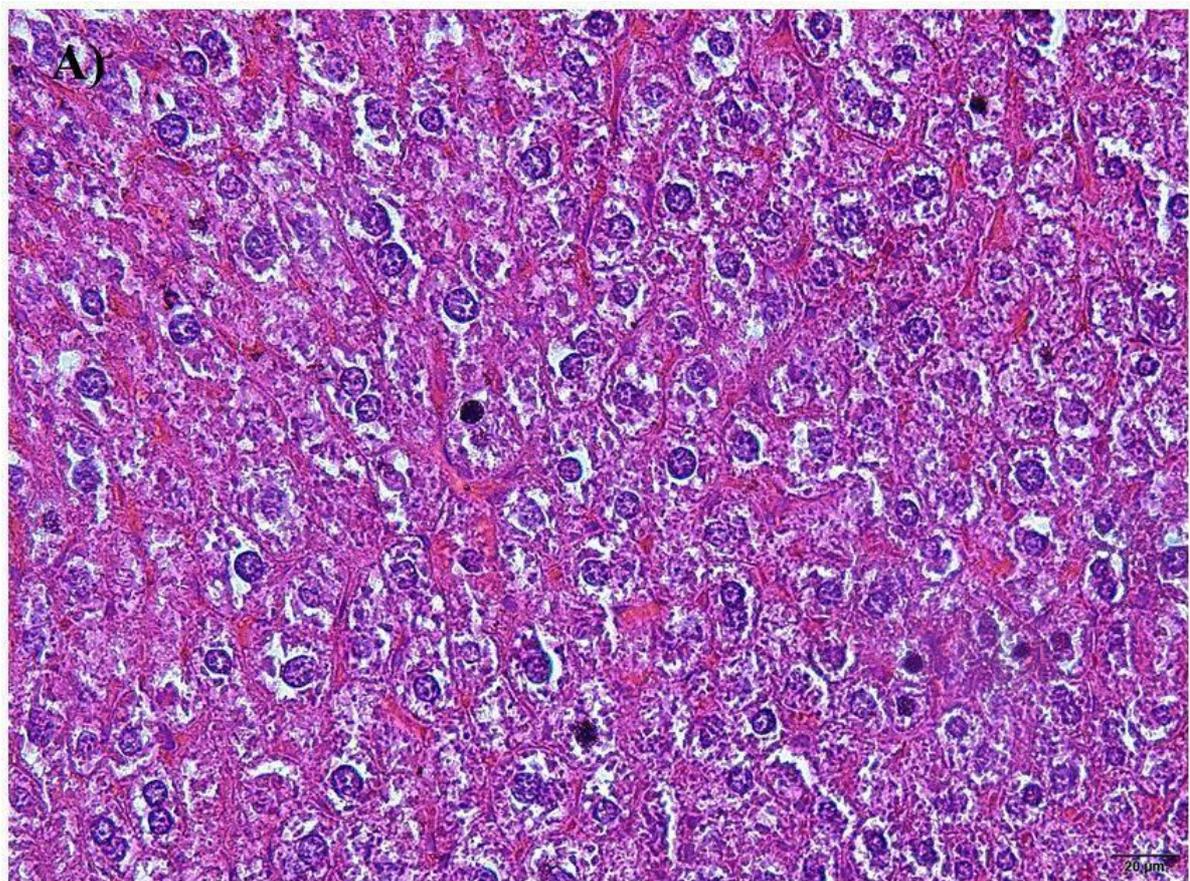
Legenda: EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EER/βCD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. βCD: β-ciclodextrina. Basal: grupo de animais que receberam água. CN: Controle Negativo – grupo de animais que receberam veículo (10% de Tween 80 em água). a – Diferença estatística em relação ao Basal ($p < 0,05$). b – Diferença estatística em relação ao CN ($p < 0,05$). c – Diferença estatística em relação ao EER 50 mg/Kg ($p < 0,05$). d – Diferença estatística em relação ao EER 100 mg/Kg ($p < 0,05$). e – Diferença estatística em relação ao EER 200 mg/Kg ($p < 0,05$). f - Diferença estatística em relação a βCD 200 mg/Kg ($p < 0,05$). Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão (n = 6). ANOVA seguido do teste de Bonferroni. Fonte: Autoria própria.

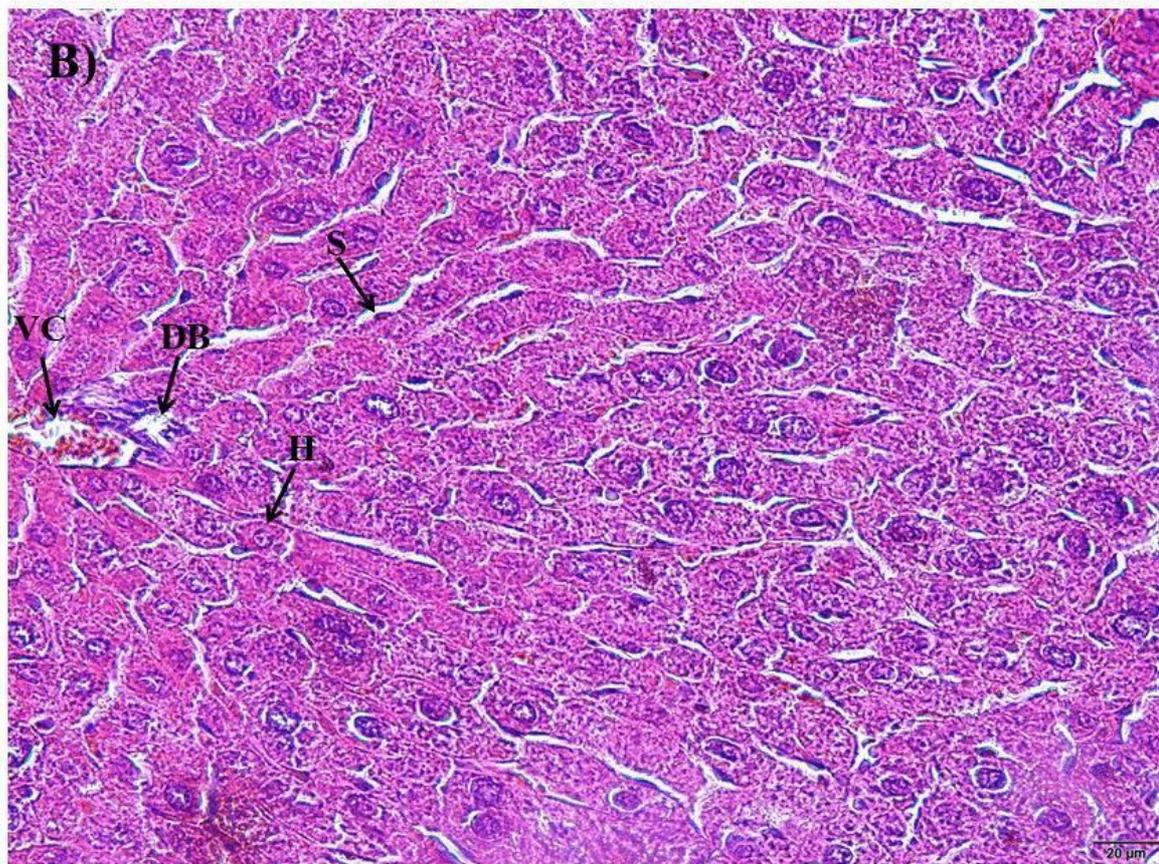
O acompanhamento do ganho de peso corporal acumulado, apresentado na Figura 12 C, reforça tal interpretação. Durante os 42 dias de tratamento, não foram observadas mudanças significativas entre os grupos. Apesar de diferenças estatísticas pontuais, o padrão de ganho de peso manteve-se constante ao longo do período experimental. Esses resultados indicam que a administração repetida do extrato e complexo supramolecular não comprometeu o desenvolvimento ponderal dos animais, corroborando a ausência de efeitos tóxicos sistêmicos.

Diante dos parâmetros clínicos monitorados observados, tornou-se fundamental a avaliação complementar de marcadores bioquímicos, hematológicos e histopatológicos, a fim de investigar possíveis alterações subclínicas ou efeitos adversos não detectáveis apenas por observação comportamental e medidas ponderais. Nesse sentido, foram analisados o peso corporal final dos animais e o peso relativo dos principais órgãos extraídos para avaliação macroscópica e histológica.

A Tabela 5 apresenta esses dados, demonstrando que, de modo geral, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos tratados e o controle ($p > 0,05$). A única exceção foi observada no fígado dos animais tratados com EER na concentração de 200 mg/Kg, que apresentaram redução no peso hepático em relação ao grupo basal. No entanto, a análise histológica do órgão revela que não há alterações histopatológicas aparentes no fígado, ou seja, os hepatócitos se encontram com morfologia nuclear íntegra, citoplasma homogêneo e ausência de infiltrado inflamatório ou necrose evidente, tal qual o grupo basal (Figura 13).

Figura 13. Fotomicrografia do fígado dos camundongos Swiss machos dos grupos basal (A) e EER 200 mg/Kg (B), com aumento de 40x, corados com hematoxilina-eosina após 42 dias de exposição no ensaio de toxicidade subcrônica.





Legenda: EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. Basal: grupo de animais que receberam água. O corte do fígado da imagem (B) mostra a presença de estruturas conservadas: (VC) veia central, (DB) ducto biliar, (H) hepatócitos, (S) sinusoides. Fonte: Autoria própria.

Tabela 5. Peso médio dos camundongos Swiss machos após 42 dias de tratamento com EER, EER/ β CD e β CD e peso médio dos principais órgãos extraídos após eutanásia.

Peso dos animais e dos principais órgãos (g)	Basal	CN	EER 50 mg/Kg	EER 100 mg/Kg	EER 200 mg/Kg	β CD 200 mg/Kg	EER/ β CD 50 mg/Kg	EER/ β CD 100 mg/Kg	EER/ β CD 200 mg/Kg
<i>Peso médio dos animais</i>	34,71 \pm 2,28	36,92 \pm 2,26	32,25 \pm 1,81	34,66 \pm 2,40	31,35 \pm 0,93	35,87 \pm 2,67	35,36 \pm 2,09	35,45 \pm 2,07	36,00 \pm 1,74
<i>Fígado</i>	2,19 \pm 0,05 ^a	2,04 \pm 0,18	1,97 \pm 0,13	2,00 \pm 0,14	1,78 \pm 0,15	2,21 \pm 0,08 ^a	2,19 \pm 0,11 ^a	2,06 \pm 0,10	2,20 \pm 0,09 ^a
<i>Baço</i>	0,22 \pm 0,04	0,20 \pm 0,03	0,21 \pm 0,03	0,22 \pm 0,10	0,18 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02	0,21 \pm 0,02	0,22 \pm 0,03	0,21 \pm 0,02
<i>Rim direito</i>	0,27 \pm 0,04	0,27 \pm 0,04	0,24 \pm 0,04	0,26 \pm 0,04	0,23 \pm 0,02	0,28 \pm 0,02	0,24 \pm 0,03	0,25 \pm 0,04	0,25 \pm 0,03
<i>Rim esquerdo</i>	0,28 \pm 0,03	0,27 \pm 0,05	0,25 \pm 0,02	0,26 \pm 0,04	0,26 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	0,25 \pm 0,02	0,26 \pm 0,02	0,27 \pm 0,04

Legenda: EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. β CD: β -ciclodextrina. Basal: grupo de animais que receberam água. CN: Controle Negativo – grupo de animais que receberam veículo (10% de Tween 80 em água). a – Diferença estatística em relação ao EER 200 mg/Kg ($p < 0,05$). Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão (n = 6). ANOVA seguido do teste de Bonferroni. Fonte: Autoria própria.

Os dados apresentados na Tabela 6 mostram os resultados dos parâmetros bioquímicos após a administração subcrônica do EER, do complexo EER/ β CD e da β CD nas diferentes concentrações testadas.

Os níveis de AST, ALT e bilirrubina total não apresentaram alterações significativas entre os grupos tratados e o grupo basal ($p > 0,05$), sugerindo que, em geral, os tratamentos não afetaram as funções hepática e biliar. A exceção foi observada no grupo tratado com EER 200 mg/Kg, onde os níveis de ALT foram mais elevados ($9,18 \pm 0,60$ U/L) em comparação aos outros grupos. Esses parâmetros são importantes para avaliar as funções hepática e biliar. A ALT, em particular, é uma enzima predominantemente encontrada no fígado, no entanto, um aumento isolado nos níveis de ALT é altamente não específico, pois essa aminotransferase também está presente em abundância no coração, nos rins e nos músculos esqueléticos (Fabri *et al.*, 2012; Roy *et al.*, 2023), o que limita a interpretação de um aumento em ALT como um marcador exclusivo de toxicidade hepática.

Vale ressaltar que, o grupo tratado com o EER/ β CD, independentemente da concentração, apresentou valores inferiores de AST e ALT em comparação com o EER, indicando um possível efeito protetor da β CD. Este comportamento sugere que a formação do complexo entre o extrato e a ciclodextrina pode reduzir o potencial toxicológico do extrato livre, corroborando a hipótese de que a ciclodextrina pode atuar como um modulador da toxicidade (Suvarna *et al.*, 2022), conferindo maior segurança à administração das substâncias em concentrações mais altas.

A avaliação do perfil proteico foi realizada por meio da análise de proteínas totais e albumina, cujos resultados estão apresentados na Tabela 6. Observou-se uma diminuição significativa nos níveis de albumina nos grupos tratados com EER/ β CD nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/Kg em comparação ao grupo controle (CN) ($p < 0,05$), enquanto, por outro lado, houve um aumento nos níveis de proteínas totais nos grupos EER/ β CD 50, 100 e 200 mg/Kg, bem como no grupo β CD 200 mg/Kg ($p < 0,05$).

Tabela 6. Parâmetros bioquímicos observados para toxicidade subcrônica em camundongos Swiss machos tratados com EER, EER/ β CD e β CD.

Parâmetros	Basal	CN	EER	EER	EER	β CD	EER/ β CD	EER/ β CD	EER/ β CD
			50 mg/Kg	100 mg/Kg	200 mg/Kg	200 mg/Kg	50 mg/Kg	100 mg/Kg	200 mg/Kg
Glicose (mg/dL)	217,90 \pm 2,83	230,01 \pm 0,53	217,64 \pm 1,49 ^b	223,65 \pm 1,60	205,38 \pm 2,04 ^{a,b}	224,81 \pm 4,75	209,75 \pm 1,39 ^b	204,51 \pm 4,51 ^{a,b,d}	201,36 \pm 1,86 ^{a,b}
Albumina (g/dL)	3,40 \pm 0,19	3,62 \pm 0,37	3,42 \pm 0,17	3,35 \pm 0,14	3,42 \pm 0,05	3,01 \pm 0,04	2,78 \pm 0,22 ^b	2,79 \pm 0,15 ^b	2,68 \pm 0,19 ^b
Proteínas totais (g/dL)	5,07 \pm 0,94	4,73 \pm 0,60	4,59 \pm 0,27	4,41 \pm 0,11	4,25 \pm 0,03	6,14 \pm 0,06 ^b	6,03 \pm 0,08 ^c	5,76 \pm 0,29 ^d	5,87 \pm 0,45 ^e
Bilirrubina (mg/dL)	14,38 \pm 1,63	15,18 \pm 2,61	13,24 \pm 1,51	12,48 \pm 0,24	13,46 \pm 0,96	13,48 \pm 0,53	13,39 \pm 1,48	12,85 \pm 1,61	11,18 \pm 0,17
TGO-AST (U/L)	3,51 \pm 1,28	3,55 \pm 2,11	1,87 \pm 0,70	3,18 \pm 1,27	3,06 \pm 1,93	2,46 \pm 2,83	2,35 \pm 4,44	2,04 \pm 4,10	2,61 \pm 1,99
TGP-ALT (U/L)	3,93 \pm 0,17	2,75 \pm 5,05	4,97 \pm 2,84	6,44 \pm 2,64	9,18 \pm 0,60 ^b	4,08 \pm 3,73	4,31 \pm 2,83	3,77 \pm 3,23	4,47 \pm 3,44
Ureia (mg/dL)	69,71 \pm 1,47	59,63 \pm 1,53 ^a	33,51 \pm 3,62 ^{a,b}	27,26 \pm 1,77 ^{a,b}	32,05 \pm 0,73 ^{a,b}	73,05 \pm 0,48 ^b	69,22 \pm 0,53 ^{b,c}	61,14 \pm 0,36 ^d	60,34 \pm 2,07 ^e
Creatinina (mg/dL)	1,86 \pm 1,07	0,86 \pm 0,003	0,22 \pm 0,008	0,57 \pm 0,55	0,18 \pm 0,02	1,56 \pm 0,95	0,60 \pm 0,04	0,97 \pm 0,03	0,69 \pm 0,25
Triglicérides (mg/dL)	81,63 \pm 0,72	62,47 \pm 0,92 ^a	57,27 \pm 2,28 ^a	70,76 \pm 0,60 ^a	61,00 \pm 2,49 ^a	84,63 \pm 0,58 ^b	79,87 \pm 3,51 ^{b,c}	89,89 \pm 0,38 ^{b,d}	85,48 \pm 2,47 ^{b,e}
GGT (U/L)	4,19 \pm 1,99	2,40 \pm 2,77	5,85 \pm 2,84	15,20 \pm 2,11 ^{a,b}	6,87 \pm 3,07	2,04 \pm 1,18	3,16 \pm 2,77	2,18 \pm 1,87 ^d	1,10 \pm 0,93 ^e

Legenda: EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. β CD: β -ciclodextrina. Basal: grupo de animais que receberam água. CN: Controle negativo – grupo de animais que receberam veículo (10% de Tween 80 em água). a – Diferença estatística em relação ao Basal ($p < 0,05$). b – Diferença estatística em relação ao CN ($p < 0,05$). c – Diferença estatística em relação ao EER 50 mg/Kg ($p < 0,05$). d – Diferença estatística em relação ao EER 100 mg/Kg ($p < 0,05$). e – Diferença estatística em relação ao EER 200 mg/Kg ($p < 0,05$). Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão (n = 6). ANOVA seguido do teste de Bonferroni. Fonte: Autoria própria.

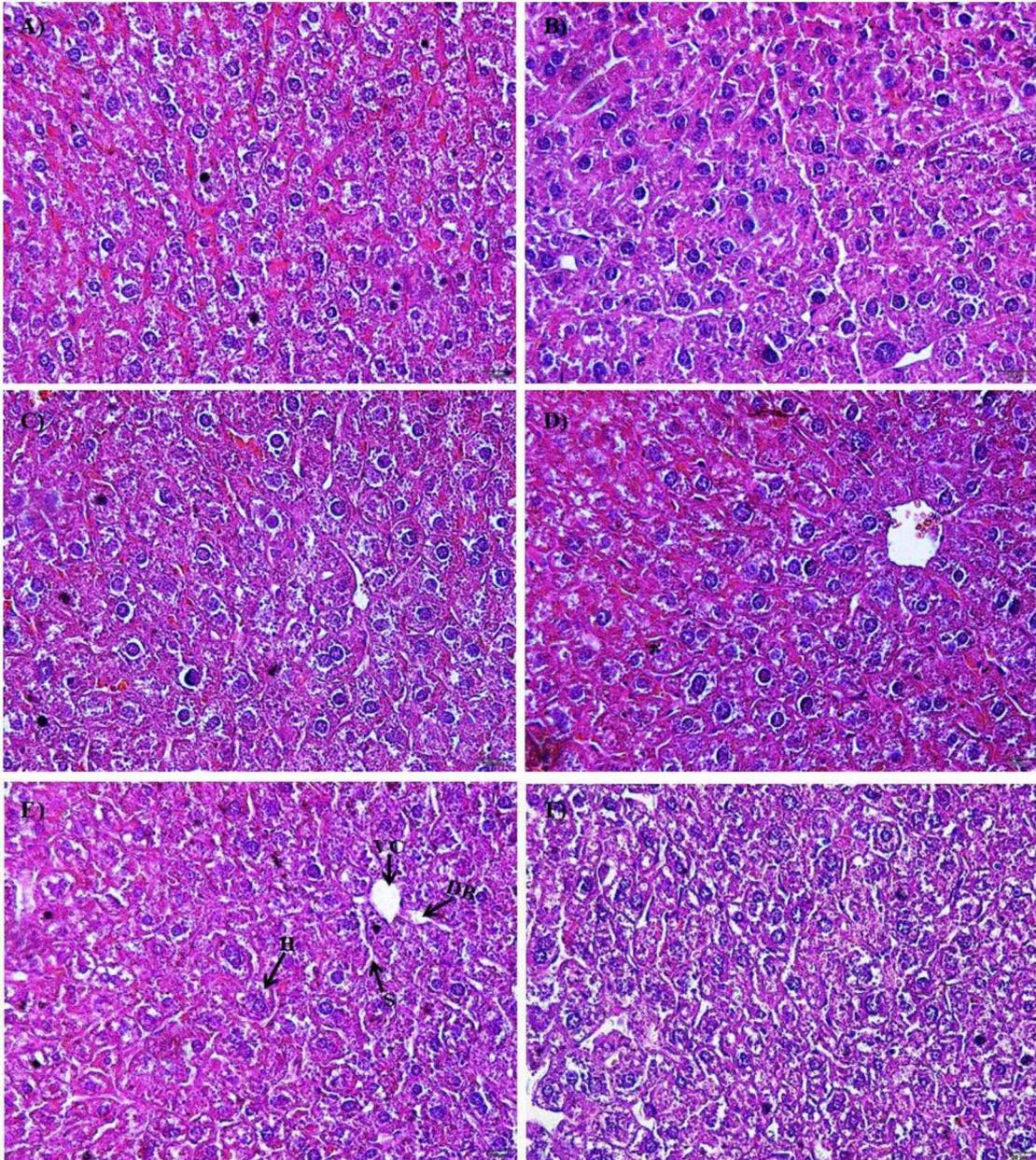
Embora esses resultados possam sugerir alterações nos parâmetros proteicos, eles não necessariamente indicam sinais de toxicidade, uma vez que o aumento das proteínas totais pode estar associado a uma resposta adaptativa do organismo, e não a lesões teciduais definitivas (Fabri *et al.*, 2012). Para uma avaliação mais precisa, foi realizado análises histológicas do fígado, para confirmar se essas alterações são, de fato, decorrentes de lesão hepática ou se refletem uma adaptação do organismo à administração prolongada das substâncias.

A análise do órgão dos camundongos tratados com EER/ β CD na concentração de 200 mg/Kg (Figura 14) revelou preservação da arquitetura hepática, com cordões de hepatócitos organizados, núcleos centrais e basófilos, e sinusoides regulares, sem evidência de necrose, infiltrado inflamatório ou vacuolização citoplasmática, aspectos estes compatíveis com um tecido hepático íntegro. A ausência de alterações morfológicas significativas, quando comparado ao grupo controle, reforça a hipótese de que o aumento nas proteínas totais decorre de uma resposta adaptativa, e não de hepatotoxicidade induzida pelo tratamento (Junqueira e Carneiro, 2013).

A função renal foi avaliada com base nos níveis de ureia e creatinina no sangue. Enquanto os níveis de creatinina não apresentaram alterações significativas entre os grupos ($p > 0,05$), alterações significativas foram observadas nos níveis de ureia, conforme apresentado na Tabela 6. Os grupos tratados com EER nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/Kg mostraram uma redução nos níveis de ureia, enquanto os grupos tratados com EER/ β CD nas mesmas concentrações e o grupo β CD 200 mg/Kg apresentaram níveis maiores de ureia. No entanto, esses níveis ficaram próximos aos encontrados nos grupos basal e controle negativo (CN), sem diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

A ureia e a creatinina são substâncias derivadas do metabolismo de proteínas e excretadas pelos rins. O aumento dos níveis dessas substâncias no sangue pode indicar retenção de nitrogênio, o que, por sua vez, pode ser um sinal de danos renais. No entanto, é importante destacar que, conforme estudo realizado por Satyanarayana *et al.* (2001), o dano renal é mais provável quando os níveis de creatinina e ureia aumentam simultaneamente, o que não foi observado em nosso estudo. A ausência de elevação concomitante desses parâmetros sugere que, apesar das alterações observadas na ureia, os efeitos renais não são claros. Dessa forma, análises histológicas adicionais são necessárias para avaliar se há alterações nas estruturas renais que possam explicar o aumento isolado dos níveis de ureia nos animais tratados com determinadas amostras, permitindo uma conclusão mais precisa sobre a toxicidade renal.

Figura 14. Fotomicrografia do fígado dos camundongos dos grupos basal (A), controle negativo (B), β CD (C), EER/ β CD 50 mg/Kg (D), EER/ β CD 100 mg/Kg (E), EER/ β CD 200 mg/Kg (F), com aumento de 40x, corados com hematoxilina-eosina após 42 dias de exposição no ensaio de toxicidade subcrônica.



Legenda: EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. β CD: β -ciclodextrina. Basal: grupo de animais que receberam água. CN: Controle Negativo – grupo de animais que receberam veículo (10% de Tween 80 em água). A) Corte histológico do grupo basal. B) Corte histológico do grupo CN. C) Corte histológico do grupo β CD. D) Corte histológico do grupo EER/ β CD 50 mg/Kg. E) Corte histológico do grupo EER/ β CD 100 mg/Kg. F) Corte histológico do grupo EER/ β CD 200 mg/Kg. Na imagem (E) mostra a presença de estruturas conservadas: (VC) veia central, (DB) ducto biliar, (H) hepatócitos e (S) sinusoides. Fonte: Autoria própria.

Além dos parâmetros citados, também foi realizada a análise dos níveis de triglicerídeos para determinar o perfil lipídico sérico dos grupos. Observaram-se que os níveis de

triglicerídeos variaram significativamente entre os grupos (Tabela 6). Os grupos tratados com veículo (CN) e EER nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/Kg apresentaram níveis de triglicerídeos mais baixos em comparação ao grupo basal ($p < 0,05$). Em contrapartida, os grupos tratados com EER/ β CD nas mesmas concentrações, assim como o grupo β CD 200 mg/Kg, não apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo basal, embora apresentassem níveis significativamente diferentes em comparação com todos os outros grupos.

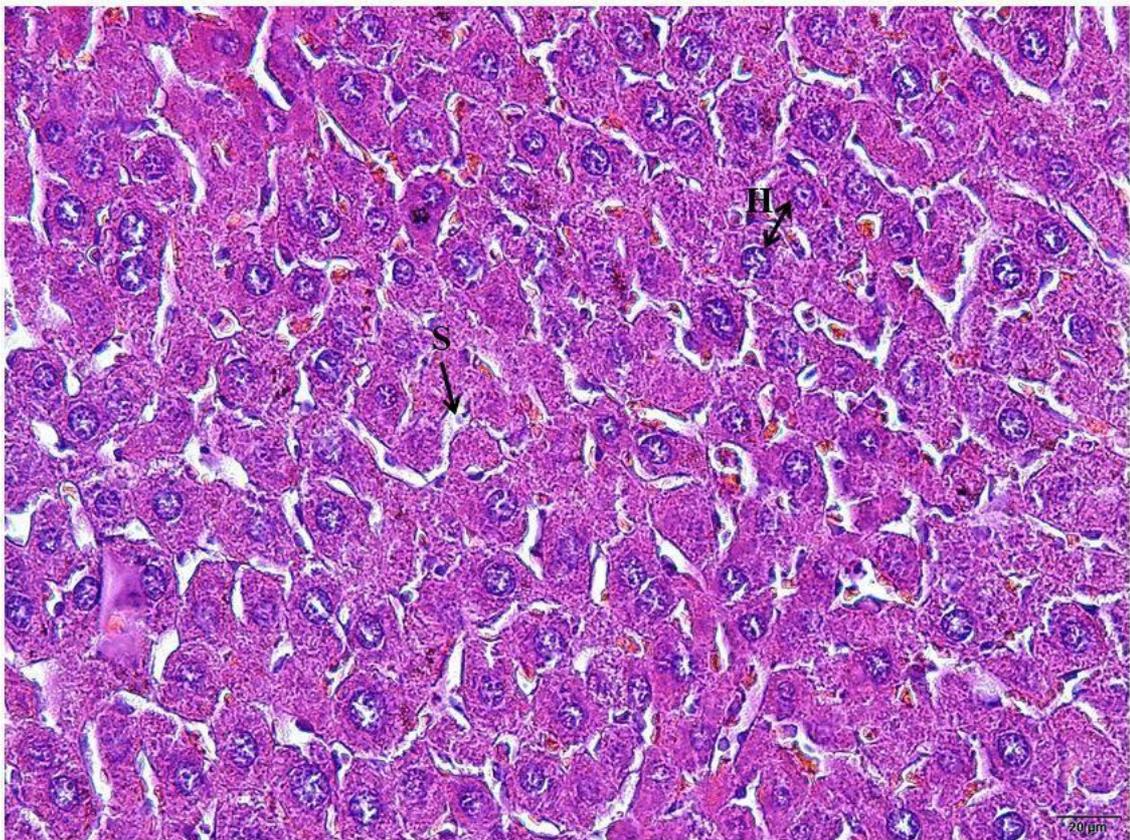
Os níveis séricos de triglicerídeos são frequentemente associados a doenças arteriais coronarianas e são utilizados como parâmetros na avaliação de hiperlipidemia (Wu *et al.*, 2024). Portanto, a redução observada nos grupos tratados com EER sugere que as substâncias presentes no extrato podem ter um efeito benéfico sobre o perfil lipídico, possivelmente contribuindo para a diminuição do risco cardiovascular. No entanto, é importante destacar que a avaliação dos níveis de glicose também foi realizada, e valores relativamente elevados foram observados. Isso pode ser atribuído ao fato de que não foi aplicada a restrição alimentar antes da eutanásia dos animais, ou seja, os animais não passaram pelo jejum, o que influenciou nos níveis de glicose. Contudo, ao comparar os valores de glicose entre os grupos basal e CN, os níveis observados nos grupos experimentais ficaram bastante próximos, indicando que o tratamento não teve um efeito significativo sobre os níveis de glicose.

Em relação à GGT, observaram-se que os valores de todas as amostras testadas (Tabela 6), exceto para EER 100 mg/Kg, não apresentaram diferenças estatísticas em comparação aos grupos basal e CN ($p > 0,05$), estando dentro da faixa de variação para camundongos Swiss machos (0,00-6,00 U/L), o que sugere a ausência de danos hepáticos (Resbcal, 2015; Roy *et al.*, 2023). A GGT é uma enzima encontrada em maior concentração no tecido renal, mas sua relevância clínica está principalmente associada a doenças hepáticas e biliares, como colestase e lesões inflamatórias ou tóxicas no fígado. Ela é presente nas células hepáticas e epiteliais biliares, sendo amplamente utilizada como marcador sensível, embora não muito específico, para a identificação de danos hepáticos e nas vias biliares. Paralelamente, estudos sugerem uma forte relação entre a GGT e o aumento do índice de massa corpórea (IMC), indicando que o peso corporal pode ser um fator principal na elevação dos níveis de enzimas hepáticas (Araújo *et al.*, 2005).

No entanto, no presente estudo, não foi observada uma correlação direta entre o aumento do peso no grupo EER 100 mg/Kg e os níveis de GGT durante 42 dias de tratamento, uma vez que o padrão de ganho de peso se manteve constante ao longo deste período e não houve diferença estatística em relação as outras concentrações do mesmo grupo. Ainda, nenhum efeito

hepático ou biliar resultante da administração dessa amostra, na concentração de 100 mg/Kg, foi percebido na análise histológica do fígado, conforme observado na Figura 15. Logo, a dissociação entre a elevação da GGT e a ausência de alterações histológicas visíveis reforça a ideia de que os níveis de GGT isoladamente não são suficientes para indicar toxicidade hepática. Portanto, análises complementares, como testes bioquímicos adicionais, poderiam suportar a uma avaliação mais completa.

Figura 15. Fotomicrografia do fígado do camundongo tratado com EER 100 mg/Kg, corados com hematoxilina-eosina, com aumento de 40x, após 42 dias de exposição.



Legenda: EER: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. Corte histológico do fígado com destaque para parênquima hepático preservado, com hepatócitos (H) bem definidos e sinusoides (S) visíveis. Fonte: Autoria própria.

A análise dos indicadores hematológicos é crucial para a avaliação do risco toxicológico, uma vez que as alterações no sistema sanguíneo têm uma maior capacidade de prever a toxicidade em seres humanos quando extrapolamos dados de estudos com animais (Fabri *et al.*, 2012). Em nosso estudo, o perfil hematológico dos camundongos tratados, que inclui hematócritos, contagem total de leucócitos e contagem diferencial de leucócitos, não apresentou diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$), exceto em relação aos níveis de

hemoglobina (Tabela 7). No entanto, os valores de hemoglobina observados estão dentro da faixa de variação normal para camundongos Swiss (12,28 - 14,48 g/dL) (Resbcal, 2015; Roy *et al.*, 2023; Laboratório da Fundação Oswaldo Cruz, 2004), indicando que as amostras testadas não induziram uma resposta imunológica relevante ou efeitos adversos hematológicos significativos.

Esses achados estão em consonância com estudos anteriores que estabeleceram valores de referência para parâmetros hematológicos em diferentes linhagens de camundongos. Em um estudo conduzido por Santana *et al.* (2020), foram avaliados os perfis hematológicos e bioquímicos de camundongos das linhagens Swiss, BALB/c, C57BL/6 e B6D2F1, fornecendo parâmetros de referência fundamentais para a interpretação de dados toxicológicos. Os valores obtidos em nosso estudo, especialmente nos camundongos Swiss machos, situam-se dentro das faixas consideradas normais, o que reforça a ausência de efeitos adversos hematológicos relevantes induzidos pelas amostras testadas.

Embora os valores observados nos grupos tratados com o extrato dos ramos, bem como nos grupos basal e CN, estejam abaixo do esperado, essa diferença deve-se, sobretudo, à limitação técnica enfrentada durante a coleta de amostras, em razão do volume insuficiente de sangue obtido dos camundongos. Essa dificuldade é comum em estudos com roedores, especialmente devido à relação entre o peso corporal e o volume sanguíneo disponível para análise. Como consequência, não foi possível realizar todos os parâmetros bioquímicos inicialmente planejados. Essa limitação metodológica restringe a profundidade da análise toxicológica dos componentes sanguíneos e deve ser considerada na interpretação dos resultados e nas conclusões do estudo.

Em resumo, os resultados obtidos indicam que os extratos e complexos supramoleculares dos ramos de *P. cauliflora* não apresentam toxicidade hematológica significativa em camundongos Swiss, conforme evidenciado pela manutenção dos parâmetros hematológicos dentro das faixas de referência estabelecidas na literatura científica.

Tabela 7. Parâmetros hematológicos observados para toxicidade subcrônica em camundongos Swiss machos tratados com EER, EER/ β CD e β CD.

Parâmetros	Basal	CN	EER	EER	EER	β CD	EER/ β CD	EER/ β CD	EER/ β CD
			50 mg/Kg	100 mg/Kg	200 mg/Kg	200 mg/Kg	50 mg/Kg	100 mg/Kg	200 mg/Kg
Hemoglobina (g/dL)	10,57 \pm 1,27	8,32 \pm 0,83	7,81 \pm 0,42	7,35 \pm 0,55	7,21 \pm 0,11	12,20 \pm 0,62 ^b	12,19 \pm 0,12 ^{b,c}	11,60 \pm 1,43 ^d	11,20 \pm 0,01 ^e
Hematócrito (%)	45,5 \pm 0	43,42 \pm 2,71	41,00 \pm 0,71	40,75 \pm 0,35	41,25 \pm 1,06	43,33 \pm 0,94	42,79 \pm 0,65	43,83 \pm 1,18	41,17 \pm 0,71
Leucócitos totais (10 ³ células/ μ L)	4,23 \pm 4,50	3,25 \pm 5,66	6,43 \pm 4,94	4,93 \pm 3,53	6,60 \pm 1,41	4,68 \pm 2,08	3,76 \pm 4,03	5,15 \pm 4,58	5,13 \pm 3,54
Neutrófilo (%)	21,25 \pm 2,63	18,00 \pm 4,24	17,75 \pm 5,90	20,25 \pm 4,35	16,33 \pm 0,58	18,00 \pm 5,48	18,00 \pm 1,83	21,00 \pm 1,00	20,33 \pm 1,53
Linfócito (%)	74,33 \pm 5,51	74,67 \pm 5,03	74,75 \pm 3,09	78,5 \pm 7,78	77,5 \pm 5,19	72,00 \pm 5,83	73,5 \pm 3,51	73,67 \pm 3,21	72,00 \pm 2,83
Eosinófilo (%)	1,00 \pm 0,00	0,00	1,00 \pm 0,00	0,00	0,00	1,33 \pm 0,58	1,00 \pm 0,00	0,00	0,00
Basófilo (%)	3,00 \pm 2,00	1,00	2,00 \pm 1,15	4,00 \pm 4,25	2,25 \pm 0,96	2,00 \pm 0,00	4,50 \pm 1,29	2,00 \pm 0,82	1,25 \pm 0,50
Monócito (%)	2,75 \pm 1,50	2,25 \pm 1,25	4,67 \pm 0,58	1,34 \pm 0,58	2,00 \pm 0,82	4,25 \pm 1,71	4,00 \pm 1,41	5,5 \pm 0,71	3,67 \pm 0,58

Legenda: EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. β CD: β -ciclodextrina. Basal: grupo de animais que receberam água. CN: Controle Negativo – grupo de animais que receberam veículo (10% de Tween 80 em água). a – Diferença estatística em relação ao Basal ($p < 0,05$). b – Diferença estatística em relação ao CN ($p < 0,05$). c – Diferença estatística em relação ao EER 50 mg/Kg ($p < 0,05$). d – Diferença estatística em relação ao EER 100 mg/Kg ($p < 0,05$). e – Diferença estatística em relação ao EER 200 mg/Kg ($p < 0,05$). Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão (n = 6). ANOVA seguido do teste de Bonferroni. Fonte: Autoria própria.

6.4 ESTUDO DA DIGESTÃO E BIOACESSIBILIDADE DO EXTRATO (EER) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EER/ β CD) DOS RAMOS

Os resultados da digestão simulada *in vitro* e da biodisponibilidade dos fenólicos revela percepções importantes sobre a estabilidade e a absorção dessas substâncias no trato gastrointestinal superior. O modelo de digestão *in vitro* foi eficaz na simulação das condições fisiológicas, abrangendo as fases oral, gástrica e intestinal. Como evidenciado por Brodkorb *et al.* (2019), modelos de digestão estáticos têm se mostrado ferramentas poderosas para prever os resultados de digestão *in vivo* e para estudar o comportamento de substâncias bioativas, especialmente em sistemas farmacêuticos. No presente estudo, os resultados obtidos nas fases gástrica e intestinal indicam que os fenólicos do extrato dos ramos (EER) e do seu complexo supramolecular (EER/ β CD) são digeridos e liberados de forma diferenciada, com implicações diretas na sua biodisponibilidade.

Durante a fase gástrica, observou-se uma significativa degradação dos fenólicos para o EER ($96,29 \pm 1,31$ mg/g), enquanto o complexo EER/ β CD apresentou valores consideravelmente mais baixos ($31,57 \pm 2,17$ mg/g), sugerindo que a complexação com β CD protegeu as substâncias da hidrólise ácida, preservando sua estrutura ($p < 0,01$) (Tabela 8). Esse fenômeno é esperado, já que as ciclodextrinas são conhecidas por formar complexos de inclusão com substâncias hidrofóbicas, protegendo-as de interações ambientais que poderiam comprometer sua integridade (Abbas *et al.*, 2015; Neves *et al.*, 2015). Tal proteção tem repercussões importantes na estabilidade das substâncias e pode aumentar sua eficácia terapêutica ao longo do processo digestivo. Substâncias fenólicas são susceptíveis à hidrólise ácida, particularmente devido à presença de ligações éster e glicosídicas em suas estruturas. Essas ligações são propensas a quebra em ambientes ácidos, levando à degradação dos polifenóis em substâncias mais simples, como agliconas e ácidos fenólicos (Mosele *et al.*, 2015; 2016).

Por outro lado, durante a fase intestinal, ambos os tratamentos exibiram um aumento significativo na liberação dos fenólicos (EER: $213,09 \pm 5,63$ mg/g e EER/ β CD: $242,77 \pm 3,69$ mg/g), com o complexo supramolecular apresentando valores ligeiramente superiores. Esse aumento pode ser explicado pela transformação dos polifenóis em formas mais hidrossolúveis e menores, que facilitam sua absorção no intestino (Manach *et al.*, 2005). A presença da β CD parece melhorar a biodisponibilidade, não apenas pela proteção na fase gástrica, mas também ao controlar a liberação gradual das substâncias no ambiente intestinal.

Tabela 8. Avaliação do conteúdo de fenólicos do EER e do EER/ β CD em condições de pré e pós-digestão e bioacessibilidade.

	Teor de fenóis (EAT mg/g)			Bioacessibilidade (%)	
	Antes	Fase gástrica	Fase intestinal	Gástrica	Intestinal
EER	323,08 \pm 5,45	96,29 \pm 1,31 **	213,09 \pm 5,63	29,82 \pm 0,95 **	65,99 \pm 3,07 *
EER/ β CD	319,75 \pm 4,24	31,57 \pm 2,17 **	242,77 \pm 3,69	9,87 \pm 0,53 **	75,93 \pm 1,11 *

Legenda: EER: Extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora*. EER/ β CD: extrato etanólico dos ramos de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. β CD: β -ciclodextrina. *Estatisticamente significativo com $p < 0,05$. **Estatisticamente significativo com $p < 0,01$. ANOVA seguido do teste de Bonferroni. Fonte: Autoria própria.

A maior biodisponibilidade observada durante a fase intestinal pode ser relacionada aos resultados dos ensaios de vasodilatação e toxicidade. Substâncias com maior biodisponibilidade são mais eficazes na modulação das respostas fisiológicas, o que sugere que, caso fosse realizado um teste de vasodilatação *in vivo* por administração oral, onde as substâncias passariam pelo trato gastrointestinal e apresentariam o mesmo perfil de bioacessibilidade nas fases gástrica e intestinal observadas neste estudo, o complexo supramolecular provavelmente demonstraria um efeito superior em comparação ao extrato livre. A presença de β CD parece otimizar a entrega dos fenólicos, facilitando sua absorção e, conseqüentemente, promovendo uma resposta terapêutica mais eficiente (Abbas *et al.*, 2015; Neves *et al.*, 2015). Além disso, a proteção conferida por ela contra a hidrólise ácida pode mitigar o potencial de toxicidade observado nos testes agudo e subcrônico. A maior estabilidade dos fenólicos no trato gastrointestinal, proporcionada pela ciclodextrina, pode reduzir os efeitos adversos a longo prazo, reforçando a segurança do complexo supramolecular em comparação ao extrato livre.

As ciclodextrinas (CDs) apresentam uma biodisponibilidade oral extremamente baixa, o que reforça seu papel como eficazes transportadores de fármacos. Enquanto a γ -ciclodextrina pode ser hidrolisada pelas amilases salivares e pancreáticas humanas, as ciclodextrinas naturais, α - e β -ciclodextrinas, não possuem essa capacidade, sendo, contudo, passíveis de fermentação pela microbiota intestinal. Devido ao seu alto peso molecular, natureza hidrofílica e abundância de grupos doadores e aceitadores de hidrogênio, as CDs não são absorvidas intactas pelo trato gastrointestinal (Salústio *et al.*, 2011). Elas destacam-se pela capacidade de formar complexos de inclusão com substâncias hidrofóbicas, promovendo melhorias significativas na sua solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade. Consideravelmente reconhecidas em Farmacopeias e aprovadas por agências regulatórias como a *Food and Drug Administration* (FDA) e a *European Medicines Agency* (EMA) (Loftsson e Brewster, 2012), seu comprovado

perfil de segurança as torna alternativas confiáveis e amplamente utilizadas em sistemas de liberação oral de fármacos.

O modelo de digestão simulada não apenas reflete a biodisponibilidade das substâncias, mas também oferece uma previsão importante sobre o comportamento dessas substâncias no organismo, especialmente em termos de sua segurança e eficácia terapêutica. Em suma, a digestão simulada *in vitro* revelou que a complexação com β CD melhora a biodisponibilidade e a estabilidade dos fenólicos, com implicações diretas na eficácia vasodilatadora e na redução da toxicidade. Esses achados reforçam o potencial terapêutico do complexo supramolecular e oferecem suporte à sua utilização em sistemas de liberação oral de substâncias bioativas.

Atualmente, no Brasil, não há registros de medicamentos fitoterápicos com indicações terapêuticas aprovadas pela ANVISA para o tratamento de doenças cardiovasculares, incluindo ações cardioprotetoras ou anti-hipertensivas. Embora existam fitoterápicos registrados com efeitos sobre o sistema cardiovascular, como *Aesculus hippocastanum* e *Centella asiatica*, suas indicações terapêuticas aprovadas pelo órgão vigilante sanitário estão relacionadas ao alívio de sintomas de insuficiência venosa periférica, como inchaço e sensação de peso nas pernas, e não ao tratamento direto de condições cardiovasculares como hipertensão ou cardiopatias (Brasil, 2021).

Essa lacuna evidencia a escassez de opções fitoterápicas disponíveis no mercado nacional voltadas para esse grupo de doenças, que se mantém como a principal causa de mortalidade no país (Brasil, 2023; WHO, 2024). Diante desse cenário, os resultados obtidos neste estudo são especialmente relevantes, tanto do ponto de vista científico quanto do ponto de vista social. A caracterização da atividade vasodilatadora dos extratos e de seus complexos supramoleculares, associada às análises de toxicidade e bioacessibilidade, contribui para a base de evidências necessárias ao desenvolvimento de novos fitoterápicos eficazes e seguros. Além disso, esse avanço pode beneficiar diretamente a população ao ampliar o acesso a terapias naturais e acessíveis, ao mesmo tempo em que promove a valorização da biodiversidade brasileira e incentiva a inovação no setor farmacêutico nacional.

7. CONCLUSÃO

A formação dos complexos supramoleculares (EER/ β CD e EEF/ β CD) foi confirmada por técnicas espectroscópicas (RMN e Raman), evidenciando deslocamentos químicos significativos nos prótons da β CD ($H_5 > H_3 > H_6$) e alterações nas bandas vibracionais, compatíveis com interações de inclusão molecular. Em relação à atividade farmacológica, ambos extratos (EER e EEF) e seus respectivos complexos supramoleculares induziram significativa vasodilatação dependente do endotélio ($E_{max} > 80\%$), com destaque para o EER, cuja potência ($ID_{50} = 11,1 \mu\text{g}$) sugere uma contribuição relevante de taninos condensados e derivados dos ácidos elágico e gálico, potencialmente envolvidos na modulação da via NO/sGC/cGMP. Embora esses achados sejam promissores, investigações adicionais com o uso de inibidores específicos, como o L-NAME, são recomendadas para elucidar os mecanismos moleculares subjacentes a essa atividade. Além disso, tal complexação molecular conferiu ao EER uma maior estabilidade química diante da degradação gástrica e aumentou sua bioacessibilidade intestinal, reforçando o papel da β CD como veículo promissor para fenólicos.

A avaliação toxicológica revelou um perfil de segurança satisfatório, com ausência de sinais clínicos de toxicidade aguda ou subcrônica em doses de até 1000 mg/Kg ($DL_{50} > 1000 \text{ mg/Kg}$). Ainda que alterações bioquímicas isoladas tenham sido observadas, como o aumento de ALT em animais tratados com EER 200 mg/Kg, tais alterações não se correlacionaram diretamente com danos histológicos, sugerindo adaptações fisiológicas sem toxicidade hepática ou renal significativa. Notavelmente, o EER/ β CD apresentou um perfil toxicológico ainda mais favorável, com redução dos marcadores de estresse hepático, o que evidencia o papel protetivo da β CD na formulação.

Os resultados obtidos estabelecem bases sólidas para o desenvolvimento de fitoterápicos inovadores, seguros e eficazes, especialmente frente à escassez de opções terapêuticas de origem vegetal disponíveis no mercado nacional para o tratamento de doenças cardiovasculares. Nesse contexto, o complexo supramolecular demonstrou elevado potencial para aplicação farmacêutica, destacando-se como candidato promissor ao desenvolvimento de formulações orais voltadas à prevenção ou ao tratamento de condições cardiovasculares. Considerando que essas doenças ainda representam a principal causa de mortalidade no Brasil, os achados deste estudo justificam a continuidade de investigações em modelos pré-clínicos e clínicos, com vistas à validação da segurança e eficácia do extrato e de seu complexo, e à sua futura incorporação no arsenal terapêutico nacional.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. et al. Fabrication of polymeric nanocapsules from curcumin-loaded nanoemulsion templates by self-assembly. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 23, p. 81–92, 2015.
- ARAUJO, B.M.L.; LIMA, S.D.; DALTRO, C. Associação da gama-glutamil transferase e a síndrome metabólica em mulheres obesas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, n. 4, 2005.
- BASSELIN, M.; ROBERT-GERO, M. Alterations in membrane fluidity, lipid metabolism, mitochondrial activity, and lipophosphoglycan expression in pentamidine-resistant *Leishmania*, **Parasitol. Res.**, v. 84, p. 78–83, 1997.
- BEM, GRAZIELE FREITAS de. **Efeito do extrato de *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) e do exercício físico sobre as alterações ocasionadas pelo diabetes tipo 2 induzido pela estreptozotocina e pela dieta hiperlipídica em ratos Wistar**. 2015. 167 f. Tese (Doutorado em Biociências Nucleares; Ecologia) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.
- BOGDANSKE, John J. et al. Laboratory mouse procedural techniques: manual and DVD. **CRC Press**, 2010.
- BRASIL. CONSULTA PÚBLICA Nº 1.018, DE 11 DE MARÇO DE 2021. **DOU de 17.03.2021** – págs. 263 a 268 – Seção 1. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Saúde Brasil 2023: **Uma análise da situação de saúde e das doenças crônicas no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2022/09/doencas-cardiovasculares-principal-cao-de-morte-no-mundo-pode-ser-prevenida>
- BRASIL. Resolução RE nº 90, de 16 de março de 2004 (DOU 18.03.04). 2004. **Guia para realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- COSTA-SILVA, JH; et al. Acute and subacute toxicity of the *Carapa guianensis* Aublet (Meliceae) seed oil. **J Ethnopharmacol**, v. 116, p. 495–500, 2008.
- FABRI, RODRIGO LUIZ. ***Mitracarpus frigidus* (Rubiaceae): potencial farmacológico, avaliação toxicológica e identificação de substâncias bioativas**. 2013. 242 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Imunologia e Doenças Infecto - Parasitárias/Genética e Biotecnologia) - Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora.
- FABRI, R.L.; ARAGÃO, D.M.O.; FLORÊNCIO, J.R.; CARDOSO, G.M.M.; SOUZA-FAGUNDES, E.M.; CASTANON, M.CM.N; SCIO, E. In-vivo laxative and toxicological evaluation and in-vitro antitumour effects of *Mitracarpus frigidus* aerial parts, **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 3, p. 439–448, 2012.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, v. 65, 1983.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD guideline for testing of chemicals: Acute Oral Toxicity – Up-and-Down Procedure** (Test No. 425). Paris: OECD Publishing, 2008. Disponível em: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/1948378.pdf>. Acesso em: 24 jun. 2021.

PAULA, P.L.; LEMOS, A.S.O.; CAMPOS, L.M.; et al. Pharmacological investigation of antioxidant and anti-inflammatory activities of leaves and branches extracts from *Plinia cauliflora* (Jaboticaba), **J. Ethnopharmacol.**, v. 280, p. 114463, 2021.

PAULA, P.L.; LEMOS, A.S.O.; QUEIROZ, L.S.Q.; et al. Supramolecular complexes between *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel extracts and β -cyclodextrin: Physicochemical characterization and antioxidant and anti-inflammatory properties. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 84, p. 104533, 2023.

SALÚSTIO, P. J. et al. Advanced Technologies for Oral Controlled Release: Cyclodextrins for Oral Controlled Release. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 4, p. 1276–1292, 2011.

SATYANARAYANA, P.S.; et al. Quercetin, a bioflavonoid, protects against oxidative stress-related renal dysfunction by cyclosporine in rats. **Methods Find Exp Clin Pharmacol**, v. 34, p. 175–181, 2001.

SILVA, M. G. da.; FURTADO, M. M.; OSÓRIO, A. T.; MORAIS, I. C. P. da S.; AMARAL, M. P. M. do.; COELHO, A. G.; ARCANJO, D. D. R. The importance of toxicity tests for development and phytotherapy registration. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 12, p. e538101220137, 2021.

SUVARNA, V. et al. Complexation of phytochemicals with cyclodextrins and their derivatives- an update. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 149, p. 112862, 2022.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; Flower, R.J. **Farmacologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

RESENDE, A.C.; BALLEJO, G.; LEITE, R.; SALGADO, C.O.M. Role of NO-dependent mechanisms in bradykinin-induced vasodilation in the rat mesenteric bed. **Pharmacol. Rev. Commun.**, v. 9, p. 269-278, 1997.

ROY, R.; LIYA, I.J.; ROY, J.; BASHER, M.A. Acute and subchronic toxicity profile of methanol extract of leaves of *Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl. **Toxicol Rep.**, v. 10, p. 301-307, 2023.

WHO. World Health Organization. **Cardiovascular diseases (CVDs) - Key facts**. Geneva: WHO, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.

WU, X. et al. Associations of the triglyceride-glucose index and remnant cholesterol with coronary artery disease: a retrospective study. **Lipids in Health and Disease**, v. 23, n. 1, p. 45, 2024.

CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR OBTIDOS DAS FOLHAS DE *Plinia cauliflora* E DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES TÓPICAS.

8. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade anti-inflamatória do extrato e complexo supramolecular das folhas de *Plinia cauliflora*, bem como desenvolver formulações tópicas contendo tais amostras, visando à sua aplicação no tratamento de afecções cutâneas de origem inflamatória.

8.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificação e quantificação dos fenólicos por HPLC-DAD do extrato etanólico das folhas (EEF) de *Plinia cauliflora* utilizando padrões analíticos.
- Avaliar a viabilidade celular do EEF e complexo supramolecular das folhas (EEF/ β CD) de *Plinia cauliflora* em linhagens de macrófagos murinos J774A.1 e fibroblastos murinos da linhagem L929;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória *in vitro* do EEF e EEF/ β CD por meio da dosagem de óxido nítrico (NO), corpúsculo lipídico (CLs), quantificação de TGF- β e PGE₂;
- Avaliar a atividade imunomoduladora *in vitro* do EEF e EEF/ β CD através da dosagem das citocinas IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-12;
- Desenvolver formulações incorporando as amostras EEF e EEF/ β CD à base Lanette[®];
- Caracterizar a formulação obtida pela incorporação das amostras EEF e EEF/ β CD na base Lanette[®].

9. MATERIAL E MÉTODOS

9.1 PREPARAÇÃO DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

A preparação do extrato e complexo supramolecular das folhas de *Plinia cauliflora* já foi contemplada no Item 5.1 do Capítulo 1.

9.2 DETERMINAÇÃO DO PERFIL FENÓLICO DO EXTRATO DAS FOLHAS (EEF) POR HPLC-DAD

O perfil fenólico do extrato etanólico das folhas (EEF) de *Plinia cauliflora* foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD), utilizando um sistema Agilent Technologies Série 1200. As análises foram realizadas em uma coluna Zorbax[®] SB-C18 (4,6 × 250 mm, 5 μ m), empregando o método em gradiente com fase móvel composta por água Milli-Q[®] acidificada com 1% de ácido ortofosfórico (solvente A; pH \approx 3,5) e acetonitrila (solvente B), na seguinte programação: 0 - 5 min (90% A), 5 - 10 min (80% A), 10 - 30 min (70% A), 30 - 40 min (60% A) e 40 - 50 min (retorno a 90% A). A vazão foi de 0,5 mL/min, com tempo total de corrida de 50 min. O volume de injeção foi de 10 μ L, sendo a amostra preparada na concentração de 1 mg/mL, solubilizada em 90:10 de água:acetonitrila. A temperatura da coluna foi mantida constante a 25 °C durante toda a análise.

Para a quantificação das substâncias fenólicas no extrato, foram construídas curvas de calibração específicas para os padrões ácido elágico, epicatequina, rutina e quercetina, solubilizados em acetonitrila, nas concentrações de 6,25 a 50,0 μ g/mL. A equação de regressão linear de cada padrão foi obtida por meio da relação entre as áreas médias dos sinais cromatográficos (mAU*s) e as respectivas concentrações, conforme apresentado na Tabela 9. As concentrações das substâncias presentes no EEF foram determinadas a partir das equações obtidas. Todas as análises foram realizadas em triplicata, assegurando a reprodutibilidade dos dados.

A identificação dos fenólicos no extrato foi realizada por meio da análise espectrofotométrica na faixa de 200 a 400 nm, com detecção em 254 nm. As substâncias selecionadas para essa etapa incluíram os ácidos gálico e elágico, rutina, isoquercetina, quercitrina, miricetina e quercetina. A identificação foi realizada com base na comparação dos

tempos de retenção e das características espectrais com os respectivos padrões analíticos, dissolvidos individualmente em solução de água:acetonitrila (fase móvel). A confirmação da identidade dos sinais foi reforçada pela injeção da mistura dos padrões e pela co-injeção dos extratos com os padrões.

Tabela 9. Equações das curvas de calibração dos padrões analíticos e respectivos coeficientes de correlação (R^2) obtidos na análise por HPLC-DAD

	Curva de calibração	R^2
Ácido elágico	$y = 1.3787x + 82.531$	1
Epicatequina	$y = 2,5745x + 26,017$	0,9990
Rutina	$y = 4,352x + 2,0583$	0,9999
Quercetina	$y = 24,719x + 7,4875$	0,9998

Fonte: Autoria própria

9.3 AQUISIÇÃO DE ANIMAIS

Camundongos machos da linhagem BALB/c, com 30 dias de idade e pesando entre 20-25 g, foram obtidos no Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora. Este estudo foi realizado em plena conformidade com as recomendações estabelecidas nas Diretrizes Éticas para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório dos Institutos Nacionais de Saúde. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora em 10 de maio de 2018 (Número de Protocolo: 07/2018-CEUA).

9.4 CULTURA DE CÉLULAS

Foram utilizadas células da linhagem de macrófagos murinos J774A.1 (ATCC[®] TIB-67) e fibroblastos murinos da linhagem L929 (ATCC[®] CCL-1), oriundos do estoque interno do laboratório, e macrófagos isolados da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c. As linhagens celulares foram cultivadas em frascos de cultura de 25 cm² (Kasvi), individualmente, utilizando meio *Roswell Park Memorial Medium* (RPMI)1640 (Gibco) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de antibiótico. As células foram mantidas em incubadora umidificada a 37 °C, com 5% de CO₂. A monitoração das culturas foi realizada a cada dois a

três dias para a troca do meio de cultura. Ao atingirem aproximadamente 80% de confluência, as células foram transferidas para garrafas maiores (75 cm²) e cultivadas nas mesmas condições.

Tendo em vista que as linhagens utilizadas no estudo são aderentes, houve a necessidade de realizar o desprendimento destas células antes da transferência para garrafas maiores. Para isso, as células J774A.1 foram raspadas com auxílio de um raspador plástico (*cell scraper* – Sartedt) enquanto que, para as células L929 utilizou-se uma solução de tripsina-EDTA (0,25%; Gibco) por 3 a 5 min a 37 °C. Novamente, as células foram incubadas (37 °C, 5% CO₂) até atingir a confluência de 80%, plaqueadas em placas de 96 poços, na concentração de 5×10⁴ células/poço, e, então, utilizadas em diversos ensaios.

9.5 VIABILIDADE CELULAR *IN VITRO* DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/βCD) DAS FOLHAS

A determinação da influência do extrato (EEF) ou do complexo supramolecular (EEF/βCD) na viabilidade celular foi realizada segundo os padrões da ISO 10993-5:2009. A viabilidade celular foi avaliada usando o ensaio de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio - Thermo Fischer Scientific) de acordo com o método descrito por Riss *et al.* (2013).

O preparo das amostras para realização do ensaio procedeu-se da seguinte forma: EEF foi dissolvido em meio RPMI-1640 (Gibco) contendo 5% de DMSO de forma a obter a solução estoque. Enquanto que, o EEF/βCD e βCD foram dissolvidos somente em meio RPMI. Após a solubilização, todas as amostras foram filtradas em filtros de 0,22 μm (Jet Biofil) com finalidade de remover partículas insolúveis, bem como possíveis contaminantes. Para atingir as concentrações de trabalho, as soluções estoques foram diluídas em meio RPMI suplementado (5% SFB (Gibco), 100 U/mL de penicilina e 1 μg/mL de estreptomicina - Gibco). A concentração máxima de DMSO presente nas culturas celulares foi de 0,75%.

Após 24 h de incubação das culturas de células (macrófagos murinos J774A.1 (ATCC[®] TIB-67), fibroblastos murinos da linhagem L929 (ATCC[®] CCL-1) e macrófagos isolados da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c e, posteriormente, a remoção do meio de cultura presente, com consequente retirada de células mortas, foram adicionados 100 μL de meio RPMI (5% SFB) e 100 μL das amostras (EEF, EEF/βCD), nas concentrações nominais de extrato de 75, 150 e 300 μg/mL. Adicionalmente, βCD também foi testada separadamente na concentração de 300 μg/mL. O grupo não tratado e estimulado (NT) foi incluído como referência para

comparação, juntamente com o grupo controle negativo (CN), no qual as células foram expostas unicamente ao veículo DMSO. Finalizado 24 h, o sobrenadante foi removido e adicionaram-se 50 μ L da solução de MTT solubilizado em RPMI (1 mg/mL). A placa foi incubada por um período adicional de 2 h (37 °C, 5% CO₂). Ao final deste intervalo, o sobrenadante foi descartado e os cristais de formazan foram ressuspensos em DMSO. Os ensaios foram realizados em sextuplicata, repetidos ao menos duas vezes de forma independentes, e os resultados expressos como média \pm desvio padrão em %. A leitura das placas foi realizada em espectrofotômetro (SpectraMax M2, Molecular Devices, EUA) no comprimento de onda de 595 nm.

9.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

Nesta seção, são descritos os métodos empregados para a caracterização da atividade anti-inflamatória dos extratos vegetais e seus complexos supramoleculares. As análises foram conduzidas em culturas de macrófagos ativados com lipopolissacarídeo (LPS) e interferon-gama (IFN- γ), modelo amplamente utilizado para simular um ambiente inflamatório *in vitro*.

Foram realizadas diferentes abordagens experimentais com o intuito de compreender os mecanismos envolvidos na modulação da resposta inflamatória: a dosagem de óxido nítrico (NO), um dos principais mediadores inflamatórios produzidos por macrófagos ativados; a avaliação da formação de corpúsculos lipídicos, estruturas relacionadas ao metabolismo de eicosanoides e à amplificação da inflamação; além da quantificação de citocinas e mediadores inflamatórios como o fator de crescimento transformador beta (TGF- β) e a prostaglandina E2 (PGE₂), ambos com reconhecido papel na regulação e progressão do processo inflamatório, e citocinas pró-inflamatórias IL1- β , IL-6, IL-12 e TNF- α , importantes mediadores da resposta imune.

9.6.1 Dosagem de óxido nítrico (NO) em macrófagos estimulados com LPS e IFN- γ

O método de Griess, conforme descrito por Sun *et al.* (2003), foi utilizado para a quantificação de nitrito (NO₂⁻), uma medida indireta de óxido nítrico (NO), no sobrenadante da cultura de células J774A.1. As células foram plaqueadas conforme descrito previamente, na concentração de 5×10^4 células/poço. Após 24 h de incubação, o meio foi removido e as células

foram estimuladas com 1 $\mu\text{g/mL}$ de lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli* (Sigma-Aldrich) juntamente com 0,9 ng/mL da citocina interferon- γ (IFN- γ) por 60 min, quando então procederam-se os tratamentos com EEF e EEF/ β CD em concentrações nominais de extrato de 75, 150, 300 $\mu\text{g/mL}$ e β CD a 300 $\mu\text{g/mL}$. O EEF foi previamente dissolvido em DMSO, enquanto que EEF/ β CD e β CD foram dissolvidos diretamente em meio de cultura e, posteriormente, todas as amostras foram filtradas em membranas de 0,22 μm . Após 48 h de incubação, os sobrenadantes foram coletados e a quantidade de nitrito (NO_2^-) nas amostras foi calculada por meio de uma curva padrão de uma solução de nitrito de sódio (NaNO_2) (Guevara *et al.*, 1998). O grupo não tratado e estimulado (NT) foi incluído como referência para comparação, juntamente com o grupo não estimulado (NE). Em todas as análises, a viabilidade celular também foi determinada nestas células, conforme descrito no item anterior, a fim de eliminar fatores externos. A leitura das placas foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm. Os ensaios foram realizados em quadruplicata, repetidos ao menos duas vezes de forma independentes, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão em μM .

9.6.2 Avaliação da presença de corpúsculo lipídico em macrófagos estimulados com LPS e IFN- γ

A presença de corpúsculos lipídicos (CLs) em macrófagos isolados da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c foi avaliada por meio da coloração com o corante *Nile Red* (9-dietilamino-5H-benzo[α]fenoxazina-5-ona), utilizando-se um espectrofluorímetro para a detecção da fluorescência. O protocolo de coloração foi baseado em Basselin e Robert-Gero (1998), com algumas modificações.

As células foram estimuladas por 60 min com LPS a 1 $\mu\text{g/mL}$ e 1 ng/mL de IFN- γ e, posteriormente, tratadas com EEF, EEF/ β CD e β CD, na concentração nominal de extrato de 300,00 $\mu\text{g/mL}$, além do controle negativo (0,06% de DMSO). O EEF foi previamente dissolvido em DMSO, enquanto que EEF/ β CD e β CD foram dissolvidos diretamente em meio de cultura e, em seguida, todas as amostras foram filtradas em filtros de 0,22 μm . Os macrófagos foram semeados a uma concentração de 2×10^5 células/mL por poço e estimulados por 48 h à 37 °C e 5% de CO_2 . Após lavagem com PBS, as células foram coradas com 200 μL de *Nile Red* (10 $\mu\text{g/mL}$) em PBS por 20 min a 25 °C.

O espectrofluorímetro (FLx800) foi utilizado para medir a fluorescência em comprimentos de onda de excitação e emissão de 485 e 528 nm, respectivamente. A concentração máxima de DMSO presente no meio de cultura foi de 0,06%. Os ensaios foram realizados em triplicata, repetidos ao menos duas vezes de forma independentes, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão da intensidade de fluorescência (AU).

9.6.3 Quantificação de TGF- β em macrófagos estimulados com LPS e IFN- γ

Macrófagos obtidos da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c foram estimulados com LPS (1 μ g/mL) + IFN- γ (1 ng/mL) 60 min antes do tratamento com EEF, EEF/ β CD e β CD, na concentração nominal de extrato de 300,00 μ g/mL, além do controle negativo (0,06% de DMSO). O EEF foi previamente dissolvido em DMSO, enquanto que EEF/ β CD e β CD foram dissolvidos diretamente em meio de cultura e, posteriormente, todas as amostras foram filtradas em filtros de 0,22 μ m. Após 48 h de incubação, os sobrenadantes foram coletados, e as concentrações de TGF- β foram quantificadas usando um *kit* de ensaio imunoenzimático (ELISA) comercialmente disponível, seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante (R&D Systems). A concentração máxima de DMSO presente no meio de cultura foi de 0,06%. Os ensaios foram realizados em triplicata, repetidos ao menos duas vezes de forma independentes, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão em pg/mL.

9.6.4 Quantificação de PGE₂ em macrófagos estimulados com LPS e IFN- γ

A quantificação de PGE₂ foi realizada utilizando um *kit* de ensaio imunoenzimático (ensaio EIA) da *Cayman Chemical*, EUA, seguindo as instruções do fabricante. Macrófagos obtidos da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c foram estimulados com LPS (1 μ g/mL) + IFN- γ (1 ng/mL) 60 min antes do tratamento com EEF, EEF/ β CD e β CD, na concentração nominal de extrato de 300,00 μ g/mL, além do controle negativo (0,06% de DMSO). O EEF foi previamente dissolvido em DMSO, enquanto que EEF/ β CD e β CD foram dissolvidos diretamente em meio de cultura e, posteriormente, todas as amostras foram filtradas em filtros de 0,22 μ m. Posteriormente, os níveis de PGE₂ nos sobrenadantes de cultura celular foram medidos usando o *kit* de ensaio EIA. A concentração máxima de DMSO presente no meio de cultura foi de 0,06%. Os ensaios foram realizados em triplicata, repetidos ao menos duas

vezes de forma independentes, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão em ng/mL.

9.7 ATIVIDADE IMUNOMODULADORA DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

Para a determinação da produção de citocinas, as células J774A.1 foram cultivadas e plaqueadas conforme descrito no Item 9.4, na concentração de 5×10^4 células/poço. Posteriormente, as células foram estimuladas com LPS de *Escherichia coli* (Sigma-Aldrich) na concentração de 1 μ g/mL, sendo incubadas por 60 min a 37 °C, em atmosfera de 5% de CO₂. Após o período de incubação, as células foram tratadas com EEF e EEF/ β CD nas concentrações nominais de extrato de 75, 150 e 300 μ g/mL, além da β CD a 300 μ g/mL.

Após 24 h de tratamento (para quantificação de IL-1 β e TNF- α) ou 48 h (para quantificação de IL-6 e IL-12), o sobrenadante foi coletado e as concentrações de citocinas foram determinadas por meio do ensaio imunoenzimático do tipo sanduíche (ELISA), utilizando *kits* comerciais (Becton e Dickinson Company ou Peprotech), conforme as instruções do fabricante. O grupo não tratado e estimulado (NT) também foi incluído nas análises. Os ensaios foram realizados em quadruplicata, repetidos ao menos duas vezes de forma independentes, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão em pg/mL.

9.8 PREPARO DA BASE LANETTE®

A emulsão de Lanette® foi preparada utilizando a técnica convencional de emulsificação por inversão de fases, conforme o procedimento operacional padrão descrito por Monteiro *et al.* (2022), seguindo a composição da formulação padronizada da emulsão Lanette® listada na Tabela 10.

Inicialmente, a fase oleosa (FO) e a fase aquosa (FA) foram aquecidas separadamente à temperatura entre 75 e 80 °C até que as fases se fundissem completamente. Em seguida, a FA foi vertida lentamente sobre a FO, sob agitação mecânica vigorosa e constante, até a formação de uma emulsão homogênea e esbranquiçada. Após a formação da emulsão, a mistura foi resfriada até atingir a temperatura ambiente, momento em que o conservante foi adicionado sob agitação contínua, até sua completa incorporação.

Tabela 10. Formulação padronizada da base Lanette®

Matérias-primas	Concentração	Função	Fases oleosa (FO) e
			aquosa (FA)
Cera Lanette N	15%	Emulsificante	FO
Monoestearato de glicerila	5%	Emulsificante	FO
Butilhidroxitolueno (BHT)	0,1%	Antioxidante	FO
Propilenoglicol	5%	Umectante	FA
Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)	0,1%	Quelante	FA
Metabissulfito de sódio	0,1%	Antioxidante	FA
Parabenos	2,7%	Conservante	FA
Imidazolidiniluréia	0,5%	Conservante	FA
Água destilada	q.s.p.	Veículo	FA

Fonte: Autoria própria.

9.9 INCORPORAÇÃO DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS NA BASE LANETTE®

A incorporação do extrato e do complexo supramolecular das folhas na base Lanette® foi realizada segundo a técnica descrita, nas seguintes concentrações nominais de extrato 1,5, 3,0 e 6,0 %: verteu-se quantidades suficientes de EEF e EEF/ β CD liofilizados em gral e, com auxílio de um pistilo, realizou-se a levigação com propilenoglicol (q.s.) até que todo o conteúdo da amostra estivesse homogêneo para incorporação na base Lanette®. Em seguida, foi adicionado quantidade suficiente da base Lanette® e procedeu-se a homogeneização, em temperatura ambiente, obtendo-se, então, as três concentrações de cada amostra. As formulações foram acondicionadas em recipientes adequados e devidamente identificados.

9.10 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

As formulações foram submetidas ao estudo preliminar de estabilidade 24 h após a manipulação, com a avaliação macroscópica de possíveis alterações físicas, tais como separação de fases, coloração, odor, aspecto inicial, formação de precipitados e/ou resíduos,

pH, e aspectos reológicos. As análises seguiram as diretrizes estabelecidas no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da Anvisa (Brasil, 2020).

9.10.1 Análise de centrifugação

Para a realização do ensaio de centrifugação, aproximadamente 5 g de cada formulação foram transferidas para tubos cônicos tipo Falcon. As amostras foram submetidas à centrifugação a 3.000 rpm por 30 min, sob temperatura ambiente controlada ($25,0 \pm 2,0$ °C). Após o processo, procedeu-se à avaliação visual das formulações com o objetivo de identificar possíveis sinais de instabilidade física, tais como separação de fases, precipitação, formação de sedimento compacto (*caking*) ou coalescência (Brasil, 2020).

9.10.2 Análises organolépticas

As alterações nas características macroscópicas das formulações cremes foram avaliadas por inspeção visual, com o objetivo de identificar possíveis modificações, tais como precipitação, turvação ou separação de fases. A primeira análise foi realizada após 24 h da preparação das amostras, sendo posteriormente observadas, ao longo do seu uso nos experimentos, os aspectos visuais das formulações. As amostras foram classificadas nas seguintes categorias: normal (sem alteração); ligeiramente separado, ligeiramente precipitado ou ligeiramente turvo; separado, precipitado ou turvo (Brasil, 2020).

A análise da coloração foi realizada por método visual, sob iluminação branca natural, por meio da comparação direta entre a coloração da formulação base e as formulações contendo as amostras incorporadas (Brasil, 2020). As amostras foram classificadas de acordo com a coloração apresentada e sua intensidade.

A avaliação do odor foi conduzida por meio da comparação olfativa direta entre a formulação base e as formulações contendo as amostras incorporadas. Para essa análise, utilizou-se a escala de classificação: normal (sem alteração); ligeiramente modificada; modificada; imensamente modificada (Brasil, 2020).

9.11 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

A caracterização físico-química das formulações é uma etapa essencial para garantir a estabilidade, segurança e eficácia dos produtos tópicos desenvolvidos. Nesta seção, são apresentados os métodos analíticos empregados para avaliar as propriedades físico-químicas dos cremes contendo os extratos vegetais e seus respectivos complexos supramoleculares.

Foram realizadas análises de potencial hidrogeniônico (pH), análises térmicas, incluindo análise térmica diferencial (DTA) e termogravimétrica (TGA), com o objetivo de investigar a estabilidade térmica e os perfis de decomposição dos componentes presentes nas formulações. Além disso, utilizou-se a espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para identificar interações moleculares entre os constituintes das formulações, possibilitando inferências sobre a compatibilidade dos ativos com a base cremosa e a integridade dos complexos supramoleculares incorporados.

9.11.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH das formulações foi determinado utilizando-se um pHmetro devidamente calibrado com soluções tampão padrão de pH 4,0 e 7,0. As análises foram realizadas por meio da imersão direta do eletrodo nas amostras, mantidas a 25 °C. Cada ensaio foi conduzido em triplicata, sendo os resultados expressos como médias \pm desvio padrão das três medições realizadas para cada formulação.

9.11.2 Análise Térmica Diferencial (DTA) e Termogravimétrica (TGA)

Análise térmica diferencial (DTA) e análise termogravimétrica (TGA) foram realizadas utilizando o módulo TGA/DTA STA7200RV da HITACHI. Os dados foram registrados para formulações Lanette[®] + EEF 1,5%, Lanette[®] + EEF 3,0%, Lanette[®] + EEF 6,0%, Lanette[®] + EEF/ β CD 1,5%, Lanette[®] + EEF/ β CD 3,0%, Lanette[®] + EEF/ β CD 6,0%. Os experimentos foram realizados utilizando uma atmosfera dinâmica de ar de 300 mL/min, taxa de aquecimento de 20 °C/min com sensibilidade de 1,0 °C. Para cada experimento utilizou-se aproximadamente 2 mg de amostra, que foi colocada em panelas abertas de alumina.

9.11.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FTIR)

As interações intermoleculares entre o extrato, o complexo supramolecular e a base Lanette[®] foram investigadas através da técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Os espectros das formulações Lanette[®] + EEF 1,5%, Lanette[®] + EEF 3,0%, Lanette[®] + EEF 6,0%, Lanette[®] + EEF/ β CD 1,5%, Lanette[®] + EEF/ β CD 3,0%, Lanette[®] + EEF/ β CD 6,0%, e da Lanette[®] pura foram analisadas com resolução de 4 cm⁻¹, média de 64 varreduras, e intervalo de número de onda (ν) de 4500 a 400 cm⁻¹. Os espectros foram obtidos em acessório de refletância total atenuada (Platinum ATR) acoplado ao espectrômetro da marca Bruker Alpha FTIR. Para a aquisição dos espectros foi utilizado o programa *Bruker Opus software package version 6.0*. Os dados foram então exportados e tratados no Origin 9.0[®].

9.12 ANÁLISE REOLÓGICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

O comportamento reológico das amostras foi investigado para avaliar as interações intermoleculares entre o extrato ou seu complexo supramolecular com a base Lanette[®]. As amostras, nas concentrações nominais de extrato de 0,0, 1,5, 3,0 e 6,0 % (p/p) em Lanette[®], foram submetidas a ensaios reológicos oscilatórios e em modo transiente, utilizando um Reômetro Dinâmico Híbrido (DHR1; T.A. Instruments[®]), com geometria de placas paralelas (aço inoxidável, diâmetro 40,0 mm, padrão DIN), acoplado a uma placa Peltier para controle de temperatura. Os experimentos deste estudo foram obtidos com um valor de gap de 400 μ m e diferentes condições, conforme descrito a seguir (Schramm, 2006).

Os experimentos no modo oscilatório foram realizados da seguinte forma:

1. A varredura oscilatória de amplitude de deformação, variou de 0,5 a 500 % de forma logarítmica, coletando 15 pontos por década e mantendo constante a frequência angular de 87,92 rad/s (14 Hz), a 25 °C. O objetivo foi determinar a região de viscoelasticidade linear (LVE) e a possível ocorrência de uma tensão de escoamento (τ_0), definida aqui como o ponto de cruzamento entre G' e G'' , a partir do qual $G'' > G'$, indicando que a amostra perdeu sua estrutura elástica e ganhou fluidez.
2. Após a determinação do limite máximo de deformação dos módulos viscoelásticos (G' e G''), a amplitude de deformação foi fixada em 1% (mantida dentro do LVE) e a frequência de

oscilação variou de 0,0 a 628 rad/s (0,0 a 100 Hz), em modo de varredura logarítmica, coletando 10 pontos por década, a 25 °C.

3. Adicionalmente, experimentos de temperatura foram realizados em modo oscilatório, de 10 a 50 °C, a 5 °C/min e mantendo constante a deformação de deformação ($\gamma\% = 1\%$) e a frequência angular ($\omega = 1$ Hz ou 6,28 rad/s).

Experimentos em modo transiente foram realizados, a 25 °C, da seguinte forma:

1) Medições de fluência de curta duração, com aplicação de tensão de cisalhamento constante de 5 Pa, durante 1 s, foram realizadas para sondar fluidez dos materiais em função do tempo.

9.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os ensaios foram realizados, no mínimo, em triplicata e repetidos em pelo menos duas séries independentes. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. As comparações entre os grupos experimentais foram analisadas por meio de análise de variância (ANOVA) unidirecional (one-way), seguida do teste *Post hoc* de Bonferroni ou Tukey. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software GraphPad Prism[®], versão 8.0.

10. RESULTADOS E DISCUSSÃO

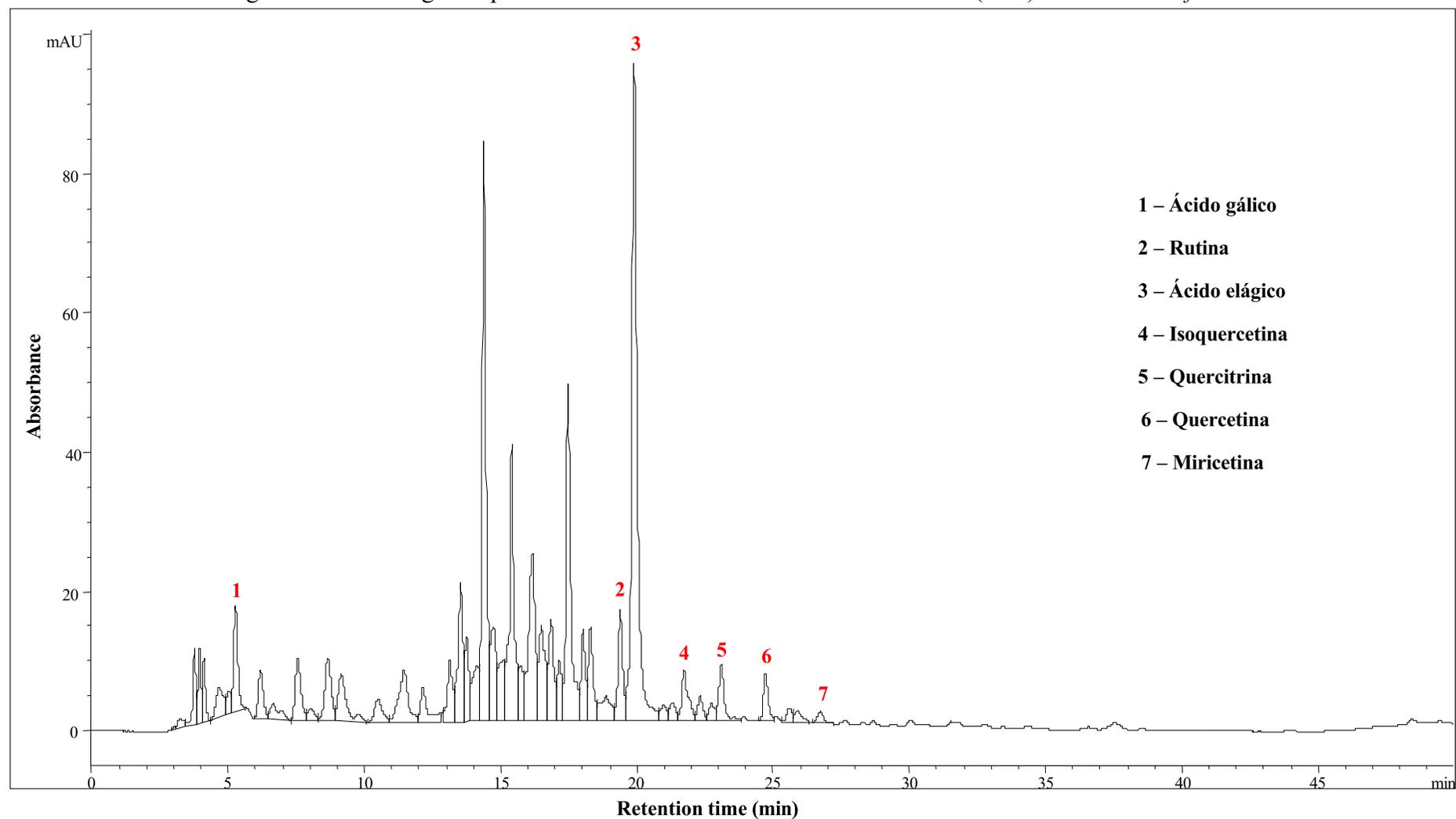
10.1 PERFIL FENÓLICO DO EXTRATO DAS FOLHAS (EEF) POR HPLC-DAD

Embora a presença de fenólicos no extrato etanólico das folhas (EEF) de *Plinia cauliflora* já tenha sido previamente confirmada por Paula *et al.* (2021), o presente estudo teve como objetivo identificar e quantificar, por meio de HPLC-DAD, os principais fenólicos com potencial relevância biológica. A Figura 16 apresenta o cromatograma dos constituintes majoritários do EEF, obtido por HPLC-DAD, no qual foram identificados sete fenólicos com base na comparação dos tempos de retenção e espectros UV-vis com padrões puros: ácido gálico (1), rutina (2), ácido elágico (3), isoquercetina (4), quercitrina (5), quercetina (6) e miricetina (7).

Dentre as substâncias quantificadas, o ácido elágico foi o que apresentou a maior concentração (319,5 µg/mg de extrato). Além dele, outras três substâncias puderam ser quantificadas: rutina (74,0 µg/mg de extrato), epicatequina (17,55 µg/mg de extrato) e quercetina (1,19 µg/mg de extrato), todos em concentrações relativamente mais baixas. A quantificação dessas substâncias possibilita sua utilização como marcadores químicos do EEF, contribuindo para o controle da qualidade e a padronização de futuros produtos fitoterápicos derivados deste extrato.

Os fenólicos são amplamente reconhecidos por suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, antiproliferativas e cardioprotetoras (Abe *et al.*, 2012; Fracassetti *et al.*, 2013; Souza-Moreira *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2019), evidenciando o potencial terapêutico do extrato. De forma geral, tais substâncias exercem papel essencial na promoção da saúde humana, contribuindo tanto para a prevenção quanto para a mitigação de processos patológicos relacionados ao estresse oxidativo e à inflamação (Paula *et al.*, 2021; Link *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2013).

Embora o ácido elágico tenha se destacado na análise quantitativa, o perfil fitoquímico do EEF também revelou um conteúdo de substâncias da classe dos flavonoides, com a detecção da rutina, isoquercetina, quercitrina, miricetina e quercetina. A presença dessas substâncias, pertencentes a uma classe bioativa amplamente estudada, sugere que o extrato possui um conjunto sinérgico de substâncias com potencial farmacológico, fortalecendo sua aplicabilidade em formulações com ação antioxidante e anti-inflamatória.

Figura 16. Cromatograma por HPLC-DAD do extrato etanólico das folhas (EEF) de *Plinia cauliflora*.

Legenda: A análise foi realizada por meio de gradiente linear: 0–5 min com 90% de água Milli-Q® (solvente A) contendo 1% de ácido ortofosfórico (pH ≈ 3,5) e 10% de acetonitrila (solvente B); 5–10 min com 80% de A; 10–30 min com 70% de A; 30–40 min com 60% de A; e 40–50 min com 90% de A. A taxa de fluxo foi de 0,5 mL/min durante 50 min, com volume de injeção de 10 µL, utilizando-se o EEF na concentração de 1 mg/mL. A detecção foi realizada a 254 nm. O extrato foi preparado na proporção 90:10 (água:acetonitrila).

10.2 VIABILIDADE CELULAR DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

Conforme estabelecido na norma ISO 10993-5:2009, o ensaio de citotoxicidade *in vitro* representa a etapa inicial e fundamental na avaliação da biocompatibilidade de materiais destinados à aplicação em dispositivos biomédicos. A continuidade dos estudos biológicos com tais materiais, incluindo a condução de testes *in vivo*, somente é recomendada após a comprovação da ausência de efeitos citotóxicos significativos nesta fase preliminar. Dentre as substâncias estudadas para aplicações farmacológicas e biomédicas, os produtos naturais são amplamente reconhecidos por apresentarem, em geral, baixa toxicidade celular, conforme indicado por Valle (2018). No entanto, a confirmação desta característica requer a realização de ensaios específicos em culturas celulares, a fim de garantir a segurança e a eficácia das formulações propostas.

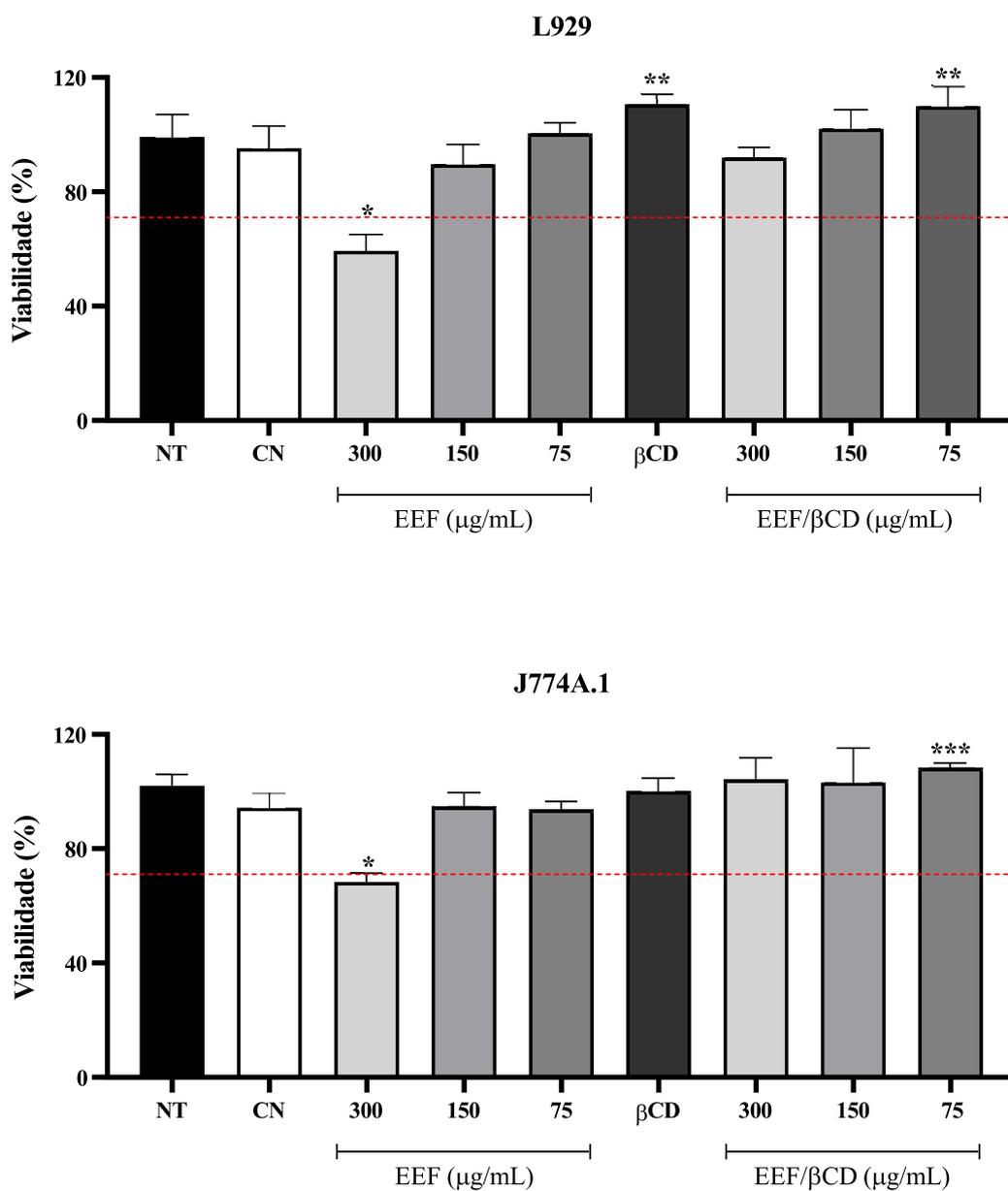
Neste estudo, avaliaram-se os efeitos citotóxicos do extrato etanólico das folhas de jabuticaba (EEF), do complexo (EEF/ β CD) e da β -ciclodextrina (β CD) isolada em três linhagens celulares murinas: fibroblastos L929, macrófagos J774A.1 e macrófagos isolados da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c. Os ensaios foram realizados utilizando o teste colorimétrico de MTT, conforme os critérios da norma ISO 10993-5:2009, que estabelece 70% como limiar mínimo de viabilidade celular para classificação de um material como não citotóxico.

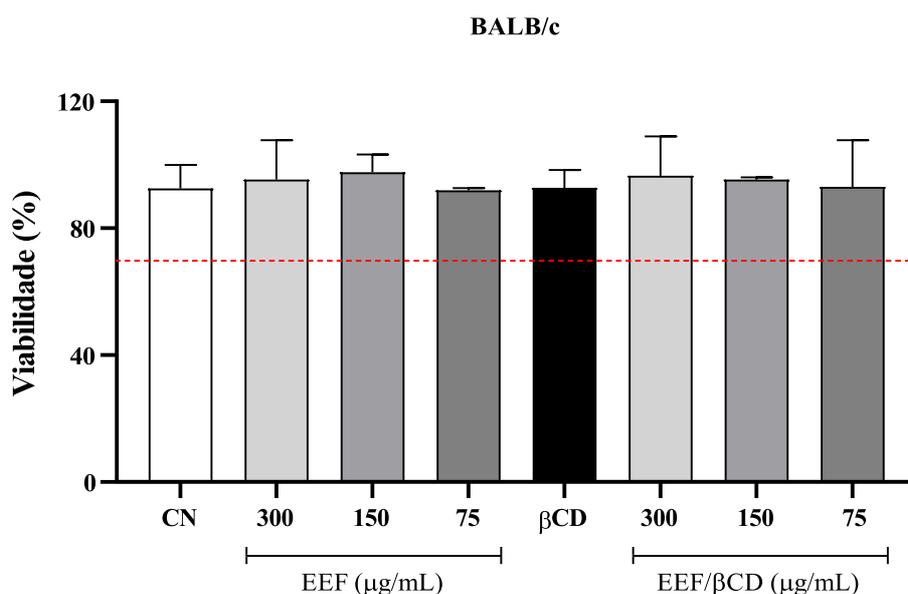
Os resultados demonstraram efeitos citotóxicos mínimos para todas as amostras, com viabilidade celular acima de 70% em todas as linhagens, exceto para o EEF a 300 μ g/mL, que apresentou viabilidade de 59,4% nos fibroblastos L929 e 68,3% nos macrófagos J774A.1 ($p < 0,05$) (Figura 17). Observou-se, ainda, diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o EEF puro e o EEF/ β CD na concentração de 75 μ g/mL, sugerindo que a complexação com β CD atenua os efeitos citotóxicos do extrato livre. Na maioria das concentrações testadas, não houve diferença estatística significativa em relação ao grupo não tratado (NT) ($p > 0,05$), evidenciando o perfil de segurança das amostras.

É importante destacar que, diferentemente das demais linhagens, os macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c mantiveram viabilidade celular superior a 70% mesmo na concentração mais elevada do EEF (300 μ g/mL), sugerindo uma menor sensibilidade dessa linhagem aos efeitos citotóxicos do extrato. Isso pode ser atribuído aos mecanismos de defesa inatos dessas células, já que macrófagos peritoneais residentes apresentam resistência a

estresses oxidativos e citotóxicos, conforme evidenciado em modelos humanos recentes (Ruiz-Alcaraz *et al.*, 2020).

Figura 17. Avaliação da viabilidade celular em 3 linhagens celulares murinas, fibroblastos L929, macrófagos J774A.1 e macrófagos isolados da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c, na presença de EEF, EEF/ β CD e β CD.





Legenda: EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora*. EEF/βCD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. βCD: β-ciclodextrina. NT – Células não tratadas e estimuladas. CN – Células tratadas com veículo DMSO. *Diferença estatística em relação a todos os grupos ($p < 0,05$). **Diferença estatística em relação ao EEF/βCD 300 µg/mL ($p < 0,05$). ***Diferença estatística em relação ao EEF 75 µg/mL ($p < 0,05$). ANOVA seguido do teste de Tukey. Fonte: Autoria própria.

Vale destacar que o EEF/βCD preservou a viabilidade celular mesmo em concentrações elevadas (300 µg/mL), sugerindo que a complexação com βCD foi eficaz na atenuação dos efeitos citotóxicos associados ao EEF isolado. Este resultado pode ser atribuído ao mecanismo de encapsulamento oferecido pela βCD, que acomoda substâncias bioativas hidrofóbicas em sua cavidade apolar, reduzindo a exposição direta das células a componentes potencialmente reativos.

Considerando que concentrações elevadas de ácidos fenólicos, como os ácidos gálico e elágico, comumente presentes em extratos de folhas de jaborcaba, estão associadas a efeitos citotóxicos em células murinas, conforme descrito por Souza-Moreira *et al.* (2011) e também observado por Paula *et al.* (2021), a formação de complexos de inclusão com βCD, como demonstrado neste estudo, promoveu uma redução significativa da citotoxicidade observada. Em especial, o ácido elágico, detectado significativamente no EEF (Figura 17), pode ter formado complexos estáveis com a βCD, favorecendo o aumento da solubilidade e da biodisponibilidade da substância, ao mesmo tempo em que reduziu sua interação direta com as células. Esses dados corroboram a hipótese de que a encapsulação com ciclodextrinas desempenha um papel duplo: melhora da solubilidade e biodisponibilidade de substâncias pouco solúveis e, simultaneamente, redução de seus efeitos citotóxicos sobre células normais.

A escolha das linhagens celulares J774A.1 (macrófagos murinos) e L929 (fibroblastos murinos) neste estudo justifica-se não apenas por sua ampla utilização em ensaios de citotoxicidade, conforme recomendado pela ISO 10993-5:2009, mas também por sua relevância fisiopatológica no contexto de inflamações cutâneas. Os macrófagos desempenham papel central na resposta inflamatória, atuando na liberação de citocinas e mediadores lipídicos envolvidos nos processos de iniciação, manutenção e resolução da inflamação (Garcia-Gonzalez *et al.*, 2021). Já os fibroblastos cutâneos representam a principal linhagem celular do tecido conjuntivo dérmico, sendo diretamente responsáveis pela manutenção da matriz extracelular e pela regeneração tecidual, processos frequentemente afetados em condições inflamatórias crônicas da pele (Jiang *et al.*, 2020).

Assim, os resultados obtidos a partir dessas linhagens celulares fornecem evidências preliminares robustas sobre a segurança e o potencial terapêutico das formulações à base de EEF e EEF/ β CD para aplicação tópica, especialmente em contextos nos quais se deseja modular processos inflamatórios exacerbados sem comprometer a viabilidade celular de tecidos saudáveis. Esses dados sustentam a continuidade do desenvolvimento farmacotécnico e biológico da formulação proposta, com vistas à sua aplicação em modelos *in vivo* e, futuramente, em estudos clínicos.

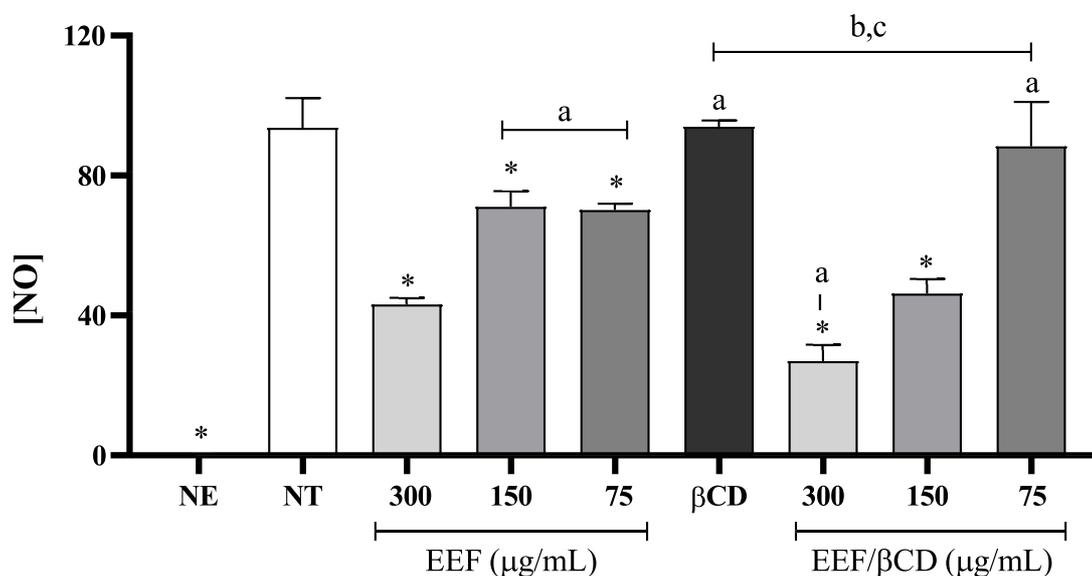
10.3 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO (EEF) E COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

Fármacos anti-inflamatórios disponíveis comercialmente, em especial os anti-inflamatórios esteroidais (AIEs) e não esteroidais (AINEs), na sua maioria, estão associados a um aumento no risco de efeitos adversos, incluindo complicações gastrointestinais e cardiovasculares. Tais eventos estão frequentemente relacionados à citotoxicidade dessas substâncias, sobretudo quando utilizadas por períodos prolongados (Sostres *et al.*, 2010). Nesse contexto, destaca-se a necessidade de investigar novas substâncias bioativas que aliem eficácia anti-inflamatória a um perfil de segurança celular favorável, com baixos níveis de toxicidade ou ausência de efeitos deletérios às células do organismo humano.

Com o intuito de investigar o possível impacto das amostras testadas sobre a atividade da enzima ciclooxygenase-2 (COX-2), investigou-se a produção de óxido nítrico (NO) em macrófagos ativados, uma vez que esse radical livre está diretamente associado à indução e expressão da COX-2 (Fang *et al.*, 2015; Smith *et al.*, 1996). Os resultados demonstraram uma

redução significativa na produção de NO em todas as concentrações analisadas para as amostras EEF e EEF/ β CD (Figura 18), sugerindo que ambas podem modular, direta ou indiretamente, a atividade e/ou expressão dessa enzima. Por outro lado, a β CD isolada não promoveu alteração significativa nos níveis de NO em comparação ao controle não tratado (NT) ($p > 0,05$), reforçando que o efeito observado decorre majoritariamente das substâncias bioativas presentes no extrato.

Figura 18. Avaliação da produção de óxido nítrico (NO) em linhagem de macrófagos J774A.1 tratados com EEF, EEF/ β CD e β CD.



Legenda: EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora*. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. β CD: β -ciclodextrina. NT – Células não tratadas e estimuladas. NE – Células sem estímulo e tratamento. *Diferença estatística em relação ao NT ($p < 0,05$). a - Diferença estatística em relação ao EEF 300 μ g/mL ($p < 0,05$). b - Diferença estatística em relação ao EEF 150 μ g/mL ($p < 0,05$). c - Diferença estatística em relação ao EEF 75 μ g/mL ($p < 0,05$). ANOVA seguido do teste de Tukey. Fonte: Autoria própria.

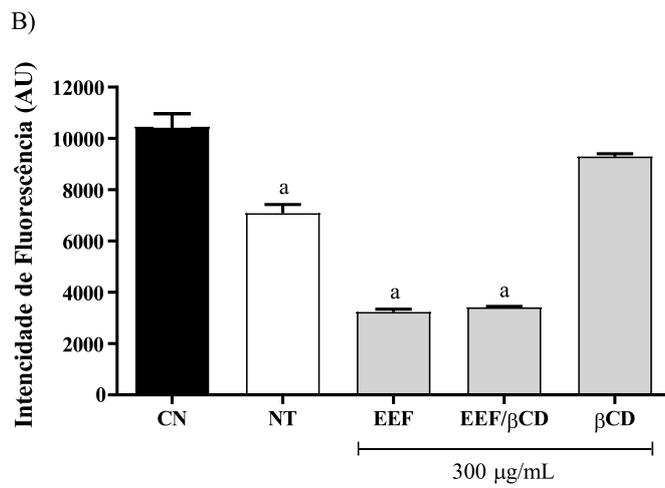
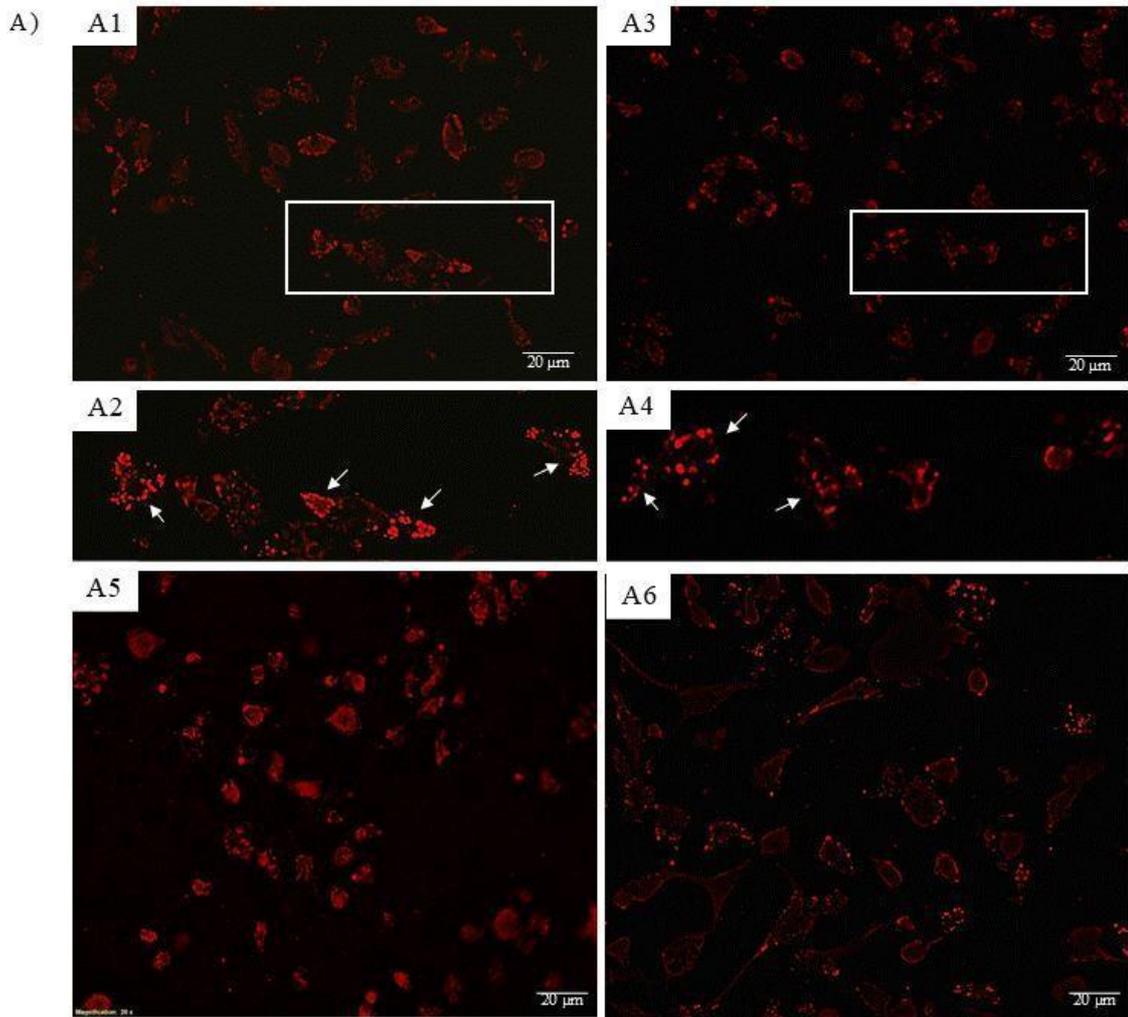
A análise comparativa entre as amostras revelou diferenças estatisticamente significativas na atividade anti-inflamatória entre o extrato etanólico e seu complexo supramolecular em todas as concentrações testadas ($p < 0,05$). Na concentração de 300 μ g/mL, o EEF promoveu uma redução de NO de 54%, enquanto o EEF/ β CD atingiu 73,1%. Na concentração intermediária (150 μ g/mL), as reduções foram de 24,2% e 50,7%, respectivamente. Curiosamente, na menor concentração avaliada (75 μ g/mL), o EEF apresentou uma inibição de 25%, ao passo que o EEF/ β CD mostrou redução mais modesta (5,8%). Esses achados indicam que, em concentrações mais elevadas, a complexação com β CD potencializa significativamente a atividade anti-inflamatória do extrato, possivelmente devido

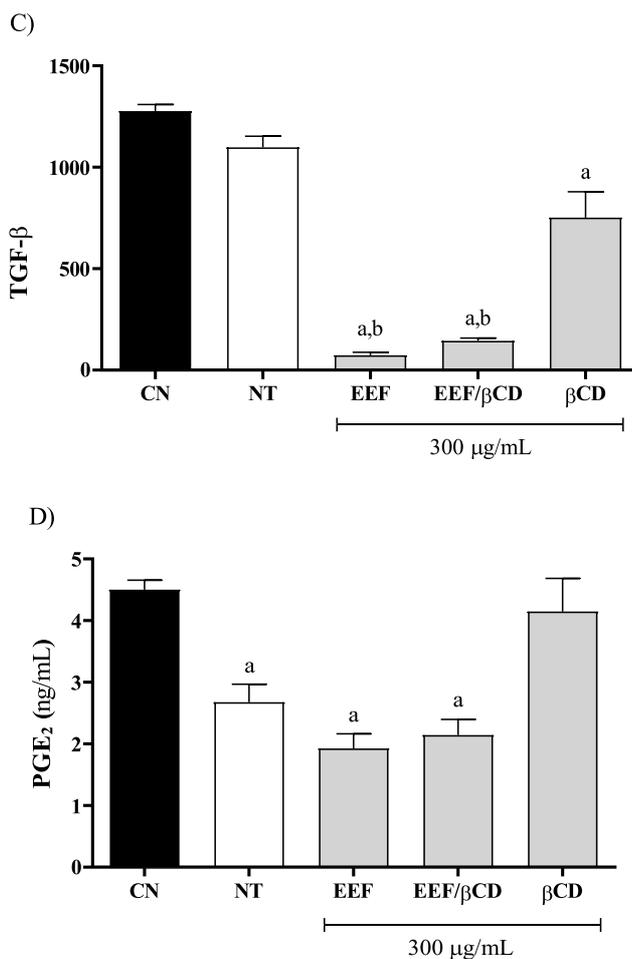
ao aumento da solubilidade e biodisponibilidade das substâncias bioativas. Por outro lado, em concentrações inferiores, essa complexação não supera de forma consistente a eficácia do extrato livre.

Com base nos resultados de viabilidade celular obtidos no ensaio de MTT, a concentração de 300 $\mu\text{g/mL}$ foi selecionada para os ensaios subsequentes de corpúsculo lipídico, fator de crescimento transformador beta (TGF- β) e prostaglandina E2 (PGE₂) em macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c. Essa escolha fundamenta-se na manutenção da viabilidade celular acima do limiar estabelecido pela norma ISO 10993-5:2009, evidenciando um perfil de segurança adequado, aliado a potencial atividade anti-inflamatória previamente observada nessa concentração.

A investigação prosseguiu com a avaliação da influência das amostras sobre a síntese de mediadores inflamatórios derivados do metabolismo lipídico. Para esse efeito, procedeu-se à quantificação de corpúsculos lipídicos (CLs) por fluorescência, bem como à avaliação da produção de PGE₂ e do TGF- β . A formação de CLs constitui um dos primeiros eventos celulares durante a resposta inflamatória (Zimmermann *et al.*, 2024), estando também envolvidos na regulação do metabolismo lipídico sob diferentes condições fisiopatológicas (Melo *et al.*, 2011). A estimulação com lipopolissacarídeo (LPS), de forma dependente da dose, induz um aumento significativo na formação de CLs, conforme demonstrado na Figura 19 (A1), na qual o estímulo combinado com LPS e IFN- γ promoveu um aumento significativo na formação de CLs em macrófagos, corroborando achados prévios da literatura (Zimmermann *et al.*, 2024). Em contrapartida, na presença de EEF e EEF/ β CD a 300 $\mu\text{g/mL}$, verifica-se uma diminuição do número de CL (Figura 19 - A4 e A5), sendo esta diminuição evidenciada na imagem A3, na qual as setas brancas indicam a presença desses corpúsculos em menor quantidade.

Figura 19. Atividade anti-inflamatória de EEF, EEF/ β CD e β CD. A) Fotomicrografias de macrófagos corados com Nile Red. B) Quantificação por fluorimetria de corpúsculos lipídicos (CLs) utilizando a coloração com Nile Red. C) Dosagem de TGF- β . D) Dosagem de PGE₂.





Legenda: EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora*. EEF/βCD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. βCD: β-ciclodextrina. NT – Células não tratadas e estimuladas. CN – Células tratadas com veículo DMSO. (A1) - Macrófagos obtidos da cavidade peritoneal de camundongos BALB/c tratados com veículo. (A2) – Aumento da região demarcada na imagem de (A1) mostrando a presença de corpúsculos lipídicos. (A3) - Macrófagos tratados com EEF/βCD 300,00 µg/mL. (A4) - Aumento da região demarcada na imagem de (A3) mostrando a uma diminuição de corpúsculos lipídicos indicado nas setas. (A5) Macrófagos tratados com EEF 300,00 µg/mL. (A6) Macrófagos tratados com βCD 300,00 µg/mL. a - Diferença estatística em relação ao CN ($p < 0,05$). b - Diferença estatística em relação ao NT ($p < 0,05$). ANOVA seguido do teste de Bonferroni. Fonte: Autoria própria.

A administração das amostras promoveu redução significativa na formação de CLs, com inibição de 69% para o EEF e 67% para o EEF/βCD, sem diferença estatística entre os grupos tratados ($p > 0,05$) (Figura 19 - B). Considerando que os CLs atuam como estruturas organizadoras na biossíntese de mediadores lipídicos pró-inflamatórios, como a PGE₂ (Zimmermann *et al.*, 2024), e que influenciam a sinalização inflamatória modulando a expressão de citocinas como o TGF-β (Bose *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2025), os resultados obtidos sugerem que as amostras podem interferir nesse eixo de sinalização. Especificamente, o EEF inibiu a produção de TGF-β em 94% e de PGE₂ em 57%, enquanto o EEF/βCD promoveu

reduções de 88% e 52%, respectivamente, sem diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Figura 19 – C e D).

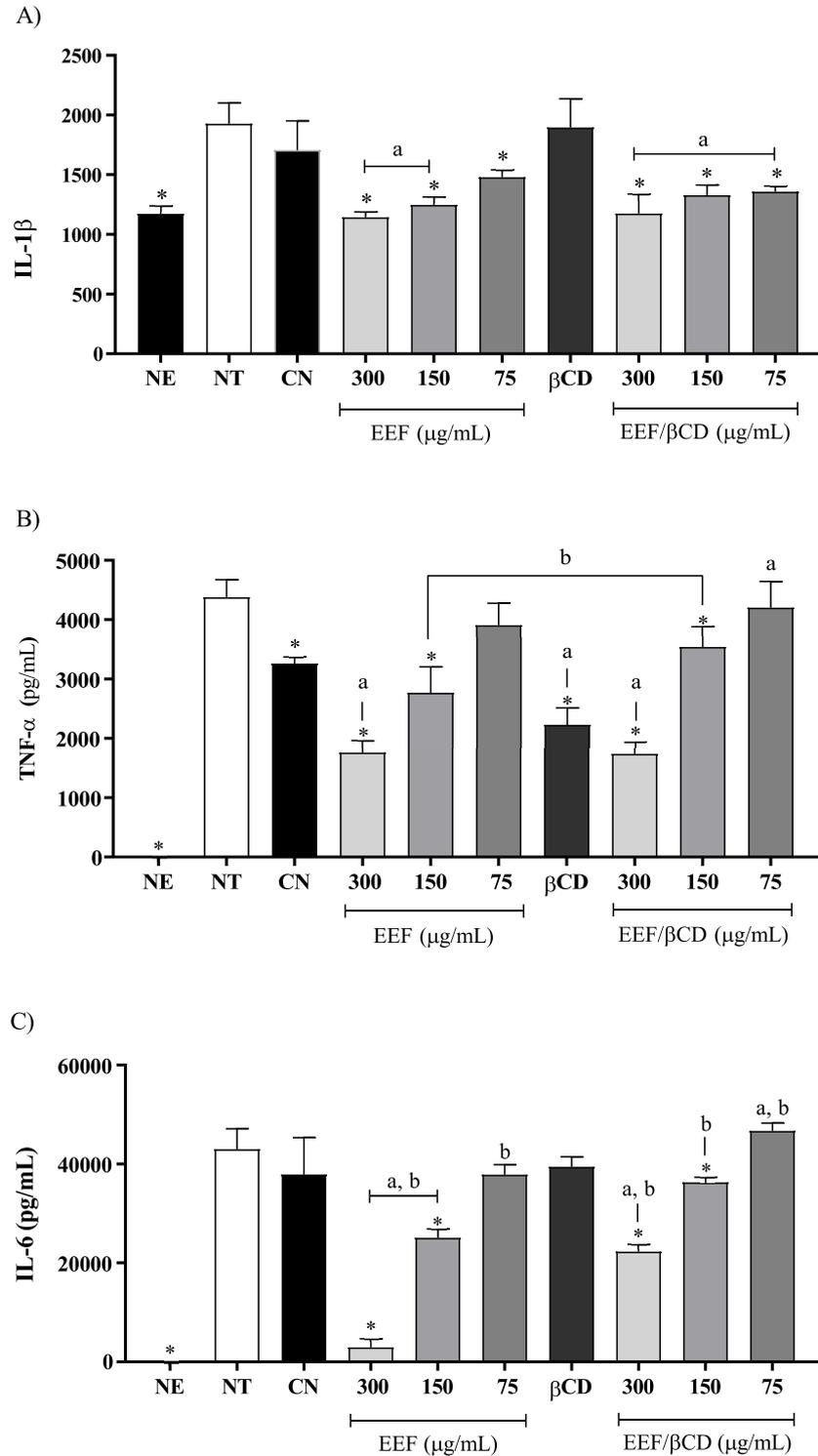
Embora o TGF- β seja tradicionalmente considerado uma citocina anti-inflamatória, sua atuação depende fortemente do contexto celular. Em cenários de inflamação crônica ou de lesão tecidual persistente, esse fator pode exercer papel pró-inflamatório e fibrogênico (Li e Flavell, 2008; Yoshimura, Wakabayashi e Mori, 2010). Assim, a redução observada nos níveis de TGF- β , acompanhada da diminuição de PGE₂ e de CLs, indica um potencial efeito modulador das amostras sobre vias imunológicas, em consonância com uma atividade anti-inflamatória adaptativa.

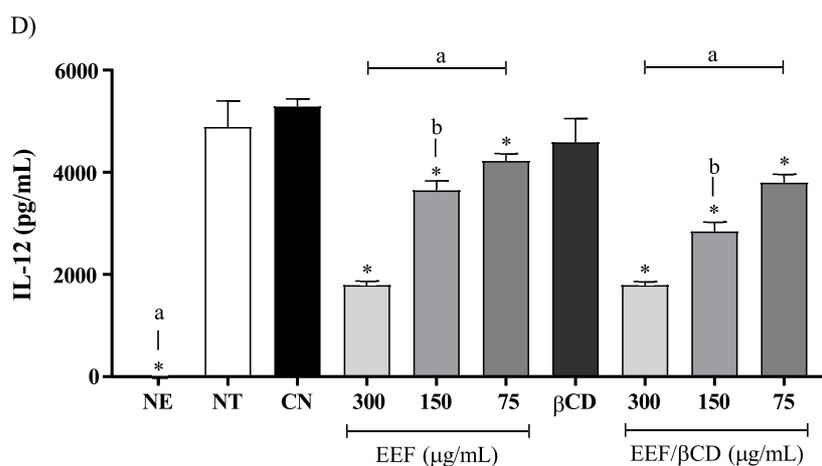
As isoformas da enzima ciclooxigenase (COX-1 e COX-2) desempenham um papel fundamental na conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas. Essas prostaglandinas estão intimamente relacionadas ao processo inflamatório e são responsáveis pela sensação de dor e vermelhidão associada à resposta inflamatória. Por outro lado, a supressão da produção de prostaglandinas é esperada para proporcionar alívio da dor e redução da inflamação nos tecidos inflamados (Jeppesen, Soelberg e Jäger, 2012; Oguntibeju, 2018). A literatura etnofarmacológica relata o uso tradicional de diversas espécies vegetais com capacidade de modular essa via, o que as torna candidatas potenciais como agentes anti-inflamatórios naturais (Jeppesen, Soelberg e Jäger, 2012). Neste estudo, apresentamos a primeira evidência experimental que associa a atividade anti-inflamatória do extrato de *P. cauliflora* à sua composição química, principalmente aos flavonoides majoritários identificados por análise cromatográfica (Paula *et al.*, 2021). Essas substâncias, além de apresentarem efeitos farmacológicos próprios, podem atuar sinergicamente, potencializando a resposta anti-inflamatória.

Ainda com o objetivo de confirmar o potencial anti-inflamatório das amostras, procedeu-se à avaliação do perfil de liberação de citocinas pró-inflamatórias, notadamente IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-12. Os resultados obtidos revelaram que tanto o extrato quanto seu complexo supramolecular promoveram inibição significativa da secreção dessas citocinas em comparação ao grupo controle estimulado e não tratado (NT), sobretudo nas concentrações mais elevadas, conforme ilustrado na Figura 20. Tal atividade está em consonância com a expressiva redução na produção dos mediadores inflamatórios observados anteriormente, reforçando o perfil anti-inflamatório das amostras testadas, uma vez que a ativação de macrófagos resulta na liberação coordenada de mediadores lipídicos, citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, além

do próprio NO, intensificando de maneira significativa a cascata inflamatória (Bechara e Szabó, 2006).

Figura 20. Influência do tratamento com EEF, EEF/ β CD e β CD na produção das citocinas IL-1 β (A), TNF- α (B), IL-6 (C), IL-12 (D).





Legenda: Legenda: EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora*. EEF/βCD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com ciclodextrina. βCD: β-ciclodextrina. NE – células não estimuladas. NT – Células não tratadas e estimuladas. CN – Células tratadas com veículo DMSO. *Diferença estatística em relação ao NT ($p < 0,05$). A quantificação de IL-1β e TNF-α foi realizada após 24 h de tratamento, enquanto os níveis de IL-6 e IL-12 foram avaliados após 48 h. a – Diferença estatística em relação ao CN ($p < 0,05$). b – Diferença estatística em relação entre as concentrações de EEF e EEF/βCD correspondentes ($p < 0,05$).

No que tange à IL-1β (Figura 20 - A), ambas as amostras apresentaram efeitos similares, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). Para o TNF-α (Figura 20 - B), verificou-se uma diferença significativa na concentração de 150 μg/mL, na qual o EEF (36,8%) isolado demonstrou maior capacidade de inibição que seu complexo (19,1%) ($p < 0,05$). A diferença mais marcante entre os perfis das amostras foi observada na modulação da IL-6 (Figura 20 - C), cujos níveis foram mais eficientemente reduzidos pelo EEF em todas as concentrações testadas ($p < 0,05$), indicando que a complexação pode, em determinados contextos, limitar a ação de componentes bioativos específicos.

Em contrapartida, a análise da IL-12 (Figura 20 - D) revelou maior eficácia do complexo EEF/βCD na concentração intermediária (150 μg/mL), superando o extrato livre. De modo geral, esses dados sugerem que, embora ambas as amostras apresentem potencial anti-inflamatório relevante, suas diferenças de desempenho frente a distintas citocinas refletem possíveis mecanismos complementares de ação, o que pode ser explorado estrategicamente no desenvolvimento de formulações terapêuticas mais eficazes para o controle da inflamação.

Vale ressaltar que, em modelos *in vitro*, o contato entre as substâncias testadas e as células-alvo ocorre de forma direta e imediata, favorecendo uma interação celular mais rápida e eficaz. Por outro lado, em estudos *in vivo*, o comportamento das mesmas substâncias pode divergir substancialmente, uma vez que são consideradas barreiras biológicas adicionais, como

absorção, distribuição, metabolismo e excreção, que interferem diretamente na biodisponibilidade e na chegada do ativo ao local de ação.

Nesse sentido, a pré-formulação com β CD desponta, portanto, como abordagem promissora: eleva a solubilidade e a estabilidade do extrato, melhora a entrega das substâncias bioativas ao sítio-alvo (*Drug delivery*) e preserva a sua atividade. A redução de mediadores imunológicos centrais, IL-12, mas também outras citocinas avaliadas, evidencia a capacidade do EEF e do EEF/ β CD de modular a resposta inflamatória, contribuindo para a homeostase tecidual e prevenindo reações exacerbadas.

Além de aprimorar a biodisponibilidade, a complexação com β CD potencializa a ação farmacológica frente a mediadores específicos, possivelmente ao facilitar a interação com alvos moleculares da via inflamatória. A habilidade do extrato de folhas de jabuticaba em suprimir múltiplas citocinas pró-inflamatórias o coloca como candidato promissor para intervenções em inflamação crônica.

Por fim, os efeitos anti-inflamatórios observados para o complexo supramolecular confirmam que a encapsulação exerce dupla função: (i) aumenta a solubilidade e a biodisponibilidade de substâncias hidrofóbicas e (ii) atenua citotoxicidade sobre células normais, reforçando o potencial deste sistema para formulações tópicas de extratos vegetais bioativos.

10.4 CARACTERIZAÇÃO MACROSCÓPICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

Em relação às características macroscópicas dos cremes foi observado que todas as formulações à base de Lanette[®], contendo o extrato etanólico das folhas (EEF), o complexo supramolecular (EEF/ β CD) e β CD, em todas as concentrações, apresentaram boa impressão global. Na Tabela 11 observam-se as principais características físicas das amostras.

Durante o ensaio de centrifugação, nenhuma das formulações testadas apresentou separação de fases, indicando estabilidade física inicial satisfatória. Elas apresentaram pH levemente ácido, compatível com a aplicação tópica e dentro da faixa recomendada pela Anvisa, o que é desejável para a manutenção da integridade da barreira cutânea (Monteiro *et al.*, 2022). Ressalta-se, contudo, uma discreta variação no valor de pH observada na formulação contendo EEF/ β CD a 6,0%, ($5,92 \pm 0,14$), ainda que tal variação encontra-se dentro da faixa considerada

segura para produtos dermatológicos, que geralmente compreende valores entre 4,5 e 6,5 (Monteiro *et al.*, 2022).

Tabela 11. Aspectos visuais das formulações à base de Lanette[®] contendo EEF, EEF/ β CD e β CD.

Formulação	Aspecto físico*	Cor	pH	Odor
Lanette [®]	Normal	Branco	6,51 \pm 0,04	Normal
Lanette [®] + EEF 1,5%	Normal	Levemente esverdeado	6,99 \pm 0,02	Ligeiramente modificado
Lanette [®] + EEF 3,0%	Normal	Verde	6,68 \pm 0,01	Ligeiramente modificado
Lanette [®] + EEF 6,0%	Normal	Verde intenso	6,33 \pm 0,06	Modificado
Lanette [®] + EEF/ β CD 1,5%	Normal	Levemente esverdeado	6,47 \pm 0,06	Ligeiramente modificado
Lanette [®] + EEF/ β CD 3,0%	Normal	Verde	6,47 \pm 0,04	Ligeiramente modificado
Lanette [®] + EEF/ β CD 6,0%	Normal	Verde intenso	5,92 \pm 0,14	Ligeiramente modificado

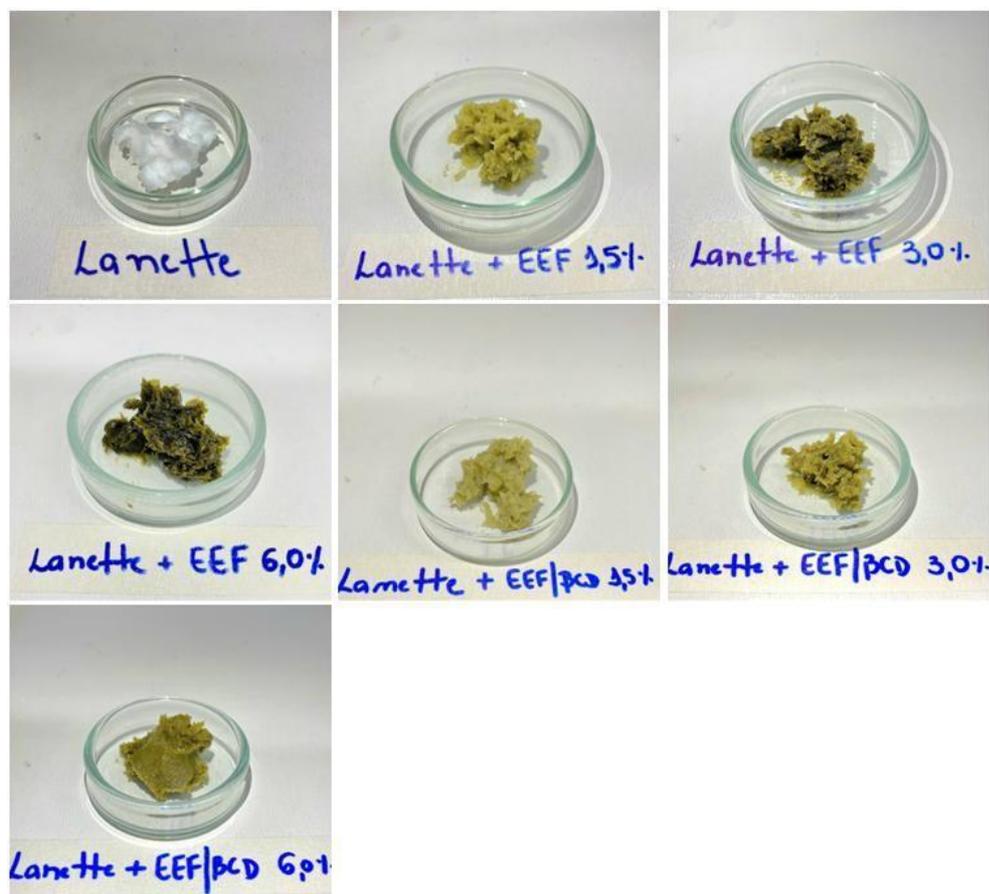
Legenda: Lanette[®]: Base creme manipulado. EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* incorporado na base Lanette[®] nas concentrações de 1,5, 3,0 e 6,0 %. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com β -ciclodextrina e incorporado na base Lanette[®] nas concentrações nominais de extrato de 1,5, 3,0 e 6,0 %. *O aspecto físico dos cremes é relativo à verificação antes e depois do teste de centrifugação. Fonte: Autoria própria.

Durante o processo de incorporação das substâncias ativas à base Lanette[®], observou-se boa compatibilidade das amostras sólidas com o veículo. Para garantir a completa e homogênea dispersão dos sólidos na base, foi empregada previamente a técnica de levigação com propilenoglicol (q.s.). Este procedimento favoreceu a homogeneização e evitou a formação de grumos, resultando em cremes com aparência uniforme. As formulações contendo o extrato livre apresentaram coloração característica dos pigmentos presentes nas folhas de jabuticaba, em contraste com a base Lanette pura, de coloração branca (Figura 21).

Observou-se, ainda, que as formulações contendo o complexo supramolecular apresentaram coloração menos intensa em comparação às formulações elaboradas com o extrato livre, nas mesmas concentrações. Tal diferença pode ser atribuída à presença da β CD, que se apresenta como um pó fino de coloração branca e, ao formar o complexo com substâncias ativas, pode mascarar parcialmente os pigmentos naturais do extrato, resultando em tonalidade

final mais tênue nas formulações. Além da aparência visual das formulações, na Figura 21 são evidenciadas a homogeneidade de cor e a ausência de separação de fases ou precipitação visível.

Figura 21. Formulações à base de Lanette[®] contendo EEF, EEF/ β CD e β CD.



Legenda: Lanette[®]: Base creme manipulado. EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* incorporado na base Lanette[®] nas concentrações de 1,5, 3,0 e 6,0 %. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com β -ciclodextrina e incorporado na base Lanette[®] nas concentrações nominais de extrato de 1,5, 3,0 e 6,0 %. β CD: β -ciclodextrina Fonte: Autoria própria.

Com relação às características olfativas, foi possível perceber o odor típico das folhas de jabuticaba nas formulações contendo tanto o extrato livre quanto o extrato complexado, sendo essa percepção mais acentuada nas formulações com 6,0% de EEF (Tabela 11). A estabilidade do aroma foi confirmada pela ausência de alterações perceptíveis logo após a produção e durante todo o período experimental.

A eficácia de formulações destinadas à aplicação dérmica está intrinsecamente relacionada à capacidade dos ativos de ultrapassarem a barreira lipídica da pele, particularmente o estrato córneo. Esta camada, que constitui a porção mais externa da epiderme, possui espessura entre 10 e 20 μ m e exerce papel fundamental como principal obstáculo à permeação

cutânea. Devido à sua organização lamelar compacta e estrutura altamente coesa, o estrato córneo é frequentemente comparado a um "filme plástico", caracterizando-se por sua baixa permeabilidade (Ammala, 2013; Kesente *et al.*, 2017).

A difusão de substâncias por essa barreira é restrita a substâncias com massa molecular inferior a 500 Da e com lipofilicidade moderada, geralmente expressa por valores de coeficiente de partição óleo/água ($\log K_{o/a}$) entre 1 e 3. Além desses parâmetros físico-químicos, as substâncias devem apresentar solubilidade adequada na matriz lipídica do estrato córneo, mantendo ao mesmo tempo propriedades hidrofílicas suficientes para permitir sua difusão subsequente pelas camadas viáveis da epiderme (Kesente *et al.*, 2017; Brasil, 2015). Esses requisitos são cruciais na seleção de ativos e no desenvolvimento de sistemas carreadores eficazes em formulações tópicas.

Nesse contexto, estudos de permeação cutânea são fundamentais para avaliar o potencial de penetração dos ativos incorporados em formulações tópicas. Entre os métodos mais utilizados para tal finalidade, destaca-se o uso de células de difusão de Franz, as quais permitem simular a permeação do ativo através de membranas biológicas ou sintéticas sob condições controladas de temperatura e agitação. Por meio desse sistema, é possível quantificar a fração da substância que permeia a barreira cutânea ao longo do tempo, bem como avaliar a influência de diferentes excipientes, formas farmacêuticas e estratégias de veiculação sobre o perfil de liberação e permeação (OECD, 2004; Bronaugh e Maibach, 2005).

A complexação com β CD, empregada neste trabalho, representa uma estratégia promissora para melhorar a solubilidade e a estabilidade do extrato de *P. cauliflora*, podendo também influenciar positivamente sua biodisponibilidade cutânea. A inclusão das substâncias dos extratos na β CD pode alterar suas propriedades físico-químicas, como o tamanho molecular aparente e a lipofilicidade, potencialmente favorecendo a liberação controlada e a penetração cutânea (Loftsson e Duchêne, 2007). Considerando a importância desses aspectos para o desempenho terapêutico das formulações, nosso grupo de pesquisa tem como perspectiva a continuidade desses estudos em futuras etapas, com a realização de ensaios de permeação cutânea *in vitro* utilizando células de difusão de Franz. Tais estudos permitirão avaliar comparativamente a permeação do extrato livre e do complexo com β CD incorporados na base Lanette[®], contribuindo para a otimização da forma farmacêutica e para a comprovação de sua eficácia tópica.

10.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

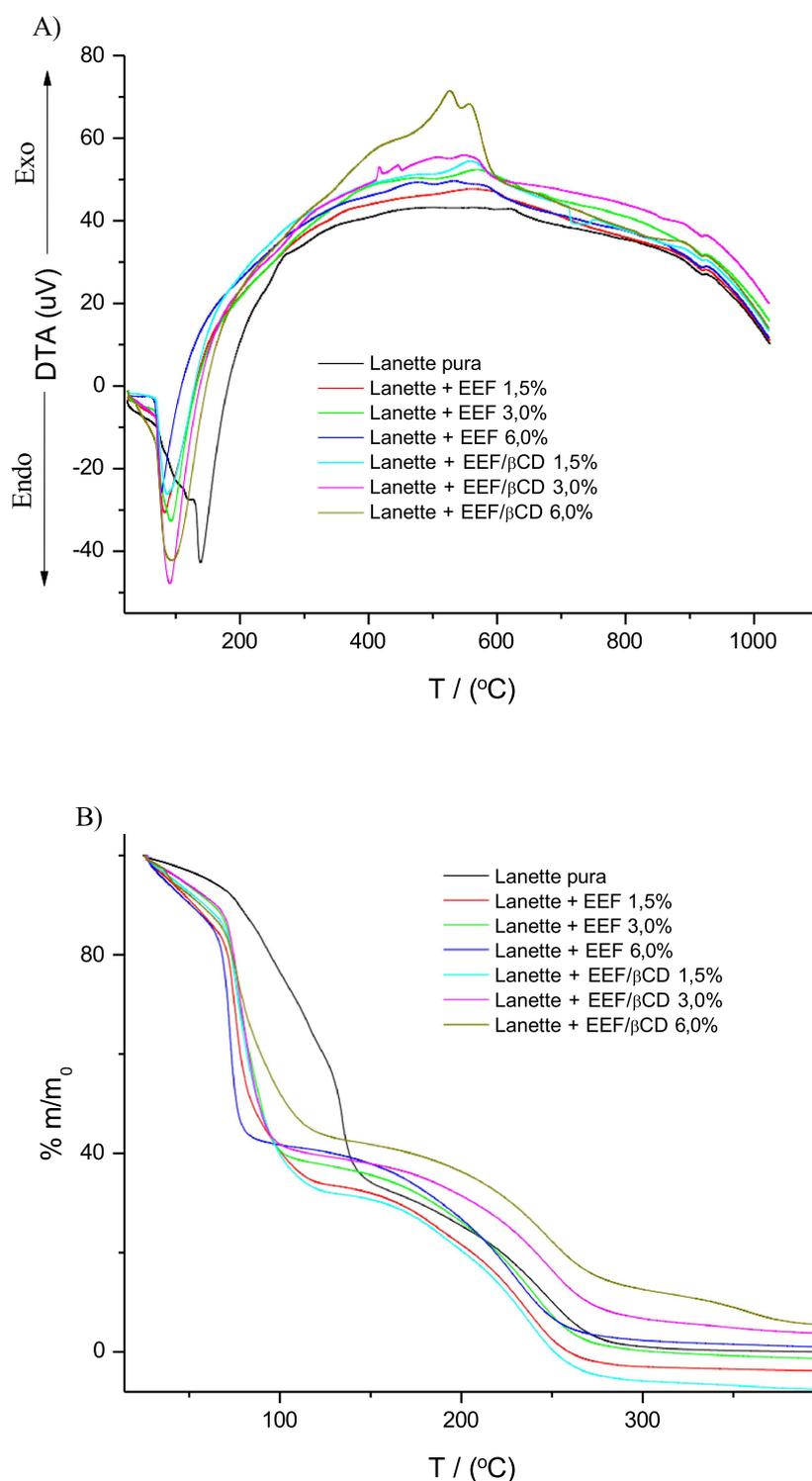
As análises termogravimétricas (TGA) foram usadas para determinar como a massa de um material muda com o aumento da temperatura, sendo útil para investigar processos de perda de massa relacionados à desidratação e decomposição. Por outro lado, a análise térmica diferencial (DTA) permite medir o fluxo de calor resultante de processos físico-químicos induzidos por variações de temperatura, incluindo transições de fase, além de desidratação e decomposição. Portanto, essas técnicas são complementares, já que a TGA é usada para observar processos de perda de massa, enquanto a DTA é sensível a todos os processos que geram fluxo de calor, independentemente da perda de massa associada (Meisel, 1984; Wunderlich, 2001; Hădărugă *et al.*, 2019).

10.5.1 Análise térmica (DTA e TGA)

A estabilidade térmica das formulações em suas diferentes concentrações foi analisada por DTA (Figura 22 - A), TGA (Figura 22 - B). No gráfico obtido por DTA, observam-se alterações na região do pico endotérmico entre 0 - 200 °C para todas as formulações em relação a Lanette[®] (\approx 140 °C). Além disso, as formulações contendo o complexo supramolecular (EEF/ β CD), diferentemente das que continham o extrato puro (EEF), apresentaram picos exotérmicos na faixa de temperatura de 400 a 600 °C. Isso mostra que houve alteração no mecanismo de decomposição dos componentes do extrato uma vez complexados com β CD, como resultado do estabelecimento de novas interações intermoleculares entre os componentes.

Os dados obtidos por TGA para todas as formulações demonstraram uma leve redução de massa inicial (\approx 15%), atribuída à desidratação das amostras incorporadas ao creme base, comportamento também observado nas amostras não incorporadas à Lanette[®], conforme relatado por Paula *et al.* (2024). Posteriormente, todas as amostras apresentaram uma acentuada perda de massa (\approx 90 °C), conforme ilustrado na Figura 22 - B e na Tabela 12. Observou-se também que a presença das substâncias no creme base antecipou o evento de degradação térmica, em comparação ao creme isolado, cuja perda de massa significativa ocorreu apenas em torno de 140 °C.

Figura 22. DTA (A) e TGA (B) das formulações à base de Lanette[®] contendo EEF, EEF/ β CD e β CD.



Legenda: Lanette[®]: Base creme manipulado. EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* incorporado na base Lanette[®] nas concentrações de 1,5, 3,0 e 6,0 %. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com β -ciclodextrina e incorporado na base Lanette[®] nas concentrações nominais de extrato de 1,5, 3,0 e 6,0 %. β CD: β -ciclodextrina. Fonte: Autoria própria.

Tabela 12. Parâmetros térmicos (obtidos por DTA e TGA) para a primeira decomposição das formulações à base de Lanette[®] contendo EEF, EEF/ β CD e β CD, intervalo de 70 a 140 °C.

Formulações	Temperatura (°C)	DTA (μ V)	TGA (% perda de massa)
Lanette [®]	138,84	- 42,75	60,86
Lanette [®] + EEF 1,5%	82,91	- 30,50	48,60
Lanette [®] + EEF 3,0%	92,85	- 32,77	56,66
Lanette [®] + EEF 6,0%	77,23	- 25,80	53,91
Lanette [®] + EEF/ β CD 1,5%	86,52	- 26,33	47,94
Lanette [®] + EEF/ β CD 3,0%	91,00	- 47,68	53,91
Lanette [®] + EEF/ β CD 6,0%	93,17	- 42,01	42,98

Legenda: Lanette[®]: Base creme manipulado. EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* incorporado na base Lanette[®] nas concentrações de 1,5, 3,0 e 6,0 %. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com β -ciclodextrina e incorporado na base Lanette[®] nas concentrações nominais de extrato de 1,5, 3,0 e 6,0 %. β CD: β -ciclodextrina. Os valores de temperatura e de perda de massa foram obtidos no ponto de mínimo da primeira decomposição observada no gráfico de DTA. Fonte: Autoria própria.

A incorporação do EEF/ β CD na base Lanette[®] resultou em menor perda de massa quando comparado ao extrato livre, especialmente na concentração de 6,0%. Nessa condição, a formulação com EEF 6,0% apresentou perda de 53,91% da massa na temperatura de 77,23 °C, enquanto que a formulação contendo EEF/ β CD 6,0% apresentou perda de apenas 42,98% em uma temperatura mais elevada de 93,17 °C, o que evidencia o aumento da estabilidade térmica do extrato vegetal quando complexado com a ciclodextrina.

Além disso, após aproximadamente 150 a 200 °C, as curvas DTA e TGA apresentaram um perfil mais suavizado de perda de massa, comportamento atribuído à degradação térmica completa do creme base Lanette[®] e dos componentes incorporados, conforme descrito por Lanna *et al.* (2016).

10.5.2 Análise no FTIR

A técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho, com transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para caracterizar a interação intermolecular entre as amostras e o creme base Lanette[®]. O propósito da espectroscopia de absorção no infravermelho é identificar os principais grupos funcionais presentes em um material específico. Cada grupo funcional absorve em frequências características de radiação na faixa do infravermelho. Dessa forma, a análise dos espectros obtidos possibilita tanto a caracterização estrutural de substâncias

orgânicas quanto a detecção de interações físicas e/ou químicas entre os constituintes de uma formulação. Além de permitir a identificação qualitativa dos grupos funcionais presentes nos constituintes da formulação, essa técnica também fornece subsídios para avaliar modificações no perfil espectral decorrentes da variação da concentração dos ativos e da possível complexação com a ciclodextrina. Alterações em bandas específicas de absorção podem indicar interações entre o extrato e a matriz da formulação (Lanette[®]), sobretudo quando se observam deslocamentos de bandas ou mudanças na intensidade das absorções.

Os espectros obtidos por FTIR das formulações contendo o extrato etanólico das folhas (EEF) nas concentrações de 1,5% e 3,0% apresentaram-se sobrepostos ao espectro do creme base Lanette[®], sem alterações significativas nas principais bandas de absorção (Figura 23). Tal resultado pode ser atribuído às baixas concentrações do extrato, que, provavelmente, não foram suficientes para gerar sinais espectrais distinguíveis frente aos componentes majoritários da matriz da formulação.

Por outro lado, as formulações contendo 6,0% de EEF, bem como aquelas contendo o EEF/ β CD nas concentrações de 1,5%, 3,0% e 6,0%, demonstraram alterações espectrais relevantes, indicando a presença e a interação do extrato (livre ou complexado) com a matriz do creme. Observou-se, notadamente, um aumento na intensidade da banda em 3324 cm^{-1} , característica do estiramento vibracional da ligação O-H, que pode ser atribuída à presença de fenóis e álcoois presentes no extrato, como flavonoides e taninos. Além disso, a intensificação da banda em 1641 cm^{-1} , relacionada ao estiramento da ligação C=C de anéis aromáticos ou a grupos carbonílicos conjugados, sugere a presença de compostos como ácidos fenólicos e flavonoides (Sampaio *et al.*, 2016; Kora *et al.*, 2012; Netala *et al.*, 2016).

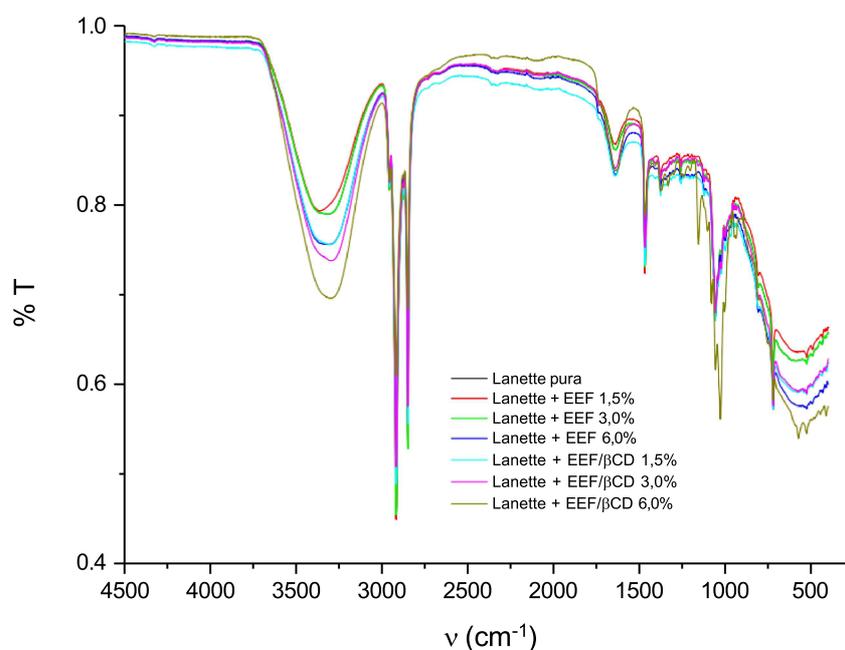
A região entre $1200 - 1300\text{ cm}^{-1}$, onde foi observado incremento da absorção, corresponde ao estiramento da ligação C-O, indicando a possível presença de ésteres, álcoois ou compostos fenólicos. Essas alterações sugerem que, em concentrações mais elevadas, os constituintes bioativos do extrato interagem de forma mais evidente com a matriz da formulação, sendo detectáveis por espectroscopia no infravermelho (Sampaio *et al.*, 2016; Kora *et al.*, 2012; Netala *et al.*, 2016).

Particularmente na formulação contendo EEF/ β CD 6,0%, observou-se ainda um leve deslocamento das bandas para 3303 cm^{-1} e 1637 cm^{-1} , além do aumento da intensidade da banda em 1465 cm^{-1} , atribuída ao estiramento assimétrico da ligação C-H de grupos metila e metileno. Esse deslocamento, associado ao aumento de intensidade nas bandas situadas em 1156, 1079, 1056 e 1028 cm^{-1} , sugere alterações na conformação molecular e reforça a ocorrência de

interações intermoleculares entre o EEF/ β CD e os constituintes da formulação. Essas bandas, comumente associadas ao estiramento de ligações C-O-C e C-O-H, são indicativas da presença de estruturas glicosídicas e compostos polares derivados de carboidratos ou polióis (Guo *et al.*, 2018).

Esses achados corroboram a hipótese de que a complexação do extrato com β CD promove alterações estruturais detectáveis por FTIR, evidenciando a formação de interações físico-químicas mais intensas com os excipientes da formulação. Tais interações são especialmente marcantes em concentrações mais elevadas do complexo, o que pode contribuir para a estabilidade físico-química e a performance da formulação final.

Figura 23. FTIR das formulações à base de Lanette[®] contendo EEF, EEF/ β CD e β CD.



Legenda: Lanette[®]: Base creme manipulado. EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* incorporado na base Lanette[®] nas concentrações de 1,5, 3,0 e 6,0 %. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com β CD e incorporado na base Lanette[®] nas concentrações nominais de extrato de 1,5, 3,0 e 6,0 %. Fonte: Autoria própria.

10.6 ANÁLISE REOLÓGICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO O EXTRATO (EEF) E O COMPLEXO SUPRAMOLECULAR (EEF/ β CD) DAS FOLHAS

Considerando o fato de que os complexos supramoleculares formados pelas ciclodextrinas podem interagir com os constituintes do veículo, o que potencialmente

compromete a estabilidade e a eficácia dos ativos encapsulados, análises reológicas foram utilizadas para se avaliar tais interações (Lanna *et al.*, 2016; Christaki *et al.*, 2023).

Nesse contexto, a reologia desempenha um papel fundamental na análise das interações físico-químicas entre os componentes de sistemas coloidais, sendo uma ferramenta indispensável tanto no desenvolvimento quanto no controle de qualidade de formulações semissólidas. O entendimento do comportamento reológico permite prever a fluidez, a consistência e o desempenho da formulação durante o armazenamento, aplicações tópicas e frente a diversos tipos de estímulos mecânicos. Além disso, os parâmetros reológicos fornecem subsídios importantes para avaliar a espalhabilidade e a coesão da formulação sobre a pele, fatores diretamente relacionados à aceitabilidade e à eficácia do produto (Barnes *et al.*, 1998; Calienni *et al.*, 2023).

No presente estudo, foram realizados experimentos reológicos em modo oscilatório com o objetivo de caracterizar as propriedades viscoelásticas das formulações desenvolvidas. Paralelamente, foram conduzidos ensaios em modo transiente visando avaliar a capacidade de recuperação estrutural das amostras após serem submetidas a uma deformação por cisalhamento em curto intervalo de tempo, simulando as condições de aplicação tópica (Goudoulas e Germann, 2016; Calienni *et al.*, 2023).

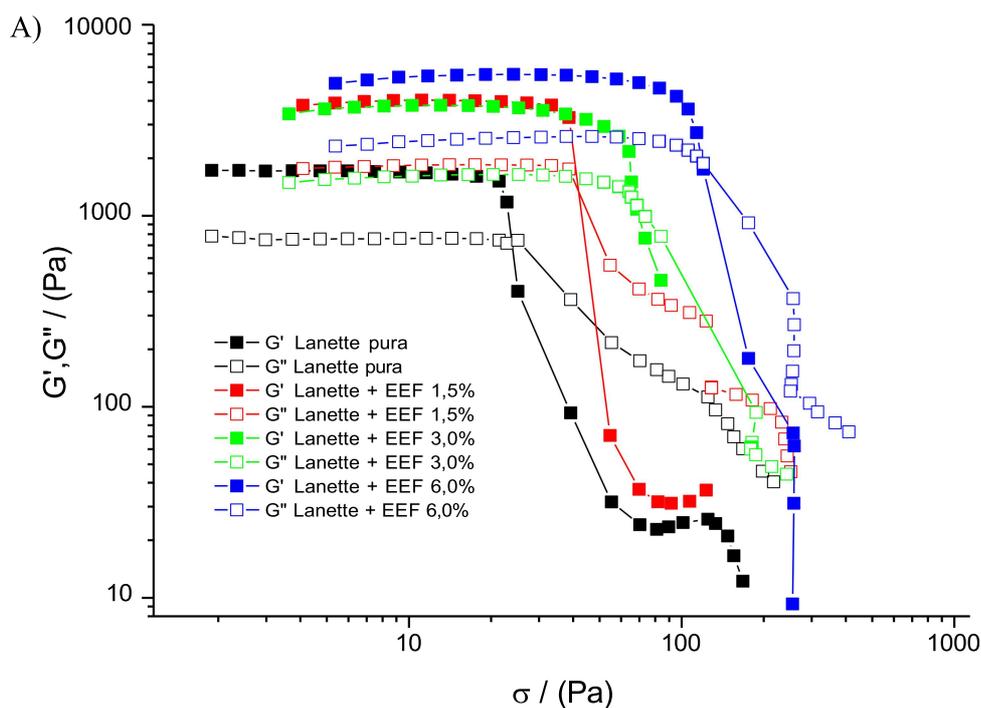
10.6.1 Cisalhamento oscilatório e varredura de amplitude

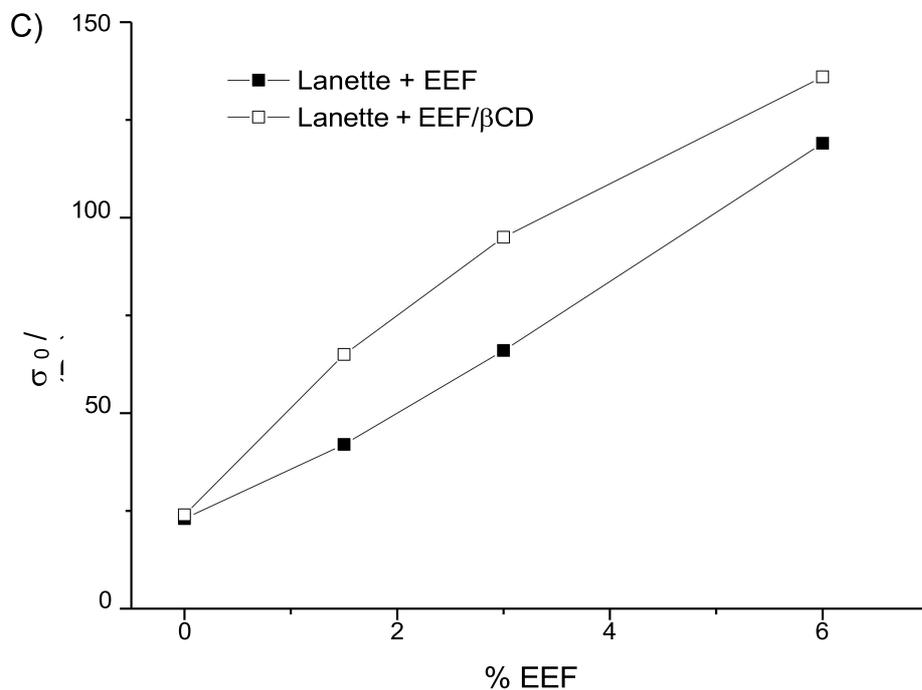
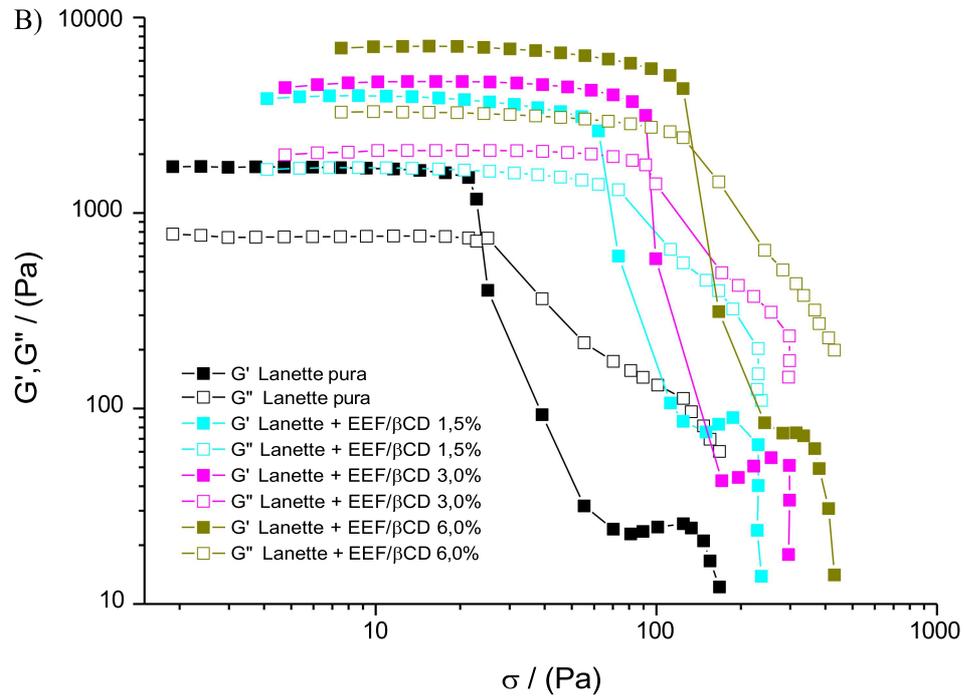
Experimentos de cisalhamento oscilatório com varredura de amplitude foram empregados para determinar a região de viscoelasticidade linear (LVE) e a tensão de escoamento (σ_0) dos cremes formulados, condições nas quais a estrutura tridimensional supramolecular do sistema permanece intacta. Essa abordagem é essencial para entender o comportamento estrutural e mecânico de formulações tópicas, especialmente aquelas contendo extratos vegetais e complexos com ciclodextrinas, cujas interações podem alterar significativamente as propriedades reológicas do sistema. Esse tipo de experimento simula a deformação do fluido frente a aplicação de tensões gradativamente maiores (Chiarentin *et al.*, 2023; Calienni *et al.*, 2023).

Durante os testes, foram obtidos os parâmetros viscoelásticos fundamentais: o módulo de armazenamento (G'), que representa o componente elástico da formulação, e o módulo de perda (G''), que reflete o comportamento viscoso ou fluido. Como ilustrado na Figura 24, todas as formulações, tanto com extrato livre (EEF) quanto com o seu complexo supramolecular

(EEF/ β CD), apresentaram predominantemente comportamento elástico, evidenciado pela predominância de G' sobre G'' ($G' > G''$) em uma ampla faixa de tensão, indicando uma estrutura coesa e resistente à deformação. Além disso, o comportamento dos fluidos pode ser enquadrado como sendo do “Tipo 1”, segundo definição de Hyun *et al.* (2002). Este comportamento, conhecido como “*strain thinning*” (afinamento por deformação), é similar ao observado para fluidos pseudoplásticos em reologia estacionária, sendo comum em soluções poliméricas diluídas. A resposta fenomenológica deste comportamento é que ocorre uma perda contínua da elasticidade (rigidez) à medida que o fluido é deformado.

Figura 24. Varredura oscilatória da amplitude de deformação, de 0,5 a 500 % (em escala logarítmica). Módulos G' e G'' plotados em função da tensão de cisalhamento oscilatória (σ_0) para formulações com EEF (A) e EEF/ β CD (B). C) Valores de tensão de escoamento obtidos a partir dos dados de amplitude do extrato ou complexo supramolecular.





Legenda: Lanette[®]: Base creme manipulado. EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* incorporado na base Lanette[®] nas concentrações de 1,5, 3,0 e 6,0 %. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com β CD e incorporado na base Lanette[®] nas concentrações nominais de extrato de 1,5, 3,0 e 6,0 %. Fonte: Autoria própria.

Observou-se também a existência de um ponto de interseção entre G' e G'' , indicativo da tensão de escoamento (σ_0). Esse parâmetro é importante por representar o limiar de transição entre o regime viscoelástico linear e o regime não linear, no qual há rompimento das interações estruturais do sistema, resultando em uma transição de comportamento tipo sólido para fluido (Ewoldt *et al.*, 2010; Goudoulas e Germann, 2016). Esse fenômeno é comum em formulações com matriz lipídica complexa e está alinhado com observações feitas em sistemas contendo extratos naturais encapsulados (Wu *et al.*, 2023).

Notavelmente, a magnitude de σ_0 aumentou proporcionalmente com a concentração dos ativos incorporados (extrato livre e complexo supramolecular), conforme mostrado na Figura 24 C. Esse aumento é indicativo de maior resistência estrutural do sistema frente à deformação, sugerindo que tanto o extrato quanto o complexo supramolecular contribuem para o reforço da rede tridimensional da formulação em até 590% para o sistema Lanette[®] + EEF/ β CD e 517% para o sistema Lanette[®] + EEF.

As formulações contendo o EEF/ β CD apresentaram valores mais elevados de σ_0 em comparação às formulações com EEF, indicando um efeito estruturante mais pronunciado. Tal comportamento pode ser atribuído à capacidade das ciclodextrinas de formarem ligações de hidrogênio com os componentes da base, promovendo maior organização molecular e estabilidade mecânica (Ferreira *et al.*, 2023; Calienni *et al.*, 2023).

10.6.2 Cisalhamento oscilatório e varredura de frequência

A Figura 25 apresenta os resultados dos experimentos de varredura de frequência, nos quais os módulos viscoelásticos, de armazenamento (G') e de perda (G''), bem como a viscosidade complexa (η^*) foram avaliados em função da frequência angular (ω). Tais experimentos simulam situações em que a formulação é submetida a oscilações mecânicas cíclicas, como ocorre por exemplo, em agitadores orbitais ou em transporte em caminhões.

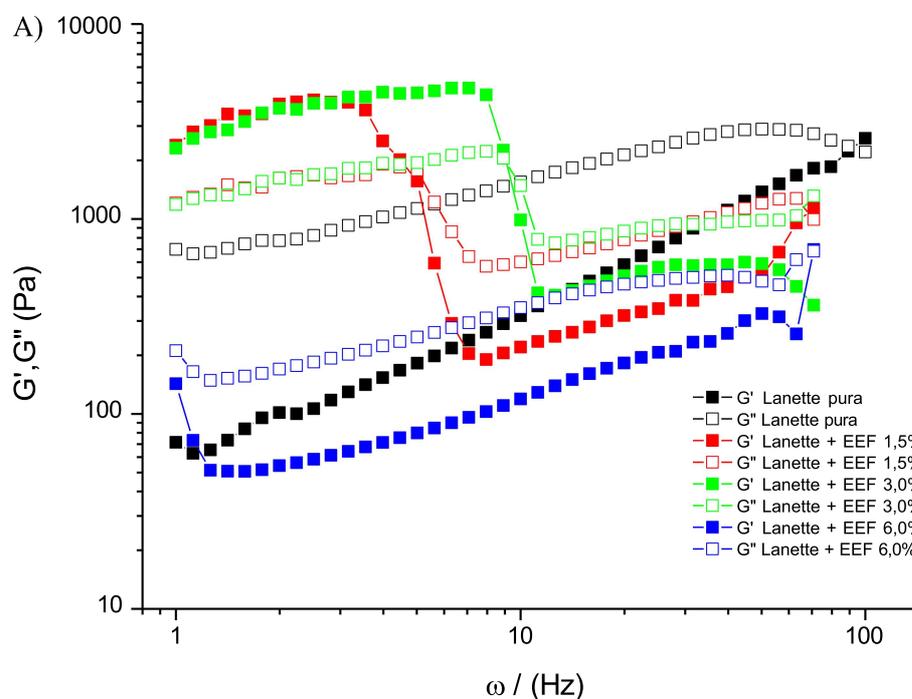
Para a amostra de Lanette[®] pura, observou-se que $G'' > G'$ em quase toda a faixa analisada, caracterizando um comportamento típico de fluido viscoelástico dominado pela dissipação de energia, o que é comum em sistemas de emulsões com baixa organização interna (Stadler *et al.*, 2011; Sorvari, 2013). À medida que a frequência aumenta, verifica-se uma tendência de aproximação entre G' e G'' que se cruzam em 100 Hz, sugerindo o início de uma organização estrutural transitória, especialmente em regimes de alta deformação. Esse

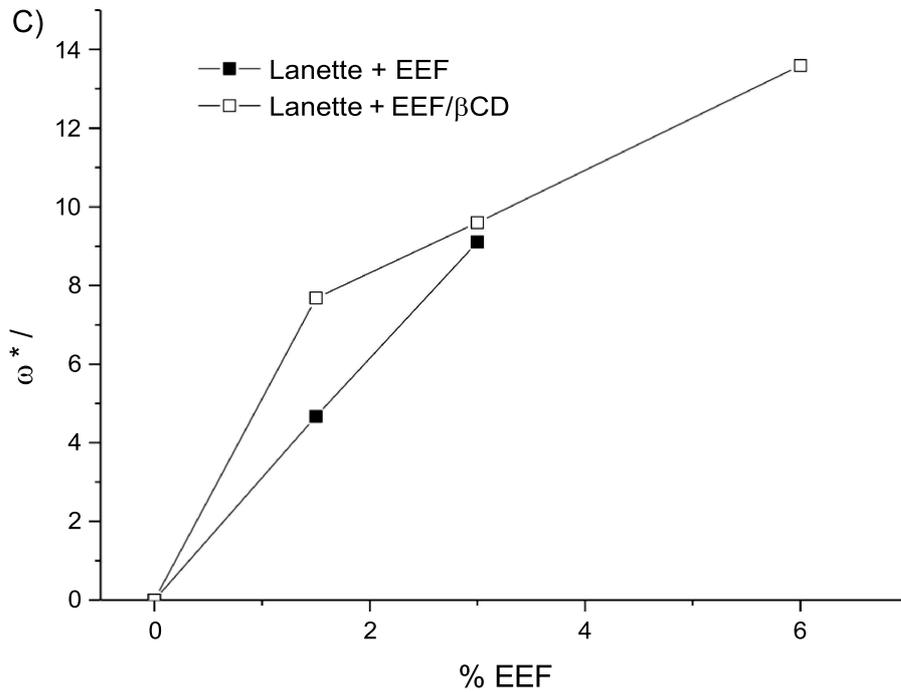
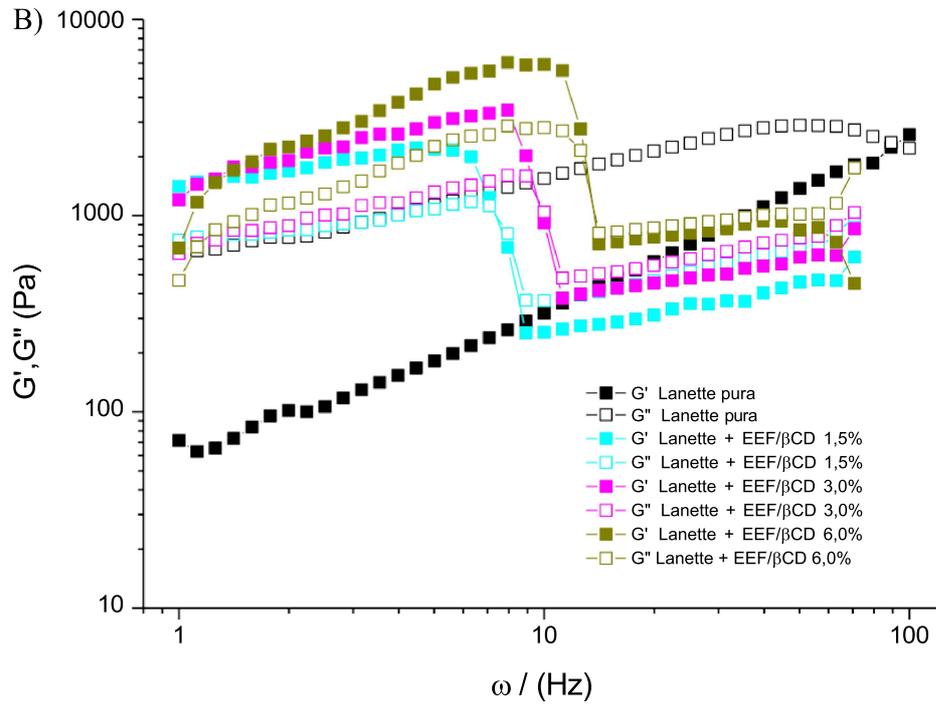
comportamento é compatível com a formação parcial de interações cooperativas entre os constituintes da emulsão sob estímulo mecânico (Sorvari, 2013).

Com a incorporação do EEF, observa-se uma modificação expressiva no perfil das curvas reológicas. Em especial, nota-se um aumento significativo do módulo elástico (G'), que passa a superar o módulo viscoso (G'') em baixas frequências, resultando em $G' > G''$ até uma frequência crítica (ω^*) próxima de 10 Hz.

Esse padrão é típico de materiais com comportamento tipo gel, onde a rede tridimensional interna oferece resistência à deformação oscilatória (Sorvari, 2013). A frequência crítica ω^* marca o ponto em que o sistema começa a perder essa organização, indicando uma transição de comportamento semelhante a sólido para líquido. Essa transição está associada à ruptura das interações estruturais responsáveis pela coesão do sistema.

Figura 25. Varredura oscilatória da frequência de deformação, de 0,0 a 628 rad/s (0,0 a 100 Hz, em escala logarítmica). Módulos G' e G'' plotados em função da frequência de cisalhamento oscilatório (ω / Hz) para formulações com EEF (A) e EEF/ β CD (B). C) Dados de frequência crítica em função da concentração de extrato ou complexo supramolecular. Experimentos realizados a 87,92 rad/s (14 Hz) e 25 °C.





Legenda: Lanette[®]: Base creme manipulado. EEf: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* incorporado na base Lanette[®] nas concentrações de 1,5, 3,0 e 6,0 %. EEf/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com β CD e incorporado na base Lanette[®] nas concentrações nominais de extrato de 1,5, 3,0 e 6,0 %. Fonte: Autoria própria.

A presença de uma frequência crítica (ω^*) pode ser explicada pela ruptura de agregados coloidais formados por surfactantes (como álcoois graxos e alquil sulfatos presentes na Lanette[®]) sob ação da frequência de oscilação. Tal ruptura compromete a integridade da rede de interações, resultando em colapso estrutural e transição de comportamento (Söderhjelm *et al.*, 1994; Barnes *et al.*, 1989; Cardoso *et al.*, 2006).

A formulação Lanette + EEF 6% apresentou (Figura 25 - A), no entanto, um comportamento distinto dos demais. Nesse caso, os valores de G'' voltaram a predominar sobre G' em toda a faixa de frequência, similar ao observado para a base Lanette[®] pura. Tal comportamento pode estar relacionado a um efeito de supersaturação ou desestabilização do sistema coloidal pela elevada concentração de extrato, levando à quebra de interações intermoleculares ou à desnaturação parcial dos componentes estruturantes da emulsão. Isso mostra que elevadas concentrações de extrato puro pode não ser vantajoso para a formulação.

De modo geral, os resultados sugerem que concentrações moderadas de extrato promovem a formação de uma rede estruturada, compatível com sistemas do tipo gel, corroborando os dados obtidos nos testes de varredura de amplitude. Isso reforça a hipótese de que o extrato vegetal interage com os componentes da base Lanette[®], contribuindo para o fortalecimento da rede coloidal.

Entretanto, na presença de ciclodextrinas, observa-se uma tendência de aumento da resistência das formulações frente à frequência de oscilação, dentro da faixa estudada. Isso porque tem-se um crescente aumento de ω^* com a concentração dos complexos supramoleculares, conforme pode ser observado na Figura 25 C. Isso demonstra claramente o efeito da ciclodextrina em promover uma estruturação do material, bem como aumentar sua estabilidade frente a oscilações mecânicas.

10.6.3 Cisalhamento oscilatório e rampa de temperatura

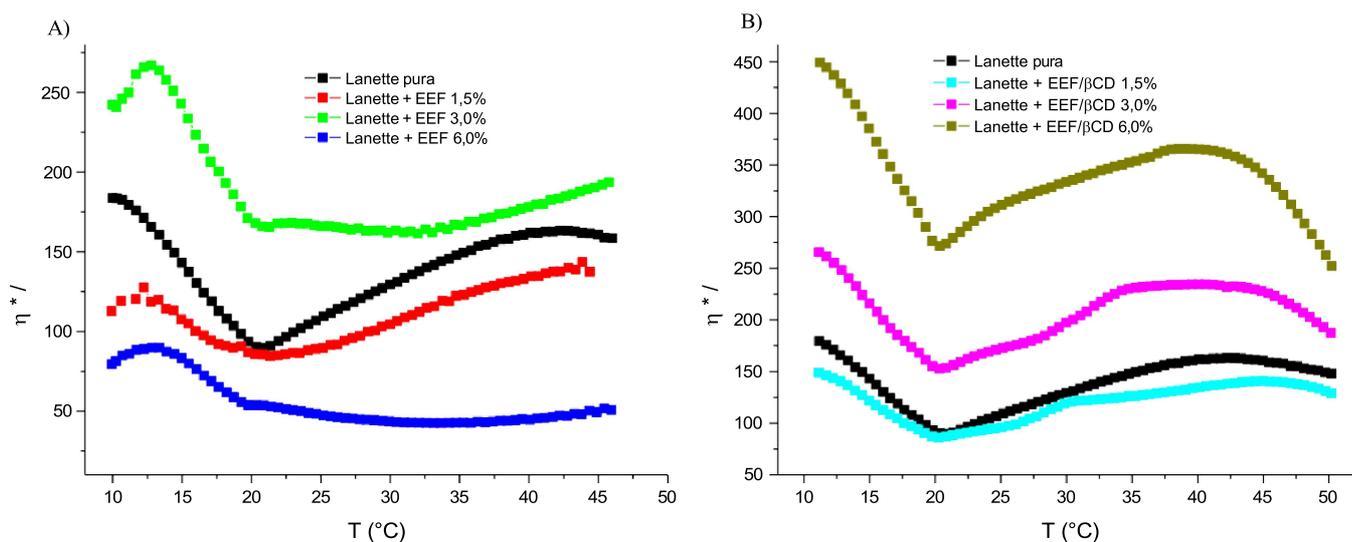
A Figura 26 apresenta o comportamento da viscosidade complexa (η^*) em função da temperatura para os cremes avaliados. Observa-se que todas as formulações exibiram tendências semelhantes ao longo do aquecimento, com variações específicas conforme a composição. Para todas as amostras observou-se uma acentuada queda da viscosidade do início do experimento (10 °C) até cerca de 20 °C. Esse comportamento pode ser atribuído à diminuição do atrito interno, decorrente do aumento da energia cinética molecular e da consequente mobilização das cadeias macromoleculares presentes no sistema. Após essa faixa

de temperatura, registrou-se um aumento progressivo da viscosidade até aproximadamente 40 °C. Tal elevação pode estar relacionada à evaporação de componentes voláteis do sistema, o que favorece a concentração dos constituintes estruturantes, resultando em maior resistência ao escoamento.

Nas formulações contendo o EEF/ β CD, a viscosidade apresentou um novo declínio a partir de determinada faixa de temperatura (≈ 40 °C), comportamento que pode estar associado à fusão dos agregados coloidais presentes no meio, ocasionando desorganização ou colapso parcial da estrutura tridimensional da matriz (Figura 26 B). A comparação entre os perfis reológicos das amostras contendo apenas o extrato vegetal livre e aquelas com o complexo supramolecular evidencia diferenças significativas, sugerindo que a presença da β CD promove interações distintas com os componentes da emulsão. Essas interações influenciam diretamente o comportamento térmico e a estabilidade estrutural das formulações, refletindo o papel funcional das ciclodextrinas como agentes estruturantes e moduladores reológicos.

Todas as amostras tendem a ser mais viscosas em temperaturas baixas, o que ocorrerá em regiões de clima frio, ao passo que tenderão ser mais fluidas em regiões de clima quente. Contudo, as formulações contendo Lanette[®] + EEF/ β CD não parecem ser resistentes a elevadas temperaturas, o que demandaria maior cuidado no transporte e armazenamento.

Figura 26. Varredura de temperatura em modo oscilatório para formulações com EEF (A) e EEF/ β CD (B).



Legenda: Lanette[®]: Base creme manipulado. EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* incorporado na base Lanette[®] nas concentrações de 1,5, 3,0 e 6,0 %. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com β CD e incorporado na base Lanette[®] nas concentrações nominais de extrato de 1,5, 3,0 e 6,0 %. Fonte: Autoria própria.

10.6.4 Experimento de fluência em curto intervalo de tempo

A análise da fluência (*creep*) sob regime de tensão controlada, utilizando reômetro do tipo DHR-1 (TA Instruments), revela um comportamento dinâmico particular decorrente do acoplamento entre a inércia do sistema instrumentado e a elasticidade superficial do fluido. Em escalas de tempo curtas (da ordem de $\approx 10^{-3}$ a $\approx 10^0$ s), a função de fluência $J(t)$ (“compliance”), expressa em Pa^{-1} , pode exibir oscilações amortecidas até alcançar o regime estacionário de deformação. Esse fenômeno é conhecido como *creep ringing*, ou oscilação amortecida da fluência, e é considerado uma característica inerente a materiais viscoelásticos submetidos a ensaios com influência significativa de inércia mecânica (Goudoulas e Germann, 2016).

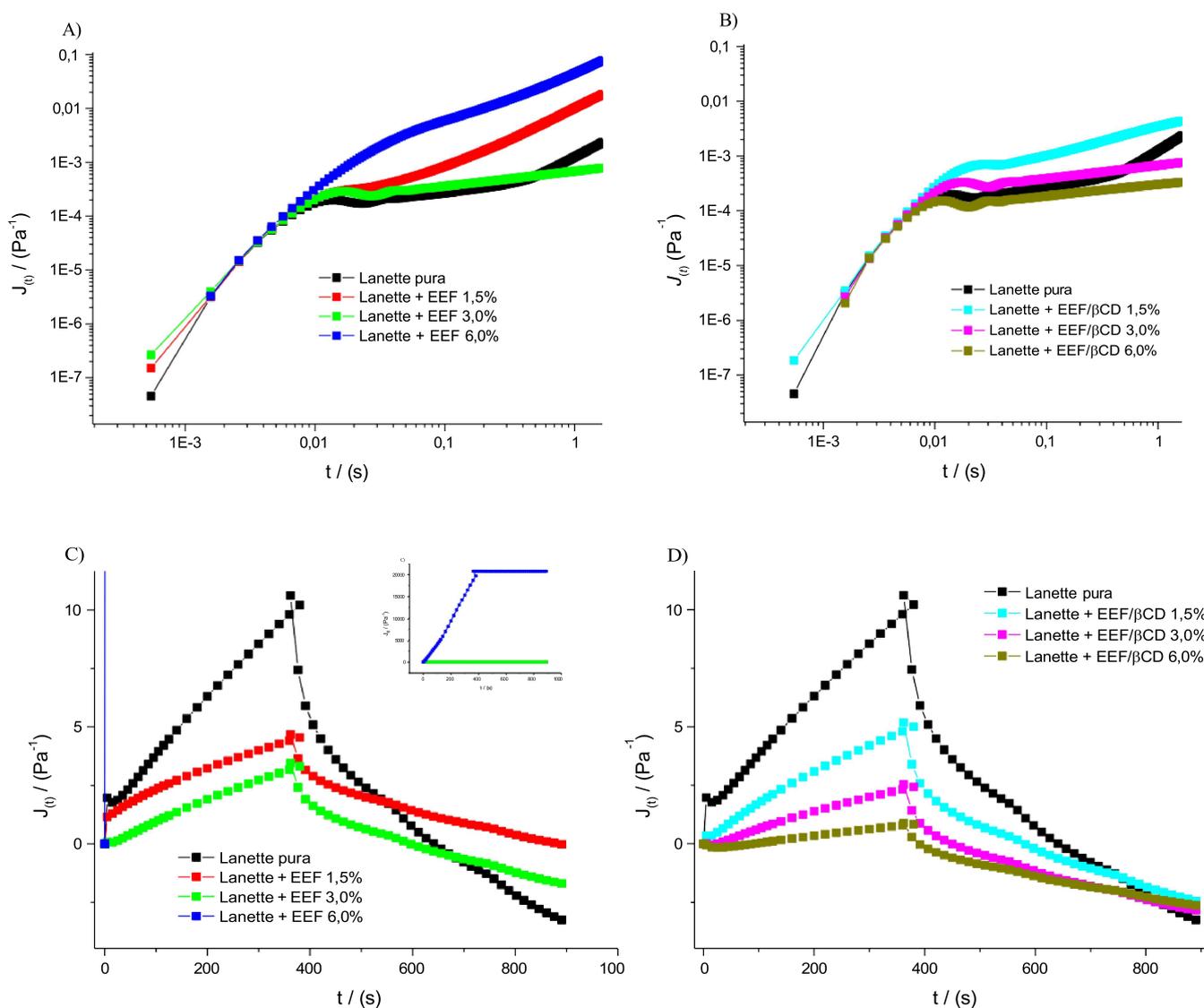
No âmbito da reologia de sistemas viscoelásticos, a observação dessas oscilações em regimes temporais breves oferece informações relevantes sobre os mecanismos de relaxamento estrutural e sobre a resposta dinâmica da matriz coloidal. Essas informações contribuem para o entendimento da elasticidade macromolecular e das interações moleculares envolvidas nos processos de dissipação e armazenamento de energia mecânica.

Nas Figuras 27 - A e B, verifica-se que a adição do extrato vegetal gerou o fenômeno de fluência oscilatória amortecida, típica de sistemas que apresentam comportamento viscoelástico dominante e estrutura interna tendendo ao estado sólido (Tadros, 2015). Esse comportamento amortecido pode gerar oscilações em tanques de agitação ou misturadores, especialmente na fase transiente, quando se liga o equipamento. Para equipamentos bem dimensionados isso geralmente não é crítico, mas para situações opostas, pode ocasionar turbulências inesperadas e de motores. No entanto, apenas a amostra Lanette[®] + EEF 6% apresentou fluência não amortecida, além dos maiores valores de fluência, os quais são condizentes com a hipótese de fraca estruturação.

Em experimentos transientes conduzidos em maiores escalas de tempo, ≈ 900 s, (Figuras 27 - C e D), praticamente todas as amostras analisadas mostraram comportamento viscoelástico com significativa capacidade de recuperação estrutural após o alívio da tensão aplicada. Apenas a amostra Lanette[®] + EEF 6,0% apresentou deformação permanente, o que é característico de fluidos não estruturados ou de baixa estruturação. Além disso, algumas amostras apresentaram valores negativos de deformação durante a recuperação, indicando recuperação superior a 100%. Esse fenômeno é característico de sistemas que acumulam energia mecânica durante a fase de mistura e, posteriormente, a liberam parcialmente sob forma de movimento reversível,

evidenciando elevado grau de elasticidade e organização interna dos componentes estruturantes do sistema.

Figura 27. A) e B) Experimentos de fluência para curto intervalo de tempo (0 a 1 s) respectivamente para as amostras sem e com β CD. Tensão constante de 5 Pa. C) e D) experimento de fluência em longo intervalo de tempo (de 0 a 900 s).



Legenda: Lanette[®]: Base creme manipulado. EEF: Extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* incorporado na base Lanette[®] nas concentrações de 1,5, 3,0 e 6,0 %. EEF/ β CD: extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* complexado com β CD e incorporado na base Lanette[®] nas concentrações nominais de extrato de 1,5, 3,0 e 6,0 %. Fonte: Autoria própria.

Ainda nas mesmas Figuras 27 (C e D), observa-se também uma clara tendência de redução tanto da fluência quanto da recuperação com o aumento da concentração de extrato ou de complexos, considerando a tensão constante de 5 Pa. Isso significa que as amostras ficam mais rígidas e menos expansíveis à medida que se aumenta a concentração de extrato.

Esses experimentos demonstram que as amostras são capazes de recompor parte da estrutura, após a retirada do estímulo mecânico, o que do ponto de vista de aplicação, é interessante, por favorecer que o material mantenha, pelo menos parte de sua estrutura após a aplicação sobre a superfície da pele, a sua característica de sistema de liberação controlada de fármacos.

11. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram a eficácia da complexação supramolecular entre o extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* (EEF) e a β -ciclodextrina (β CD), evidenciando sua aplicabilidade no desenvolvimento de formulações tópicas com propriedades anti-inflamatórias e biocompatíveis. Além disso, a encapsulação promoveu maior estabilidade térmica e modificações nas propriedades reológicas das formulações, reforçando a rede estrutural da base Lanette[®].

Os ensaios de viabilidade celular destacaram o perfil de segurança das amostras, com a complexação reduzindo a citotoxicidade do EEF em concentrações elevadas, mantendo a viabilidade celular acima de 70% nas linhagens J774A.1, L929 e BALB/c. A atividade anti-inflamatória foi significativamente potencializada pelo EEF/ β CD, com redução na produção de óxido nítrico, corpúsculos lipídicos e mediadores inflamatórios como PGE₂ e TGF- β , sugerindo um mecanismo de ação modulador sobre vias pró-inflamatórias.

A caracterização macroscópica e físico-química das formulações revelou homogeneidade, estabilidade e pH adequado para aplicação tópica, com a β CD mascarando parcialmente os pigmentos do extrato e melhorando a aceitabilidade das formulações. Os estudos reológicos confirmaram a influência do complexo nas propriedades viscoelásticas, com aumento da resistência estrutural e comportamento tipo gel em concentrações moderadas, além de evidenciar o papel da β CD em favorecer a estabilidade das formulações frente a diversos tipos de estímulos mecânicos, favorecendo a estruturação dos cremes e tendendo a um aumento do tempo de prateleira.

Em síntese, este trabalho valida a estratégia de encapsulação com β CD como uma abordagem promissora para otimizar a solubilidade, estabilidade e atividade biológica de extratos vegetais, além de mitigar potenciais efeitos citotóxicos. Os resultados obtidos sustentam o potencial terapêutico do complexo supramolecular para aplicações no tratamento de condições inflamatórias cutâneas, abrindo caminho para investigações pré-clínicas e clínicas futuras. A integração entre caracterização físico-química avançada, avaliação biológica e desenvolvimento farmacotécnico apresentada nesta tese representa uma contribuição relevante para o campo da tecnologia farmacêutica e para o aproveitamento sustentável de recursos naturais.

REFERÊNCIAS

ACCIOLY, M.T.; PACHECO, P.; MAYA-MONTEIRO, C.M.; et al. Lipid Bodies Are Reservoirs of Cyclooxygenase-2 and Sites of Prostaglandin-E2 Synthesis in Colon Cancer Cells. **Cancer Res.**, v. 68, p. 1732-1740, 2008.

BARNES, H.A.; HUTTON, J.F.; WALTERS, K. **An Introduction to Rheology**, 5th ed, ELSEVIER Science Publishers B.V., Amsterdam, 1998.

BASSELIN, M.; ROBERT-GERO, M. Alterations in membrane fluidity, lipid metabolism, mitochondrial activity, and lipophosphoglycan expression in pentamidine-resistant Leishmania. **Parasitology Research**, v. 84, p. 78-83, 1998.

BOISLY, M.; KASTNER, M.; BRUMMUND, J.; ULBRICHT, V. General Aspects of Yield Stress Fluids – Terminology and Definition of Viscosity. Engineering. **Applied Rheology**, v. 24, 2014.

BOGDANSKE, J.J. et al. Laboratory mouse procedural techniques: manual and DVD. **CRC Press**, 2010.

BOSE, D.; BANERJEE, S.; CHATTERJEE, N.; et al. Inhibition of TGF- β induced lipid droplets switches M2 macrophages to M1 phenotype. **Toxicology in Vitro**, v. 58, p. 207-214, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 90, de 16 de março de 2004 (DOU 18.03.04). 2004. **Guia para realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 26, de 13 de maio de 2014. **Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos**.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 15, de 16 de abril de 2010. **Dispõe sobre os requisitos de segurança e eficácia para registro de medicamentos fitoterápicos**.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 07, 10 de fevereiro de 2015 – **Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências**.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2ª edição, revista – Brasília: Anvisa, 2008. 120 p. ISBN 978-85-88233-34-8

CALIENNI, M.N.; MARTÍNEZ, L.M.; IZQUIERDO, M.C.; et al. Rheological and Viscoelastic Analysis of Hybrid Formulations for Topical Application. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 10, p. 2392, 2023.

COSTA-SILVA, J.H.; LIMA, C.R.; SILVA, E.J.R.; et al. Acute and subacute toxicity of the *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae) seed oil. **Journal Ethnopharmacology**, v. 116, p. 495-500, 2008.

CHIARENTIN, L.; CARDOSO, C.; MIRANDA, M.; et al. Rheology of Complex Topical Formulations: An Analytical Quality by Design Approach to Method Optimization and Validation. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 7, p. 1810, 2023.

CHRISTAKI, S.; SPANIDI, E.; PANAGIOTIDOU, E.; et al. Cyclodextrins for the Delivery of Bioactive Compounds from Natural Sources: Medicinal, Food and Cosmetics Applications. **Pharmaceutics (Basel)**, v. 16, n. 9, p. 1274, 2023.

DE OLIVEIRA, V.E.; NEVES MIRANDA, M.A.C.; SOARES, M.C.S.; et al. Study of Carotenoids in Cyanobacteria by Raman Spectroscopy. **Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.**, v. 150, p. 373-380, 2015.

EWOLDT, R.H.; WINTER, P.; MAXEY, J.; MCKINLEY, G.H. Large amplitude oscillatory shear of pseudoplastic and elastoviscoplastic materials. **Rheologica Acta**, v. 49, n. 2, p. 191-212, 2009.

FANG, L.; CHANG, H.-M.; CHENG, J.-C.; LEUNG, P.C.K.; SUN, Y.-P. Nitric Oxide and cGMP Induce COX-2 Expression and PGE₂ Production in Human Granulosa Cells Through CREB Signaling Pathway. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 100, 2015.

FERREIRA, L.; et al. Cyclodextrin-based dermatological formulations: Dermopharmaceutical and cosmetic applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 221, p. 113012, 2023.

GARCIA-GONZALEZ, N.; et al. Immunomodulation of J774A.1 Murine Macrophages by Lactiplantibacillus plantarum Strains Isolated From the Human Gastrointestinal Tract and Fermented Foods. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2021.

GOUDOULAS, T.B.; GERMANN, N. Viscoelastic properties of polyacrylamide solutions from creep ringing data. **Journal of Rheology**, v. 60, p. 491-502, 2016.

GUEVARA, I.; IWANEJKO, J.; DEMBINSKA-KIEC, A.; et al. Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. **Clinica Chimica Acta**, v. 274, n. 2, p. 177-188, 1998.

GUO, Q.; AI, L.; CUI, S. W. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) for Carbohydrate Analysis. Chapter 9. **Methodology for Structural Analysis of Polysaccharides, Biobased Polymers**, p. 69-71, 2018.

ISO 10993-5. Biological Evaluation of Medical Devices. Part 5: Tests for In Vitro Cytotoxicity. **International Organization for Standardization**: Geneva, Switzerland, 2009.

JEPPESEN, A.S.; SOELBERG, J.; JÄGER, A.K. Antibacterial and COX-1 Inhibitory Effect of Medicinal Plants from the Pamir Mountains, Afghanistan. **Plants (Basel)**, v. 1, n. 2, p. 74-81, 2012.

JIANG, L. et al. Antagonistic effects of activin A and TNF- α on the activation of L929 fibroblast cells via Smad3-independent signaling. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 20623, 2020.

KONG, P.; ZULFIKAR, A.; THANGUNPAI, K.; MASUO, S.; ABE, J.P.; Enomae, T. Efficient Encapsulation of Hinoki Essential Oil with β -Cyclodextrin Using an Ultrasound-Aided Co-Precipitation Technique for Dual Anti-*Listeria Monocytogenes* and Anti-*Staphylococcus Aureus* Activities. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 270, p. 132382, 2024.

KORA, A.J.; SASHIDHAR, R.B.; ARUNACHALAM, J. Aqueous extract of gum olibanum (*Boswellia serrata*): A reductant and stabilizer for the biosynthesis of antibacterial silver nanoparticles. *Process Biochemistry*, v. 47, p. 1516-1520, 2012.

LANNA, E.G.; BITTENCOURT, V.C.E.; MOREIRA, A.S.; DA SILVA, J.G.; SOUSA, O.V.; DENADAI, A.M.L. Physicochemical characterization and biological activities of the ethanol extract of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken incorporated in β -cyclodextrin. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 85, n. 247, 2016.

LARROSA M. et al. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. Science Direct, Spain. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 31, n. 6, p. 513-539, 2010.

LI, M.O.; FLAVELL, R.A. TGF- β : A Master of All T Cell Trades. **Cell**, v. 134, n. 3, p. 392-404, 2008.

MOKHTAR, M.; ADNAN, R. Preparation method and characterization of inclusion complex of theophylline/ β . **ESTEEM. Acad. J.**, v. 8, n. 2, p. 50-63, 2012.

MELO, R.C.N.; D'AVILA, H.; WAN, H.-C.; et al. Lipid Bodies in Inflammatory Cells. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 59, p. 540-556, 2011.

MONCADA, S.; RADONISKI, M.W.; PALMER, R.M.J. Endothelial - derived relaxing factor. Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. **Biochemical Pharmacology**, v. 37, p. 2495-2501, 1988.

MONTEIRO, M. S. DE S. B. et al. Avaliação de bases galênicas desenvolvidas em uma farmácia universitária magistral. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 34, n. 4, p. 336-346, 2022.

NETALA, V.R.; BUKKE, S.; DOMDI, L.; SONEYA, S.; GREDDY, S., BETHU, M.S.; KOTAKDI V.S.; SARITHA K.V.; TARTTE, V. Biogenesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Indigofera hirsuta* L. and their potential biomedical applications (3- in-1 system). **Artif Cells Nanomed Biotechnol**, v. 6, p. 1-11, 2016.

NGUYEN, A. VAN; DEINEKA, V. I.; VU, A. T. N.; LE, T. D.; TRUNG, H. T.; NGUYEN, T. A. Inclusion Complexes of Squalene with Beta-Cyclodextrin and Methyl-Beta-Cyclodextrin: Preparation and Characterization. **Turkish J. Chem.**, v. 47, n. 1, p. 294-306, 2023.

OGUNTIBEJU, O.O. Medicinal plants with anti-inflammatory activities from selected countries and regions of Africa. **J. Inflamm Res.**, v. 11, p. 307-317, 2018.

PACHECO, P.; BOZZA, F.A.; GOMES, R.N.; et al. Lipopolysaccharide-Induced Leukocyte Lipid Body Formation *In Vivo*: Innate Immunity Elicited Intracellular Loci Involved in Eicosanoid Metabolism. **J. Immunol.**, v. 169, p. 6498-6506, 2002.

PAULA, P.L.; LEMOS, A.S.O.; CAMPOS, L.M.; et al. Pharmacological investigation of antioxidant and anti-inflammatory activities of leaves and branches extracts from *Plinia cauliflora* (Jaboticaba), **J. Ethnopharmacol.**, v. 280, p. 114463, 2021.

PAULA, P.L.; LEMOS, A.S.O.; QUEIROZ, L.S.Q.; et al. Supramolecular complexes between *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel extracts and β -cyclodextrin: Physicochemical characterization and antioxidant and anti-inflammatory properties. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 84, p. 104533, 2023.

PAULA, P.L.; et al. Jaboticaba (*Plinia cauliflora*): uma revisão de literatura sobre sua composição química e atividades biológicas. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 27, n. 1 Supl, p. 162-179, 2024.

RISS, T.L.; RICHARD, A.M.; ANDREW, L.N.; SARAH, D.; HÉLÈNE, A.B.; TRACY, J.W.; LISA, M. Cell Viability Assays. **Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences**, 2013.

SAMPAIO, D.A. **Caracterização anatômica e físicoquímica do tegumento da semente de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze.** 42 f. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências) Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ.

SCHULZ, H.; BARANSKA, M.; BARANSKI, R. Potential of NIR-FT-Raman Spectroscopy in Natural Carotenoid Analysis. **Biopolymers**, v. 77, n. 4, p. 212-221, 2005.

SCHULZ, H.; BARANSKA, M. Identification and Quantification of Valuable Plant Substances by IR and Raman Spectroscopy. **Vib. Spectrosc.**, v. 43, n. 1, p. 13-25, 2007.

SILVA, M.G.; FURTADO, M.M.; OSÓRIO, A.T.; et al. The importance of toxicity tests for development and phytotherapy registration. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e538101220137, 2021.

SMITH, W.L.; GARAVITO, R.M.; DEWITT, D.L. Prostaglandin Endoperoxide H Synthases (Cyclooxygenases)-1 and -2. **J. Biol. Chem.**, v. 271, p. 33157-33160, 1996.

SORVARI, A. Annual Transactions of the Nordic Rheology Society, v. 21. **Nordic Rheology Society**, 2013.

STADLER, F.J., MAHMOUDI, T. Understanding the effect of short-chain branches by analyzing viscosity functions of linear and short-chain branched polyethylenes. **Korea-Australia Rheology Journal**, v. 23, p. 185-193, 2011.

SUN, J.; ZHANG, X.; BRODERICK, M.; FEIN, H. Measurement of Nitric Oxide Production in Biological Systems by Using Griess Reaction Assay, **Sensors**, v. 3, p. 276-284, 2003.

TADROS, T. Viscoelastic properties of sterically stabilised emulsions and their stability. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 222, p. 692-708, 2015.

TSIKAS, D. Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research. **Journal of Chromatography B.**, v. 851, n. 1-2, p. 51-70, 2007.

VALLE, A.L. Current methodologies in assessing toxicity of natural products. **Int. J. Phytocosmetics Nat. Ingredients.**, v. 5, 2018.

WEI, D.; CHEN, S.; LIU, Q. Review of Fluorescence Suppression Techniques in Raman Spectroscopy. **Appl. Spectrosc. Rev.**, v. 50, n. 5, p. 387-406, 2015.

WU, K. et al. Encapsulation Efficiency and Functional Stability of Cinnamon Essential Oil in Modified β -cyclodextrins: *In Vitro* and *In Silico* Evidence. **Foods**, v. 12, n. 1, p. 45, 2022.

YOSHIMURA, A.; WAKABAYASHI, Y.; MORI, T. Cellular and molecular basis for the regulation of inflammation by TGF- β . **Journal of Biochemistry**, v. 147, n. 6, p. 781-792, 2010.

ZIMMERMANN, J. A. et al. Functional multi-organelle units control inflammatory lipid metabolism of macrophages. **Nature Cell Biology**, v. 26, n. 8, p. 1261-1273, 2024.

ZHANG, L. et al. Lipid droplets in central nervous system and functional profiles of brain cells containing lipid droplets in various diseases. **Journal of neuroinflammation**, v. 22, n. 1, p. 7, 2025.

ZHAO, R.; SANDSTRÖM, C.; ZHANG, H.; TAN, T. NMR Study on the Inclusion Complexes of β -Cyclodextrin with Isoflavones. **Molecules**, v. 21, n. 4, p. 372, 2016.

12. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Este trabalho apresentou uma abordagem multidimensional, iniciada ainda no mestrado em Ciências Farmacêuticas, voltada ao desenvolvimento e à avaliação de complexos supramoleculares entre os extratos etanólico das folhas e ramos de *Plinia cauliflora* (EEF e EER) e a β -ciclodextrina (β CD), com aplicações farmacêuticas orais e tópicas. A formação dos complexos foi confirmada por meio de técnicas espectroscópicas (RMN e Raman), que evidenciaram interações de inclusão molecular eficazes, promovendo melhorias significativas na estabilidade, bioacessibilidade intestinal e nas propriedades reológicas das formulações desenvolvidas.

No modelo oral, o complexo EER/ β CD mostrou significativa atividade vasodilatadora dependente do endotélio, sugerindo modulação da via NO/sGC/cGMP por fenólicos presentes no extrato, tais como taninos e derivados dos ácidos elágico e gálico. Além disso, os estudos toxicológicos indicaram um perfil de segurança satisfatório, com destaque para o complexo contendo a β CD, a qual contribuiu para a atenuação de alterações bioquímicas isoladas, reforçando seu papel como excipiente funcional.

No modelo tópico, a complexação do EEF resultou em formulações estáveis, biocompatíveis e com atividade anti-inflamatória potencializada. A redução de mediadores inflamatórios e a baixa citotoxicidade *in vitro* sustentam o potencial terapêutico do EEF/ β CD para o tratamento de condições inflamatórias cutâneas. A β CD também contribuiu para a melhora estética e funcional das formulações, promovendo homogeneidade, estabilidade de pH e propriedades viscoelásticas favoráveis.

As análises de caracterização físico-química, avaliação farmacológica e desenvolvimento farmacotécnico conferem robustez ao projeto e demonstram a viabilidade do uso de complexos com β CD como sistema promissor para a valorização de extratos vegetais com potencial terapêutico.

Os achados desta tese fundamentam a continuidade do projeto em múltiplas frentes de pesquisa:

- Para as formulações orais, estão previstas investigações complementares em modelos pré-clínicos com uso de inibidores específicos, como o L-NAME, para elucidar os mecanismos moleculares da atividade vasodilatadora, além de estudos farmacotécnico, farmacocinético e de biodisponibilidade do extrato complexo com incorporação do IFA em uma forma farmacêutica para a via oral.

- Para as formulações tópicas, será conduzida a avaliação da permeação e liberação cutânea, etapa crucial para a validação do desempenho terapêutico e potencial de liberação controlada dos ativos; assim como ensaios biológicos que confirmam o seu potencial anti-inflamatório.
- No âmbito translacional, os resultados obtidos permitem vislumbrar o avanço para ensaios clínicos iniciais, visando à validação da segurança e eficácia dos complexos em humanos, bem como sua possível incorporação em fitoterápicos registrados.
- Do ponto de vista tecnológico, o sistema de complexação dos extratos com β CD será melhor compreendido através das análises de diagrama de solubilidade; avaliação da eficiência de encapsulação; bem como por cálculos teóricos da interação dos ligantes entre as substâncias majoritárias dos extratos e a β CD através de simulações DFT (Teoria Funcional da Densidade) *in silico* (modelagem molecular).

Ressalta-se que este estudo representa não apenas a consolidação de uma linha de pesquisa iniciada no mestrado, mas também um ponto de partida promissor para sua continuidade em nível de pós-doutorado. Os resultados aqui apresentados contribuem significativamente para o avanço do conhecimento sobre sistemas de liberação baseados em complexos supramoleculares com β CD, e inauguram uma linha de pesquisa aplicada com elevado potencial de impacto social, terapêutico e econômico, especialmente no desenvolvimento de fitoterápicos inovadores, seguros e eficazes, a partir de recursos naturais brasileiros.

APÊNDICE

Parcerias Internacionais

O projeto de pesquisa aplicado ao Doutorado Sanduíche teve como objetivo aprofundar os estudos sobre os extratos das folhas e ramos de jabuticaba e seus complexos supramoleculares com ciclodextrina. Em parceria com o Prof. Dr. Francisco Antonio Macías Domínguez do Grupo de Alelopatia, Departamento de Química Orgânica, Instituto de Biomoléculas (INBIO), Faculdade de Ciências, da Universidade de Cádiz, Espanha, os estudos avançaram no desenvolvimento tecnológico já patentado, ampliando o conhecimento sobre os metabólitos secundários presentes nos extratos etanólico da jabuticaba, bem como as interações intermoleculares dos complexos supramoleculares. O objetivo foi impulsionar a inovação tecnológica de produtos farmacêuticos inéditos, utilizando partes subutilizadas da planta, pertencentes à biodiversidade brasileira, e promover análises que assegurem a qualidade, eficácia e segurança das formulações farmacêuticas, garantindo sua viabilidade terapêutica e conformidade com os órgãos de vigilância sanitária.

A doutoranda Ms. Priscila de Lima Paula desenvolveu parte de sua pesquisa no Laboratório de Alelopatia sob supervisão do Prof. Dr. Francisco Macías e da Prof^a Dra. Alexandra Durán, de 05 de junho de 2024 a 28 de novembro de 2024. As atividades desenvolvidas conforme o estabelecido foram:

- Isolamento dos principais componentes do extrato etanólico das folhas de *Plinia cauliflora* por meio de diferentes técnicas cromatográficas (cromatografia em coluna, cartuchos Sep Pack C-18, HPLC) utilizando distintas fases estacionárias e solventes;
- Identificação das substâncias presentes nos extratos etanólico das folhas e ramos de *P. cauliflora* por UPLC-QTOF-ESI, realizado no “*Servicio Central de Ciencia y Tecnología*” (SC-ICYT) da Universidade de Cádiz;
- Caracterização das substâncias isoladas por espectroscopia de RMN;
- Avaliação do bioensaio do coleóptilo etiolado de trigo com os extratos etanólico das folhas (EEF) e ramos (EER) de *P. cauliflora*;
- Estudo da formação do complexo supramolecular entre o EEF e β -ciclodextrina (EEF/ β CD) por análise dos deslocamentos de RMN de ^1H da β CD e do complexo supramolecular;

- Avaliação da eficiência de encapsulação de metabólitos majoritários do EEF, quercetina e ácido elágico, por HPLC-DAD;
- Cálculos teóricos da interação dos ligantes entre as substâncias majoritárias EEF, quercetina e ácido elágico, e a β CD através de simulações DFT (Teoria Funcional da Densidade) *in silico* (modelagem molecular) foram realizadas para confirmar a estequiometria do complexo supramolecular;
- Diagrama de solubilidade dos complexos supramoleculares através de suspensões aquosas sob agitação constante em sistema Synthesis 1[®] e, posteriormente, analisados em HPLC.

Todas as análises foram realizadas em tempo real com a participação ativa da aluna, e os dados obtidos ainda se encontram em desenvolvimento junto com a colaboração dos professores responsáveis.

Outra parceria foi estabelecida com o Prof. Dr. Francisco Javier Otero Espinar, do Departamento de Farmacologia, Farmácia e Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia da Universidade de Santiago de Compostela, Espanha. A partir dos cremes formulados com o EEF e EEF/ β CD, foi possível realizar uma análise preliminar da permeação cutânea. No entanto, devido à quantidade limitada de amostra transportada, não foi viável conduzir novos ensaios para a confirmação dos resultados e a continuidade das análises de controle de qualidade, tornando-se, assim, uma perspectiva para estudos futuros.

Como fruto deste trabalho e das colaborações internacionais estabelecidas, dois artigos científicos já se encontram em processo de submissão, e um terceiro está em fase de desenvolvimento:

1. Supramolecular Complex of *Plinia cauliflora* Leaf Extract with Cyclodextrin: A Promising Anti-Inflammatory Phytotherapeutic
2. Oral Vasodilatory Potential of Supramolecular Complex from Jabuticaba Branch Extract with Cyclodextrin
3. Isolation and Identification of Myricitrin from *Plinia cauliflora* Leaves



Jaboticaba (*Plinia cauliflora*): Uma Revisão de Literatura Sobre Sua Composição Química e Atividades Biológicas

Priscila de Lima Paula*; Núbia Benini Andrade*; Lucas de Araújo Carvalho*; Gustavo Lucas da Silva Lima*; Rodrigo Luiz Fabri*

*Laboratório de Produtos Naturais bioativos, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil

*Autor para correspondência e-mail: rodrigo.fabri@ufjf.br

Palavras-chave

Plinia cauliflora
Propriedades farmacológicas
Metabólitos secundários

Keywords

Plinia Cauliflora
Pharmacological Properties
Secondary Metabolites

Resumo: O Brasil possui uma rica biodiversidade vegetal e, neste contexto, a *Plinia cauliflora* (jaboticaba) se destaca como uma espécie nativa com grande potencial farmacológico. A planta é encontrada em várias regiões do país e tem sido estudada por suas diversas atividades biológicas, como antioxidante, anti-inflamatória, vasodilatadora, antitumoral, antiparasitária, leishmanicida, antidiarreica, antiobesidade e fotoprotetora. Estas atividades estão associadas à presença de compostos fenólicos, como antocianinas, flavonoides, procianidinas, ácidos fenólicos e taninos, e estão presentes nas diferentes partes da planta. O uso popular da *P. cauliflora* inclui o tratamento de diversas doenças, como disenteria, diarreia, inflamações, gripe, bronquite e labirintite. Além disso, os frutos da jaboticaba são consumidos *in natura* e demonstram benefícios à saúde, incluindo efeitos antioxidantes e a redução dos níveis séricos de glicose e insulina em indivíduos saudáveis. No entanto, apesar do uso tradicional, a pesquisa científica sobre as propriedades farmacológicas das folhas e ramos da *P. cauliflora* é limitada, o que apresenta uma oportunidade de estudos adicionais e exploração de seu potencial medicinal. Esta revisão descreveu as principais propriedades químicas e biológicas encontradas na literatura sobre *P. cauliflora*, com foco nas partes vegetais, bem como folhas, ramos e frutos. A metodologia empregada nessa revisão foi a busca de informações nos bancos de dados: Google Acadêmico, Scielo, Science Direct, Scopus, Periódico CAPES e PubMed; usando palavras-chave em inglês e português, como "*Plinia cauliflora*", "Jaboticaba", "Jaboticabeira", "*Myrciaria cauliflora*" e sinônimos. Os artigos científicos priorizados para a coleta de dados foram àqueles publicados na última década, entre os anos de 2011 a 2023. A revisão destacou a importância de promover um melhor aproveitamento químico-farmacológico de todas as partes da *P. cauliflora*, incentivando pesquisas futuras sobre a descoberta de novos compostos e a relação destes fitoconstituintes com as atividades biológicas presentes na espécie.

Jaboticaba (*Plinia cauliflora*): A Literature Review About Its Chemical Composition and Biological Activities

Abstract: Brazil has a rich biodiversity and, in this context, *Plinia cauliflora* (jaboticaba) stands out as a native species with significant pharmacological potential. The plant is found in various regions of the country and has been studied for its diverse biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, vasodilator, antitumoral, antiparasitic, leishmanicidal, antidiarrheal, antiobesity and photoprotective properties. These activities are associated with the presence of phenolic compounds, such as anthocyanins, flavonoids, procyanidins, phenolic acids and tannins, present in the different parts of the plant. The popular use of *P. cauliflora* includes the treatment of various conditions, such as dysentery, diarrhea, inflammation, flu, bronchitis and labyrinthitis. In addition, jaboticaba fruits are consumed fresh and have demonstrated health benefits, including antioxidant effects and the reduction of serum glucose and insulin levels in healthy individuals. However, despite its traditional use, scientific research on the pharmacological properties of the leaves and branches of *P. cauliflora* are limited, which presents an opportunity for further study and exploration of its medicinal potential. This review article aims to describe the main pharmacological properties found in the literature about *P. cauliflora*, focusing on the plant parts: leaves, branches and fruits. The methodology used in the literature review included the following databases: Google Scholar, Scielo, Science Direct, Scopus, Periódico CAPES and PubMed; using keywords in both English and Portuguese language, such as "*Plinia cauliflora*", "Jaboticaba", "Jaboticabeira", "*Myrciaria cauliflora*", and synonyms. The prioritized scientific articles for data collection were those published in the last decade, between 2011 and 2023. The review underscores the importance of promoting better pharmacological utilization of all parts of *P. cauliflora*, encouraging future research on the chemical composition and biological activities of the plant.

Recebido em: 10/11/2023

Aprovação final em: 01/01/2024



Introdução

O Brasil é o país com a maior biodiversidade do mundo (BRASIL, 2021). Sua extensão territorial abriga diferentes ecossistemas compreendidos nas cinco regiões geográficas do país. A abundância de biomas possibilita uma flora variada, com espécies vegetais características de cada região. Por conseguinte, o país assume um papel importante na conservação e no uso sustentável da sua biodiversidade. No cenário da saúde, diversas espécies vegetais possuem um grande potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos, uma vez que produtos naturais são largamente utilizados como fontes de agentes terapêuticos contra enfermidades cotidianas, seja por meio da medicina tradicional como no uso popular (BRITO *et al.*, 2021).

Dentre as espécies nativas, encontra-se a *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, nomeada popularmente como jabuticaba ou jabuticabeira. A árvore frutífera do bioma da Mata Atlântica pertencente à família Myrtaceae, que compreende o total de 109 gêneros vegetais e tem no mínimo 4 espécies sinônimas, tais como *Eugenia cauliflora* (Mart.) DC.; *Myrcia jaboticaba* (Vell.) Baill.; *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O.Berg; *Myrtus jaboticaba* Vell. (TPL, 2022), entre outros. Seus frutos tem tonalidade roxo escuro, formato arredondado, sabor agradável e crescem diretamente ao redor do tronco, o que conferiu à jabuticabeira a nomeação coloquial de "Árvore de uvas brasileiras" (WANG *et al.*, 2014).

Conforme relatos da literatura, *P. cauliflora* apresenta inúmeras atividades biológicas. Dentre elas, destacam-se as propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral (BRITO *et al.*, 2021; DUARTE *et al.*, 2021; PAULA *et al.*, 2021 e 2023), antiparasitária (ARAÚJO *et al.*, 2014), leishmanicida, antidiarreica (BRITO, 2019), antiobesidade (MOURA *et al.*, 2021) e fotoprotetora (CEFALI *et al.*, 2021). A grande diversidade de atividades biológicas da *P. cauliflora* está associada, em geral, à presença de compostos fenólicos na planta (SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2013). As antocianinas, presentes nas cascas dos frutos, são representantes fenólicos que atuam como fortes agentes antioxidantes e anti-inflamatórios (GALVÃO *et al.*, 2021). Além disso, descreve-se que a jabuticabeira é rica em flavonoides, procianidinas, ácidos fenólicos e taninos, os quais demonstraram ações antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antialérgica e antitumoral (REYNERTSON *et al.*, 2008; PAULA *et al.*, 2021).

Devido ao amplo perfil fitoquímico da espécie, muitas partes da árvore são utilizadas para fins farmacêuticos e medicinais (SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2014). O uso popular dos ramos e das folhas para o tratamento de disenteria e diarreia é largamente empregado na região Nordeste do Brasil (AGRA *et al.*, 2008). Preparados nas formas de xarope, decocções e infusões, as folhas e ramos são usados no tratamento de inflamações, gripe, bronquite e labirintite (CRUZ; KAPLAN, 2004; AGRA *et al.*, 2008; PAIVA *et al.*, 2017). Além disso, os frutos na sua forma *in natura* promovem benefícios para a saúde relacionados ao forte efeito antioxidante e anti-inflamatória das cascas da jabuticaba e à promoção da diminuição dos níveis séricos de glicose e insulina em indivíduos saudáveis (PLAZA *et al.*, 2016). No entanto, apesar da utilização popular de partes da planta, poucos estudos científicos foram realizados acerca do potencial biológico das folhas e ramos de *P. cauliflora*.

Nesse contexto, o presente artigo trata-se de uma revisão de literatura das partes da planta de uso popular (frutos, folhas e ramos), tendo como objetivo promover a discussão sobre as propriedades farmacológicas da *P. cauliflora* e seu potencial como planta medicinal. O estudo foi desenvolvido por meio da análise da literatura científica existente acerca da planta e da seleção crítica dos dados encontrados sobre a espécie, dando enfoque nas referências mais atuais. Os objetos de estudo apresentados são os aspectos botânicos, uso popular, composição química, atividades biológicas e possíveis utilizações farmacológicas da jabuticaba.

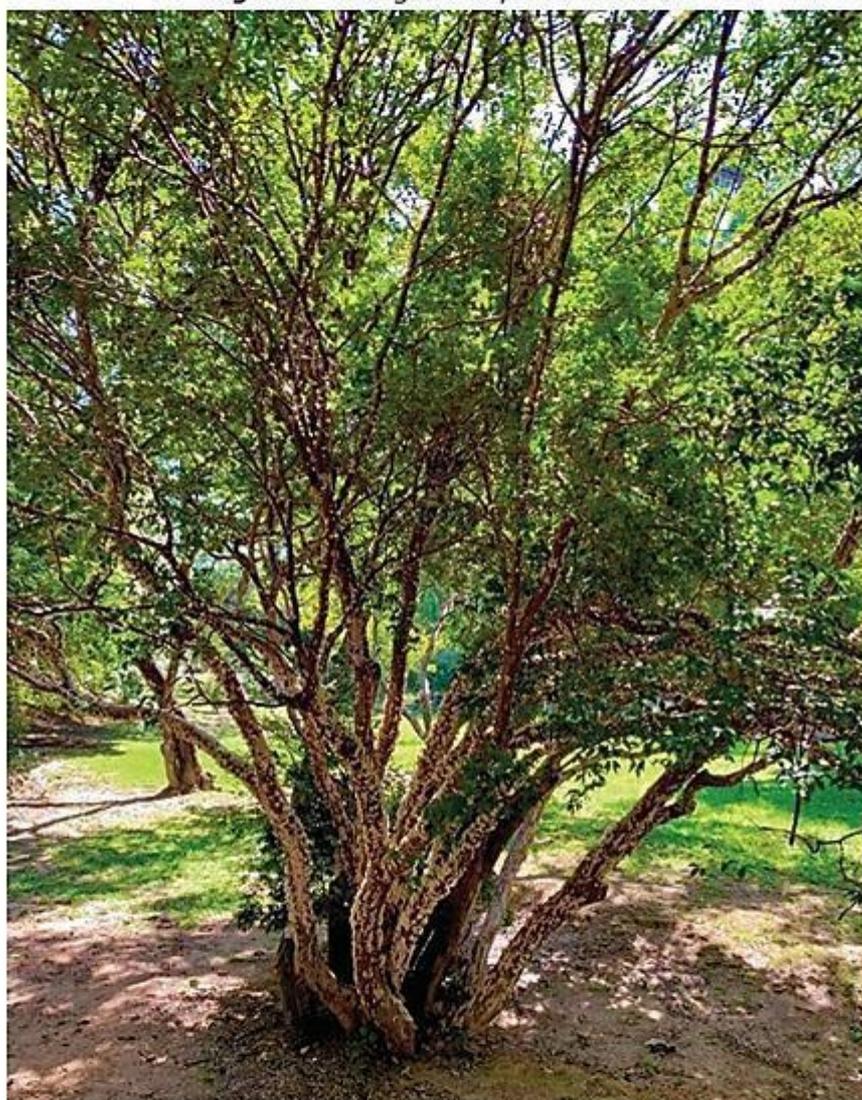
Aspectos botânicos

Plinia cauliflora (DC.) Kausel (Figura 1) é popularmente conhecida como jabuticaba, jabuticabeira, jabuticaba-ponhema, jabuticaba-açu, jabuticaba-paulista e jabuticaba Sabará, cujos sinônimos são: *Eugenia cauliflora* (Mart.) DC.; *Eugenia jaboticaba* (Vell.) Kiaersk.; *Myrcia jaboticaba* (Vell.) Baill.; *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O.Berg; *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O.Berg; *Myrtus cauliflora* Mart.;



Myrtus jaboticaba Vell.; e *Plinia jaboticaba* (Vell.) Kausel (TPL, 2022). A espécie pertencente à família Myrtaceae, amplamente distribuída no Brasil, sendo nativa na Mata Atlântica com disseminação no Paraguai e Argentina (MAZZARINO *et al.*, 2017; MOURA *et al.*, 2018; GASPAROTTO *et al.*, 2019; PAULA *et al.*, 2021).

Figura 1 – Imagem da jaboticabeira.



Fonte: Acervo dos autores, 2022.

Sua árvore tem cerca de 10-15 metros de altura, com folhas únicas de até 7 cm de comprimento. As flores e frutos crescem em cachos ao longo do tronco e galhos. O fruto da jaboticaba é uma baga do tipo globular de até 3,5 cm de diâmetro, com casca lisa, firme e brilhante, com mudança de verde para roxo escuro ou preto durante o amadurecimento e recobre uma polpa branca, translúcida, gelatinosa, com sabor doce e ligeiramente ácido, que adere firmemente a umas quatro sementes. No Brasil, a colheita ocorre geralmente de agosto a novembro, durante a primavera, sendo que os frutos, apresentam vida útil curta, de três dias após a colheita (GASPAROTTO *et al.*, 2019; INADA *et al.*, 2021).

A jaboticaba apresenta grande potencial de mercado, desde o fruto seco e produtos artesanais, como sucos, geleias, vinagres, licores e vinhos. A espécie também é utilizada na indústria farmacêutica, por suas características nutracêuticas, devido à presença de compostos funcionais,



como óleos essenciais nas folhas e alto teor de antocianinas nas cascas dos frutos. Além disso, já foi descrita na espécie a presença de flavonoides, taninos, terpenos, álcoois e ácidos orgânicos, que, de forma geral, também contribuem para o seu uso na indústria (GASPAROTTO *et al.*, 2019; INADA *et al.*, 2021; PAULA *et al.*, 2021).

Alguns estudos relatam que *P. cauliflora* é uma boa fonte nutricional de ácido ascórbico (vitamina C), rica em minerais com ferro, manganês, cobre e potássio e também contém níveis significativos de aminoácidos, como triptofano e lisina (WU; LONG; KENELLY, 2013; INADA *et al.*, 2021).

Uso popular

No Brasil, *P. cauliflora* pode ser encontrada nas regiões nordeste, sudeste, centro-oeste e sul, o que proporciona um amplo uso popular da planta em diferentes estados do país (GASPAROTTO *et al.*, 2019). Diversos estudos científicos demonstram que a jaboticabeira é muito utilizada tanto na alimentação como para fins medicinais, principalmente no tratamento de diarreia e desenterias intestinais (GASPAROTTO, *et al.*, 2019; PAULA *et al.*, 2021) pela população brasileira de áreas urbanas e rurais (DO NASCIMENTO *et al.*, 2013; BORTOLOTTI *et al.*, 2015; LEAL *et al.*, 2018; GASPAROTTO *et al.*, 2019). Os benefícios da utilização tradicional de *P. cauliflora* estão associados aos compostos fenólicos, que contribuem para a capacidade antioxidante da planta (PLAZA *et al.*, 2016).

O uso popular de *P. cauliflora* mais difundido no Brasil é para o tratamento de diarreia, no qual frutos, ramos e folhas da planta são empregados (GASPAROTTO *et al.*, 2019). Entretanto, algumas aplicações específicas da planta variam conforme as estruturas vegetais. Os frutos são popularmente utilizados para o tratamento de enfermidades como hemoptises, problemas respiratórios, como a asma e tosse, e, na forma de gargarejo, contra inflamações crônicas das tonsilas (WANG *et al.*, 2014; GASPAROTTO *et al.*, 2019). As folhas e ramos são partes vegetais normalmente descartadas para o consumo alimentício e utilizadas principalmente em caráter medicinal. Por meio de infusões ou decocções, tais estruturas são popularmente empregadas na terapia de irritações na pele, diarreia, disenteria, bronquite, asma (SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2013; GASPAROTTO *et al.*, 2019).

Em alguns estados do Brasil, as folhas e ramos de *P. cauliflora* são usados para o tratamento de enfermidades distintas. As comunidades ribeirinhas da Bahia utilizam a infusão de folhas e ramos no tratamento de hemorragias pélvicas, corrimento vaginal, feridas uterinas, e o xarope à base de folhas é usado para o tratamento de doenças respiratórias, como asma e bronquite (SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2013; PAIVA *et al.*, 2017; GASPAROTTO *et al.*, 2019). Já a população rural do estado do Mato Grosso emprega os ramos e folhas no tratamento de casos de labirintite (GASPAROTTO *et al.*, 2019).

Metodologia

A revisão de literatura acerca de *Plinia cauliflora* foi realizada com base nos seguintes bancos de dados: Google Acadêmico, Scielo, Science Direct, Scopus, Periódico CAPES e PubMed; usando palavras-chave em inglês e português, como "*Plinia cauliflora*", "Jaboticaba", "Jaboticabeira", "*Myrciaria cauliflora*" e sinônimos. Os artigos científicos priorizados para a coleta de dados foram aqueles publicados na última década, entre os anos de 2011 a 2023. As informações encontradas foram selecionadas com base na relevância dos artigos e nas partes da planta reportadas nas pesquisas, com ênfase para as folhas, ramos e frutos. Dados complementares apresentados sobre a espécie vegetal foram coletados em dissertações e teses.

Resultados e discussão

Artigos encontrados

Foram recuperados 1831 artigos, onde 63 artigos abordaram as atividades biológicas de jaboticaba: antioxidante, fotoprotetora, anti-inflamatória, cicatrizante, antitumoral, antidiarreica, antidiabética, antiobesidade e antimicrobiana. Dentre estes, 16 demonstraram a composição fitoquímica de *P. cauliflora* e/ou de seus sinônimos, tais como a presença de: ácidos fenólicos, taninos, flavonoides, antocianinas e terpenos. Cerca de 12 artigos/trabalhos citaram o uso de extratos das folhas, 6



citaram extratos de ramos e 20 relataram estudos com extratos dos frutos inteiros ou partes dele.

Composição fitoquímica

Ácidos fenólicos

Segundo Galvão *et al.* (2021), o perfil de compostos fenólicos das folhas de *P. cauliflora* foi traçado por meio de Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (UPLC-QTOF-MS) e foram identificados os ácidos fenólicos digálico e m-cumárico no extrato hidrometanólico das folhas de jabuticaba. O ácido digálico é apontado como um ácido fenólico não mutagênico, carcinogênico e hepatotóxico (GALVÃO *et al.*, 2021). Porém, conforme as regras de Lipinski, houve alertas de instabilidade e toxicidade em sua estrutura. O ácido m-cumárico apresentou mutagênese considerável quando isolado (RESENDE *et al.*, 2012) e esse efeito pode ser inibido pelo acompanhamento de compostos químicos com efeito quimioprotetor (GALVÃO *et al.*, 2021). Consoante a Paula *et al.* (2021), por meio da análise por Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (HPLC-QTOF-MS), foram identificados, nos extratos etanólico das folhas e ramos de jabuticaba, os ácidos quínico, elágico, gálico e seus derivados.

Em relação à quantificação dos constituintes fenólicos realizado no estudo de Pinc *et al.* (2023), observou-se que o extrato etanólico das cascas dos frutos de *P. cauliflora* apresentou um teor de fenólicos totais (CPT) e flavonóides totais (CFT) de $115,59 \pm 1,79 \mu\text{g GAE}$ (expressos em ácido gálico) e $6,95 \pm 0,04 \mu\text{g QE}$ (expressos em quercetina), respectivamente.

Antocianinas

A pesquisa realizada por Plaza *et al.* em 2016 identificou no extrato aquoso das cascas de frutos da jabuticaba, por meio do método de Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD-ECD) acoplado à Espectroscopia no ultravioleta visível (UV-VIS), as antocianinas cianidina-3-glucosídeo (curomanina) e delphinidina-3-glucosídeo (mirtilina). O estudo relacionou as antocianinas encontradas ao efeito antioxidante desempenhado pelas cascas de jabuticaba (PLAZA *et al.*, 2016).

Entre as antocianinas identificadas no extrato hidroalcóolico das cascas dos frutos, por meio da técnica de HPLC-DAD-MS, pelos autores Romão *et al.* (2019) e Palozi *et al.* (2019) estão a O-hexosil-cianidina e O-hexosil-delfinidina. A cianidina-3-O-glucosídeo foi encontrada por Leite-Legatti *et al.* (2012) no mesmo extrato hidroalcóolico por HPLC-MS. Além disso, no extrato metanólico do fruto de *P. cauliflora* explorado por Reynertson *et al.* (2006) e Gasparotto *et al.* (2019) foram encontradas as substâncias cianidina-3-O-glucosídeo e delphinidina-3-O-glucosídeo, por LC-MS (REYNERTSON *et al.*, 2006, GASPAROTTO *et al.*, 2019).

Flavonoides

Os flavonoides possuem alto potencial para atividades anti-inflamatória e antioxidante (PAULA *et al.*, 2021) e tais compostos podem ser encontrados em diferentes partes de *P. cauliflora*, como demonstrado por Paula *et al.* (2021) e Galvão *et al.* (2021), que identificaram essa classe de metabólitos em alta concentração nas folhas dessa espécie.

Galvão *et al.* (2021) identificaram 11 compostos flavonoídico no extrato hidrometanólico das folhas de jabuticaba, divididos em seis subclasses de metabólitos, por meio do sistema de UPLC-QTOF-MS. Dentro da subclasse flavonol foram identificadas a quercetina, miricitrina, mirecitina-3'-glucosídeo e a miricetina. Da subclasse flavanol, catequina-5-O-galato e (+)-catequina. Da subclasse flavona e flavonona, luteolina-7-glucuronida e eriocitrina, hesperetina e hesperidina, respectivamente. E da subclasse dihidroflavonol identificaram a dihidroquercetina-3-O-raminosídeo.

Paula *et al.* (2021) quantificaram o teor de flavonoide nos extratos etanólico das folhas e ramos de jabuticaba e observaram que o teor flavonoídico nas folhas ($72,52 \pm 0,72 \mu\text{g/mg}$) era maior do que nos ramos ($32,47 \pm 3,38 \mu\text{g/mg}$). Além disso, identificaram, por meio do sistema de HPLC-QTOF-MS, as substâncias quercetina, quercitrina, miricetina, miricitrina e seus derivados, os quais foram relacionados com as atividades anti-inflamatória e antioxidante desempenhadas no mesmo estudo.



Através da técnica de Cromatografia líquida de ultra-alto desempenho acoplada à Espectrometria de Massas (UHPLC-MS/MS), Pinc *et al.* (2023) encontrou uma predominância de flavonoides no modo positivo para o extrato etanólico das cascas dos frutos de *P. cauliflora*, sendo a quercetina o composto majoritário.

Terpenos

Na revisão feita por Wu, Long e Kennelly (2013) foi destacado a identificação feita por Fortes *et al.* (2011) dos monoterpenos (α - e β -pineno, α -terpineol, linalol (*E*) β -ocimeno) e sesquiterpenos (amorfa-4,7(11)-diene, δ -cadineno, δ -amorfeno e α -cadineno) do extrato hidroalcolico dos frutos da jaboticaba por Cromatografia gasosa acoplada à Espectrometria de massas (CG-MS), que contribuem significativamente para o sabor dos frutos da jaboticaba.

Gasparotto *et al.* (2019) ressaltaram alguns terpenos presentes nos óleos voláteis das folhas de *P. cauliflora*, como o espatulenol (27,2%; álcool sesquiterpeno tricíclico), óxido de cariofileno (21,6%; sesquiterpeno bicíclico) e epiglobulol (8,1%; sesquiterpeno aromadendrano). No que diz respeito aos compostos que dão a característica do aroma dos frutos, seus odorizantes mais fortes foram β -pineno (um isômero de pineno com uma ligação dupla exocíclica, que transmite um aroma de madeira de pinho), δ -cadineno (que pertence à classe de sesquiterpenos, com um odor lenhoso e o linalol (um álcool terpeno com um aroma floral).

Taninos

Reynertson *et al.* (2006) identificaram o ácido gálico e o ácido elágico, pela primeira vez em 2006, no extrato metanólico de *P. cauliflora* por HPLC. Wu *et al.* (2012) encontraram, pela primeira vez, no extrato metanólico do fruto de *Plinia* sete galotaninos, são eles a casuarina, casuarinina, telimagrandina I, telimagrandina II, pedunculagina, casuarictina e hexahidroxidifenol-galoil-glicose, juntamente com dois derivados do ácido elágico, dilactona do ácido valoneico e ácido elágico-pentosídeo. Além disso, também foram isolados e identificados no estudo de Wu *et al.* (2013) dois elagitaninos, a iso-oenoteína C e oenoteína C no extrato metanólico dos frutos da espécie.

Souza-Moreira *et al.* (2011) identificaram nos extratos etanólicos das folhas e frutos de jaboticaba, por HPLC, a presença dos ácidos gálico e elágico. Além disso, Souza-Moreira *et al.* (2013), isolaram o tanino hidrolisável casuarinina (elagitanino C-glicosídico), como o principal componente na fração de n-butanol das folhas de *P. cauliflora*.

Inada *et al.* (2021) salientam, em sua revisão, que muitos estudos têm destacado a presença de taninos hidrolisáveis na jaboticaba, como elagitaninos e galotaninos, sendo que, os mais abundantes eram os elagitaninos (vescalagina, castalagina e pedunculagina). Além disso, vale ressaltar que o elagitanino cauliflorina foi detectado pela primeira vez em *Myrciaria cauliflora* por Pereira *et al.* em 2017. Alguns desses estudos relataram que os taninos hidrolisáveis eram os compostos mais abundantes em todo o fruto, polpa, casca e sementes (INADA *et al.*, 2021).

Paula *et al.* (2021) identificaram por meio do sistema de HPLC- QTOF-MS vários derivados tânicos nos extratos etanólico das folhas e ramos de *P. cauliflora*, sendo em maior quantidade neste último, tais como os derivados dos ácidos elágico e gálico, a casuarictina, epigalocatequina, telimagrandina I, castalagina e dilactona do ácido valoneico, ressaltando que esses 3 últimos compostos foram identificados pela primeira vez nessas partes da planta.

Depsídeos e outros compostos fenólicos

Em 2006, Reynertson *et al.* relataram que um novo depsídeo, a jaboticabina, junto com outro depsídeo conhecido, o 2-O-(3,4-dihidroxibenzoil)-2,4,6-ácido tri-hidroxifenilacético, foi isolado e identificado no extrato metanólico dos frutos da jaboticabeira.

Outros compostos fenólicos comuns, como hidroxicinamatos, foram isolados e relatados nos frutos de jaboticaba (REYNERTSON, 2006; WU *et al.*, 2012; WU; LONG; KENNELLY, 2013). Os ácidos cinâmico, O-cumárico, protocatecuato e protocatecuato de metila também foram identificados no estudo de Reynertson *et al.* (2006). Já no estudo de Wu *et al.* (2012), foram determinadas no extrato metanólico da jaboticaba a presença de siringina-3-O-glicosídeo e siringina. Por fim, por meio de



UPLC-QTOF, Galvão *et al.* (2021) identificaram o composto fenólico esculina no extrato hidroalcolico das folhas de jabuticaba.

Atividades biológicas

Antioxidante

O estresse oxidativo é um processo biológico caracterizado pela incapacidade do sistema biológico de neutralizar a excessiva produção de radicais livres. A superprodução de radicais livres no organismo, decorrente do desequilíbrio energético, é prejudicial à saúde (PLAZA *et al.*, 2016). Estudos apontam que o estresse oxidativo está relacionado com doenças significativamente danosas, como a *Diabetes Mellitus* tipo 2, a resistência à insulina (GHOSH; KONISHI, 2007; GUO *et al.*, 2012; MATSUZAWA-NAGATA *et al.*, 2008), doenças cardiovasculares (KEANEY *et al.*, 2003) e hipertensão arterial (ROBERTS *et al.*, 2001). O aumento da incidência dessas doenças no mundo destacou a importância de desenvolver novos agentes antioxidantes (PLAZA *et al.*, 2016).

Estudos apontam a atividade antioxidante da *Plinia cauliflora*, dentre os quais destaca-se as pesquisas de Plaza *et al.*, 2016, Cefali *et al.*, 2021 e Paula *et al.*, 2021, que analisaram a atividade antioxidante de diferentes estruturas vegetais da jabuticaba.

Plaza *et al.* (2016) e Cefali *et al.* (2021) pesquisaram a capacidade de reduzir o estresse oxidativo do extrato aquoso e etanólico das cascas dos frutos de *P. cauliflora*, respectivamente, por meio das técnicas de redução *in vitro* dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS), e demonstraram o alto potencial antioxidante dos extratos. O estudo de Plaza *et al.* (2016) ainda analisou a composição química das cascas de *P. cauliflora* por HPLC e correlacionou a presença dos elagitaninos e galotaninos como sendo os principais metabólitos responsáveis pela atividade antioxidante.

Paula *et al.* (2021) apresentaram a ação antioxidante dos extratos etanólico das folhas e ramos da planta e ambos os extratos mostraram atividade antioxidante promissora para as diferentes vias de oxidação testadas. Os compostos fenólicos, tais como flavonoides, taninos e ácidos fenólicos, existentes nas estruturas vegetais, são os principais componentes responsáveis pela propriedade biológica. A pesquisa apontou que novos testes precisam ser realizados para que uma formulação farmacêutica com os extratos seja desenvolvida. Neste estudo, foi abordado a importância das atividades biológicas de estruturas vegetais comumente descartadas no processamento dos frutos da jabuticaba, contribuindo para o maior aproveitamento dessa planta.

Cefali *et al.* (2021) estudaram a capacidade antioxidante do extrato etanólico das cascas de frutos de jabuticaba. Testes *in vitro* com radicais DPPH e ABTS foram realizados para avaliar a atividade antioxidante de *P. cauliflora*. Os resultados obtidos foram promissores, com potencial antioxidante acima de 90% em ambos ensaios. Os autores reforçam a possibilidade de adicionar o extrato em formulações cosméticas para proteção contra o envelhecimento prematuro.

Fotoprotetora

Os raios ultravioletas (UV) emitidos pelo sol são os responsáveis por causar a maioria das alterações fotocutanêas, devido à formação de radicais livres, como consequência da interação entre a radiação UV e espécies reativas de oxigênio (EROs) (FERREIRA *et al.*, 2021). Uma das formas de prevenir e tratar os danos da radiação UV à pele é a utilização de substâncias antioxidantes, principalmente de fontes naturais, uma vez que, comprovada sua eficácia, podem potencializar a fotoproteção da formulação (FERREIRA *et al.*, 2021; SIMPÓSIO DE FOTOPROTEÇÃO EM FOCO, 2021).

Os flavonoides são substâncias polifenólicas encontradas em frutas e vegetais com potencial antioxidante, capazes de fornecer proteção à pele contra danos causados por estresse oxidativo e exposição à radiação UV (BRAVO, 1998; GIACOMONI, 2008; MASAKI, 2010). *P. cauliflora* apresenta em sua casca alto teor de flavonoides (DANNER *et al.*, 2011), o que pode lhe conferir tais propriedades mencionadas.

O estudo de Cefali *et al.* (2021) avaliou o efeito fotoprotetor do extrato etanólico das cascas



de *P. cauliflora*, bem como a incorporação do mesmo em uma emulsão fitocosmética óleo/água. Para isso, calculou-se o fator de proteção solar (FPS) *in vitro* (290-320 nm) do extrato puro, extrato diluído (0,16% extrato puro: solvente v/v) e de sua formulação diluída em isopropanol (1:10 emulsão: isopropanol v/v) por meio da espectrofotometria no ultravioleta-visível. Os extratos bruto e diluído e a formulação fitocosmética apresentaram um FPS de 24,86; 5,03 e 19,00, respectivamente. Tais resultados podem ser atribuídos à presença de flavonoides, o que torna a formulação promissora, principalmente em associação a filtros solares físicos (CEFALI *et al.*, 2021).

Anti-inflamatória

A resposta inflamatória é um processo fisiológico que ocorre após lesão tecidual ou exposição do organismo a um patógeno, ou substância nociva. Os dois principais componentes da inflamação são as respostas imune inata e imune adaptativa (RANG; DALE, 2016). Esse processo é caracterizado pela produção e liberação de mediadores químicos, como as citocinas, quimiocinas, eicosanóides e fatores de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B) (RANG; DALE, 2016; XIAO, 2021). Tais mediadores são os responsáveis pelos sintomas clínicos característicos da inflamação: lesão, dor, vermelhidão, inchaço local e febre (PAULA *et al.*, 2021). Apesar da inflamação ser um processo fisiológico, a exacerbação do processo inflamatório pode provocar danos ao organismo e, por isso, é necessário utilizar agentes farmacológicos anti-inflamatórios para combater o processo inflamatório (AZAB *et al.*, 2016).

Segundo relatos na literatura, a *P. cauliflora* possui potencial para o desenvolvimento futuro de um novo agente anti-inflamatório (AZAB *et al.*, 2016; PAULA *et al.*, 2021 e 2023). Os extratos etanólico das folhas e ramos da jaboticaba desempenharam importante atividade anti-inflamatória nos ensaios *in vitro* e *in vivo* realizados por Paula *et al.* (2021). No ensaio *in vitro*, baseado na determinação indireta de óxido nítrico (NO) em sobrenadante de macrófagos J774A.1, observou-se inibição de cerca de 95% na concentração de 125 μ g/mL para ambos os extratos. Já no teste *in vivo*, que analisou a redução do edema de orelha estimulado com óleo de cróton em camundongos Swiss, os extratos etanólico das folhas e ramos apresentaram redução de cerca de 80% após 6 horas de tratamento, reforçando a capacidade anti-inflamatória da espécie. Quando encapsulados com ciclodextrina, os mesmos extratos demonstraram um aumento na absorção dos componentes ativos em comparação aos extratos puros, pois em 4 horas de tratamento do edema de orelha, ambas amostras (nas mesmas condições) mostraram inibição do edema superior a 93%, enquanto que os extratos puros necessitaram de mais tempo em contato com a pele para produzir uma resposta equivalente aos extratos encapsulados (PAULA *et al.*, 2023).

Tais estruturas vegetais (folhas e ramos) possuem poucos estudos acerca de seu potencial farmacológico e são normalmente descartadas no processamento dos frutos da jaboticaba. Isso demonstra a necessidade do maior reaproveitamento etnofarmacológico da espécie (PAULA *et al.*, 2021).

Cicatrizante

A cicatrização de feridas e a regeneração tecidual compreendem um complexo processo biológico baseado em uma cascata coordenada de células e eventos moleculares que promovem a reconstituição do tecido lesado (MARTELLI *et al.*, 2018). A inflamação é a etapa caracterizada pela presença de neutrófilos e monócitos no tecido danificado secretando enzimas proteolíticas, fatores de crescimento e citocinas pró-inflamatórias (GANGWAR, 2015; MARTELLI *et al.*, 2018). Problemas na cicatrização podem decorrer de respostas imunes e inflamatórias descontroladas, infecções microbianas e produção excessiva de espécies oxigenadas reativas (GANGWAR, 2015).

As cascas de *P. cauliflora* possuem uma composição rica em antocianinas, que são responsáveis pela atividade antioxidante dessa planta (PITZ *et al.*, 2016). Assim, essas estruturas vegetais podem reduzir o estresse oxidativo e auxiliar na melhora das etapas da cicatrização de feridas.

Pitz *et al.* (2016) avaliaram a cicatrização de feridas do extrato hidroalcolólico das cascas de jaboticaba em testes *in vitro*. O ensaio de proliferação celular foi realizado com fibroblastos de



camundongos. O extrato estimulou a proliferação celular em 100 $\mu\text{g/mL}$ depois de 24 horas e em 25, 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$ após 48 horas. Na concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$ o extrato vegetal demonstrou ser citotóxico, reduzindo a viabilidade celular. Além disso, o teste de *Scratch Assay* também foi realizado para avaliação da cicatrização por meio da migração de células sob estímulo da amostra. As concentrações de 0,5 e 100 $\mu\text{g/mL}$ aumentaram a taxa de migração celular após 12 h. Portanto, foi concluído que *P. cauliflora* apresenta potencial no processo de cicatrização de feridas (PITZ *et al.*, 2016).

Castangia *et al.* (2021) demonstraram o potencial cicatrizante do extrato aquoso liofilizado das cascas de jabuticaba incorporadas a nanovesículas fosfolipídicas para os queratinócitos da pele humana. Os autores apontam que *P. cauliflora* pode ser uma fonte sustentável de elagitaninos e antocianinas na incorporação de formulações cosméticas para cuidados com a pele. O extrato foi incorporado em vesículas poliméricas com grande similaridade às membranas celulares fosfolipídicas, com intuito de aumentar a estabilidade dos compostos, além de veicular e potencializar a atividade cicatrizante. Foram realizados ensaios *in vitro* de biocompatibilidade e efeito protetor de estresse oxidativo, onde comprovaram que o extrato vegetal incorporado em vesículas apresenta maior viabilidade para as células da pele, aproximadamente 100% em comparação a dispersão aquosa, com cerca de 88%. Portanto, o estudo concluiu que o extrato das cascas de jabuticaba possui grande potencial terapêutico para a cicatrização de feridas da pele, principalmente quando incorporado a sistemas nanométricos, como as vesículas de hialuronano-transfersomas, representando um sistema promissor para o tratamento de doenças de pele (CASTANGIA *et al.*, 2021).

Antitumoral

O câncer é uma doença caracterizada pelo crescimento celular desordenado, o que gera a formação de tumores (DASHORA *et al.*, 2011). As células cancerosas são caracterizadas pela perda de funcionalidade, incapacidade de diferenciação, capacidade de invasão tecidual e de produzirem metástase (RANG *et al.*, 2016). Atualmente, o câncer é um dos grandes problemas de saúde pública, devido a sua magnitude epidemiológica e complexidade do tratamento farmacológico (DUARTE *et al.*, 2021), no qual os fármacos antitumorais tradicionais são altamente citotóxicos, causando muitos efeitos adversos nos pacientes (RANG *et al.*, 2016). Devido a isso, é imprescindível que novos agentes antitumorais sejam encontrados visando terapias mais eficazes e menos danosas para o tratamento do câncer.

Wang *et al.* (2014) testou o efeito antiproliferativo de diferentes extratos aquosos e etanólicos de sementes, tronco e cascas dos frutos da *P. cauliflora* contra células cancerígenas orais humanas. Os resultados apontaram que após 24 h do tratamento com os diferentes extratos vegetais, o extrato aquoso das sementes de jabuticaba foi o que demonstrou maior potencial antiproliferativo, com concentração inibitória média (CI_{50}) de aproximadamente 15 $\mu\text{g/mL}$. Outro efeito biológico apresentado pelo mesmo extrato foi o estímulo de apoptose celular nas células cancerígenas, aumentando 15,2% nas células tratadas com 10 $\mu\text{g/mL}$ e 57,1% na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$. Portanto, os autores concluíram que as sementes da jabuticaba apresentam grande potencial antitumoral e podem ser a chave para a melhora do tratamento do câncer.

Duarte *et al.* (2021) estudaram o efeito antitumoral *in vivo* do extrato acetônico das cascas dos frutos de *P. cauliflora* em um tumor sólido de Ehrlich. O tumor de Ehrlich é um adenocarcinoma mamário com grandes áreas de necrose de fácil manuseio empírico (SELEME, 2005; DUARTE *et al.*, 2021). Os animais tratados com o extrato de jabuticaba tiveram redução de massa tumoral de 54,5%, em comparação com a massa tumoral do grupo de controle negativo que era de $2,31 \pm 0,35$ g e o grupo de animais tratados com 5-fluorouracil (agente antitumoral tradicional) teve redução de 65,4%. O extrato vegetal diferentemente do 5-fluorouracil não alterou nenhum parâmetro bioquímico e hematológico dos camundongos, o que indica baixa toxicidade (DUARTE *et al.*, 2021). Os autores concluíram que a *P. cauliflora* tem grande potencial antitumoral, podendo ser incorporada em formulações para o tratamento de câncer, além de apresentar vantagem sob o tratamento tradicional, uma vez que foi observada a ausência de efeitos tóxicos, físicos, comportamentais, bioquímicos ou



hematológicos.

Em estudo de Lin e Huang (2023), foram observados efeitos citotóxicos e antiproliferativos do extrato hidroalcoólico de frutos de *P. cauliflora* nas células de melanoma B16F10. As monocamadas de células B16F10 em placas de 96 poços foram expostas ao extrato em diferentes concentrações por poço. Após a incubação, o extrato em concentrações de 400, 800, 1000 e 1500 µg/mL causou morte celular em células B16F10 a taxas de 2, 17, 72 e 98 %, respectivamente. A incubação de células B16F10 com o extrato, na concentração de 1500 µg/mL, resultou em morte celular quase completa. Segundo os autores, estas descobertas indicam que o extrato de *P. cauliflora* exibe atividade anti-SSB (*Single-Stranded DNA-Binding Protein*) e possui potencial anticancerígeno, tornando-o um candidato promissor para futuras aplicações médicas.

Antidiarreica

A diarreia é uma desordem gastrointestinal definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como a formação, por dia, de três ou mais episódios de fezes amolecidas/ líquida, ou a eliminação de fezes mais frequente que a habitual. Logo, está relacionada com volume, frequência, características de dejetões, bem como a influência dos hábitos alimentares (PIRES *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Para o processo de remissão dos quadros diarreicos, terapias imediatas como a reidratação oral, alimentação balanceada e probióticos são utilizadas, além do uso de medicamentos para redução da motilidade (SHARMA; SHARMA, 2007; BRITO, 2019). Entretanto, medicamentos como a loperamida e o difenoxilato têm provocado reações colaterais de constipação e distensão abdominal (RANG; DALE; RITTER, 2001).

Desse modo, os produtos naturais com ação terapêutica eficaz têm surgido como uma alternativa de baixo custo para controlar a desordem intestinal (BRITO, 2019). A casca da espécie *P. cauliflora* é usada popularmente no tratamento da diarreia, devido à presença de taninos que possuem propriedades adstringentes (SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2011; QIN *et al.*, 2011; INADA *et al.*, 2021).

Brito (2019) investigou a ação antidiarreica da casca do fruto de *P. cauliflora* (extrato metanólico acidificado) por meio do método de indução da diarreia por óleo de rícino. O tratamento com o extrato, nas concentrações de 200 e 400 mg/kg, reduziu significativamente o número de fezes molhadas em 82 e 96,6 %, respectivamente. Em relação aos fluidos intestinais, as concentrações de 200 e 400 mg/kg foram capazes de reduzir o acúmulo de fluido em cerca de 50 e 63,2 %, respectivamente. Na motilidade intestinal, ambas doses reduziram significativamente a distância percorrida pelo carvão ativado, bem como promoveu uma porcentagem significativamente menor de trânsito intestinal (17,5 e 9,5 %, respectivamente), quando comparado ao controle negativo (79,3%). Dessa forma, pode-se concluir que a presença de flavonoides, fenilpropanoides e terpenos presentes neste extrato, podem estar associados aos efeitos antidiarreicos observados nesse estudo (BRITO, 2019).

Consoante a revisão de literatura feita por Wu, Long e Kennelly (2013), os extratos etanólico das folhas de jabuticaba apresentaram atividade antidiarreica contra às espécies *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, e *Shigella spp.*, mas não mostrou efeito sobre a motilidade intestinal (SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2011). Já na revisão de literatura feita por Gasparotto *et al.* (2019), relatou-se nos estudos de Souza-Moreira *et al.* (2011) que os camundongos suíços tratados por via oral com extrato etanólico das folhas de *P. cauliflora* (1000 mg/kg) não apresentaram alterações na motilidade gastrointestinal. Desta forma, o efeito antidiarreico não age necessariamente na motilidade intestinal.

Antidiabética e antiobesidade

A diabetes é uma condição metabólica crônica caracterizada por hiperglicemia, resultante da insuficiência na produção ou utilização de insulina, um hormônio crítico na regulação da glicose sanguínea. A obesidade mantém uma relação estreita com a diabetes, pois o excesso de adiposidade corporal, especialmente na região abdominal, amplifica a resistência à insulina, resultando em desequilíbrios no controle glicêmico (SANCHO; PASTORE, 2012).

Conforme a alguns estudos, as antocianinas podem prevenir o *Diabetes Mellitus* tipo 2 (DM2) e



obesidade (SANCHO; PASTORE, 2012). Recentemente, a jabuticaba mostrou ter benefícios sobre o tratamento da obesidade e resistência à insulina em experimentos com animais, devido à alta concentração de antocianinas nas cascas do fruto (WU; LONG; KENNELLY, 2013). Moura *et al.* (2018) observaram que animais alimentados com extrato metanólico do fruto da jabuticaba com baixa e alta concentração de taninos exibiram efeitos antidiabéticos, sendo que este último, reduziu os níveis de insulina, aumentou o índice homeostático de resistência à insulina (HOMA-IR) e apresentou uma inibição promissora da α -glucosidade *in vitro* (INADA *et al.*, 2021).

Moura *et al.* (2021) avaliaram o efeito do extrato fenólico dos frutos maduros de jabuticaba diante da obesidade, e, como resultado, o extrato foi capaz de reduzir significativamente o estresse oxidativo e a hiperlipidemia, prevenindo o ganho excessivo de peso corporal em camundongos alimentados com dieta obesogênica.

Lenquiste *et al.* (2012) relataram que o consumo de 1, 2 e 4 % da casca liofilizada de jabuticaba pode reduzir a insulina sérica (47, 57 e 52 %, respectivamente) e HOMA-IR (40, 54 e 48 %, respectivamente) em ratos obesos. Além disso, o consumo de 2% mostrou aumentar os níveis da lipoproteína de alta densidade (HDL) em 41,65% e melhora a resistência à insulina.

Gasparotto *et al.* (2019) evidenciou em sua revisão que o extrato de farinha da casca da jabuticaba (7, 10 e 15 %) adicionado a uma dieta moderadamente rica em gorduras teve efeitos hipolipemiantes, especialmente no que diz respeito a redução dos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos em ratos tratados com a dieta por quatro semanas.

Segundo revisão de Inada *et al.* (2021), dois ensaios clínicos relataram que o consumo agudo da casca de jabuticaba em pó e seu suco por indivíduos saudáveis reduziram a glicose sérica (BALISTEIRO *et al.*, 2017) e o nível de insulina após uma refeição (PLAZA *et al.*, 2016). Esses efeitos foram associados ao aumento da fosforilação do receptor de insulina (PIRS-1) (LAMAS *et al.*, 2018), aumento da sensibilidade à insulina restaurando a transdução de sinal prejudicada por meio da via IR/IRS1/Akt/FoxO no fígado e tecido adiposo de camundongos (DRAGANO *et al.*, 2013), aumento do tecido hepático, adiposo e músculo Akt (MOURA *et al.*, 2021), e inibição *in vitro* de α -glucosidase (CALLONI *et al.*, 2020; FIDELIS *et al.*, 2020; MOURA *et al.*, 2018) e α -amilase (FIDELIS *et al.*, 2020). Tais atividades foram relacionadas aos compostos fenólicos, possivelmente hidrolisáveis e taninos condensados.

Antimicrobiana

Agentes antimicrobianos têm sido usados desde o século XV para o tratamento de doenças infecciosas. Entretanto, o seu uso indiscriminado pela população vem causando sérios problemas de saúde pública em todo o mundo, pois os microrganismos têm a capacidade de desenvolver resistência a esses agentes terapêuticos (CHIŞ *et al.*, 2022; CHAVASCO *et al.*, 2014). Assim, os produtos naturais têm se tornado um interesse crescente como uma fonte promissora de novas substâncias antimicrobianas (AMANING, *et al.*, 2022).

Segundo a revisão de Wu, Long e Kennelly (2013), o extrato etanólico das folhas de jabuticaba apresentaram uma forte atividade bactericida *in vitro* diante do biofilme bacteriano oral, bem como atividade contra *Staphylococcus aureus*. Quanto à atividade antifúngica, o extrato das folhas apresentou alta atividade contra as espécies *Candida tropicalis* e *Candida albicans*. Outra observação foi a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de jabuticaba diante da bactéria gram-positiva, *Klebsiella pneumoniae*.

Em sua revisão, Gasparotto *et al.* (2019) evidenciaram que os extratos aquoso, etanólico, metanólico e clorofórmico das folhas de *P. cauliflora* apresentaram alta atividade contra espécies de *Candida* spp. Os autores também destacaram a susceptibilidade das cepas de *Candida krusei* diante do extrato etanólico e a fração n-butanólica.

Inada *et al.* (2021) relataram em sua revisão de literatura que extratos hidroalcolico, hidrometanólico e hidroacetônico das cascas e sementes de jabuticaba apresentaram ampla atividade antimicrobiana *in vitro* contra vários fungos e bactérias gram-positivas e negativas, como *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *Escherichia coli*,



dentre outros. Tais achados possivelmente estão relacionados à presença de flavonoides e taninos hidrolisáveis, reconhecidos na literatura por sua atividade antimicrobiana.

Oliveira *et al.* (2011) avaliaram a atividade antimicrobiana de duas formulações farmacêuticas (creme tópico e enxaguante bucal) com 0,25% do extrato etanólico das folhas de *P. cauliflora* (70%). Os efeitos antissépticos do creme tópico e enxaguante bucal que continham o extrato foram avaliados contra *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *Lactobacillus acidophilus* e *C. albicans*. Como resultado, os extratos foram ativos contra todos os microrganismos testados, com a exceção de *L. acidophilus*.

Conforme o estudo realizado por Chavasco *et al.* (2014), *C. albicans* foi susceptível ao extrato das folhas de *P. cauliflora*, e tal atividade pode estar relacionada à presença de flavonoides, alcaloides, saponinas e taninos.

Na pesquisa de Lin e Huang (2023), o extrato hidroalcolólico de frutos de *P. cauliflora* exibiram atividade antimicrobiana através do ensaio de difusão em ágar. As capacidades antibacterianas do extrato foram quantificadas pela zona de inibição. Este extrato exibiu atividades antibacterianas promissoras contra os patógenos humanos *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *S. aureus* e produziu as zonas de inibição de 19 ± 1 , 19 ± 2 , 18 ± 2 e 22 ± 2 mm, respectivamente.

O trabalho desenvolvido por Pinc *et al.* (2023) avaliou as atividades antibacteriana e antifúngica do extrato etanólico da casca dos frutos de *P. cauliflora* através do método de Concentração Inibitória Mínima (CIM). Os resultados obtidos foram satisfatórios para a inibição de bactérias *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Entretanto, para a atividade antifúngica, o extrato avaliado não apresentou resultados significativos para a inibição do fungo *C. albicans*.

Conclusão

Este trabalho de revisão apresentou estudos científicos acerca do uso popular da *Plinia cauliflora*, bem como da composição fitoquímica de suas estruturas vegetais e as principais atividades biológicas encontradas na literatura sobre esta espécie vegetal. O principal uso popular identificado no Brasil foi para o tratamento da diarreia, porém outras doenças popularmente tratadas com a jaboticaba são inflamações, desenterias intestinais, asma, bronquite e tosses. A composição fitoquímica de *P. cauliflora* é definida como rica em compostos fenólicos, a exemplo das antocianinas, flavonóides e taninos, além de compostos terpênicos, que estão diretamente relacionados com as propriedades terapêuticas das diferentes partes da árvore. As atividades biológicas desempenhadas pela jaboticaba com maior quantidade de estudos encontrados na literatura são as atividades anti-inflamatória e antioxidante. Pesquisas recentes também demonstram o grande potencial antimicrobiano, cicatrizante e antitumoral de *P. cauliflora*, em testes *in vitro* e *in vivo*. As perspectivas futuras obtidas na presente revisão são de que a jaboticaba tem alto potencial para ser utilizada como fonte natural alternativa no desenvolvimento de uma grande diversidade de formulações farmacêuticas, devido aos efeitos farmacológicos promissores que a planta apresenta. É esperado que haja o maior aproveitamento das partes vegetais descartadas durante o processamento do fruto da jaboticaba, tais como os ramos, folhas, cascas e sementes, visto que vários estudos demonstraram que essas estruturas vegetais possuem atividades biológicas e rica composição fitoquímica. Ademais, serão necessários novos estudos, para que seja comprovada a eficácia e segurança da utilização da jaboticaba em futuras formulações farmacêuticas.

Referências

AMANING, C.D.; MINKAH, P.A.B.; OSEI, I.D.J.; AMANKWAH, K.B.; SOMUAH, S.O. Antimicrobial Compounds from Microorganisms. *Antibiotics*, v. 11, n. 3, p. 285, 2022.

APEL, M.A.; SOBRAL, M.; ZUANAZZI, J.A.; HENRIQUES, A.T. Essential oil composition of four *Plinia* species (Myrtaceae). *Flavour Fragrance Journal*, v. 21, n. 3, p. 565–567, 2006.



ARAÚJO, C.R.; ESTEVES, E.A.; DESSIMONI-PINTO, N.A.; BATISTA, A.G. *Myrciaria cauliflora* peel flour had a hypolipidemic effect in rats fed a moderately high-fat diet. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 2, p. 262–267, 2014.

AZAB, *et al.* Anti-Inflammatory activity of natural products. **Molecules**, v. 21, 2016.

AGRA, M. DE F., SILVA, K.N., BASÍLIO, I.J.L.D., FREITAS, P.F. DE, BARBOSA-FILHO, J.M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 18, 472–508, 2008.

LEITE-LEGATTI, A.V., BATISTA, Â.G., DRAGANO, N.R.V., MARQUES, A.C., MALTA, L.G., RICCIO, M.F., EBERLIN, M.N., MACHADO, A.R.T., DE CARVALHO-SILVA, L.B., RUIZ, A.L.T.G., DE CARVALHO, J.E., PASTORE, G.M., MARÓSTICA, M.R. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49, 2012.

BALISTEIRO, D.M.; ARAUJO, R.L.; GIACAGLIA, L.R.; GENOVESE, M.I. Effect of clarified Brazilian native fruit juices on postprandial glycemia in healthy subjects. **Food Research International**, v. 100, n. 2, p. 196–203, 2017

BRAND-WILLIAMS, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity**. *LWT - Food Sci. Technol.*, v. 28, 1995.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade**. Brasília, 2021.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317–333, 1998.

BRITO, T.G.S. Aplicações biotecnológicas de *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel. **Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)** - Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, p. 141. 2019.

BRITO, T.G.S. SILVA, A.P.S.D.; CUNHA, R.X.D.; FONSECA, C.S.M.D.; *et al.* Anti-inflammatory, hypoglycemic, hypolipidemic, and analgesic activities of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Brazilian grape) epicarp. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 268, p. 113611, 2021.

CALLONI, C.; MARTÍNEZ, L.S.; GIL, D.F.; DA SILVA, D.M.; ROSALES, P.F.; AGOSTINI, F.; MOURA E SILVA, S.; PARMEGANI, J.M.; SALVADOR, M. Jaboticaba (*Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel) improved the lipid profile and immune system and reduced oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, p. e13383, 2020.

CASTANGIA, I., MANCA, M. L., ALLAW, M., HELLSTRÖM, J., GRANATO, D., MANCONI, M. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) Peel as a Sustainable Source of Anthocyanins and Ellagitannins Delivered by Phospholipid Vesicles for Alleviating Oxidative Stress in Human Keratinocytes. **Molecules**, v. 26, p. 6697, 2021.

CEFALI, L.C.; FRANCO, J.G.; NICOLINI, G.F.; SANTOS, E.M.; *et al.* Jaboticaba, a Brazilian jewel, source of antioxidant and wound healing promoter. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 20, n. 100401, p. 1-7, 2021.

CHAVASCO, J.M., PRADO E FELIPHE, B.H.M.; CERDEIRA, C.D.; LEANDRO, F.D.; *et al.* Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of plant extracts from Southern Minas Gerais Cerrado. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 1, p. 13-20, 2014.



CHIŞ, A.A.; RUS, L.L.; MORGOVAN, C.; ARSENIU, A.M.; FRUM, A.; VONICA-ŢINCU, A.L.; GLIGOR, F.G.; MUREŞAN, M.L.; DOBREA, C.M. Microbial Resistance to Antibiotics and Effective Antibiotherapy. **Biomedicines**, v. 10, n. 5, p. 1121, 2022.

DANNER, M.A., *et al.* Proposta de protocolo para extração de DNA de jaboticabeira. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 2, p. 363–367, 2011.

DASHORA, N., *et al.* *In vitro* cytotoxic activity of dendrophthoe falcate on human breast adenocarcinoma cells-MCF-7. **International Journal of Cancer Research**, v. 7, n. 1, p. 47-54, 2011.

DELGADO-ALTAMIRANO, A.R., *et al.* *In vitro* antileishmanial activity of Mexican medicinal plants. **Heliyon**, v. 3, n. 9, p. e00394, 2017.

DO NASCIMENTO, V.T.; DE LUCENA, R.F.P.; MACIEL, M.I.S.; *et al.* Knowledge and use of wild food plants in areas of dry seasonal forests in Brazil. **Ecol. Food Nutr.**, v. 52, p. 317–343, 2013.

DRAGANO, N.R.V., *et al.* Freeze-dried jaboticaba peel powder improves insulin sensitivity in high-fat-fed mice. **British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 3, p. 447–455, 2013.

DUARTE, M.S.L.O.; SOUZA, P.G.V.D.; BRITO, T.G.S.; CAMPOS, J.K.L.; SANTOS, B.S.; MAGALHÃES, F.B. Antitumoral Activity of Extracts Obtained from Epicarp of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel on Solid Ehrlich Tumor. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 6090-6102, 2021.

FERREIRA, K.C.; *et al.* Avaliação das atividades antioxidante e fotoprotetora *in vitro* de partições do extrato metanólico de *Mitracarpus frigidus* (Rubiaceae). **HU Revista**, v. 47, p. 1-10, 2021.

FIDELIS, M., *et al.* Response surface optimization of phenolic compounds from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* [Mart.] O. Berg) seeds: Antioxidant, antimicrobial, antihyperglycemic, antihypertensive and cytotoxic assessments. **Food and Chemical Toxicology**, v. 142, p. 111439, 2020.

FORTES, G. A. C., NAVES, S. S., GODOI, F. F. F., DUARTE, A. R., FERRI, P. H., & SANTOS, S. C. (2011). Assessment of a maturity index in jaboticaba fruit by the evaluation of phenolic compounds, essential oil components, sugar content and total acidity. **American Journal of Food Technology**, v. 6, p. 974–984.

GALVÃO, B.V.D., *et al.* *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Jaboticaba) leaf extract: *In vitro* anti-Trypanosoma cruzi activity, toxicity assessment and phenolic-targeted UPLC-MSE metabolomic analysis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 277, n. 114217, p. 1-12, 2021.

GANGWAR, M., *et al.* "Mallotus philippinensis Muell. Arg fruit glandular hairs extract promotes wound healing on different wound model in rats," **BMC Complementary and Alternative Medicine**, vol. 15, n. 123, 2015.

GIACOMONI, P.U. Understanding reactive oxygen species. **Cosmetics & Toiletries**, v. 122, n. 5, p. 36-40, 2008.

GHOSH, D.; KONISHI, T. Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: Role in diabetes and eye function. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, 16, 200–208. 2007.

GUO, H.H.; XIA, M.; ZOU, T.; LING, W.; LIU, G. L.; ZHONG, R. M.; ZHANG, W. Cyanidin 3-glucoside attenuates obesity-associated insulin resistance and hepatic steatosis in high-fat diet-fed and db/db



mice via the transcription factor FoxO1. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, p. 349–360, 2012.

INADA, K.O.P.; OLIVEIRA, A.A.; REVORÊDO, T.B.; MARTINS, A.B.N.; LACERDA, E.C.Q.; FREIRE, A.S.; MONTEIRO, M.C. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422–433, 2015.

INADA, K.O.P., *et al.* Effect of high hydrostatic pressure and drying methods on phenolic compounds profile of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel and seed. **Food Chem.**, v. 309, 2020.

INADA, K.O.P., *et al.* Jaboticaba berry: A comprehensive review on its polyphenol composition, health effects, metabolism, and the development of food products. **Food Research International**, v. 147, p. 110518, 2021.

JUNIOR GASPAROTTO, A.; SOUZA, P.; LÍVERO, F. A. R. *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel: A comprehensive ethnopharmacological review of a genuinely Brazilian species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 245, p. 112169, 2019.

KEANEY, J.F., *et al.* Obesity and systemic oxidative stress – Clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 23, p. 434–439, 2003.
LAMAS, C.A., *et al.* A jaboticaba extract prevents prostatic damage associated with aging and high-fat diet intake. **Food & Function**, v. 11, n. 2, p. 1547–1559, 2020.

LEAL, M.L.; ALVES, R.P.; HANAZAKI, N. Knowledge, use, and disuse of unconventional food plants. **J. Ethnobiol. Ethnomed.**, v. 14, p. 1–9, 2018.

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

LIN, E.-S.; HUANG, C.-Y. The Inhibition Activities of the Fruit Extract of *Plinia cauliflora* against Melanoma Cells and the Single-Stranded DNA-Binding Protein (SSB) from *Klebsiella pneumoniae*. **Appl. Sci.**, v. 13, p. 11061, 2023.

MANSUR, J.S. *et al.* Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 61, n. 3, p. 121–124, 1986.

MARTELLI A, *et al.* Perspectivas na utilização de fitoterápicos na cicatrização tecidual: revisão sistemática. **Arch Health Invest**, v. 7, n. 8, p. 344–350, 2018.

MASAKI, H. Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. **Journal of Dermatological Science**, v. 58, n. 2, p. 85–90, 2010.

MATSUZAWA-NAGATA, N., *et al.* Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet induced insulin resistance and obesity. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 57, p. 1071–1077, 2008.

MAZZARINO, L., *et al.* Jaboticaba (*Plinia peruviana*) extract nanoemulsions: development, stability, an *in vitro* antioxidant activity. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 44, n. 4, p. 643–651, 2018.

MEDEIROS, M.G.F., *et al.* Activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Parasi-**



tology International, v. 60, n. 3, p. 237–241, 2011.

MELO, M.S.O.M., MANCINI FILHO, J. Antioxidantes naturais do fruto do dendezeiro (*Elaeis guineensis*, Jacq). Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo v. 25, p. 147–157, 1989.

MOURA, M.H.C., et al. Phenolic-rich jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg) extracts prevent right-fat-sucrose diet induced obesity in C57BL/6 mice. **Food Research International**, v. 107, p. 48-60, 2018.

MOURA, M.H.C., et al. Long-term supplementation with phenolic compounds from jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg) reduces adiposopathy and improves glucose, lipid, and energy metabolism. **Food Research International**, v. 143, p.110302, 2021.

OLIVEIRA, A.T.V., et al. Constipação e diarreia em pacientes internados em unidades de terapia intensiva. **Jornal de Ciências da Saúde**, v. 1, n. 2, p. 63-72, 2018.

OLIVEIRA, L.A., et al. Design of antiseptic formulations containing extract of *Plinia cauliflora*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, 2011.

OSAWA, C.C.; FELÍCIO, P.E.DE; GONÇALVES, L.A.G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000400019>.

PAIVA, K.O., et al. Medicinal plants used in genitourinary system disorders by riverine women, Caravelas, Bahia. **Fitos. Supl** 1–126, p. 92–98, 2017.

PALOZI, R.A.C., et al. Pharmacological safety of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel in rabbits. **Toxicology Reports**, v. 6, p. 616–624, 2019.

PAULA, P.L.; LEMOS, A.S.O.; CAMPOS, L.M.; et al. Pharmacological investigation of antioxidant and anti-inflammatory activities of leaves and branches extracts from *Plinia cauliflora* (Jaboticaba). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 280, p. 114463, 2021.

PAULA, P.L.; LEMOS, A.S.O.; QUEIROZ, L.S.; et al. Supramolecular complexes between *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel extracts and β -cyclodextrin: Physicochemical characterization and antioxidant and anti-inflammatory properties, **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 84, p. 104533, 2023.

PEREIRA, L.D., et al. Polyphenol and ellagitannin constituents of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and chemical variability at different stages of fruit development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 6, p. 1209-1219, 2017.

PINC, M.M.; DALMAGRO, M.; PEREIRA, E.C.A.; et al. Extraction Methods, Chemical Characterization, and *In Vitro* Biological Activities of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel Peels. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 8, p. 1173, 2023.

PIRES, R., et al. Uma causa pouco habitual de diarreia. **Galicia Clínica**, v. 76, n. 1, p. 25-28, 2015.

PITZ, H.S., et al. *In Vitro* Evaluation of the Antioxidant Activity and Wound Healing Properties of Jaboticaba (*Plinia peruviana*) Fruit Peel Hydroalcoholic Extract. **Hindawi - Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.



PLAZA, M., *et al.* Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: a pilot clinical study. **Food Chemistry**, v. 211, p. 185-197, 2016.

QIN, Y., *et al.* The diarrhoeogenic and antidiarrhoeal bidirectional effects of rhubarb and its potential mechanism. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 3, 1096–1102, 2011.

RANG, H.P.; DALE, M.M. Editora Elsevier, 8ª edição, 2016. **Farmacologia Clínica**. Fuchs, F.D.; Wannmacher, L.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 2001.

REYNERTSON, K.A., *et al.* Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 8, p. 1228–1230, 2006.

ROBERT, A., *et al.* Enteropooling assay: A test for diarrhea produced by prostaglandins. **Prostaglandins**, v. 11, n. 5, p. 809–828, 1976.

ROBERTS, C.K.; VAZIRI, N.D.; LIANG, K.H.; BARNARD, R.J. Reversibility of chronic experimental syndrome X by diet modification. **Hypertension**, v. 37, p. 1323–1328, 2001.

ROMÃO, P.V.M., *et al.* Cardioprotective effects of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel in a rabbit model of doxorubicin-induced heart failure. **J. Ethnopharmacology**, v. 242, 2019.

SANCHO, R.A.S.; PASTORE, G.M. Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes. **Food Research International**, v. 46, n. 1, p. 378–386, 2012.

SHARMA, H.L.; SHARMA, K.K. **Principles of Pharmacology**. 1ed. Paras Medical Publisher, p. 412–414, 2007.

SIMPÓSIO DE FOTOPROTEÇÃO EM FOCO, 1, 2021, Rio de Janeiro. Anais eletrônicos (eBook). Rio de Janeiro: UFRJ, 2021.

SOUZA-MOREIRA, T. *et al.* Chemical and antidiarrheal studies of *Plinia cauliflora*. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 12, p. 1590–1596, 2011.

SOUZA-MOREIRA, T.; SEVERI, J.; LEE, K.; PREECHASUTH, K.; SANTOS, E.; GOW, N.; MUNRO, C.; VILEGAS, W.; PIETRO, R. Anti-candida targets and cytotoxicity of casuarinin isolated from *Plinia cauliflora* leaves in a bioactivity-guided study. **Molecules**, v. 18, 2013.

TPL, 2022. The Plant List. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-161353>. Acesso em 06 julh. 2022.

WANG, W.H., *et al.* Evaluation of the antioxidant activity and antiproliferative effect of the jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) seed extracts in oral carcinoma cells. **BioMed Res. Int.**, 2014.

WHO. **Global Status Report on Noncommunicable Diseases**. Geneva, 2014.

WHO. Methods and data sources for country-level causes of death 2000–2015. **Global Health Estimates Technical Paper**, 2017.



WU, S.-B., *et al.* Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 60, n. 30, p. 7513–7525, 2012.

WU, S.-B.; LONG, C.; KENNELLY, E.J. Phytochemistry and health benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil. *Food Research International*, v. 54, p.148-159, 2013.

XIAO, N.; ZHAO, Y.; HE, W.; YAO, Y.; WU, N.; XU, M.; DU, H.; TU, Y. Egg yolk oils exert anti-inflammatory effect via regulating Nrf2/NF- κ B pathway. *J. Ethnopharmacol.*, v. 274, p. 114070, 2021.