

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ISADORA DE JESUS MARIANO LACERDA

AVALIAÇÃO MORFOANATÔMICA, FITOQUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
POTENCIAL PREBIÓTICO DE *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. VISANDO
INVESTIGAR SUA CAPACIDADE TERAPÊUTICA NO TRATAMENTO DA
DERMATITE ATÓPICA

PONTA GROSSA

2026

ISADORA DE JESUS MARIANO LACERDA

AVALIAÇÃO MORFOANATÔMICA, FITOQUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
POTENCIAL PREBIÓTICO DE *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. VISANDO
INVESTIGAR SUA CAPACIDADE TERAPÊUTICA NO TRATAMENTO DA
DERMATITE ATÓPICA

Dissertação apresentada para a obtenção do título de mestre
em Ciências Farmacêuticas na Universidade Estadual de
Ponta Grossa, área de Fármacos, Medicamentos e
Biociências aplicadas à Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Bonametti Olivato.

PONTA GROSSA

2026

L131 Lacerda, Isadora de Jesus Mariano
Avaliação morfoanatômica, fitoquímica, atividade antioxidante e potencial prebiótico de *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. visando investigar sua capacidade terapêutica no tratamento da dermatite atópica / Isadora de Jesus Mariano Lacerda. Ponta Grossa, 2026.
90 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Bonametti Olivato.

1. Compostos fenólicos. 2. Dermatopatias. 3. Histoquímica vegetal. 4. Morfoanatomia vegetal. I. Olivato, Juliana Bonametti. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. III.T.

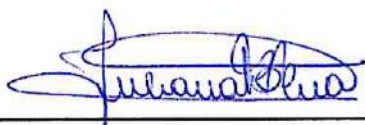
CDD: 615.321

ISADORA DE JESUS MARIANO LACERDA

**AVALIAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
POTENCIAL PREBIÓTICO DE *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.
VISANDO INVESTIGAR SUA CAPACIDADE TERAPÊUTICA NO
TRATAMENTO DA DERMATITE ATÓPICA**

Dissertação apresentada para obtenção do grau
de Mestre(a) no Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas, nível Mestrado e
Doutorado, Associação Ampla entre a
Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e
a Universidade do Centro-Oeste (UNICENTRO).

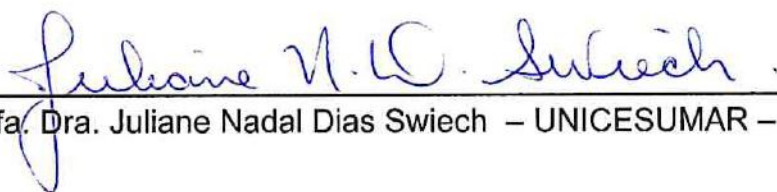
Ponta Grossa, 02 de março de 2026.



Prof. Dra. Juliana Bonametti Olivato – UEPG – Presidente



Prof. Dra. Jane Manfron – UEPG – Membro titular interno



Prof. Dra. Juliane Nadal Dias Swiech – UNICESUMAR – Membro titular externo

À minha mãe, Izabel de Jesus, por me fazer existir e ser; por me ensinar a sonhar e acreditar. Teu amor me blindou. Nada temo. Nem a profundidade do mar, nem a imensidão do céu. Carrego tua força em mim.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter colocado em meu destino todas as oportunidades que me fizeram chegar até aqui. O caminho tornou-se mais leve por conta da fé, que Ele, em dias repletos de desesperança, colocou em meu coração. Sei que, de alguma forma, Ele esteve comigo durante todo o meu trajeto e por isto, sou imensamente grata.

Ao meu pai, José Mariano Lacerda Filho, que, tenho certeza, comemora minhas conquistas do céu. Agradeço a ele e à minha mãe, Izabel de Jesus, por terem me dado, mesmo na dificuldade, o direito de estudar e me aperfeiçoar. Tudo o que fui, sou e serei é resultado da minha criação. Passarei a minha vida tentando retribuir e, ainda assim, não será o suficiente. Para todo o sempre, os venero.

À minha avó, Luci Monteiro de Jesus, e aos meus irmãos, Mariana e Daniel de Jesus Mariano Lacerda, pelas conversas e aconselhamentos.

À minha cadela, Stella, que esteve, literalmente, ao meu lado, me fornecendo, à sua forma, apoio e companhia incondicional, durante todo o processo de escrita desta dissertação.

À minha orientadora, Profa. Dra. Juliana Bonametti Olivato, que me enxergou e me acolheu. Agradeço, com todo o meu apreço, a oportunidade que me deu, assim como todos os ensinamentos. Se hoje realizei um sonho, foi por você. Te carrego comigo com muito carinho.

Aos meus colegas de pós-graduação, Jheniffer Mattos, Ana Paolla Protachevicz, Irailson Monchak, Ana Ventura e Anna Capote, por me auxiliarem na execução de determinados procedimentos laboratoriais e por compartilharem comigo conhecimentos que me fizeram crescer enquanto profissional. Torço pelo sucesso de cada um de vocês.

Aos membros da banca de qualificação do mestrado, Profas. Dras. Jane Manfron e Priscileila Colerato Ferrari e ao Prof. Dr. Flávio Luis Beltrame, por aceitarem o convite para compor a banca avaliadora e também pelas correções e contribuições agregadas a esta pesquisa.

Aos membros da banca de defesa, Profas. Dras. Jane Manfron e Juliane Nadal Dias Swiech, pela participação na etapa final deste trabalho, pelas considerações criteriosas e fundamentais para o aprimoramento desta dissertação.

Às laboratoristas, Maria Aparecida, Josemira e Eli (Farmácia) e Luciane (Complexo de Laboratórios Multiusuários, c-Labmu SEBISA), com quem compartilhei inúmeras tardes, por me ajudarem com vidrarias, reagentes e equipamentos. Obrigada pelas conversas e risos. Mais que companhias diárias, vocês se tornaram minhas amigas.

À Profa. Dra. Jane Manfron, por me ensinar e por permitir a utilização do laboratório de Farmacognosia para a realização da morfoanatomia e histoquímica das folhas e sementes de *Eriobotrya japonica*.

Ao Prof. Dr. Marcos Pileggi, por ceder as cepas de *Staphylococcus epidermidis* e por permitir a utilização do laboratório de Microbiologia para a realização da inoculação bacteriana e para o preparo do meio de cultura.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Associação ampla entre a UEPG e a Universidade Estadual do Centro-Oeste (UniCentro), por concederem a oportunidade de realização do mestrado acadêmico e por fornecerem materiais, equipamentos, disciplinas e professores aptos a agregar experiência e conhecimento durante todo este período.

Ao C-Labmu Geral e à SEBISA e aos seus profissionais por permitirem a utilização de equipamentos que geraram grande parte dos resultados expressos nesta dissertação.

Ao Recursos Hídricos, da UEPG, por sempre me receberem muito bem e me fornecerem água ultrapurificada durante muitos ensaios laboratoriais.

À UEPG, pelo espaço concedido e por unir todos estes excelentes profissionais, promovendo a formação e capacitação de milhares de alunos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por me fornecer apoio financeiro através da bolsa de mestrado, processo nº 131824/2024-4, tornando possível a dedicação integral a este estudo.

A todos que fizeram parte desta caminhada, registro aqui meu mais profundo reconhecimento, carinho e gratidão.

Virá um tempo no qual nossos descendentes ficarão espantados com o fato de que não sabíamos de coisas que para eles são tão evidentes [...]. Muitas descobertas estão reservadas para épocas ainda por vir, quando a lembrança sobre nós estará apagada. A natureza não revela seus mistérios de uma só vez.

(Sêneca)

RESUMO

Eriobotrya japonica (Rosaceae) é uma planta que, por possuir metabólitos secundários, como fenólicos e flavonoides, pode atuar terapeuticamente em doenças, como a dermatite atópica (DA), que envolve, principalmente, a disbiose do microbioma cutâneo, alterações na barreira epidérmica, processos inflamatórios exacerbados e estresse oxidativo. Assim, o presente estudo teve como objetivo caracterizar morfoanatomicamente e histoquimicamente folhas e sementes de *E. japonica*, gênero que conta com 35 espécies, e extrair, via diferentes solventes (acetato de etila, acetona e metanol) e métodos (banho ultrassônico e maceração), fenólicos e flavonoides. O potencial antioxidante (ABTS^{•+} e FRAP) e prebiótico (*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228) também foram avaliados. Os resultados foram associados à análise qualitativa realizada via cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD). As folhas apresentam nervação penínervia, com superfície glabrescente na face adaxial e lanuginosa na abaxial, apresentando estômatos anomocíticos restritos à face abaxial. As células epidérmicas possuem paredes anticlinais retas e o mesofilo é dorsiventral. Estriações cuticulares perpendiculares aos estômatos podem constituir marcadores diagnósticos. Foram observados compostos lipofílicos neutros na cutícula, além de mucilagem e compostos fenólicos no parênquima paliçádico. O teste com lugol confirmou a presença de amido. A nervura central é plana-convexa, com feixes vasculares laterais, e o pecíolo exibe organização vascular semelhante. As sementes, exalbuminosas, variam de globosas a oblongas e contêm fenólicos, proteínas e amido, sendo este último seu principal composto de reserva. Após a quantificação dos níveis de fenólicos e flavonoides totais, a amostra da folha obtida por maceração com acetona (FMacAcet) destacou-se, apresentando alto conteúdo de compostos fenólicos ($175,086 \pm 1,413$ mg EAG.mL⁻¹), sendo, em sua maioria, ácidos fenólicos hidroxicinâmicos, correlacionados, diretamente, à capacidade antioxidante total (CAT) dos extratos (IC₅₀ = 0,008 mg.mL⁻¹), que apresentaram desempenho apenas 9,8 vezes inferior à quercetina no ensaio ABTS^{•+}. Resultado semelhante foi observado no FRAP ($0,143 \pm 0,029$ μmol TE.g⁻¹). Sugere-se que a neutralização de radicais livres é o principal mecanismo antioxidante da espécie. A análise cinética do crescimento microbiano demonstrou alto potencial prebiótico da amostra FMacAcet frente a *S. epidermidis*, com resultados estatisticamente semelhantes aos controles positivos (glicose 1% e inulina) ($p > 0,05$). Por outro lado, os flavonoides da polpa apresentaram atividade bactericida e bacteriostática. Sendo assim, tais informações oferecem aporte relevante para o controle de qualidade da espécie, principalmente caso venha a ser empregada em formulações farmacêuticas. Ademais, os achados reforçam o potencial de *E. japonica* como fonte de compostos fenólicos bioativos, com atividade antioxidante e prebiótica, configurando-se como alternativa promissora para o manejo de condições dermatológicas associadas à disbiose cutânea e ao estresse oxidativo, como a dermatite atópica.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Dermatopatias. Histoquímica. Morfoanatomia.

ABSTRACT

Eriobotrya japonica (Rosaceae) is a plant that, due to its secondary metabolites such as phenolics and flavonoids, may have therapeutic effects on diseases like atopic dermatitis (AD), which mainly involves dysbiosis of the cutaneous microbiome, alterations in the epidermal barrier, exacerbated inflammatory processes, and oxidative stress. Therefore, this study aimed to characterize morphoanatomically and histochemically the leaves and seeds of *E. japonica*, a genus with 35 species, and to extract phenolics and flavonoids using different solvents (ethyl acetate, acetone, and methanol) and methods (ultrasonic bath and maceration). The antioxidant (ABTS^{•+} and FRAP) and prebiotic potential (*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228) were also evaluated. The results were associated with qualitative analysis performed via high-performance liquid chromatography coupled to a diode array detector (HPLC-DAD). The leaves have pinnate venation, with a glabrescent surface on the adaxial side and a lanuginous surface on the abaxial side, and anomocytic stomata restricted to the abaxial side. Epidermal cells have straight anticlinal walls, and the mesophyll is dorsiventral. Cuticular striations perpendicular to the stomata may constitute diagnostic markers. Neutral lipophilic compounds were observed in the cuticle, in addition to mucilage and phenolic compounds in the palisade parenchyma. The Lugol's solution test confirmed the presence of starch. The midrib is plano-convex, with lateral vascular bundles, and the petiole exhibits a similar vascular organization. The exalbuminous seeds vary from globose to oblong and contain phenolics, proteins, and starch, the latter being their main reserve compound. After quantifying the levels of total phenolics and flavonoids, the leaf sample obtained by maceration with acetone (FMacAcet) stood out, presenting a high content of phenolic compounds (175.086 ± 1.413 mg GAE.mL⁻¹) mostly hydroxycinnamic phenolic acids, directly correlated to the total antioxidant capacity (TAC) of the extracts (IC₅₀ = 0.008 mg.mL⁻¹), which showed performance only 9.8 times lower than quercetin in the ABTS^{•+} assay. A similar result was observed in the FRAP (0.143 ± 0.029 μmol TE.g⁻¹). It is suggested that the neutralization of free radicals is the main antioxidant mechanism of the species. Kinetic analysis of microbial growth demonstrated a high prebiotic potential of the FMacAcet sample against *S. epidermidis*, with results statistically similar to the positive controls (1% glucose and inulin) ($p > 0.05$). Furthermore, the flavonoids in the pulp showed bactericidal and bacteriostatic activity. Therefore, this information offers relevant support for the quality control of the species, especially if it is to be used in pharmaceutical formulations. In addition, the findings reinforce the potential of *E. japonica* as a source of bioactive phenolic compounds with antioxidant and prebiotic activity, making it a promising alternative for the management of dermatological conditions associated with cutaneous dysbiosis and oxidative stress, such as atopic dermatitis.

Keywords: Histochemistry. Morphoanatomy. Phenolic compounds. Skin diseases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principais regiões que constatarem a presença de nespereiras	22
Figura 2 – Ambiente cutâneo ideal.....	26
Figura 3 – Múltiplas vias do mecanismo fisiopatológico da AD	29
Figura 4 – Análise morfológica de folhas de <i>Eriobotrya japonica</i>	38
Figura 5 – Secções transversais da folha de <i>E. japonica</i> submetidas à testes histoquímicos...	41
Figura 6 – Características anatômicas de estômatos e tricomas de <i>E. japonica</i> observados na MEV (A-E) e microscopia óptica (F-I)	42
Figura 7 – Secções transversais da nervura central de <i>E. japonica</i> submetidas à testes histoquímicos.....	44
Figura 8 – Secções transversais do pecíolo de <i>E. japonica</i> submetidas à testes histoquímicos	46
Figura 9 – Secções transversais de <i>E. japonica</i> submetidas à MEV (A-C) e microscopia óptica (D-I).....	48
Figura 10 – Secções transversais da semente submetidas à testes histoquímicos	50
Figura 11 – Esquema do processo de extração.....	55
Figura 12 – Detalhamento das divisões realizadas na placa de 96 poços.....	60
Figura 13 – Cromatograma do extrato foliar de <i>E. japonica</i> na concentração de 1 mg.mL ⁻¹ e perfis espectrais UV-DAD representativos de ácidos fenólicos do tipo hidroxicinâmico (HC). (A) Derivados HC com banda I ampla em 310-330 nm (P11-P13, P16 e P17). (B) Derivados HC com banda I dominante acompanhada de “ombros” em menores comprimentos de onda (P10 e P15)	78
Figura 14 – Cromatograma da polpa de <i>E. japonica</i> na concentração de 1 mg.mL ⁻¹ e perfis espectrais UV-DAD representativos de ácidos fenólicos do tipo hidroxicinâmico (HC) (A) e flavonoide (B).....	80

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Relação inversamente proporcional entre a massa de fenólicos e o percentual de flavonoides	66
Gráfico 2 – Relação gráfica demonstrando a correlação entre duas variáveis, sendo IC ₅₀ e fenólicos (A) (correlação negativa moderada) e IC ₅₀ e flavonoides (B) (correlação positiva moderada)	68
Gráfico 3 – Relação gráfica demonstrando a correlação entre duas variáveis, sendo FRAP e fenólicos (A) (correlação positiva significativa) e FRAP e flavonoides (correlação negativa moderada)	71
Gráfico 4 – Cinética de crescimento de <i>Staphylococcus epidermidis</i> após exposição ao meio enriquecido com diferentes tratamentos.	72
Gráfico 5 – Cinética de crescimento de <i>S. epidermidis</i> após exposição ao meio enriquecido com o extrato da folha (A) e da polpa (B).	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Reagentes utilizados para as amostras de folhas (F) e sementes (S) e os compostos evidenciados	36
Tabela 2 – Testes histoquímicos realizados no mesofilo, nervura central e pecíolo de <i>E. japonica</i> representados de acordo com a intensidade da reação	46
Tabela 3 – Amostras preparadas de acordo com matriz, método extrativo e solvente.....	56
Tabela 4 – Teor de compostos fenólicos totais apresentados nos três grupos de amostras testados	62
Tabela 5 – Flavonoides totais (FT) expressos em mg EQ.g ⁻¹ e %.....	64
Tabela 6 – Valores de IC ₅₀ obtidos no ensaio ABTS ^{•+} e significância estatística de ajuste do modelo	67
Tabela 7 – Valores obtidos no ensaio FRAP equivalentes ao Trolox	69
Tabela 8 – Relação entre concentração, compostos fenólicos e crescimento microbiano medidos através da densidade óptica (OD600).	74
Tabela 9 – Tempo de retenção (tR) e máximos de absorção UV ($\lambda_{\text{máx}}$) dos picos cromatográficos da amostra FMacAcet.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS ^{•+}	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
AGCC	Ácido Graxo de Cadeia Curta
AMP	Peptídeo Antimicrobiano
ANOVA	Análise da Variância
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CAT	Capacidade Antioxidante Total
DA	Dermatite atópica
DALYs	<i>Disability-Adjusted Life Years</i>
DCD	Dermicidina
EAG	Equivalente ao Ácido Gálico
EDS	Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios-X
EQ	Equivalente à Quercetina
ERK	Proteína Quinase Serina/Treonina
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FAA	Formaldeído+Ácido Acético+Etanol
FBUAcet	Folha+Banho Ultrassônico+Acetona
FBUAde	Folha+Banho Ultrassônico+Acetato de Etila
FBUMet	Folha+Banho Ultrassônico+Metanol
FcεRi	Receptor Fc para Imunoglobulina E de Alta Afinidade
FMacAcet	Folha+Maceração+Acetona
FMacAdE	Folha+Maceração+Acetato de Etila
FMacMet	Folha+Maceração+Metanol
FRAP	Poder Antioxidante Redutor Férrico
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GBD	<i>Global Burden of Disease</i>
hBDs	β-defensinas humanas
HPLC-DAD de diodos	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo
IC ₅₀	Concentração Inibitória de 50%
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina

ISSAC	<i>International Study of Asthma and Allergy</i>
LL-37	Catelicidina
MDA	Malondialdeído
MEIE	Microambiente Imune Epidérmico
MEV-EC	Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo
NK	Célula <i>Natural Killer</i>
NF- $\kappa\beta$	Fator Nuclear <i>kappa</i> β
OD600	Densidade óptica a 600 nm
p38 MAPK	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno
R	Coeficiente de Correlação
R ²	Coeficiente de Determinação
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RN-ase	Ribonuclease
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SMBUAcet	Semente Madura+Banho Ultrassônico+Acetona
SMBUAdE	Semente Madura+Banho Ultrassônico+Acetato de Etila
SMBUMet	Semente Madura+Banho Ultrassônico+Metanol
SMMacAcet	Semente Madura+Maceração+Acetona
SMMacAdE	Semente Madura+Maceração+Acetato de Etila
SMMacMet	Semente Madura+Maceração+Metanol
SVBUAcet	Semente Verde+Banho Ultrassônico+Acetona
SVBUAdE	Semente Verde+Banho Ultrassônico+Acetato de Etila
SVBUMet	Semente Verde+Banho Ultrassônico+Metanol
SVMacAcet	Semente Verde+Maceração+Acetona
SVMacAdE	Semente Verde+Maceração+Acetato de Etila
SVMacMet	Semente Verde+Maceração+Metanol
TE	Equivalente ao Trolox
Tg	Transmitância Solar Global
Th	Células T Auxiliares
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral <i>alfa</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UV-Vis	Espectroscopia Ultravioleta Visível

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

%	porcentagem
°C	grau Celsius
μL	microlitro (10^{-6} L)
μm	micrômetro (10^{-6} m)
μmol	micromol (10^{-6} mol)
cm	centímetro (10^{-2} m)
g	grama (10^{-3} kg)
m	metro
m/v	massa/volume
mg	miligrama (10^{-3} g)
mL	mililitro (10^{-3} L)
mM	milimolar (10^{-3} mol/L)
nm	nanômetro (10^{-9} m)
pH	potencial hidrogeniônico
λ	<i>lambda</i> – comprimento de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 OBJETIVO GERAL	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
2.2.1 Revisão de Literatura.....	20
2.2.2 Identificação Morfoanatômica e Histoquímica de Folhas e Sementes de <i>Eriobotrya japonica</i>	20
2.2.3 Preparo, Padronização e Caracterização dos extratos	20
3 REVISÃO DA LITERATURA	22
3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS E BIOATIVIDADE DE <i>Eriobotrya japonica</i>	22
3.2 FISIOLOGIA DO TECIDO CUTÂNEO E HOMEOSTASE DA BARREIRA EPIDÉRMICA.....	24
3.3 EPIDEMIOLOGIA DA DERMATITE ATÓPICA	26
3.4 MECANISMO FISIOPATOLÓGICO DA DERMATITE ATÓPICA.....	27
3.5 TRATAMENTO ALTERNATIVO DA DERMATITE ATÓPICA E O USO DE FENÓLICOS E FLAVONOIDES COMO ANTIOXIDANTES	30
3.6 POTENCIAL PREBIÓTICO DE PLANTAS MEDICINAIS	32
4 CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE FOLHAS E SEMENTES DE <i>Eriobotrya japonica</i>	34
4.1 INTRODUÇÃO.....	34
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.2.1 Materiais	35
4.2.2 Métodos	35
4.2.2.1 Herborização e identificação botânica.....	35
4.2.2.2 Análise morfoanatômica e histoquímica	36
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.3.1 Análise Morfológica.....	37

4.3.1.1 Estrutura Foliar	37
4.3.1.2 Sementes	38
4.3.2 Análise Anatômica e Histoquímica	39
4.3.2.1 Lâmina foliar	39
4.3.2.2 Nervura central	43
4.3.2.3 Pecíolo	45
4.3.2.4 Cristais	47
4.3.2.5 Sementes	48
4.4 CONCLUSÃO	51
5 PREPARO, PADRONIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	52
5.1 INTRODUÇÃO	52
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS	53
5.2.1 Materiais	53
5.2.2 Métodos	54
5.2.2.1 Amostragem e preparo dos extratos	54
5.2.2.2 Determinação de compostos fenólicos totais	57
5.2.2.3 Determinação de flavonoides totais	57
5.2.2.4 Análise do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS ^{•+}) ...	58
5.2.2.5 Ensaio de poder antioxidante redutor férrico (FRAP)	58
5.2.2.6 Determinação de atividade prebiótica	59
5.2.2.7 Caracterização qualitativa de compostos fenólicos via HPLC-DAD	60
5.2.2.8 Tratamento estatístico dos dados	61
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.3.1 Compostos Fenólicos Totais	61
5.3.2 Flavonoides Totais	64
5.3.3 ABTS ^{•+}	67
5.3.4 FRAP	69

5.3.5 Atividade Prebiótica	72
5.3.6 Perfil Fenólico dos Extratos Determinado por HPLC-DAD	75
5.4 CONCLUSÃO.....	81
6 CONCLUSÃO GERAL	83
REFERÊNCIAS	84

1 INTRODUÇÃO

Eriobotrya japonica (Thunb.) Lindl., conhecida popularmente como nespereira, é uma árvore subtropical pertencente à família Rosaceae (POWO, 2026a), e, embora nativa do oriente, na China, é difundida por todo o ocidente, como na Espanha e, especialmente, no Brasil (Simão-Bianchini, 2024; Zhu *et al.*, 2022; Ferreres *et al.*, 2009).

A planta pode atingir de 3 a 6 m de altura, sendo que as folhas possuem até 25 cm de comprimento e estão dispostas ao longo do eixo caulinar. Os frutos, chamados de nêspereira, ameixa-amarela ou ameixa-japonesa, por sua vez, possuem cerca de 5 cm e apresentam formato ovoide a elipsoide, com coloração que varia de amarelo a alaranjado (Pawłowska *et al.*, 2023). Dentre os metabólitos secundários encontrados em *E. japonica* estão os ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides e triterpenoides, com atividades biológicas antioxidantes, antivirais, hipoglicêmicas, anti-inflamatórias, dentre outras. A nêspereira, embora não seja amplamente cultivada em escala comercial, é altamente popular no Brasil. Neste contexto, torna-se essencial a realização de estudos que explorem suas propriedades funcionais, a fim de evitar a perda e a subvalorização de seu potencial bioativo (Pawłowska *et al.*, 2023; Costa *et al.*, 2022).

A eficiência terapêutica de uma planta está diretamente relacionada à forma de preparo de seu extrato, uma vez que a extração eficiente depende da afinidade dos fitoconstituintes pelo solvente e método utilizado. A atividade antioxidante de *E. japonica* resulta, majoritariamente, de compostos fenólicos, estando, portanto, fortemente vinculada à utilização de solventes polares durante o processo extrativo (Mogole; Omwoyo; Mtunzi, 2020; Yokota *et al.*, 2006). Além da capacidade antioxidante, estudos demonstram que a nêspereira possui potencial prebiótico sobre cepas de *Lactobacillus rhamnosus* e *L. acidophilus*, relacionado à presença de polissacarídeos de baixo peso molecular e baixa viscosidade extraídos das folhas da planta (Fu *et al.*, 2020).

Diante destas propriedades, *E. japonica* surge como uma planta promissora no tratamento de distúrbios cutâneos inflamatórios crônicos, como a dermatite atópica (DA). Esta condição envolve interações complexas entre fatores ambientais e genéticos, estando associada a alterações no microbioma cutâneo, barreira epidérmica e disfunções no sistema imune que resultam em respostas inflamatórias exacerbadas (Bieber, 2022; Zhang *et al.*, 2022). O estresse oxidativo, advindo da indução da resposta imune do tipo 2, agrava ainda mais a sintomatologia da doença, que tem como manifestações clínicas o prurido, eczema e múltiplas lesões epiteliais (Girolomoni *et al.*, 2021).

Neste contexto, compostos fenólicos e polissacarídicos presentes na nespereira, que possui reconhecida atividade antioxidante, anti-inflamatória e potencial prebiótico, tornam-se possíveis aliados terapêuticos relevantes no manejo da DA, contribuindo para a modulação do processo inflamatório e consequente restauração da integridade cutânea.

Sendo assim, considerando que o gênero *Eriobotrya* compreende 35 espécies (POWO, 2026b), o presente trabalho buscou realizar, de forma integrada, a análise morfoanatômica e histoquímica de folhas e sementes de *E. japonica*. Foram descritas características anatômicas e morfológicas com o auxílio da microscopia óptica e eletrônica, com o objetivo de identificar possíveis marcadores, fitoconstituintes e demais atributos relevantes que contribuam para a autenticação e caracterização desta planta medicinal, promovendo, assim, maior segurança no seu uso terapêutico.

Adicionalmente, o estudo buscou correlacionar os teores de compostos fenólicos e flavonoides com a atividade antioxidante e prebiótica, a partir da análise de extratos obtidos com solventes de diferentes polaridades, como acetona (polar aprótico), metanol (polar prótico) e acetato de etila (moderadamente polar), utilizando dois métodos de extração (maceração e banho ultrassônico) e quatro matrizes vegetais de *E. japonica* (folha, semente verde, semente madura e polpa). A caracterização do perfil fenólico visou fornecer subsídios para a interpretação dos resultados obtidos. Por fim, foi avaliada a atividade prebiótica frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis*, visto que, até o presente momento, não há relatos na literatura acerca desta interação.

Sendo assim, considerando que o estresse oxidativo e a disbiose do microbioma cutâneo são fatores centrais na fisiopatologia da DA, os achados deste estudo podem contribuir para a ampliação do conhecimento científico sobre esta espécie no contexto dos mecanismos envolvidos nestas alterações fisiopatológicas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar *Eriobotrya japonica* sob aspectos morfoanatômicos, histoquímicos e fitoquímicos, a partir da análise de folhas, polpa e sementes, avaliando a atividade antioxidante e o potencial modulador do microbioma cutâneo de seus extratos, bem como correlacionando, de forma qualitativa e quantitativa, os compostos fenólicos e flavonoides com possíveis aplicações na fisiopatologia da dermatite atópica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Revisão de literatura

- I. Discutir o presente trabalho através da imersão na literatura científica e em outras fontes atuais que abordem os seguintes temas: *Eriobotrya japonica*, compostos fenólicos e flavonoides, bem como os métodos de extração destes metabólitos secundários a partir de extratos vegetais, ação antioxidante e prebiótica de compostos naturais, características anatomofisiopatológicas da pele e suas correlações com a dermatite atópica e farmacoterapia alternativa para a contenção dos sintomas desta doença.

2.2.2 Identificação morfoanatômica e histoquímica de folhas e sementes de *Eriobotrya japonica*

- I. Realizar análises anatômicas e histoquímicas visando à histolocalização de fitoconstituintes;
- II. Analisar, ultraestruturalmente, folhas por meio da microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (MEV-EC).

2.2.3 Preparo, padronização e caracterização dos extratos

- I. Coletar e padronizar as folhas, sementes verdes e maduras e polpa da nêspera, adotando como critérios a integridade estrutural, ausência de injúrias visíveis e sinais de deterioração;

- II. Aplicar dois métodos extrativos, maceração e banho ultrassônico, com utilização de solventes distintos (acetato de etila, metanol e acetona) para avaliar o tempo de extração e o impacto de diferentes polaridades de solventes nos compostos extraídos;
- III. Caracterizar os extratos a partir do teor de fenólicos e flavonoides totais, atividade antioxidante, por meio dos métodos de captura dos radicais ABTS^{•+} e de redução férrica (FRAP), além da avaliação do potencial prebiótico frente às cepas de *Staphylococcus epidermidis* através da cinética de crescimento em placa de 96 poços;
- IV. Associar os resultados dos ensaios aos principais grupos de fenólicos identificados qualitativamente via cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD);
- V. Correlacionar os resultados obtidos nos ensaios anteriores com a possibilidade de aplicação dos extratos na fisiopatologia da dermatite atópica.

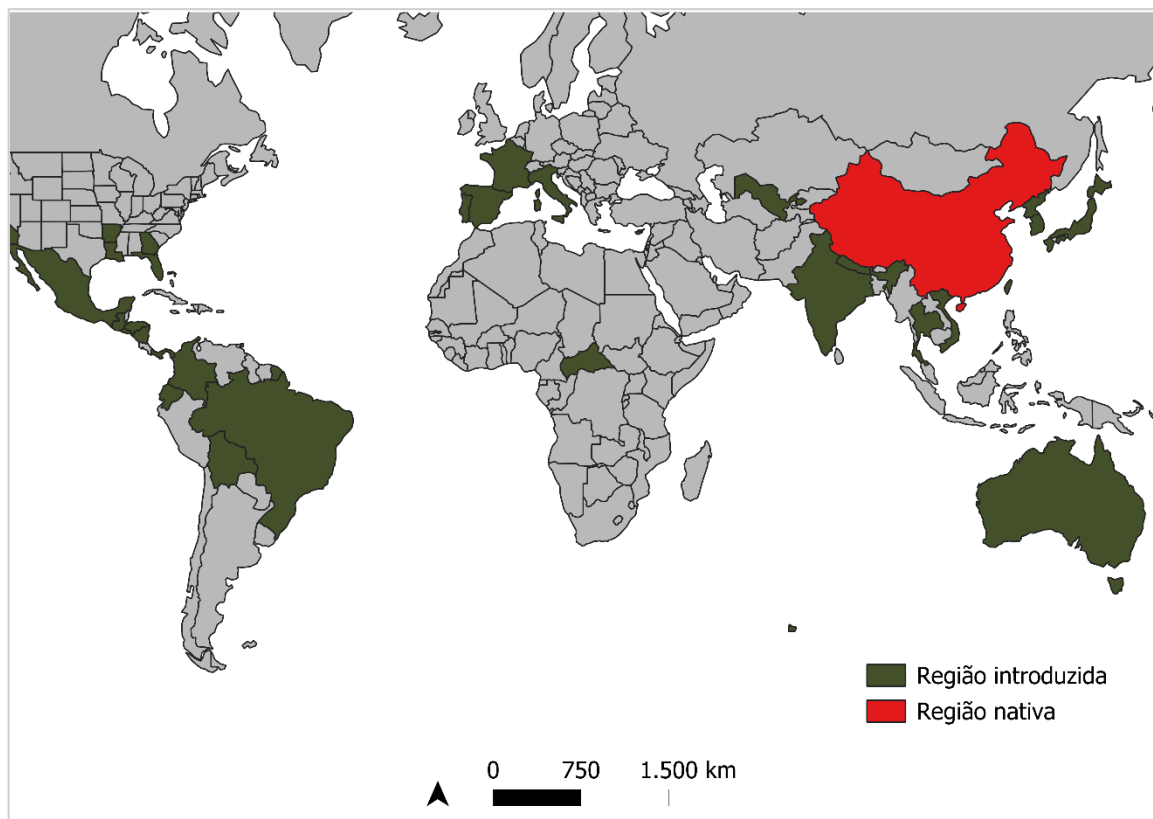
3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS E BIOATIVIDADE DE *Eriobotrya japonica*

A nespereira (*Eriobotrya japonica*), pertencente à família Rosaceae, é uma pequena árvore perene, cultivada sob clima subtropical, originada no oriente há mais de 2000 anos, que foi expandida para mais de 30 países, como Espanha, Estados Unidos, Japão, Índia e Turquia (Figura 1) (Costa *et al.*, 2022; Costa, 2019; Dhiman *et al.*, 2021). Depois da China, a Espanha detém a segunda maior produção de nêspereira, sendo que ambos os países juntos possuem 84% do total das exportações mundiais (Dhiman *et al.*, 2021).

Na América do Sul, sua primeira aparição ocorreu em 1867, ao sul do Brasil. Desde a Antiguidade, extratos de nêspereira têm sido utilizados para tratar inúmeras condições médicas, fato registrado na literatura tradicional como “Compêndio de Matéria Médica” (Costa *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2015; Dhiman *et al.*, 2021).

Figura 1 – Principais regiões que constatarem a presença de nespereiras



Fonte: A autora

Eriobotrya japonica possui de 3 a 6 m de altura (Simão-Bianchini, 2024). Suas folhas, que podem atingir até 25 cm de comprimento, apresentam textura coriácea e possuem ápice acuminado, margem denteada, com limbo lanceolado, além de serem glabrescentes na face adaxial e lanuginosas na face abaxial; seus frutos variam de 3 a 6 cm, contendo de 3 a 7 sementes marrons, que representam até 19% do fruto. Os carboidratos da planta estão contidos, principalmente, na polpa, que corresponde a 70% da nêspira (Costa *et al.*, 2022; Costa, 2019).

Fitoconstituintes são compostos de origem vegetal que produzem efeitos desejáveis à saúde. Eles surgem, principalmente, para proteger a planta contra o estresse ambiental, evitando processos oxidativos e a agressão por patógenos (Dhiman *et al.*, 2021). Sendo assim, a folha da nespereira possui cerca de 164 fitoconstituintes, sendo que os principais, até hoje identificados e isolados, são triterpenos (47), sesquiterpenos (12), flavonoides (15), derivados da megastigmana (13), fenilpropanoides (13) e ácidos orgânicos (27) (Zhu *et al.*, 2022). Ainda, neste órgão, podem ser encontrados compostos fenólicos, como os derivados do ácido hidroxicinâmico (Ferrerres *et al.*, 2009), como o ácido clorogênico (5-O-cafeoilquínico) e neoclorogênico (3-O-cafeoilquínico) (Dhiman *et al.*, 2021).

As sementes da nêspira são consideradas um subproduto valioso, sendo ricas em compostos fenólicos. Apesar da presença de compostos bioativos, estas matrizes ainda são pouco exploradas (Costa *et al.*, 2022), o que pode contribuir para a geração de resíduos sólidos (Costa, 2019). Sendo assim, utilizá-las nas análises contribui significativamente para a redução do desperdício, aproveitando de modo integral *E. japonica*, potencializando seu valor terapêutico e, consequentemente, econômico.

Devido à presença de metabólitos secundários e minerais, *E. japonica* apresenta propriedades biológicas diversas, como atividade hipoglicemiante, antioxidante, anti-inflamatória, antiespasmódica, broncodilatadora, expectorante, anticâncer, antimetastática, antiosteoclastogênese, antiemética, gastroprotetora e hepatoprotetora (Zhu *et al.*, 2022; Fu *et al.*, 2020; Dhiman *et al.*, 2021). Além de constituintes bioativos, destacam-se minerais como o cálcio, fósforo, magnésio, ferro, manganês e potássio. Apesar de não ser rica em ácido ascórbico, a espécie também apresenta elevadas concentrações de retinol, que está associado à manutenção da integridade da pele (Costa *et al.*, 2022).

3.2 FISIOLOGIA DO TECIDO CUTÂNEO E HOMEOSTASE DA BARREIRA EPIDÉRMICA

A pele é o maior e principal órgão de defesa do organismo contra fatores do exossoma, sejam eles biológicos, físicos e/ou químicos. Ela é responsável por 16% do peso corpóreo e pode atingir até 2 m² de tamanho. Dentre suas funções, além da proteção gerada pelo epitélio queratinizado epidérmico, pode-se citar regulação de respostas imunes inatas e adaptativas, cicatrização, termorregulação, percepção sensorial, armazenamento de água e síntese de vitamina D (Shah; McKnight; Hargest, 2024; Wang, Z. *et al.*, 2025; Wang, S. *et al.*, 2025).

Três níveis são observados na pele: a epiderme (camada mais externa), derme (camada intermediária) e hipoderme (camada mais profunda). Além disto, em determinadas áreas do tecido cutâneo observam-se estruturas acessórias como glândulas, unhas e pelos (Shah; McKnight; Hargest, 2024). De acordo com as barreiras, a divisão pode ser realizada em até cinco níveis: físico, químico, microbiano, imune e neuronal (Wang, S. *et al.*, 2025; Sakai; Hatano, 2025).

A barreira física, presente no estrato córneo, comporta-se como a primeira linha de defesa, especialmente contra danos e traumas (Sakai; Hatano, 2025). A barreira química, também chamada de manto hidrolipídico, fornece proteção contra agentes externos, como a radiação UV, patógenos e alérgenos. Ela é composta, principalmente, de AMPs (peptídeos antimicrobianos), que são produzidos por bactérias comensais e queratinócitos na camada suprabasal e estrato basal da epiderme, e lipídeos epidérmicos. Dentre os AMPs, pode-se citar as β -defensinas humanas (hBDs) 1, 2, 3, 4, catelicidinas (LL-37), psoriasinas, proteínas S100, ribonucleases (RN-ases) e dermicidinas (DCD) (Wang, S. *et al.*, 2025), enquanto que as ceramidas são 11, que são classificadas de acordo com a estrutura de ácidos graxos e bases esfingoides (Cristea *et al.*, 2025).

A barreira microbiana, que está associada à simbiose entre microrganismo e hospedeiro, é formada por quatro principais filos, como Actinobacteria (*Propionibacterium* sp. e *Corynebacterium* sp.), Firmicutes (*Staphylococcus* sp.), Proteobacteria e Bacteroidetes (Wang, S. *et al.*, 2025; Wang, Z. *et al.*, 2025). Já a barreira imune, que é responsável pelo sistema de respostas imunológicas, é composta por células de Langerhans, células NK, linfócitos T, mastócitos, basófilos, eosinófilos e neutrófilos. Por fim, a barreira neuronal, que diz respeito à comunicação neuroimune, é estruturada a partir de terminações nervosas periféricas e células

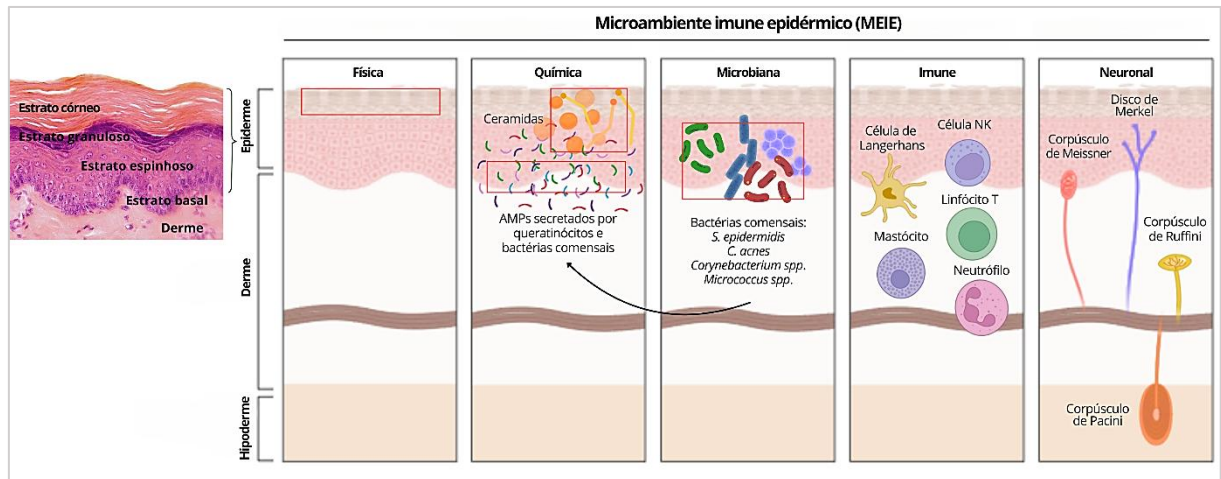
imunes do epitélio cutâneo. A junção das cinco barreiras citadas gera o microambiente imune epidérmico (MEIE) (Wang, S. *et al.*, 2025; Sakai; Hatano, 2025).

A fim de evitar doenças dermatológicas, é preciso manter um equilíbrio no MEIE, especialmente entre a microbiota e os AMPs. Para isto, o pH epitelial deve estar ácido para manter a homeostase das barreiras, a integridade do estrato córneo e o funcionamento enzimático adequado (Wang, S. *et al.*, 2025; Shah; McKnight; Hargest, 2024; Wang, Z. *et al.*, 2025; Sakai; Hatano, 2025). Tal acidificação também é importante visando a atividade antimicrobiana de AMPs, como os hBDs e LL-37, que induzem a proliferação, diferenciação e migração celular, regulação de citocinas e estresse oxidativo e desintegração de biofilmes (Wang, S. *et al.*, 2025). Bactérias como *Cutibacterium acnes* e *Corynebacterium* secretam lipases que hidrolisam triglicerídeos em ácidos graxos, mantendo a acidez do meio e reduzindo a inflamação através da ativação de receptores de ácido graxo nas glândulas sebáceas (Wang, Z. *et al.*, 2025). Quando o pH do estrato córneo aumenta, ocorre uma indução do processo inflamatório e do ciclo de coceira, contribuindo diretamente para a disbiose do microbioma cutâneo e, assim, para a patogênese de doenças como a dermatite atópica (DA) (Sakai; Hatano, 2025).

É essencial que ocorra, também, um equilíbrio entre bactérias comensais, especialmente *Staphylococcus epidermidis*, visto que é o microrganismo mais presente na pele, e os AMPs. Esta Gram-positiva, além de secretar esfingomielinase, que auxilia na nutrição bacteriana e promove a produção de ceramidas, induz a produção de hBD2 e de perforina-2 e inibe o crescimento de *S. aureus* (Wang, Z. *et al.*, 2025). Vale ressaltar que a redução de ceramidas também está intimamente envolvida nas lesões causadas pela DA (Sakai; Takano, 2025).

Portanto, é necessário compreender o papel das barreiras, especialmente as químicas e microbianas, além da indispensabilidade dos AMPs na estabilidade do MEIE (Figura 2), para agregar informações que culminem em novas abordagens para a manutenção e tratamento de doenças dermatológicas, como a DA (Wang, S. *et al.*, 2025).

Figura 2 – Ambiente cutâneo ideal



Fonte: A autora

3.3 EPIDEMIOLOGIA DA DERMATITE ATÓPICA

A DA, também conhecida como eczema atópico, é a doença crônica inflamatória da pele mais comum (Wang, S. *et al.*, 2025; Sakai; Hatano, 2025), em que 80% dos casos são diagnosticados na infância ou adolescência (Bieber, 2022). Sendo assim, cerca de 20% dos casos são infantis e até 8% ocorrem em adultos (Gatmaitan; Lee, 2023). No tecido cutâneo, são observadas lesões ecematosas, eritema, prurido e outras escoriações epiteliais (Amin *et al.*, 2015). A recorrência da sintomatologia prejudica a qualidade de vida dos pacientes, afetando-os somática e psicologicamente (Gatmaitan; Lee, 2023). Atualmente, o aumento de sua incidência resulta de mudanças nos hábitos alimentares, estilo de vida e fatores ambientais (Amin *et al.*, 2015).

No mundo, a prevalência da DA é de 129 milhões, enquanto que a incidência, apenas no ano de 2021, foi de 16 milhões. A DALYs (*Disability-Adjusted Life Years*) da doença se encontra em 5,62 milhões, ocupando o trigésimo sétimo lugar no ranking da *Global Burden of Disease* referente aos anos vividos com incapacidade (GBD, 2024). No Brasil, em 1999, a prevalência média da DA era de 6,3% de acordo com o estudo ISSAC (*International Study of Asthma and Allergy Diseases in Childhood*) (Williams *et al.*, 1999). Sendo assim, embora estudos epidemiológicos acerca desta doença no âmbito nacional sejam escassos, estima-se que atualmente o número esteja maior dado o crescimento populacional.

3.4 MECANISMO FISIOPATOLÓGICO DA DERMATITE ATÓPICA

A homeostase cutânea é afetada por processos inflamatórios exacerbados, que levam ao surgimento de dermatoses inflamatórias crônicas (Cristea *et al.*, 2025). São 3 as fases do desenvolvimento de uma doença atópica: exposição (1), ativação da imunidade inata (2), ativação da imunidade adaptativa (3), com alta atuação de Th2 associada à sensibilização de IgE e ampliação da resposta por Th1, Th17 e Th22 (Bieber, 2022).

O fator causal da DA, especificamente, é multifatorial, englobando fatores do expossoma, disbiose do microbioma cutâneo, alterações na barreira epidérmica (Wang, S. *et al.*, 2025) e exacerbação de respostas imunes e inflamatórias. O intenso processo inflamatório mediado pela superexpressão de IL-4, IL-5 e IL-13, gerado, principalmente, pelo prurido, desestabiliza a barreira epidérmica com a redução de AMPs, ressecando o tecido e tornando-o sensível e altamente permeável, possibilitando o surgimento de infecções secundárias. Posteriormente, anticorpos IgE e eosinófilos migram para a área afetada, sendo que as imunoglobulinas se ligam a receptores FcεRI nas células dendríticas e mastócitos, liberando histamina e outras substâncias pró-inflamatórias (Bieber, 2022; Cristea *et al.*, 2025; Wang, S. *et al.*, 2025). Dentre os achados histopatológicos, pode-se citar edema intercelular da epiderme e infiltrado dérmico de células leucocitárias, como as linfocíticas e macrofágicas (Amin *et al.*, 2015).

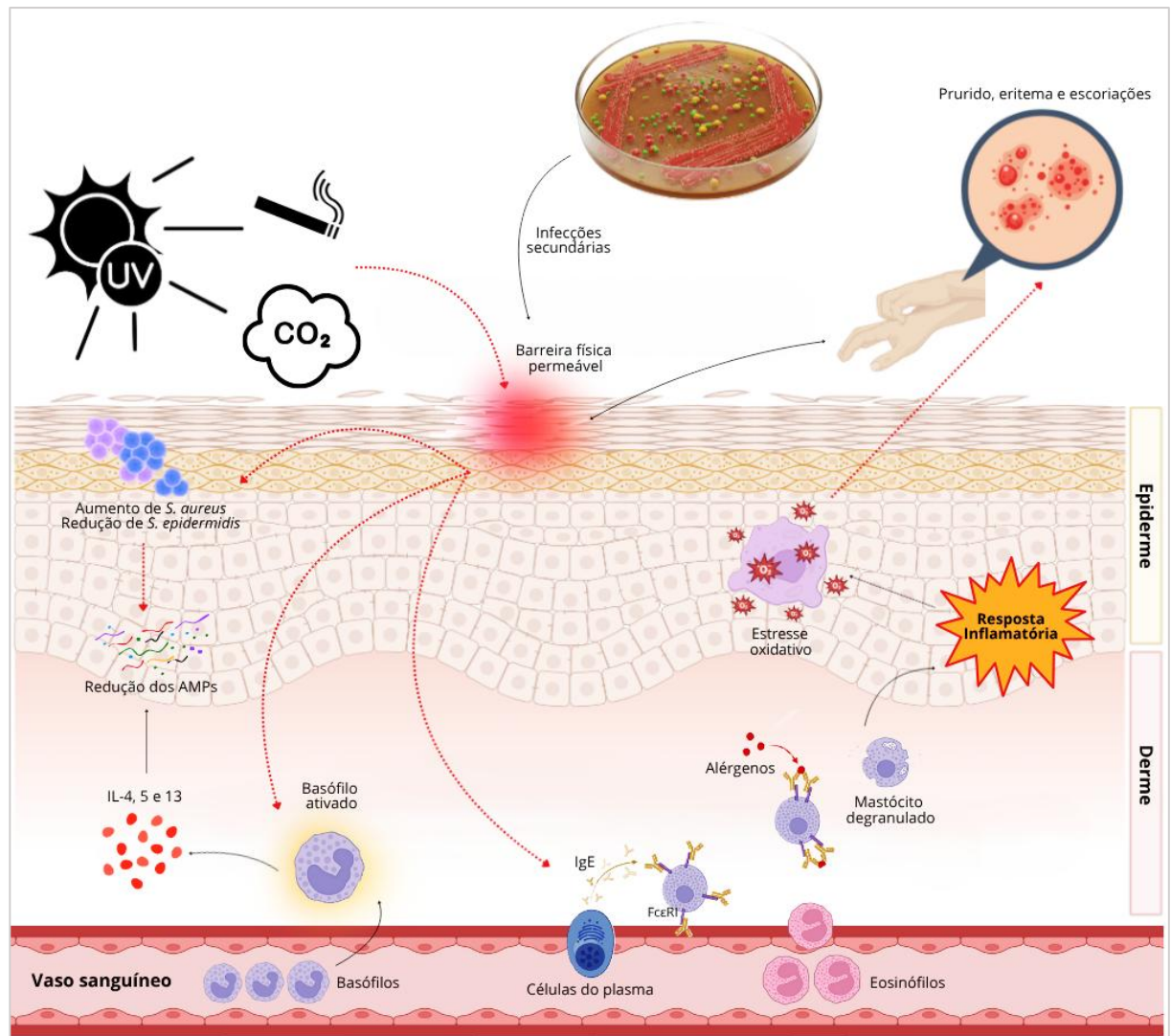
Apesar de não ser bem esclarecida, há uma relevante associação entre o aumento da colonização de *S. aureus* na pele com o desenvolvimento da DA. Isto porque há uma redução significativa de bactérias comensais produtoras de AMPs, interrompendo a integridade da barreira epidérmica em conjunto com a atividade da serina-protease e com a degranulação de mastócitos via δ -toxina, exacerbando o processo inflamatório e pruriginoso (Wang, S. *et al.*, 2025).

A colonização por *S. aureus* é capaz de ativar terminações nervosas sensoriais através de receptores ativados por protease e do canal vaniloide-1 de potencial receptor transitório, liberando mediadores que atuam como citocinas pruritogênicas, como IL-31, amplificando, portanto, o ciclo de coceira e arranhões através do receptor acoplado à proteína G nos nervos presentes na barreira neuronal. Sendo assim, a interação neuroimune-microbioma no MEIE perpetua um ciclo inacabável de coceira que danifica, de modo constante, a integridade da barreira cutânea (Wang, S. *et al.*, 2025; Sakai; Hatano, 2025). Algumas bactérias, como

Roseomonas mucosa, *S. hominis*, *S. epidermidis* e *Nitrosomonas eutropha* são capazes de atuar de forma bactericida e bacteriostática frente à *S. aureus* (Gatmaitan; Lee, 2023).

Muitos distúrbios alérgicos estão relacionados à incapacidade do sistema antioxidante de gerenciar as espécies reativas de oxigênio (ERO) produzidas por células inflamatórias, que, como consequência, contribuem para o agravamento da condição (Cristea *et al.*, 2025). Os radicais livres podem capturar elétrons dos lipídeos membranares, gerando um processo de peroxidação lipídica, que tem como produto final o malondialdeído (MDA). As ERO também reagem com outros componentes celulares, como proteínas e ácidos nucleicos, desordenando suas funções (Amin *et al.*, 2015). De acordo com um estudo feito por Amin *et al.* (2015), pacientes com DA apresentam altos níveis de MDA e baixos níveis de vitamina A, E e C, ou seja, antioxidantes endógenos. Os autores concluíram que o estresse oxidativo é considerado um dos principais problemas no que tange à DA, sendo um dos possíveis causadores da sua patogênese. A Figura 3 demonstra o processo fisiopatológico envolvido na DA.

Figura 3 – Múltiplas vias do mecanismo fisiopatológico da AD



Fonte: A autora

A DA culmina em múltiplas lesões, que podem coexistir, no tecido cutâneo. Elas são classificadas em agudas, como exsudação, edema e eritema, ou crônicas, como despigmentação, xerose e liquenificação. Deste modo, o diagnóstico se baseia na análise morfológica e distributiva das lesões. Sendo assim, de acordo com a morfologia da DA, estão os fenótipos: numular (lesões circulares), o mais comum; semelhante ao prurigo nodular (PN) (lesões nodulares pruriginosas); eritrodermia (lesões esfoliativas); ponfolix (lesões eruptivas vesiculares nas palmas e plantas); papular/folicular (lesões papilares ao redor de folículos pilosos); e queilite eczematosa (lesões labiais). No que diz respeito à topografia, estão as dermatites flexurais, faciais, palpebrais, de cabeça e pescoço, mãos e pés e mamilares (Girolomoni *et al.*, 2021).

3.5 TRATAMENTO ALTERNATIVO DA DERMATITE ATÓPICA E O USO DE FENÓLICOS E FLAVONOIDES COMO ANTIOXIDANTES

A grande parte das terapias medicamentosas disponíveis para o manejo de distúrbios cutâneos apresenta caráter invasivo, sendo frequentemente associada a múltiplos efeitos adversos. Neste contexto, observa-se um crescente interesse pela utilização de produtos naturais, com destaque para as espécies pertencentes à família Rosaceae. Plantas como *Rosa canina* L. (silva-macha), *Fragaria vesca* L. (morango-silvestre), *Malus domestica* (Suckow) Borkh. (maçã), *Cydonia oblonga* Mill. (marmeleiro), *Prunus persica* (L.) Batsch (pessegueiro) e *Rosa alba* L. (rosa branca) apresentam, através de fenólicos e flavonoides, propriedades capazes de promover a regeneração e o aumento da qualidade da pele (Cristea *et al.*, 2025).

Eriobotrya japonica também se destaca no âmbito terapêutico da psoríase, hiperpigmentação da pele, acne e distúrbios inflamatórios do tecido cutâneo, visto que é rica em polifenóis, como ácidos fenólicos, flavonoides, lignanas, cumarinas, estilbenos e proantocianidinas, e triterpenoides, como ácidos corosólicos, ursólicos, tormenticos, oleanólicos e maslínicos (Cristea *et al.*, 2025; Liu *et al.*, 2025; Kuo *et al.*, 2025). Dentre os flavonoides presentes na nespereira, a epicatequina, rutina, procianidina C1 e naringenina são os fitoconstituintes com maior atividade biológica (Kuo *et al.*, 2025).

Para a obtenção de extratos ricos em substâncias bioativas, é preciso avaliar criteriosamente o método de extração e o solvente utilizado. A extração com solventes orgânicos é considerada a abordagem mais adequada para extrair compostos-alvo de matrizes complexas, como as drogas vegetais, sendo que o solvente hidroalcoólico ainda se mantém entre os mais efetivos na extração de polifenóis (Liu *et al.*, 2025). Um estudo de Mogole, Omwoyo e Mtunzi (2020) avaliou a composição de extratos preparados com metanol, acetona, acetato de etila e hexano. A acetona, que tem polaridade de 0,355, foi o único solvente que extraiu todos os bioativos analisados (fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas, alcaloides, proteínas, carboidratos, glicosídeos e esteroides).

O estresse oxidativo constitui um dos principais preditivos para inúmeros quadros patológicos, como processos inflamatórios, carcinogênicos e doenças metabólicas (Kim *et al.*, 2025). Ele ocorre através da produção exacerbada de ânions superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radicais hidroxila ($\cdot OH$) e radicais hidroperoxila ($HOO^{\cdot}$), com a contenção inadequada destas ERO pelo sistema antioxidante. Como consequência, são observadas lesões nas fitas de DNA, proteínas e

membranas celulares (Kuo *et al.*, 2025), gerando peroxidação lipídica, perda da integridade e fluidez celular, além da senescência e morte de células saudáveis (Liu *et al.*, 2025).

Neste sentido, em relação aos produtos naturais, os compostos fenólicos são os grandes responsáveis pelas atividades antioxidantes de espécies vegetais. Estes fitoconstituintes são produzidos pela defesa das plantas frente ao estresse oxidativo sofrido por elas, no entanto, são capazes de atuar como substâncias antioxidantes de modo *ex planta*, contribuindo com suas atribuições no âmbito farmacêutico. A atividade antioxidante de um extrato vegetal pode ocorrer por meio da reatividade às ERO e/ou quelação de metais, sendo que a neutralização dos radicais pode ocorrer a partir de dois mecanismos: (1) transferência de hidrogênio do grupo hidroxila fenólico ou (2) transferência de elétrons + transferência protônica. A capacidade antioxidante de determinada matriz pode ser avaliada por meio de radicais sintéticos ou íons metálicos, como complexos Fe^{3+} ou Cu^{2+} (Csepregi *et al.*, 2016).

Compostos fenólicos como os flavonoides atuam neutralizando e reduzindo a produção de ERO através da xantina oxidase. Os polifenóis da nêspera e de seus subprodutos também diminuem o malondialdeído, um produto da reação de peroxidação lipídica. Estes mecanismos, em sinergia com os carotenoides, como β -caroteno e β -criptoxantina, e vitamina C e E, são exemplos do fortalecimento do sistema antioxidante proporcionado por plantas medicinais a fim de manter o equilíbrio redox intracelular e a superioridade de enzimas antioxidantes, como a catalase, glutatona peroxidase e superóxido dismutase (Liu *et al.*, 2025).

Outra forma de polifenóis atuarem no tecido cutâneo é através da promoção da elasticidade da pele, dado que o processo de síntese de proteínas estruturais, como o colágeno e a elastina, é estimulado por tais fitoconstituintes. Já os terpenos, como ácido corosólico e pomólico, facilitam a síntese de ácido hialurônico em fibroblastos dérmicos humanos e inibem a hialuronidase, promovendo, assim, a expressão de genes-chave envolvidos na síntese de ceramidas cutâneas e impedindo processos de glicação. Por fim, flavonoides como a quercetina, kaempferol, miricetina e flavonóis (catequinas, epicatequinas e procianidinas) amenizam o envelhecimento, a inflamação e a desidratação cutânea, protegendo, também, a pele contra danos ambientais (Cristea *et al.*, 2025).

Espécies que constituem a família Rosaceae, como *Pyrus ussuriensis* Maxim. (pera) e *Rosa multiflora* Thunb. (rosa japonesa), também são capazes de reduzir processos inflamatórios, com atuação significativa na redução da DA em ratos (Cristea *et al.*, 2025). *Eriobotrya japonica*, por sua vez, pode atuar como droga anti-inflamatória a partir de múltiplas vias (Dhiman *et al.*, 2021), como a regulação de fatores pró-inflamatórios, inibição enzimática

e inativação de fatores de transcrição. Especificamente, a planta influencia a atividade de quinases, como a p38 MAPK (quinase ativada por mitógeno) e a ERK (quinase regulada por sinal extracelular), bem como a do NF- κ B (fator de transcrição nuclear), reduzindo a expressão de genes pró-inflamatórios (Cristea *et al.*, 2025; Liu *et al.*, 2025).

Fitoconstituintes da nêspira podem inibir a secreção de citocinas como IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α e elevar níveis de IL-10, catalase, superóxido dismutase-1 e glutathione peroxidase. A secreção de IgE também é inibida, levando à neutralização da ativação de mastócitos e ao controle da secreção de histamina. Estes fatores demonstram que os extratos de *E. japonica* regulam a resposta imunológica e a sintomatologia, além de favorecer a cicatrização cutânea em casos de DA (Liu *et al.*, 2025).

3.6 POTENCIAL PREBIÓTICO DE PLANTAS MEDICINAIS

Estados inflamatórios causados por doenças dermatológicas, como a DA, estão diretamente associados, além de processos oxidativos e imunes, à disbiose do microbioma cutâneo e/ou intestinal e à redução de AMPs presentes nas barreiras da pele. Muitos dos tratamentos sintéticos advindos da indústria farmacêutica promovem redução destes peptídeos (Wang, S. *et al.*, 2025), aumentando o desequilíbrio do MEIE e favorecendo a proliferação de cepas patogênicas. Dada a importância da simbiose cutânea, é necessário que novos estudos direcionem, também, as terapêuticas à ação prebiótica de seus compostos ativos.

Para além do microbioma cutâneo, estudos indicam que há um eixo intestino-pele, ou seja, que disfunções no microbioma intestinal também podem acarretar doenças cutâneas, como a DA, psoríase, rosácea e acne. Ao que se sabe, embora não esteja totalmente elucidado, há o envolvimento do sistema neuroendócrino. Isto ocorre porque os microrganismos intestinais são capazes de estimular vias neurais associadas à produção de neurotransmissores como o ácido gama-aminobutírico (GABA), norepinefrina, serotonina e acetilcolina. Estes mensageiros químicos, por sua vez, induzem a liberação de hormônios que resultam em efeitos sistêmicos, como processos inflamatórios exacerbados (Wang, Z. *et al.*, 2025).

Pesquisas demonstram que *E. japonica* apresenta atividade prebiótica, sendo que o percentual de polissacarídeos desta planta varia de 2,87 a 5,29% (Wu *et al.*, 2021; Fu *et al.*, 2020). Dentre os principais monossacarídeos presentes nos polissacarídeos da nespereira, pode-se citar a ramnose, ácido galacturônico, arabinose e galactose. Dentre os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), produzidos na microbiota intestinal através da fermentação de polissacarídeos

indigestíveis por cepas como as de *Lactobacillus*, estão os ácidos acético, propiônico e butírico (Wu *et al.*, 2021).

Fu *et al.* (2020) demonstraram que em folhas de nespereira estão presentes conjugados de polissacarídeos-fenólicos. Os extratos, em comparação com a inulina, apresentam fortes indícios de atividade prebiótica frente às cepas de *Lactobacillus rhamnosus* e *L. acidophilus*, especialmente pela produção de AGCCs a partir destas bactérias. Wu *et al.* (2021) concluíram que os polissacarídeos indigestíveis da nespereira são degradados pela microbiota intestinal, produzindo açúcares redutores como fonte de carbono, indicando que *E. japonica* possui potencial como prebiótico. Outras plantas da família Rosaceae, como *Rosa roxburghii* Tratt., também apresentam atividade prebiótica intestinal, sendo que seus polissacarídeos englobam a arabinose, galactose, glicose, manose, xilose e caramelo (Wang *et al.* 2023).

Atualmente, são escassos os estudos que relatam a atividade prebiótica de determinadas plantas, especialmente as da família Rosaceae, no microbioma cutâneo. No entanto, algumas das pesquisas disponíveis demonstram que extratos de *Rosa × centifolia* L., ricos em compostos fenólicos, favorecem o crescimento de *S. epidermidis*, mas não de *S. aureus* (Mur *et al.*, 2024), mecanismo envolvido diretamente na contenção da fisiopatologia da AD.

Considerando que os polifenóis foram reconhecidos como potenciais prebióticos, conforme demonstrado em um estudo de Ivanković *et al.* (2023), que apontou um estímulo no crescimento de *S. epidermidis* com o aumento de fenólicos nos extratos de *Ribes nigrum* L. (Glossulariaceae), é válido considerar tal relação em novos estudos de atividade prebiótica, seja ela intestinal ou cutânea.

4 CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE FOLHAS E SEMENTES DE *Eriobotrya japonica*

RESUMO:

Este estudo teve como objetivo associar a morfoanatomia e histoquímica de folhas e sementes de *E. japonica*. Folhas e sementes, previamente identificadas botanicamente, foram analisadas por microscopia óptica e eletrônica de varredura (MEV) e submetidas a testes histoquímicos para a histolocalização de fitoconstituintes. As folhas, penínérveas, são glabrescentes na face adaxial e lanuginosas na abaxial; hipoestomáticas, com estômatos anomocíticos restritos à face abaxial. As células epidérmicas possuem paredes anticlinais retas, enquanto o mesofilo é dorsiventral. Estriações cuticulares perpendiculares aos estômatos podem constituir marcadores específicos. Os tricomas são tectores e unicelulares. Foram observados compostos lipofílicos neutros na cutícula e ácidos no mesofilo, mucilagem no parênquima paliçádico, além de fenólicos na região paliçádica. O teste com lugol confirmou a presença de amido. A nervura central é plana-convexa, com feixes vasculares laterais; o parênquima cortical fundamental apresenta cristais, drusas, fenólicos e amiloplastos. O xilema é lignificado, e taninos condensados ocorrem junto a fibras esclerenquimáticas. Pectinas e polissacarídeos também foram detectados. O pecíolo exibe organização vascular semelhante à da nervura central, com traços do mesofilo em arranjo cilíndrico na base. As sementes variam de globosas a oblongas, são lisas, exalbuminosas e apresentam dois cotilédones. Elas contêm fenólicos, proteínas e amido, sendo este último abundante e caracterizado como principal composto de reserva. Reforça-se a importância de aprofundar estudos sobre mucilagem e identificação elementar dos cristais para auxiliar na diferenciação entre espécies do gênero *Eriobotrya*.

Palavras-chave: Amido. Compostos fenólicos. Folhas de planta. Rosaceae. Sementes.

4.1 INTRODUÇÃO

A família Rosaceae compreende cerca de 104 gêneros, sendo mais prevalente nas regiões de clima temperado (POWO, 2026c; Cristea *et al.*, 2025). Dentre eles, destaca-se *Eriobotrya japonica*, popularmente conhecida como nespereira, que conta com 35 espécies aceitas (POWO, 2026b). Embora seja originária da região centro-sul chinesa, onde é cultivada há mais de 2000 anos, a espécie foi difundida para mais de 30 países, como Itália, Turquia e Brasil. No território brasileiro, sua aparição é datada de 1867, na região sul (Costa *et al.*, 2022).

A nespereira é uma planta de vida longa, que pode se apresentar na forma de arbustos ou árvores, variando de 4 a 10 metros de altura, respectivamente. Ela possui tronco curto e copa arredondada, e suas folhas, que são alternas no caule e têm 25 cm de comprimento (Pawłowska *et al.*, 2023), contêm estípulas, característica marcante da família. Rosaceae, de modo geral, apresenta frutos diversos, como drupas e pomóideas, e conta com polinização entomófila (Cristea *et al.*, 2025). Em *E. japonica*, destacam-se como fitoconstituintes principais os

compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides, triterpenoides e polissacarídeos, responsáveis por atividades biológicas como as antioxidantes, antidiabéticas e anticâncer (Costa *et al.*, 2022; Kim *et al.*, 2025).

Os frutos de *E. japonica*, conhecidos como nêspera ou ameixa japonesa, apresentam formato redondo ou elíptico, medindo de 2 a 5 cm de comprimento e podendo pesar até 40 g. Sua casca fina, de coloração amarelo-alaranjada, recobre uma polpa branca rica em compostos aromáticos, como fenilacetaldéido, hexanal, ácido hexanoico e ionona, responsáveis pelo sabor característico, que é adocicado e levemente ácido. As sementes, que representam cerca de 20% da massa do fruto, destacam-se pelo elevado teor de amido (Costa *et al.*, 2022; Pawłowska *et al.*, 2023). Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo realizar a análise morfoanatômica associada à histoquímica de folhas e sementes de *E. japonica*.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Materiais

Folhas desenvolvidas e sem injúrias físicas e/ou fisiológicas, além de sementes de *E. japonica*, foram coletadas durante o período de julho de 2024 (25°05'39" S 50°06'08" W). Houve a utilização de formaldeído P.A (Neon, Brasil), ácido acético glacial P.A (Biotec, Brasil), etanol P.A (Neon, Brasil), hipoclorito de sódio (Bio-Kriss, Brasil), ácido acético glacial, dicromato de potássio 20%, cloreto férrico 2%, Sudan III, Sudan Black, floroglucina, ácido clorídrico, reagente de Wagner, reagente de Dragendorff, reagente de Ellram, vanilina clorídrica, vermelho de rutênio, Xilidine Ponceau, lugol, *oil red*, sulfato azul de Nilo, azul brilhante de Coomassie, azul de metileno e reagente de Nadi.

4.2.2 Métodos

4.2.2.1 Herborização e identificação botânica

Um exemplar de *E. japonica* contendo partes reprodutivas foi herborizado e enviado ao Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (HUPG) para identificação botânica. A exsicata está catalogada sob o número de registro 23.361. O processo de coleta foi notificado

ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o registro A76BCFA.

4.2.2.2 Análise morfoanatômica e histoquímica

As folhas foram submetidas à fixação em FAA 70 (formaldeído 37%, ácido acético glacial e etanol 70%, 5:5:90 v/v/v) por três dias (Johansen, 1940). Após a lavagem com água, o armazenamento final foi realizado em etanol 70%. Foram então realizados cortes paradérmicos para avaliação inicial das faces adaxial e abaxial, que foram tratadas com hipoclorito de sódio 50% até a translucência e, em seguida, lavadas com água destilada e neutralizadas em solução de ácido acético 5%.

Estes cortes foram corados em safranina (Berlyn; Miksche, 1976) e montados em glicerina 50%. Posteriormente, as folhas e o pecíolo foram cortados transversalmente, entre 15 e 30 μm , com o auxílio de lâminas. Os cortes foram corados metacromaticamente em azul de toluidina (O'Brien; Feder; McCully, 1964) e montados identicamente aos cortes paradérmicos. As sementes seguiram o mesmo processo de fixação das folhas e os cortes selecionados foram corados com azul de Astra e fucsina básica (Kraus *et al.*, 1998).

As fotomicrografias das análises microscópicas e histoquímicas foram realizadas utilizando um microscópio fotônico Olympus CX 31, acoplado à câmera digital C7070, no Laboratório de Farmacognosia da UEPG. A Tabela 1 apresenta os reagentes utilizados para as folhas e sementes durante a histolocalização de grupos de metabólitos secundários.

Tabela 1 – Reagentes utilizados para as amostras de folhas (F) e sementes (S) e os compostos evidenciados

Reagentes	F	S	Compostos	Referência
Dicromato de potássio 20%	X	X	Fenólicos	Gabe, 1968
Cloreto férrico 5%	X	X	Fenólicos	Johansen, 1940
Sudan Black	X	X	Lipofílicos	Pearse, 1972
Floroglucina/HCl	X		Ligninas	Oliveira, Akisue, Akisue, 2014
Ellram		X	Alcaloides	Furr e Mahlberg, 1981
Dragendorff	X		Alcaloides	Yoder e Mahlberg, 1976
Vanilina clorídrica 0,5%	X		Taninos Condensados	Mace e Howell, 1974
Vermelho de rutênio 0,002%	X		Pectinas	Johansen, 1940

Reagentes	F	S	Compostos	Referência
Lugol 2%	X	X	Amido	<i>Berlyn e Miksche, 1976</i>
<i>Oil red</i>	X		Látex	<i>Putranto et al., 2015</i>
Sulfato azul de Nilo	X		Lipídeos neutros e ácidos	<i>Cain, 1947</i>
Azul brilhante de Coomassie	X	X	Proteínas	<i>Fisher, 1968</i>
Xilidine Ponceau		X	Proteínas	<i>Vidal, 1970</i>
Azul de metileno	X		Mucilagem	<i>Proskauer, 1962</i>
Nadi	X		Óleo essencial	<i>David e Carde, 1964</i>

Fonte: A autora

A análise ultraestrutural de superfície de folhas foi realizado em microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras da face adaxial e abaxial foram dessecadas em gradiente crescente de série alcoólica (70, 80, 90 e 100%). Posteriormente, as amostras dessecadas foram adicionadas a *stubs* de alumínio, que foram submetidos ao revestimento com ouro através de um revestidor por pulverização Quorum (modelo SC7620), adequando assim os parâmetros de condutibilidade. As fotomicrografias foram geradas por meio de um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo Mira 3 (Tescan, Brno-Kohoutovice, República Tcheca).

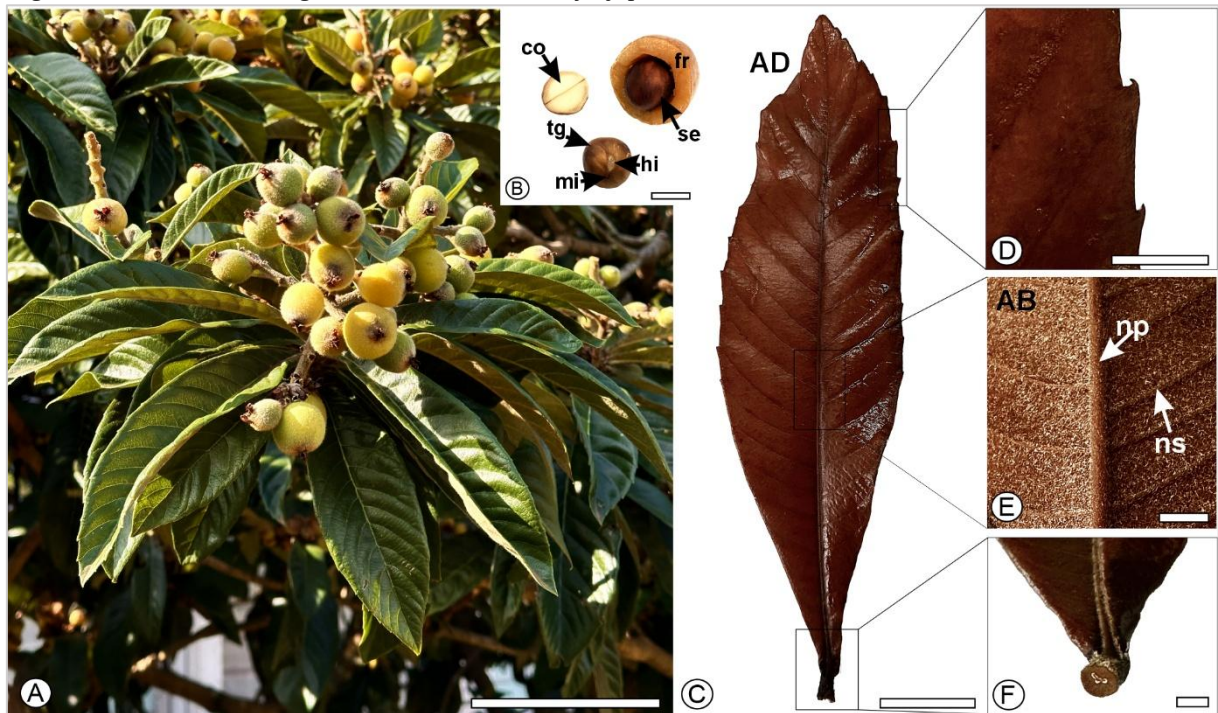
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Análise Morfológica

4.3.1.1 Estrutura foliar

As folhas de *E. japonica* têm cerca de 15-25 cm de comprimento e 10 cm de largura. São coriáceas, peciolares, com a face adaxial verde e glabrascente e a face abaxial lanuginosa, sendo mais clara que a adaxial. A nervura central é biconvexa, apresentando proeminência significativa na face abaxial e ramificando-se em nervuras secundárias, evidenciando nervação penínérvea. O limbo foliar apresenta forma lanceolada, ápice acuminado, margem denteada na metade superior, base atenuada e filotaxia alterna. O pecíolo tem inserção lateral, é reto no aspecto geral e ovalado a arredondado em secção transversal. A Figura 4 apresenta as folhas de nespereira *in natura* e durante a análise morfológica.

Figura 4 – Análise morfológica de folhas de *Eriobotrya japonica*



Notas: A: folhas *in natura*, com posição alterna no caule; B: caracterização morfológica da semente; C: face adaxial de uma folha contendo cerca de 25 cm de comprimento; D: denteações presentes na $\frac{1}{2}$ superior da folha; E: face abaxial extremamente pilosa, com nervura central evidente e nervuras secundárias; F: pecíolo ovalado, com um feixe medular central e outros dois laterais. (AD: adaxial; AB: abaxial; co: cotilédone; fr: fruto; hi: hilo; mi: micrópila; nc: nervura central; ns: nervuras secundárias; se: semente; tg: tegumento). Escala: A: 15 cm; B: 3 cm; C-E: 1 cm.

Fonte: A autora

4.3.1.2 Sementes

As sementes de *E. japonica* variam de globosas a oblongas (Figura 4B), com tegumento acastanhado, brilhoso e levemente endurecido. O hilo é facilmente identificável, variando de pontual a oval, com discreto espessamento nas bordas. Na extremidade, observa-se uma pequena depressão, identificada como a micrópila. O tegumento pode ser removido facilmente mediante leve pressão, revelando a superfície interna lisa.

O embrião está localizado subjacente ao tegumento e é composto por dois cotilédones plano-convexos e carnosos, sem endosperma, caracterizando a semente como exalbuminosa. As sementes apresentam comprimento médio de 1,4 cm e diâmetro de 1,1 cm, com variação de 1 a 3 sementes por fruto.

A literatura relata diferentes variações morfológicas nas sementes da espécie, que são responsáveis por até 30% do fruto (Dhiman *et al.*, 2021). Elimasni e Nasution (2021) relataram a forma ovoide e atribuíram a diversidade de formas a fatores genéticos intrínsecos da espécie. Em Rosaceae, as sementes são tipicamente exalbuminosas, com cotilédones volumosos e de

consistência carnosa (Xu; Deng, 2017). Segundo Cuevas, Hueso e Puertas (2003), as flores de *E. japonica* apresentam cinco lóculos com dois óvulos cada, sendo fisiologicamente capazes de formar até dez sementes. No entanto, um baixo índice de sementes por fruto é amplamente relatado, com média de 1 a 4 sementes (Qin *et al.*, 2022; Zhenguang; Shunquan; Qingliang, 2013; Dhiman *et al.*, 2021).

A baixa produção de sementes tem sido associada a elevadas taxas de degeneração, estimadas entre 60 e 70% (Deng *et al.*, 2008; Juan *et al.*, 2012). Este fenômeno pode estar relacionado a características morfoanatômicas das flores, além de falhas nos mecanismos de polinização e fertilização. De acordo com Wilcock e Neiland (2002) e Qin *et al.* (2022), o desenvolvimento dos óvulos é comprometido por reduções no tamanho das estruturas florais, crescimento incompleto do tubo polínico e competições por recursos. Deste modo, portanto, o sucesso da fertilização é limitado, o que justifica as altas taxas de degeneração embrionária observadas em *E. japonica* (Juan *et al.*, 2012).

4.3.2 Análise Anatômica e Histoquímica

4.3.2.1 Lâmina foliar

As descrições anatômicas do mesofilo, nervura central e pecíolo, corroboram com as previamente relatadas por Souza *et al.* (2003). As células epidérmicas apresentam paredes anticlinais retas (Figura 5A). Em secções transversais, observa-se uma epiderme unisseriada em ambas as faces (Figura 5F), com células maiores na face adaxial, enquanto as da face abaxial são levemente achatadas. A epiderme está recoberta por uma cutícula lisa, que é mais espessa na superfície adaxial. Abaixo da epiderme, localiza-se a hipoderme. O mesofilo é do tipo dorsiventral, composto por 3 a 5 camadas de parênquima paliçádico e 5 a 6 de parênquima esponjoso.

Como dicotiledônea, *E. japonica* apresenta mesofilo não homogêneo, típico de Angiosperma, organizado a partir de divisões histológicas superior e inferior. A porção superior, também conhecida como paliçádica, possui células alongadas organizadas em múltiplas camadas, cujo número é diretamente proporcional à intensidade luminosa. Enquanto que o parênquima esponjoso, situado na porção inferior, é frouxamente disposto, formando aerênquimas que facilitam trocas gasosas de O₂ e CO₂ (Beck, 2005).

Estudos anteriores demonstram que a presença de aerênquimas está positivamente correlacionada ao número de estômatos e à produção de clorofila por unidade de área (Buisson; Lee, 1993). Nas folhas de nespereira, observa-se uma cutícula espessa e rica em lipídeos neutros, cuja função é proteger os espaços intercelulares da entrada de água durante períodos de elevada umidade, facilitando o processo de aeração (Romberger; Hejnowicz; Hill, 1993; Beck, 2005).

As folhas são hipoestomáticas, com estômatos anomocíticos localizados exclusivamente na face abaxial, ao nível das células epidérmicas (Figura 6A). Via MEV, observam-se estriações na cutícula perpendiculares aos estômatos, que podem ser consideradas marcadores específicos da espécie (Figura 6B).

Além de serem hipoestomáticas, as folhas de *E. japonica* apresentam criptas estomáticas e tricomas unicelulares, características comuns da família Rosaceae (Metcalfe; Chalk, 1950). As extensões de bainha observadas na lâmina foliar são compostas por esclerênquimas e atuam como estruturas de suporte, facilitando o transporte de solutos entre as veias e a epiderme (Beck, 2005). Os tricomas são tectores de parede espessada e ocorrem predominantemente na face abaxial (Figuras 6F-I). Não foram observadas estruturas epidérmicas significativas na face adaxial.

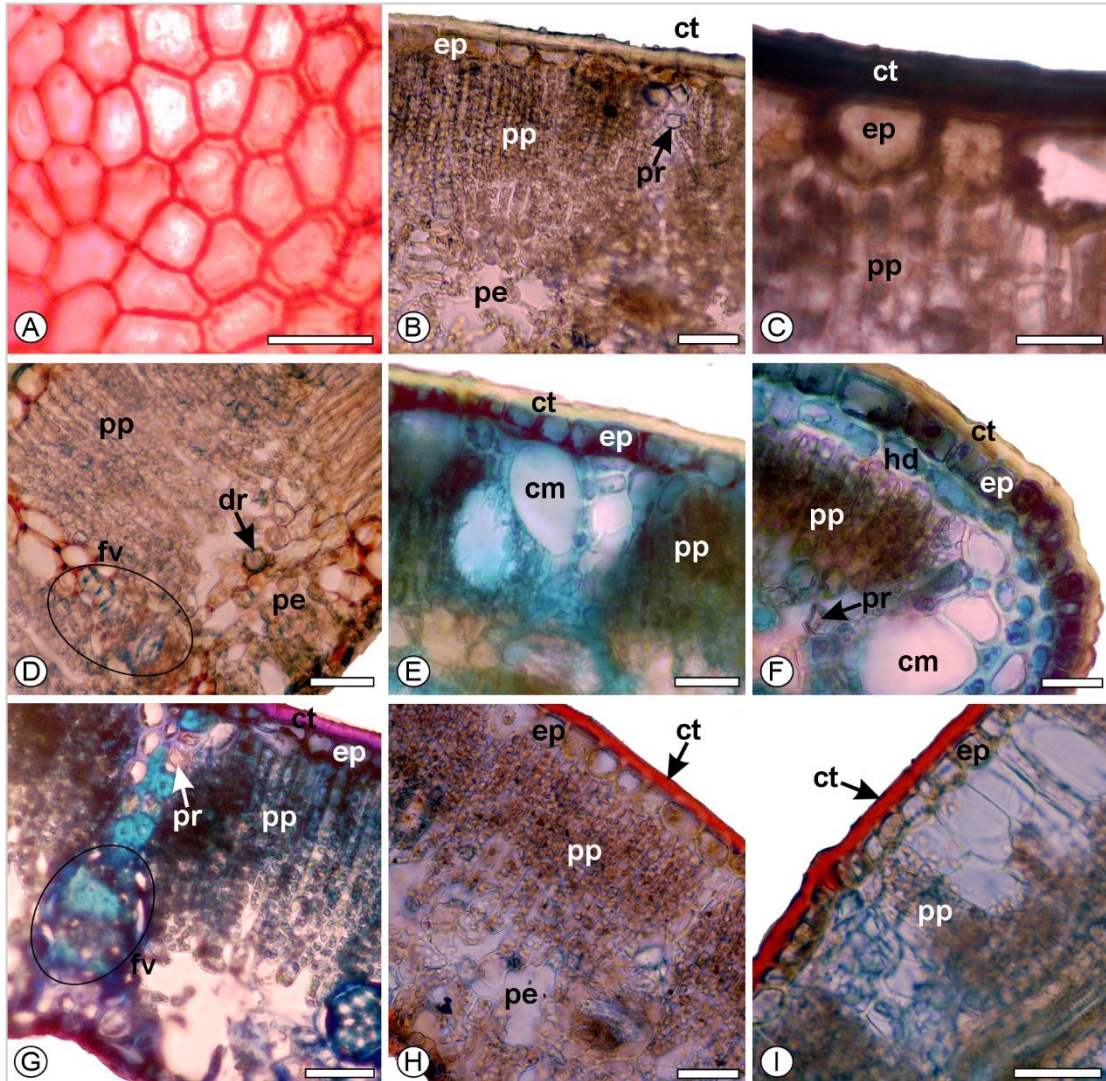
Na ausência de corantes ou reagentes, a lâmina foliar exibe coloração amarelada em cortes transversais (Figura 5B), possivelmente atribuída à presença de flavonoides. A histoquímica evidenciou a presença de compostos lipofílicos com os reagentes Sudan Black e Sudan III na cutícula de ambas as faces (Figuras 5C, H e I, respectivamente). Idioblastos contendo mucilagem foram identificados no parênquima paliádico após reação com azul de metileno (Figura 5E), sugerindo acúmulo de substâncias hidrofílicas que merecem investigação aprofundada.

A epiderme inferior, células epidérmicas do mesofilo e a extensão da bainha dos feixes vasculares reagiram positivamente ao vermelho de rutênio (Figura 5D). O azul de Nilo sulfato evidenciou a presença de lipídeos neutros na cutícula (rosa) e de lipídeos ácidos (azul) distribuídos por todo o mesofilo. Também foi identificado um feixe vascular secundário, do tipo colateral, com extensão da bainha em azul fluorescente (Figura 5G).

A reação com cloreto férrico foi fortemente positiva na região paliádica do mesofilo, indicando alta concentração de compostos fenólicos, achado corroborado pela reação semelhante obtida com dicromato de potássio. O teste com lugol revelou amido. Reações com *oil red* e reagente de Nadi foram positivas apenas na cutícula.

Não foram detectados taninos condensados na lâmina foliar, conforme demonstrado pela reação negativa com vanilina clorídrica. Testes para alcaloides com os reagentes de Wagner e Dragendorff, assim como para proteínas com o azul brilhante de Coomassie, também foram negativos.

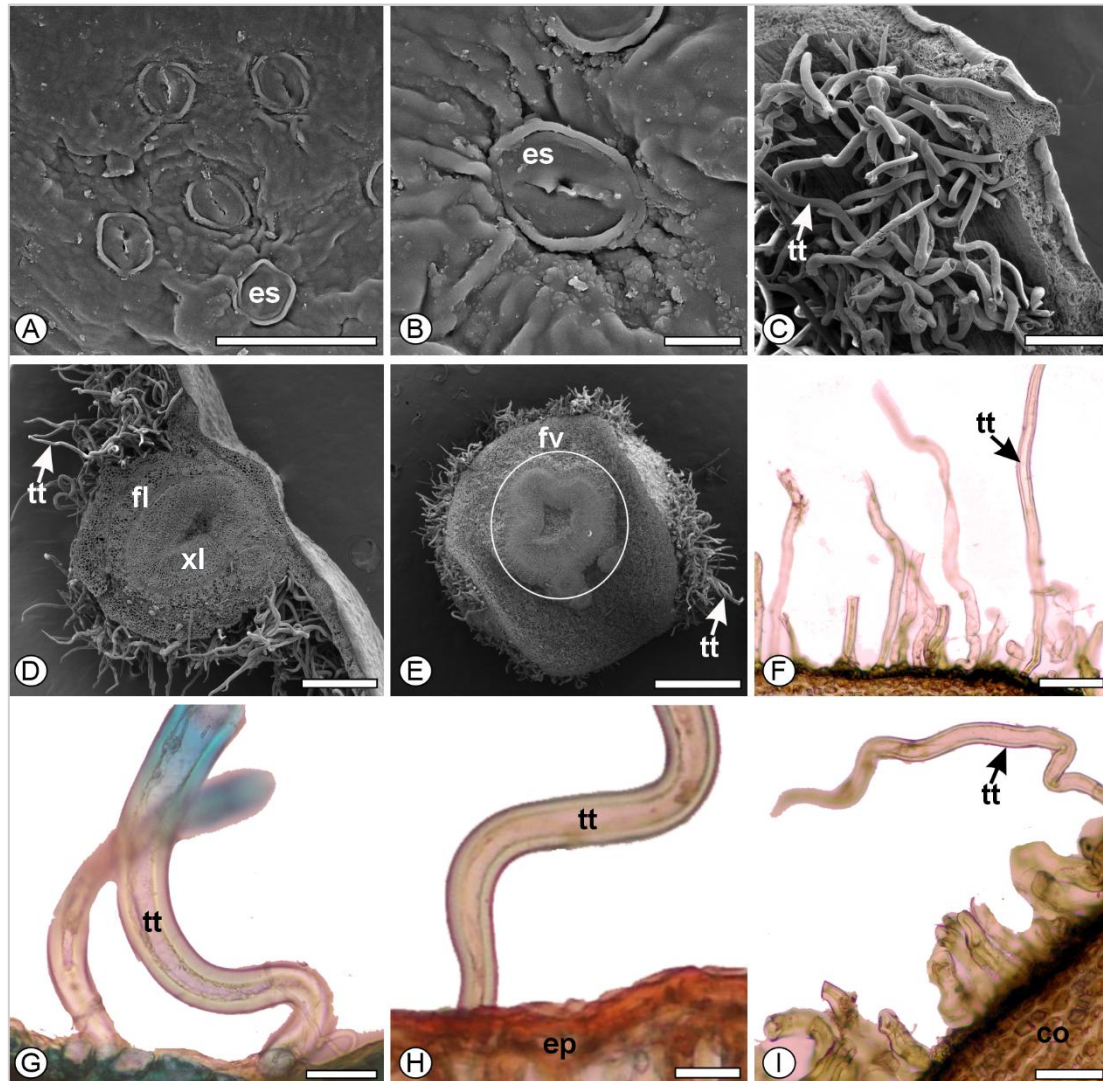
Figura 5 – Secções transversais da folha de *E. japonica* submetidas à testes histoquímicos



Notas: **A:** secção paradérmica da face abaxial corada com safranina; **B:** secção transversal (branco) evidenciando o parênquima paliçádico, parênquima esponjoso, epiderme e cutícula; **C:** secção transversal com Sudan Black; **D:** secção transversal com vermelho de rutênio expondo o feixe vascular no mesofilo; **E-F:** secção transversal com azul de metileno, detectando idioblastos mucilaginosos no parênquima paliçádico e a hipoderme; **G:** secção transversal com azul de Nilo sulfato; **H-I:** secção transversal com Sudan III. (ct: cutícula; cm: cavidade mucilaginosa; dr: drusa; ep: epiderme; fv: feixe vascular; hd: hipoderme; pe: parênquima esponjoso; pp: parênquima paliçádico; pr: cristal prismático). Escala: **A:** 50 µm; **B:** 200 µm; **C:** 50 µm; **D-I:** 200 µm.

Fonte: A autora

Figura 6 – Características anatômicas de estômatos e tricomas de *E. japonica* observados na MEV (A-E) e microscopia óptica (F-I)



Notas: **A:** estômatos anomocíticos, com estriações cuticulares, presentes na face abaxial; **B:** estômato apresentando cristas perpendiculares; **C:** muitos tricomas agrupados na face abaxial; **D:** nervura central extremamente tricomada na face abaxial; **E:** pecíolo envolto em sua totalidade por tricomas; **F:** secção transversal com lugol demonstrando tricomas longos e tectores; **G:** secção transversal com azul de metileno caracterizando, possivelmente, mucilagem advinda de um tricoma decaído; **H:** secção transversal com Sudan III apresentando a característica unicelular de um tricoma; **I:** secção transversal com lugol apresentando um tricoma tector. (co: colênquima; fl: floema; fv: feixe vascular; ep: epiderme; es: estômato; tt: tricoma tector; xl: xilema). Escala: **A:** 50 μ m; **B:** 10 μ m; **C:** 200 μ m; **D:** 500 μ m; **E:** 1 mm; **F:** 200 μ m; **G-H:** 50 μ m; **I:** 200 μ m.

Fonte: A autora

4.3.2.2 Nervura central

A nervura central é plana-convexa, com colênquima anelar a laminar logo abaixo da epiderme, com cerca de 8 a 10 camadas na face adaxial e aproximadamente 5 na face abaxial (Figuras 7C e F). Características associadas à epiderme são semelhantes ao mesofilo foliar, incluindo a presença de tricomas unicelulares, sobretudo na face abaxial.

O sistema vascular da nervura central é constituído por feixes vasculares do tipo colateral, envoltos, descontinuamente, por uma bainha com fibras esclerenquimáticas perivasculares lignificadas, destacadas, principalmente, na reação com floroglucina (Figuras 7G-I). Observam-se, ainda, de dois a três feixes laterais de menor porte (Figura 7A). No colênquima e parênquima cortical, ocorrem idioblastos contendo cristais, especialmente prismáticos e drusas, compostos fenólicos, mucilagem e amiloplastos (Figuras 7D, E e K).

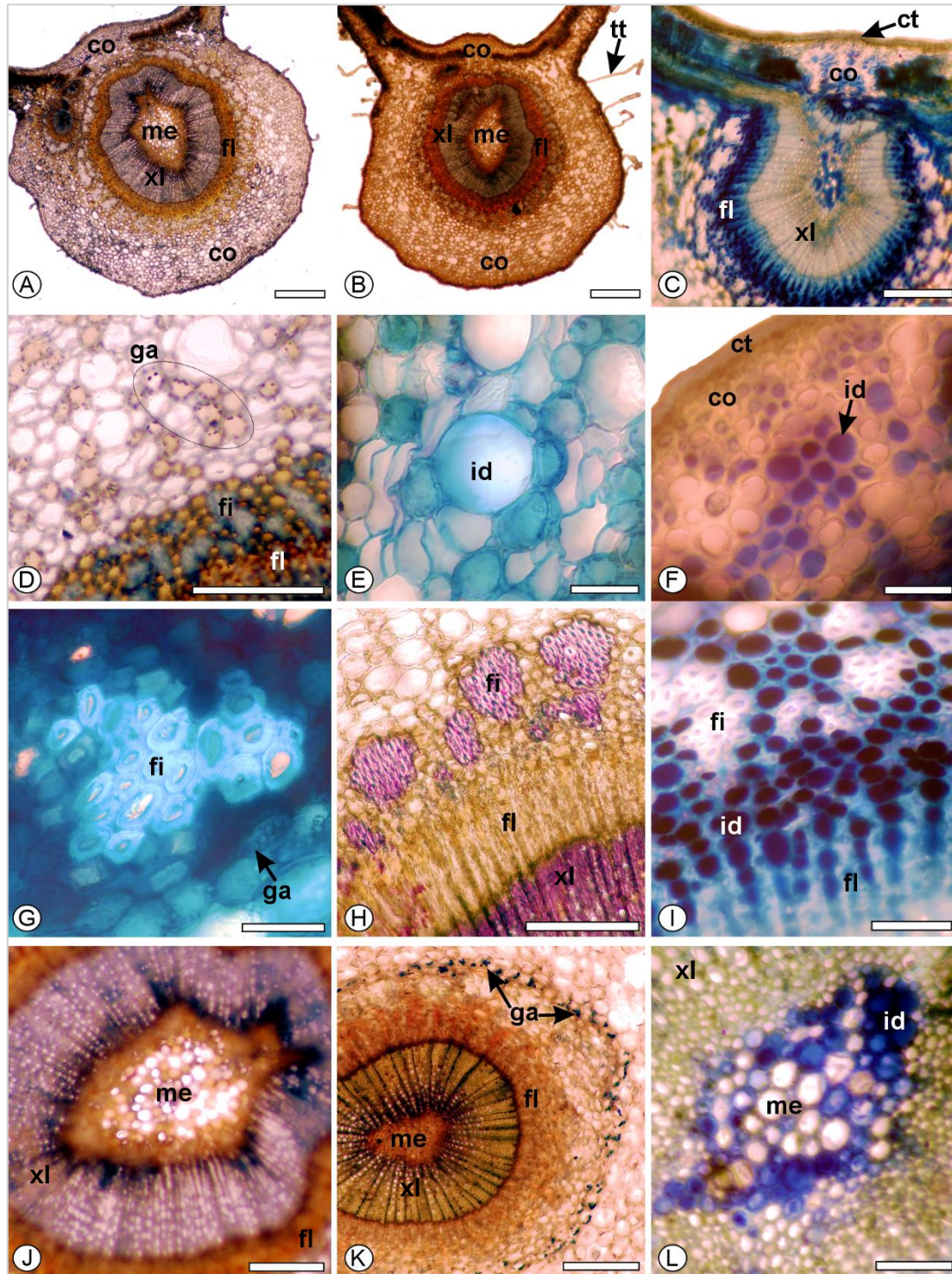
Os testes histoquímicos revelaram a presença de diversos compostos. A cutícula da nervura central apresentou reação positiva para lipídeos com Sudan *Black* e Sudan III em ambas as faces. O cloreto férrico e o dicromato de potássio reagiram intensamente no feixe vascular, além do xilema, floema e células medulares. A vanilina clorídrica evidenciou taninos condensados nas paredes celulares adjacentes às fibras esclerenquimáticas, enquanto que a floroglucina confirmou a intensa lignificação do xilema (Figura 7H).

O azul de metileno, novamente, evidenciou a presença de grandes idioblastos contendo mucilagem, desta vez no parênquima cortical (Figura 7E). O vermelho de rutênio indicou a presença de pectinas e polissacarídeos nas paredes da epiderme inferior, colênquima, floema e parênquima fundamental (Figura 7B). A reação com lugol expôs amiloplastos no parênquima fundamental, além de uma bainha amilífera que circunda o feixe vascular de menor porte (Figuras 7D e K) e positivou para células parenquimáticas do xilema.

A presença de proteínas foi confirmada no floema com o azul brilhante de Coomassie, enquanto que o azul de Nilo sulfato evidenciou lipídeos ácidos no xilema, floema, células da medula, células do parênquima cortical, epiderme, além de lipídeos neutros na cutícula. Fibras esclerenquimáticas reagiram com um azul intenso para este reagente (Figura 7G), sugerindo a presença de paredes celulares espessas e estruturalmente diferenciadas, compatíveis com tecidos de sustentação.

A reação com *oil red* foi positiva na cutícula e em células do floema. Por outro lado, testes histoquímicos com reagente de Wagner, Dragendorff e Nadi foram negativos, demonstrando a ausência de alcaloides e óleos essenciais na nervura central.

Figura 7 – Secções transversais da nervura central de *E. japonica* submetidas à testes histoquímicos



Notas: A: nervura central sem reagentes, apresentando um feixe vascular central e outros dois laterais (amarelo) e fibras esclerenquimáticas (preto); B: secção reagida com vermelho de rutênio apresentando alguns tricomas na face abaxial; C: lâmina corada com azul de toluidina, evidenciando o colênquima, medula, floema e bainha esclerenquimática; D: corte transversal que reagiu com lugol, expondo amiloplastos e bainha esclerenquimática amilífera; E: grande idioblasto contendo mucilagem em reação com o azul de metileno; F: colênquima da face abaxial corado com azul de toluidina; G: fibras esclerenquimáticas fluorescentes com azul de Nilo sulfato; H: fibras esclerenquimáticas perivasculares lignificadas e xilema lignificado em reação com a floroglucina; I: bainha esclerenquimática em azul de toluidina; J: medula do feixe vascular de maior porte sem a adição de reagentes; K: feixe vascular de menor porte apresentando bainha amilífera ao redor do feixe vascular em reação com lugol; L: células medulares com azul de toluidina. (co: colênquima; ct: cutícula; fi: fibra; fl: floema; ga: grão de amido; id: idioblasto).

idioblasto; me: medula; tt: tricoma tector; xl: xilema). Escala: **A-B**: 500 μm ; **C-D**: 200 μm ; **E**: 50 μm ; **F**: 200 μm ; **G**: 50 μm ; **H-I**: 200 μm ; **J**: 50 μm ; **K**: 200 μm ; **L**: 50 μm .

Fonte: A autora

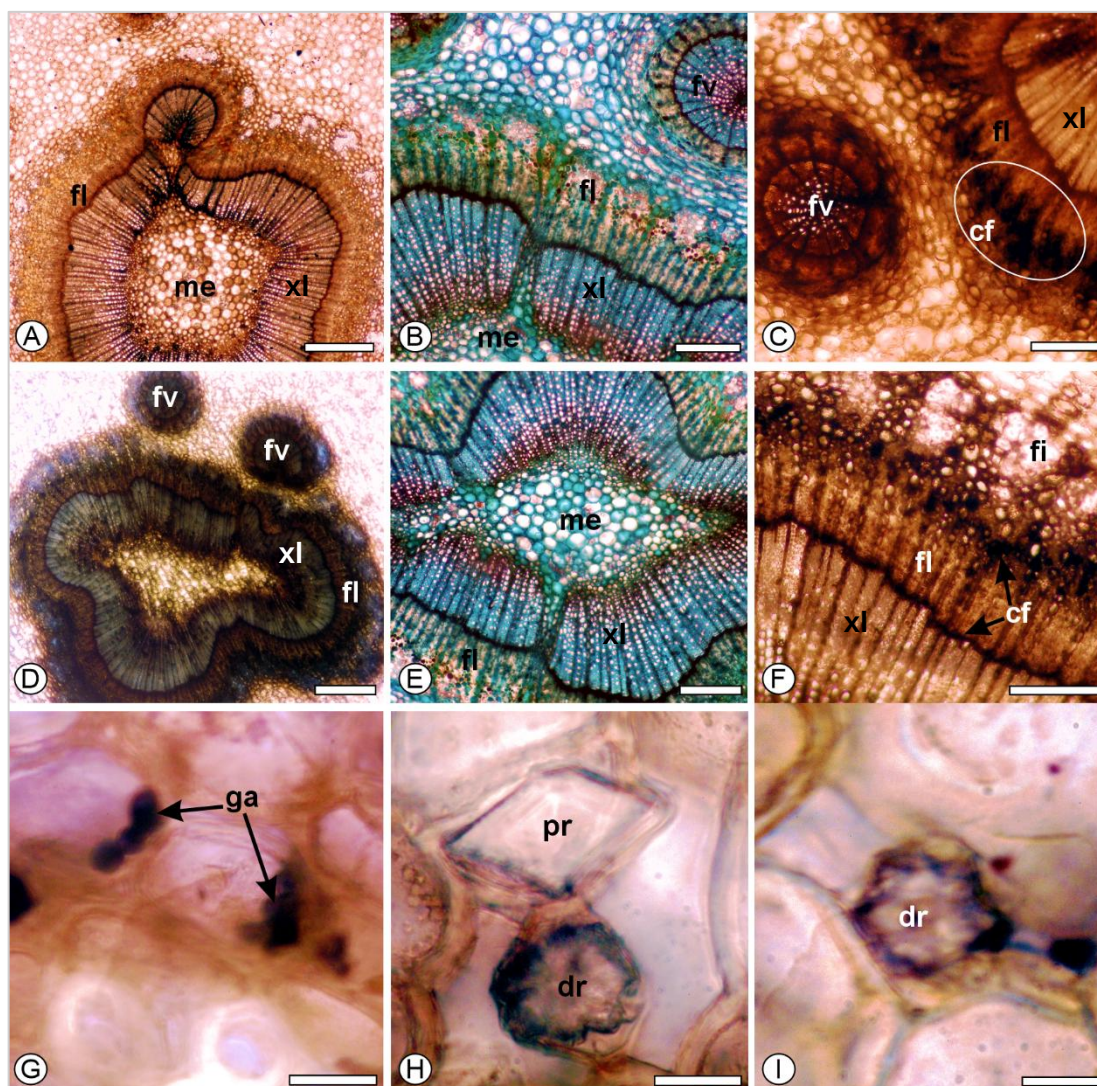
4.3.2.3 Pecíolo

Na base do pecíolo, os traços do mesofilo se organizam de forma cilíndrica, conforme descrito por Beck (2005). O pecíolo apresenta formato circular a ovalado e possui características anatômicas e histoquímicas muito semelhantes às da nervura central, exceto pelo colênquima mais espesso, com até quinze camadas (Figuras 8A e B).

O sistema vascular do pecíolo possui três feixes, sendo um central de maior porte e outros dois adjacentes ao principal, paralelos entre si e voltados à face adaxial (Figura 8D). Eventualmente, um quarto feixe pode ser observado. Assim como na nervura central, os feixes são do tipo colateral, com bainha esclerenquimática lignificada.

Foram identificados numerosos cristais, com formatos variados, além de drusas, idioblastos e amiloplastos no colênquima e parênquima fundamental (Figuras 8G-I). Segundo Metcalfe e Chalk (1950), elementos secretores e células mucilaginosas são comuns ao gênero *Eriobotrya*. Outras reações histoquímicas também revelaram compostos fenólicos com cloreto férrico e dicromato de potássio; presença de amido em reação com o lugol; e pectinas e polissacarídeos com o vermelho de rutênio, indicando perfil químico semelhante ao observado na nervura central.

Figura 8 – Secções transversais do pecíolo de *E. japonica* submetidas à testes histoquímicos



Notas: **A:** pecíolo, apresentando um feixe vascular principal e outros dois de menor porte, em reação com Sudan III; **B:** características peciolares exibidas com azul de metileno; **C:** feixe de menor porte em cloreto férrico; **D:** feixes peciolares na lâmina com o reagente de Nadi; **E:** medula, xilema e floema apresentados em azul de metileno; **F:** fibras esclerenquimáticas em torno do floema em cloreto férrico; **G:** grânulos de amido no interior de amiloplastos e fibras esclerenquimáticas em reação com lugol; **H:** cristal prismático e drusa exibidos em *oil red*; **I:** drusa em reação com Sudan III. (cf: compostos fenólicos; dr: drusa; fi: fibras; fl: floema; fv: feixe vascular; ga: grão de amido; me: medula; pr: cristal prismático; xl: xilema). Escala: **A:** 500 µm; **B-C:** 200 µm; **D:** 500 µm; **E-F:** 200 µm; **G-I:** 50 µm.

Fonte: A autora

A Tabela 2 apresenta os resultados de todos os testes histoquímicos executados no mesofilo foliar, nervura central e pecíolo.

Tabela 2 – Testes histoquímicos realizados no mesofilo, nervura central e pecíolo de *E. japonica* representados de acordo com a intensidade da reação

<i>Eriobotrya japonica</i>	Mesofilo	Nervura Central e Pecíolo
Azul Brilhante de Coomassie	-	me (+), xi (+), fl (+++), be (++), pf (+), cl (+) e ed (+++)

<i>Eriobotrya japonica</i>	Mesofilo	Nervura Central e Pecíolo
Azul de Nilo Sulfato	ct (lpn +++), ed (lpa ++), hd (lpa ++), pp (lpa ++), pe (lpa ++) e fv (lpa +++)	me (lpa +++), xi (lpa +++), fl (lpa +++), fe (lpa +++)*, be (lpa +++), pf (lpa ++) e ct (lpn +++)
Cloreto Férrico	pp (+++), pe (++) e fv (++)	me (++), xi e suas cpt (++), fl (+++) e be (++)
Dicromato de Potássio	pp (+++), pe (++) e fv (++)	me (++), xi (++), fl (+++) e be (+++)
Dragendorff		-
Floroglucina Ácida	-	xi (+++) e fe (+++)
Lugol	pe (+)	me (++), xi e suas cpt (+), fl (++), ba (+++), ap no pf (+++), cl (+++) e ba ao redor de fv de pequeno porte (+++)**
Nadi		ct (+++)
<i>Oil Red</i>	ct (+++)	ct (+++), cfl (+)
<i>Sudan Black</i>	ct (+++) e ed (++)	xi (++), fl (++), be (+) e ct (+++)
<i>Sudan III</i>	ct (+++) e pp (++)	me (+), xi (+++), fl (+++), be (++) e ct (+++)
Vanilina Clorídrica	-	parede de células próximas às fe (+)
Vermelho de Rutênio	parede abaxial da ed (+), hd (+) e extensão da bainha (++)	cptx (++), fl (+++), be (++), pf (+++) e cl (+++)
Wagner		-

Notas: *as fibras esclerenquimáticas apresentaram coloração azul fluorescente na reação com azul de Nilo sulfato; **restrito somente ao pecíolo (ap: amiloplastos; ba: bainha amilífera; be: bainha esclerenquimática; cl: colênquima; cpt: células parenquimáticas; cptx: células parenquimáticas do xilema; ct: cutícula; ed: epiderme; fe: fibras esclerenquimáticas; fl: floema; cfl: células do floema; fv: feixe vascular; hd: hipoderme; ib: idioblastos; lpa: lipídeos ácidos; lpn: lipídeos neutros; me: medula; pe: parênquima esponjoso; pf: parênquima fundamental; pp: parênquima paliçádico; tr: tricoma; xl: xilema).

-: negativo; +: positivo.

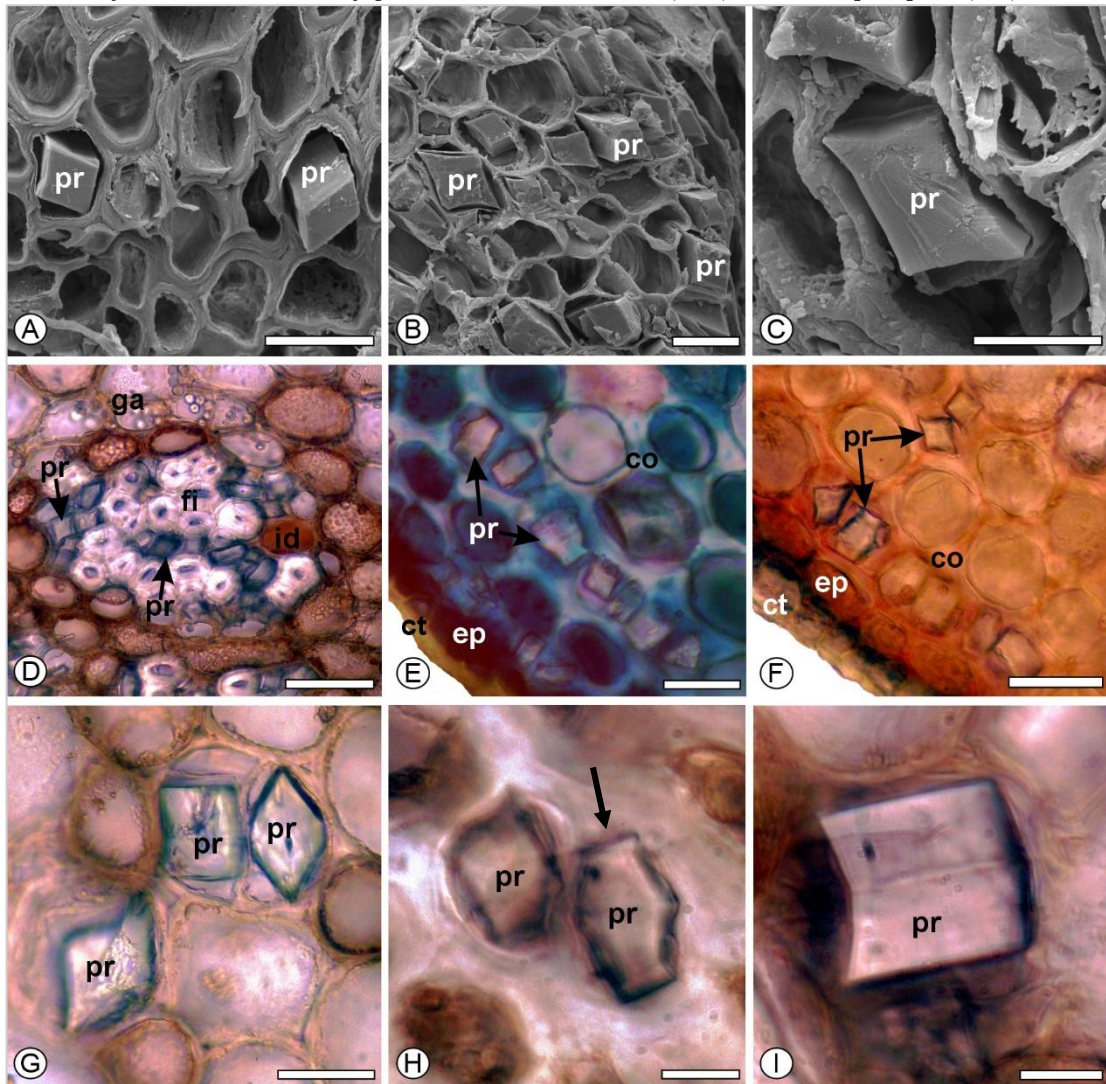
Fonte: A autora

4.3.2.4 Cristais

Cristais foram observados nas três estruturas analisadas, lâmina foliar, nervura central e pecíolo, sendo mais evidentes e morfológicamente variados nas duas últimas. As formas identificadas incluíram prismática trigonal (“*diamond*”), drusas, tubulares, “*coffin-shaped*” (Figura 9H) e “*arrow-shaped*” (Figura 9I) (Raeski, 2020), com predominância prismática.

A aplicação da espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) é recomendada para a determinação da composição química destes cristais, o que pode contribuir para o aprimoramento da caracterização anatômica e taxonômica da espécie. No entanto, de acordo com Metcalfe e Chalk (1950), os cristais observados em espécies do gênero *Eriobotrya* são, majoritariamente, constituídos por oxalato de cálcio.

Figura 9 – Secções transversais de *E. japonica* submetidas à MEV (A-C) e microscopia óptica (D-I)



Notas: A: cristais observados na nervura central; B: cristais observados no pecíolo; C: cristal prismático focalizado na nervura central; D: bainha cristalífera ao redor de fibras esclerenquimáticas no pecíolo, com Sudan III; E: “rua de cristais” no pecíolo, com azul de metileno; F: “rua de cristais” na nervura central com vermelho de rutênio; G: cristais no pecíolo com Sudan III; H: cristal prismático e “coffin shaped” no pecíolo com oil red; I: cristal “arrow shaped” no pecíolo com Sudan III. (co: colênquima; ct: cutícula; fi: fibras; ep: epiderme; ga: grão de amido; id: idioblasto; pr: cristal prismático). Escala: A-B: 20 µm; C: 5 µm; D-F: 200 µm; G-I: 50 µm.

Fonte: A autora

4.3.2.5 Sementes

Em secção transversal, as sementes de *E. japonica* apresentam tegumento compacto, constituído por uma a duas camadas de células arredondadas na base, que se achatam em direção à parte externa do tegumento, formando estratos celulares compactos e espessos (Figura 10A e B). Adjacente ao tegumento, localiza-se a camada limite do cotilédone, que é uniestratificada, composta por pequenas células poligonais levemente alongadas longitudinalmente e recobertas por uma cutícula lisa (Figura 10C e D).

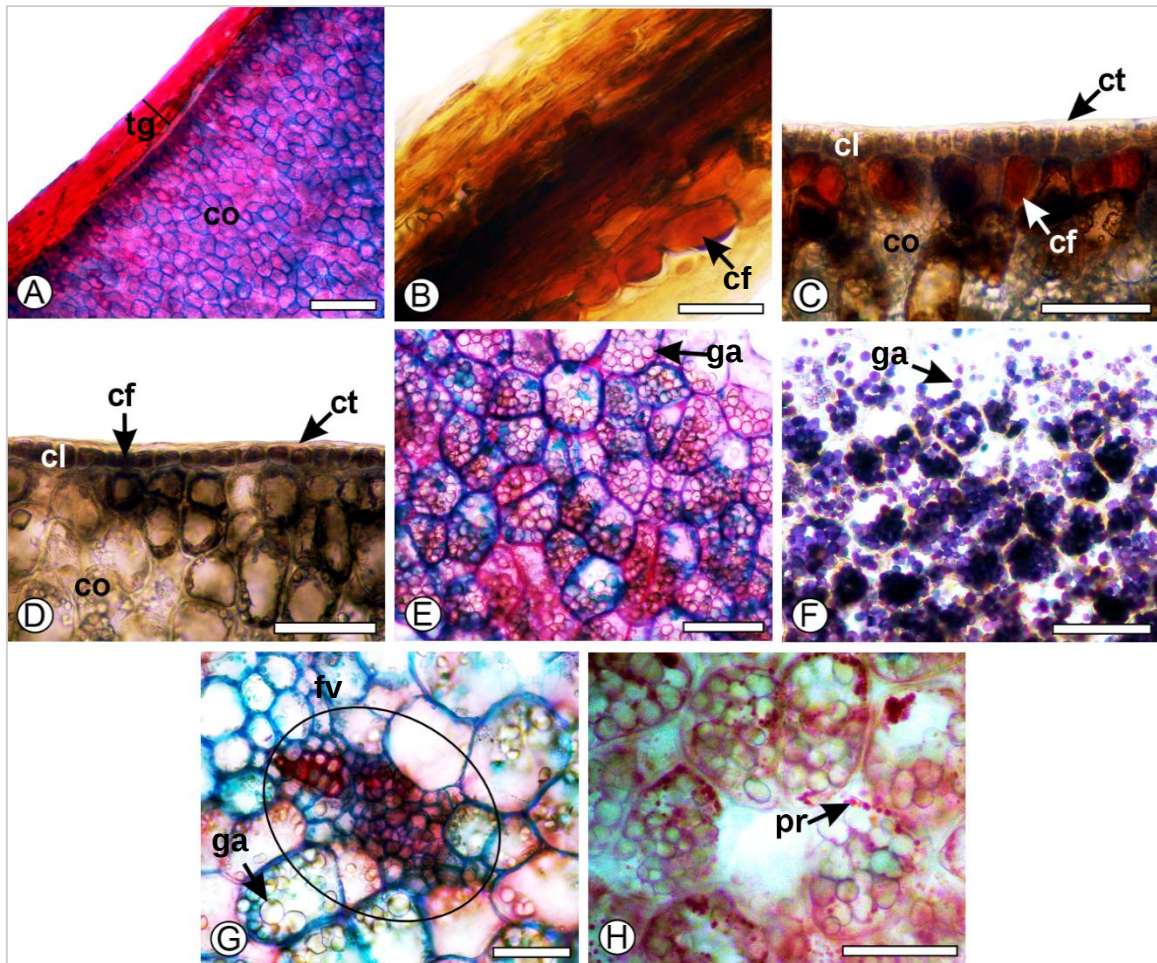
O cotilédone é formado por células grandes e parenquimatosas, que contêm grãos de amido de forma abundante (Figura 10E e F). Estes grãos são arredondados e ocorrem de forma isolada ou agrupada. Pequenos feixes vasculares colaterais se distribuem ao longo do tecido parenquimático embrionário (Figura 10G), desempenhando papel fundamental no transporte de nutrientes e no crescimento do embrião.

Os testes histoquímicos revelaram a presença de compostos fenólicos, proteínas e amido. As sementes reagiram positivamente às soluções de dicromato de potássio (Figura 10B e C) e cloreto férrico (Figura 10G), indicando a presença de fenóis no tegumento, na camada limite e em células parenquimáticas dos cotilédones. As sementes também reagiram com o Xilidine Ponceau (Figura 10H) e azul brilhante de Coomassie, confirmando a presença de corpúsculos globulares proteicos nos cotilédones e em regiões próximas aos feixes vasculares. Por outro lado, as soluções de Sudan III e Sudan *Black* não detectaram corpos oleosos, reagindo apenas com compostos lipofílicos da cutícula, e os reagentes de Dragendorff, Ellram e Wagner não detectaram a presença de alcaloides.

A abundância de grãos de amido nos cotilédones, também evidentes nas folhas, destaca o amido como principal composto de reserva nas sementes de *E. japonica*. Esta característica é relevante para aplicações industriais em processos de gelatinização, pasteurização e plastificação (Zhenguang; Shunquan; Qingliang, 2013; Barbi *et al.*, 2018; Costa *et al.*, 2021). A morfologia dos grãos de amido observada neste estudo está em concordância com descrições anteriores para a espécie (Barbi *et al.*, 2018; Costa *et al.*, 2021), bem como com os padrões descritos em outros membros de Rosaceae (Zarrillo; Kooyman, 2006).

A presença de compostos fenólicos nas sementes corrobora estudos anteriores que identificaram estes metabólitos em diferentes órgãos da planta, como caule (Rashed; Butnariu, 2013), folhas (Ito *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2025) e frutos (Xu; Li; Chen, 2014; Pawłowska *et al.*, 2023). As proteínas também foram identificadas através do Xilidine Ponceau e azul brilhante de Coomassie, em consonância com os achados de Barbi *et al.* (2018) e Costa *et al.* (2021). A ausência de corpos lipídicos e de alcaloides reforça a especificidade do perfil químico das sementes de *E. japonica*.

Figura 10 – Secções transversais da semente submetidas à testes histoquímicos



Notas: **A**: aspectos gerais da semente em fucsina básica; **B**: porção externa do tegumento com células espessas contendo compostos fenólicos que reagiram com dicromato de potássio; **C-D**: cotilédone uniestratificado contendo uma cutícula lisa, além de idioblastos com compostos fenólicos em dicromato de potássio e cloreto férrico, respectivamente; **E**: grão de amido visíveis em células parenquimatosas coradas com fucsina básica; **F**: grãos de amido em reação com lugol; **G**: feixe vascular em azul de astra; **H**: grânulos proteicos evidenciados com Xilidine Ponceau. (cl: camada limite do cotilédone; co: cotilédone; ct: cutícula; cf: composto fenólico; fv: feixe vascular; ga: grão de amido; pr: grânulo proteico; tg: tegumento). Escala: **A**: 500 µm; **B**: 50 µm; **C-D**: 200 µm; **E-F**: 100 µm; **G**: 50 µm; **H**: 200 µm.

Fonte: A autora

4.4 CONCLUSÃO

Visto que o gênero *Eriobotrya*, pertencente à família Rosaceae, possui atualmente 35 espécies, há a necessidade de aprimorar os estudos voltados à identificação e caracterização de marcadores morfoanatômicos e histoquímicos específicos. Esta pesquisa revelou como principais achados a presença de grandes células mucilaginosas nas três porções da folha, além de peculiaridades na cutícula, que é rica em lipídeos neutros, e uma grande variedade de cristais, variando de drusas a prismáticos trigonais, especialmente concentrados na nervura central e no pecíolo.

Os testes histoquímicos indicaram destaque para fenólicos e grãos de amido. As folhas não apresentaram látex, e alcaloides estiveram ausentes tanto nelas quanto nas sementes. As análises das sementes evidenciaram tegumento compacto e camada limite do cotilédone bem definida, além da presença abundante de grãos de amido nos cotilédones, que se mostraram o principal composto de reserva desta planta. Fenólicos e proteínas foram detectados em diferentes regiões da semente, reforçando o perfil metabólico ativo da espécie.

Considerando o amplo potencial medicinal das folhas e sementes de *E. japonica*, este estudo fornece subsídios para o desenvolvimento de marcadores específicos que permitam a identificação adequada da espécie, contribuindo para o controle de qualidade em aplicações farmacêuticas. Um possível marcador foi discutido: estriações cuticulares perpendiculares aos estômatos, evidenciadas por MEV. Ressalta-se, ainda, a necessidade de aprofundamento nos estudos de mucilagem presente nos idioblastos e na identificação elementar dos cristais observados, especialmente nas folhas. Tais características podem constituir novos parâmetros para a diferenciação entre espécies do gênero *Eriobotrya*.

5 PREPARO, PADRONIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

RESUMO:

Este estudo teve como objetivo extrair compostos fenólicos e flavonoides de folhas, sementes verdes e maduras e da polpa de *Eriobotrya japonica*, utilizando diferentes solventes, como o acetato de etila, acetona e metanol, e diferentes métodos de extração, como banho ultrassônico e maceração. Após a extração, foram quantificados os níveis de compostos fenólicos (Folin-Ciocalteu) e flavonoides (colorimetria com cloreto de alumínio). As amostras mais significativas foram submetidas aos ensaios antioxidantes (ABTS^{•+} e FRAP) e à avaliação da atividade prebiótica frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Os resultados foram associados à análise qualitativa realizada via cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD). Após a quantificação dos níveis de fenólicos e flavonoides totais, a amostra da folha obtida por maceração com acetona (FMacAcet) destacou-se, apresentando alto conteúdo de compostos fenólicos ($175,086 \pm 1,413$ mg EAG.mL⁻¹), sendo, em sua maioria, ácidos fenólicos hidroxicinâmicos, correlacionados, diretamente, à capacidade antioxidante total (CAT) dos extratos (IC₅₀ = 0,008 mg.mL⁻¹), que apresentaram desempenho apenas 9,8 vezes inferior ao da quercetina no ensaio ABTS^{•+}. No FRAP, resultado semelhante foi observado ($0,143 \pm 0,029$ μmol TE.g⁻¹), indicando que a neutralização de radicais livres é o principal mecanismo antioxidante da planta. Por fim, constatou-se, através da análise cinética de crescimento microbiano, realizada através da densidade óptica a 600 nm (OD₆₀₀), alto potencial prebiótico da FMacAcet frente à *S. epidermidis*, apresentando resultados estatisticamente semelhantes aos controles positivos (glicose 1% e inulina) ($p > 0,05$). Os flavonoides presentes na polpa demonstraram atividade bactericida e bacteriostática. Com base nos resultados obtidos nos ensaios *in vitro*, conclui-se que *E. japonica* demonstra propriedades biológicas relevantes, sugerindo possível aplicabilidade em estudos futuros relacionados a condições dermatológicas associadas à disbiose do microbioma cutâneo e ao estresse oxidativo, como a dermatite atópica (DA).

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Dermatite atópica. Estresse oxidativo. Microbioma da pele.

5.1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a busca por produtos naturais tem se intensificado, sustentada pela premissa de que representam uma fonte terapêutica mais segura e eficaz (Kuo *et al.*, 2025). Dentre estes produtos, destacam-se as plantas medicinais, que exercem suas propriedades farmacológicas a partir de fitoconstituintes, também conhecidos como metabólitos secundários. Dentre eles, os compostos fenólicos, flavonoides e carotenoides são amplamente reconhecidos por seus potenciais antioxidantes, desempenhando papel fundamental na manutenção tecidual, incluindo a pele (Costa *et al.*, 2022).

Eriobotrya japonica, popularmente conhecida como nespereira, é rica nestes compostos bioativos (Costa *et al.*, 2022). Na Medicina Tradicional Chinesa, as folhas desta espécie são

utilizadas como drogas vegetais para o preparo de chás, cujos extratos apresentam diversas atividades biológicas, com destaque para a ação antioxidante (Fu *et al.*, 2020; Pawłowska *et al.*, 2023). No entanto, embora inúmeras pesquisas farmacêuticas tenham se concentrado nas folhas e ramos desta planta, este enfoque pode culminar na perda do potencial terapêutico de seus subprodutos, que também apresentam benefícios medicinais (Costa *et al.*, 2022; Kim *et al.*, 2025).

Considerando estes fatos, o presente estudo propôs avaliar, por meio de diferentes solventes e métodos extrativos, os níveis de compostos antioxidantes (fenólicos e flavonoides) presentes em folhas, sementes (verdes e maduras) e na polpa com casca de *E. japonica*. Além disto, foi determinada a capacidade antioxidante total (CAT) de seus extratos por meio de dois ensaios complementares, sendo o ABTS^{•+}, voltado à neutralização de radicais sintéticos, e o FRAP, direcionado à redução do complexo Fe³⁺ em Fe²⁺.

Adicionalmente, a atividade prebiótica dos extratos foi investigada frente às cepas de *Staphylococcus epidermidis*. Por fim, os resultados obtidos nos ensaios biológicos foram associados ao perfil qualitativo dos compostos fenólicos, obtido via cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD).

Os achados foram discutidos considerando a fisiopatologia da dermatite atópica, especialmente no que se refere ao estresse oxidativo e à disbiose do microbioma cutâneo.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Materiais

Foram coletados 1.500 g de folhas e 300 g de sementes advindas de frutos verdes e 300 g de sementes provenientes de frutos maduros de *E. japonica*, nas dependências do bloco M, na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) (25°05'39" S 50°06'08" W), em junho de 2024.

Para a realização dos ensaios, foram utilizados etanol 70%, acetona P.A (Êxodo Científica, Brasil), acetato de etila P.A (Reagen, Brasil), metanol P.A (Reagen, Brasil), reagente de Folin-Ciocalteu (Dinâmica Química Contemporânea, Brasil), carbonato de sódio anidro P.A (Na₂CO₃) (Casa da Química Indústria e Comércio, Brasil), ácido gálico (C₇H₆O₅) (Sigma-Aldrich, China), álcool etílico absoluto P.A (Reatec, Brasil), cloreto de alumínio hexahidratado (AlCl₃·6H₂O) (LabSynth, Brasil), acetato de potássio P.A (Neon Reagentes Analíticos, Brasil),

quercetina ($C_{15}H_{10}O_7$) (Sigma-Aldrich, China), ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS⁺⁺) ($C_{18}H_{16}N_6O_6S_4^{++}$) (Sigma-Aldrich, Brasil), persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$) P.A (Reatec, Brasil), fosfato monossódico P.A (NaH_2PO_4) (Reatec, Brasil), fosfato dissódico P.A (Na_2HPO_4) (Casa da Química Indústria e Comércio, Brasil), ácido clorídrico (HCl) P.A (Reagen, Brasil), 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) ($C_{18}H_{12}N_6$) (Sigma-Aldrich, Brasil), cloreto férrico ($FeCl_3$) (ACS Científica Química Fina, Brasil), acetato de sódio tri-hidratado ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) (LabSynth, Brasil), ácido acético glacial P.A (CH_3COOH) (Reagen, Brasil) e ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) ($C_{14}H_{18}O_4$) (Sigma-Aldrich, Brasil), triptona, extrato de levedura, cepas de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (Newprov, Brasil), cloreto de sódio (NaCl), fosfato de potássio dibásico (K_2HPO_4), glicose e inulina.

5.2.2 Métodos

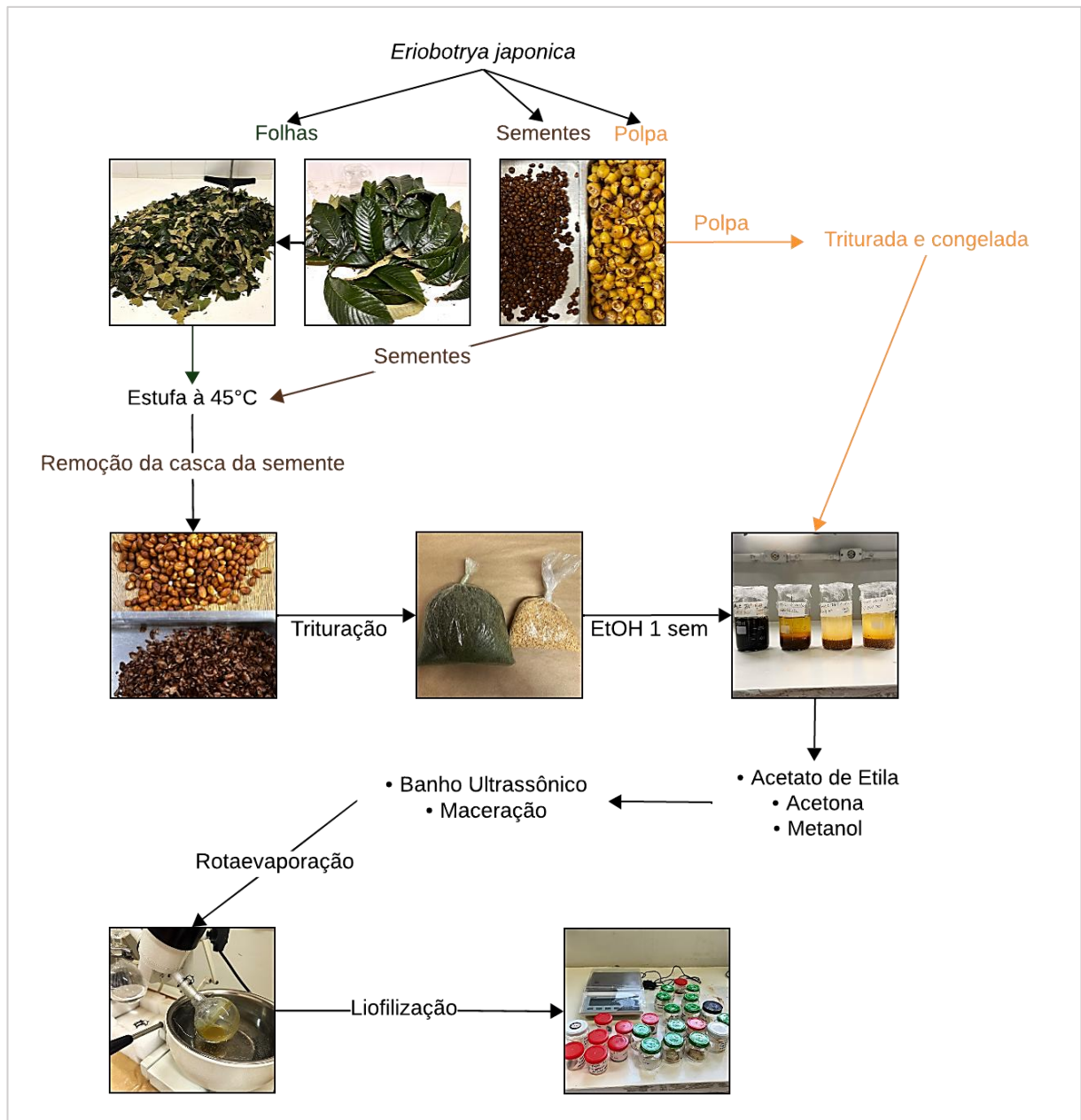
5.2.2.1 Amostragem e preparo dos extratos

As folhas foram higienizadas e rasuradas manualmente, enquanto as sementes foram retiradas dos frutos e a polpa restante foi triturada em liquidificador. Posteriormente, a polpa, contendo a casca, foi congelada e as folhas e sementes foram secas em estufa (45 °C) para a redução do teor de umidade, sendo, em seguida, trituradas e armazenadas sob refrigeração.

Os extratos brutos foram preparados com a imersão de folhas e sementes em etanol 70% (50:250 m/v), sendo armazenados durante 7 dias à temperatura controlada (25 ± 2 °C). Após este período, a amostra foi colocada sobre papel-filtro, obtendo-se o extrato etanólico bruto, enquanto o resíduo vegetal retido foi armazenado e submetido a uma segunda etapa de extração. Na segunda extração, o resíduo foi submetido à maceração com acetona, acetato de etila ou metanol. Ressalta-se que, para a polpa, a extração se restringiu unicamente à primeira etapa, visto que a amostra se reduziu significativamente.

Duas técnicas foram empregadas na segunda extração: maceração com agitação ocasional, uma vez ao dia, por 7 dias, e o banho ultrassônico (SolidSteel, modelo SSBu 3,8 L, Brasil), sem adição de temperatura, por 15 minutos. Sendo assim, resíduos do extrato etanólico (folha: 6,39 g; semente verde: 5,87 g; semente madura: 3,56 g) foram imersos no segundo solvente na proporção de 1:5 (m/v), com a utilização de uma das técnicas citadas para a extração, de modo sucessivo. Um esquema do processo de extração é apresentado na Figura 11.

Figura 11 – Esquema do processo de extração



Fonte: A autora

Após a realização da segunda extração, a amostra foi filtrada com auxílio de papel-filtro para a separação do solvente e do resíduo. Por fim, o extrato etanólico obtido na primeira etapa e o extrato obtido na segunda etapa foram reunidos no mesmo frasco, com ajuste dos volumes de modo que todos os frascos apresentassem proporções semelhantes entre o etanol 70% e o segundo solvente empregado. O armazenamento foi realizado sob refrigeração. Ao final do processo, foram obtidas 19 amostras, apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Amostras preparadas de acordo com matriz, método extrativo e solvente

Matriz	Método Extrativo	Solvente	Abreviação
Folha	Maceração	Acetato de Etila	FMacAdE
Folha	Banho Ultrassônico	Acetato de Etila	FBUAdE
Folha	Maceração	Metanol	FMacMet
Folha	Banho Ultrassônico	Metanol	FBUMet
Folha	Maceração	Acetona	FMacAcet
Folha	Banho Ultrassônico	Acetona	FBUAcet
Semente Verde	Maceração	Acetato de Etila	SVMacAdE
Semente Verde	Banho Ultrassônico	Acetato de Etila	SVBUAdE
Semente Verde	Maceração	Metanol	SVMacMet
Semente Verde	Banho Ultrassônico	Metanol	SVBUMet
Semente Verde	Maceração	Acetona	SVMacAcet
Semente Verde	Banho Ultrassônico	Acetona	SVBUAcet
Semente Madura	Maceração	Acetato de Etila	SMMacAdE
Semente Madura	Banho Ultrassônico	Acetato de Etila	SMBUAdE
Semente Madura	Maceração	Metanol	SMMacMet
Semente Madura	Banho Ultrassônico	Metanol	SMBUMet
Semente Madura	Maceração	Acetona	SMMacAcet
Semente Madura	Banho Ultrassônico	Acetona	SMBUAcet
Polpa	*	Etanol	PetOH

Notas: *O processo extrativo baseou-se somente na primeira etapa, ou seja, imersão em etanol 70% por uma semana.

Fonte: A autora

As amostras foram concentradas em rotaevaporador (sistema de aquecimento Fisatom, modelo 558, Brasil; motor rotativo Fisatom, modelo 803, Brasil; sistema de vácuo Marconi, modelo MA 053, Brasil), lavadas com água destilada no frasco receptor e, então, congeladas em temperaturas abaixo de -20 °C para serem posteriormente liofilizadas (liofilizador Terroni, modelo LD1500A, Brasil). O liofilizado foi submetido às análises posteriores. O rendimento dos extratos foi avaliado de acordo com a Equação 1.

$$\text{Rendimento (\%)} = \left(\frac{\text{massa do extrato seco}}{\text{massa da amostra seca}} \right) \times 100 \quad (1)$$

5.2.2.2 Determinação de compostos fenólicos totais

Para a quantificação de fenólicos totais, houve a utilização do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Ludka *et al.*, 2023). Uma solução do extrato liofilizado foi preparada na concentração de 1 mg.mL^{-1} em água destilada. Posteriormente, $200 \text{ }\mu\text{L}$ de cada amostra foram transferidos para tubos de ensaio contendo 7 mL de água destilada e $500 \text{ }\mu\text{L}$ de reagente de Folin-Ciocalteu. Em seguida, $2,5 \text{ mL}$ de solução aquosa de carbonato de sódio ($10,6\% \text{ m/v}$) foram adicionados. O tempo reacional foi de 5 minutos a $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$, momento em que a coloração da solução presente no tubo se alterou de esverdeado para azul. Foi, então, realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro ultravioleta visível (UV-Vis) (UV-M51, lâmpada de halogênio e deutério, BEL Photonics, Itália) ($\lambda = 715 \text{ nm}$). Todas as amostras foram realizadas em triplicata e os resultados foram expostos em mg equivalente de ácido gálico (EAG) por g de extrato seco ($\text{mg EAG.g}^{-1} \text{ ES}$).

A curva analítica foi construída utilizando um padrão de ácido gálico (Sigma-Aldrich, China). Uma solução-mãe foi preparada com álcool etílico absoluto. Foram então preparadas concentrações de $0,02$, $0,05$, $0,1$, $0,2$, $0,4$, $0,6$ e $0,8 \text{ mg.mL}^{-1}$ para a obtenção da curva padrão de calibração.

5.2.2.3 Determinação de flavonoides totais

Para a quantificação de flavonoides totais, houve a utilização do método colorimétrico descrito por Chang *et al.* (2002) com algumas modificações. Uma solução do extrato liofilizado foi preparada nas concentrações de 5 mg.mL^{-1} para as folhas e 20 mg.mL^{-1} para as sementes e polpa, com filtragem em filtro de $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ (polietersulfona) para reduzir a turbidez da amostra. Posteriormente, $500 \text{ }\mu\text{L}$ de cada amostra foram transferidos para tubos de ensaio contendo $2,8 \text{ mL}$ de água destilada, $100 \text{ }\mu\text{L}$ de solução de cloreto de alumínio hexahidratado ($10\% \text{ m/v}$) e $100 \text{ }\mu\text{L}$ de acetato de potássio a 1 M . O tempo reacional foi de 30 minutos à temperatura ambiente.

Foi então realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro ultravioleta visível UV-Vis (UV-M51, lâmpada de halogênio e deutério, BEL Photonics, Itália) ($\lambda = 415 \text{ nm}$). Todas as amostras foram realizadas em triplicata e os resultados foram expostos em mg equivalente de quercetina (EQ) por grama de extrato seco ($\text{mg EQ.g}^{-1} \text{ ES}$).

A curva analítica foi construída utilizando um padrão de quercetina (Sigma-Aldrich, China). Uma solução-mãe de quercetina foi preparada com álcool etílico absoluto. Foram,

então, preparadas concentrações de 0,004, 0,01, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, 0,1 e 0,12 mg.mL⁻¹ para a obtenção da curva padrão de calibração.

5.2.2.4 Análise do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS^{•+})

Para análise dos radicais ABTS^{•+} foram utilizadas as amostras com os resultados mais estatisticamente significativos durante a determinação de fenólicos e flavonoides totais. As concentrações utilizadas foram 0,025, 0,05, 0,1, 0,2 e 0,4 mg.mL⁻¹ para todas as amostras, com exceção da FMacAcet e SMMacAcet, cujas concentrações foram de 0,0175, 0,035, 0,07, 0,14 e 0,28 mg.mL⁻¹. Todas as amostras foram diluídas em água.

Para a reação, houve a preparação da solução de ABTS^{•+} a 7 mM e de persulfato de potássio a 140 mM com água Milli-Q. Posteriormente, 88 µL de persulfato de potássio foram misturados com 5 mL da solução de ABTS^{•+}, sendo mantidos em frasco âmbar, sob refrigeração, por 16 horas, para a formação dos radicais. Então, a mistura foi diluída em 100 mL, com tampão fosfato a 10 mM (pH = 7,4). O controle negativo utilizado foi o tampão fosfato a 10 mM e o positivo, a solução de ABTS^{•+}.

O procedimento foi realizado na ausência de luz e a leitura das placas foi efetuada em espectrofotômetro com leitor de microplacas (BIOTEK, modelo Synergy H1 Hybrid Reader), com o software Gen5.2 ($\lambda = 734$ nm). Todas as amostras foram realizadas em triplicata e os resultados foram expostos em IC₅₀ (mg.mL⁻¹).

A curva analítica foi construída utilizando um padrão de quercetina e ácido gálico. Uma solução-mãe de quercetina foi preparada com álcool etílico absoluto. Foram então preparadas concentrações de 0,00004, 0,00008, 0,00016, 0,0004, 0,0008, 0,0016, 0,004, 0,008, 0,016, 0,04, 0,08 e 0,16 mg.mL⁻¹. O ácido gálico foi diluído em água e foram obtidas as concentrações de 0,00004, 0,00005, 0,00007, 0,00008, 0,0002, 0,0004, 0,0008, 0,001, 0,002 e 0,003 mg.mL⁻¹.

5.2.2.5 Ensaio de poder antioxidante redutor férrico (FRAP)

Foram utilizadas cinco concentrações, que variaram de acordo com a amostra. Todas as amostras foram diluídas em água. Para a reação, houve a preparação de ácido clorídrico a 50 mM, 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) a 10 mM, que foi diluído no ácido clorídrico, cloreto férrico a 20 mM e tampão acetato a 0,3 mM (pH = 3,6). Para o preparo do reagente FRAP, houve a combinação do tampão acetato, TPTZ e cloreto férrico (10:1:1 v/v/v).

O procedimento foi realizado na ausência de luz e a leitura dos tubos foi efetuada em espectrofotômetro ultravioleta visível UV-Vis (UV-M51, lâmpada de halogênio e deutério, BEL Photonics, Itália) ($\lambda = 594 \text{ nm}$). Todas as amostras foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em μmol equivalente ao Trolox (TE) por grama de material vegetal seco. Uma média dos cinco pontos testados foi realizada, permitindo, assim, maior fidedignidade dos dados obtidos.

A curva analítica foi construída utilizando Trolox como padrão. Uma solução-mãe de Trolox foi preparada com álcool etílico absoluto. Foram, então, preparadas concentrações de 0,04, 0,08, 0,12, 0,16, 0,20 e 0,24 mg.mL^{-1} para a obtenção da curva padrão de calibração.

5.2.2.6 Determinação de atividade prebiótica

Para a avaliação da atividade prebiótica, apenas as amostras FMacAcet e PetOH foram utilizadas. O ensaio, realizado através da cinética de crescimento em placa de 96 poços (Akhavan *et al.*, 2023), visou estabelecer uma possível correlação entre compostos fenólicos e atividade prebiótica, conforme descrito por Ivanković *et al.* (2023), com algumas modificações.

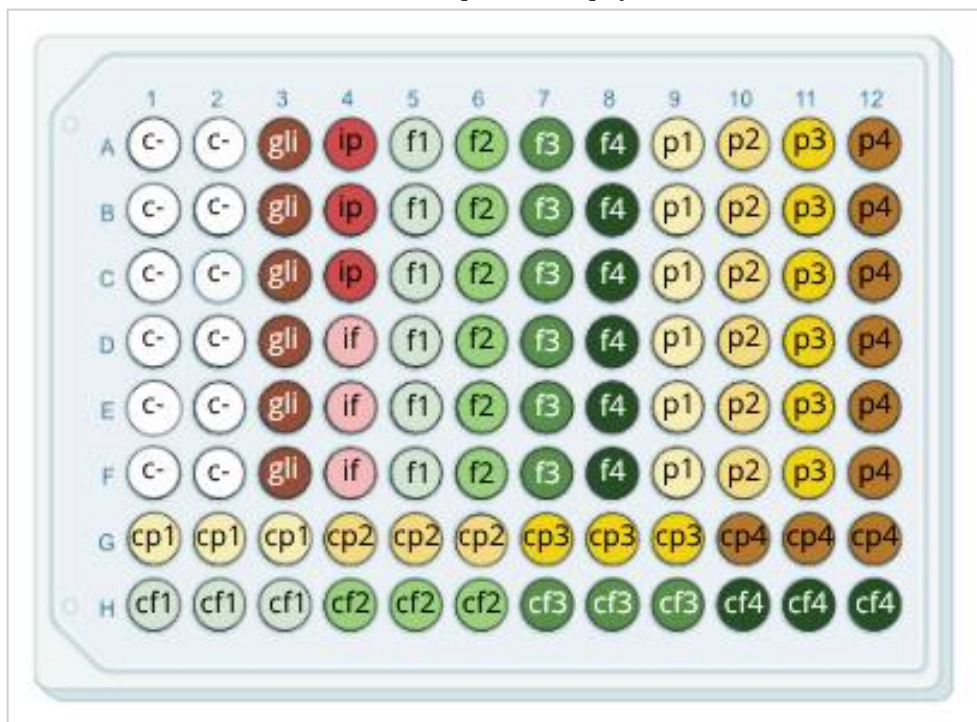
Sendo assim, cepas de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 foram inoculadas a 1000 UFC.mL^{-1} em frascos estéreis de 250 mL contendo 100 mL de caldo de soja tríptica (TSB), preparado a partir de 1% de triptona, 0,5% de extrato de levedura, 0,5% de NaCl, 0,1% de fosfato de potássio dibásico e 0,1% de glicose. A inoculação foi realizada sob agitação (agitador incubador Kuhner Lab-Therm, modelo LT-X), por 18 horas, a 37 °C.

Para os extratos, foram estabelecidas as seguintes concentrações: FMacAcet (0,179, 0,357, 0,714 e 1,429 mg.mL^{-1}) e PetOH (7,24, 14,48, 28,96 e 57,91 mg.mL^{-1}). De acordo com os resultados da determinação de fenólicos totais, para cada concentração, respectivamente, teve-se, de modo equivalente, 0,01, 0,025, 0,05 e 0,1 mg EAG.mL^{-1} . A glicose a 1% foi utilizada como controle positivo, assim como a inulina a 1,429 e 57,91 mg.mL^{-1} , que expressaram as concentrações máximas de cada extrato. Para controle negativo foram utilizados apenas o meio e o meio com extrato.

Para a esterilização dos extratos e da inulina, foi procedida a filtração em filtro de 0,22 μm (polietersulfona). Posteriormente, houve a pipetagem de 110 μL de meio de cultura, 80 μL dos extratos e controles positivos e 10 μL do inóculo bacteriano previamente ajustado à turbidez de 1 McFarland ($\approx 3,0 \times 10^8 \text{ UFC.mL}^{-1}$), conforme a Figura 12. O preparo dos extratos e a pipetagem foram realizados sob capela de fluxo laminar (VECO, modelo BIOSAFE PLUS 12,

classe II, tipo A2). A taxa de crescimento bacteriano foi medida utilizando um leitor de microplacas BIOTEK (modelo Synergy H1 Hybrid Reader), com software Gen5.2 ($\lambda = 600$ nm), a cada 30 minutos, por 18 horas. O ensaio foi realizado em sextuplicata.

Figura 12 – Detalhamento das divisões realizadas na placa de 96 poços



Notas: c-: controle negativo (apenas o meio); gli: glicose; ip: inulina na maior concentração da polpa; if: inulina na maior concentração da folha; f1: extrato da folha (0,179 mg.mL⁻¹); f2: extrato da folha (0,357 mg.mL⁻¹); f3: extrato da folha (0,714 mg.mL⁻¹); f4: extrato da folha (1,429 mg.mL⁻¹); p1: extrato da polpa (7,24 mg.mL⁻¹); p2: extrato da polpa (14,48 mg.mL⁻¹); p3: extrato da polpa (28,96 mg.mL⁻¹); p4: extrato da polpa (57,91 mg.mL⁻¹); cp: controle negativo da polpa (meio + extrato); cf: controle negativo da folha (meio + extrato).

Fonte: A autora

5.2.2.7 Caracterização qualitativa de compostos fenólicos via HPLC-DAD

As amostras FMacAcet e PetOH foram diluídas em metanol (1 mg.mL⁻¹), agitadas em vórtex (3 min) e filtradas em membranas de 0,22 µm (polietersulfona). As fases móveis, água Milli-Q (fase A) e metanol (fase B), foram desgaseificadas em banho ultrassônico antes da injeção no HPLC, durante 5 minutos. A corrida cromatográfica foi realizada em um sistema Shimadzu (Nexera I LC-2040C 3D Plus), com um detector de arranjo de diodos (DAD), utilizando uma coluna Phenomenex (Kinetex, 5 µm fenil-hexil 100 Å; 150 x 4,6 mm) e as condições do ensaio, como temperatura da coluna (30 °C), volume de injeção (10 µL) e fluxo (1 mL.min⁻¹), foram selecionadas com base no número de picos, simetria e resolução. Os cromatogramas foram obtidos em $\lambda = 280$ nm. No entanto, para a análise UV, foram

monitorados comprimentos de onda que variaram de 210 a 440 nm. O gradiente foi realizado aplicando-se a seguinte rampa de eluição: 0,01-0,1/1-5; 0,1-3/5-50; 3,01-20/50-100; 20,01-25/100-5 (min/% fase B). O ensaio foi realizado em triplicatas.

5.2.2.8 Tratamento estatístico dos dados

As análises gráficas e estatísticas, incluindo média, desvio-padrão, teste T de *Student*, análise de variância (ANOVA), teste de Tukey e coeficiente de correlação de Pearson, foram desenvolvidas no *software* R (versão 4.4.2; Rstudio 2024.09.1.0) e no OriginLab 8.5.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Compostos Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos são um dos principais grupos de metabólitos secundários presentes em produtos de origem vegetal. Além de desempenharem um importante papel organoléptico, conferindo adstringência, amargor, cor e sabor às frutas e vegetais, são responsáveis por, especialmente, atividades antioxidantes *in planta* e *ex planta* (Dhiman *et al.*, 2021).

Primeiramente, avaliando o rendimento dos extratos, observa-se que, para as folhas, após a primeira extração com etanol 70%, o rendimento foi de 76,8%, enquanto que para as sementes foi de aproximadamente 56,4%. A polpa apresentou o menor rendimento, atingindo apenas 5,3%. Após a segunda extração (folhas e sementes) e subsequente liofilização, os rendimentos finais foram de cerca de 0,6% para as folhas e 0,3% tanto para sementes quanto para a polpa. Os aspectos físicos após a liofilização também se mostraram distintos: as folhas originaram um pó seco, enquanto que as sementes e a polpa apresentaram aspecto caramelizado, indicando diferenças na composição química e na concentração de sólidos residuais.

A extração nas folhas sugere uma elevada concentração de compostos solúveis em etanol, como os fenólicos. A curva de calibração obtida para a determinação destes compostos foi $y = 0,9931x + 0,05$ ($R^2 = 0,99$), sendo os resultados expressos em mg EAG.g⁻¹ de extrato seco, conforme mostrado na Tabela 4.

Foram selecionadas as amostras com maior rendimento de compostos fenólicos para dar seguimento aos ensaios antioxidantes. Foram utilizados o teste T, ANOVA e Pós-Teste de

Tukey para análise dos dados. Nos casos em que o valor de $p > 0,05$ (T), optou-se pela amostra com maior média para prosseguir com a análise da variância.

Tabela 4 – Teor de compostos fenólicos totais apresentados nos três grupos de amostras testados

Grupo	Amostra	Fenólicos totais (mg EAG.g ⁻¹)	Teste T
Folhas	FMacAdE	163,372 ± 2,158 ^b	$p < 0,05$
	FBUAdE	84,769 ± 0,816	
	FMacMet	52,197 ± 0,642	$p < 0,05$
	FBUMet	59,492 ± 0,816 ^c	
	FMacAcet	175,086 ± 1,413^a	$p < 0,05$
	FBUAcet	75,932 ± 0,178	
Sementes Verdes	SVMacAdE	15,412 ± 0,534	$p < 0,05$
	SVBUAdE	15,721 ± 0,816 ^b	
	SVMacMet	12,124 ± 0,642 ^c	$p > 0,05$
	SVBUMet	8,580 ± 3,854	
	SVMacAcet	18,187 ± 0,308	$p < 0,05$
	SVBUAcet	21,321 ± 1,858^a	
Sementes Maduras	SMMacAdE	14,282 ± 0,942	$p > 0,05$
	SMBUAdE	14,745 ± 0,776 ^b	
	SMMacMet	14,488 ± 0,308 ^b	$p > 0,05$
	SMBUMet	14,025 ± 0,816	
	SMMacAcet	18,341 ± 0,308^a	$p < 0,05$
	SMBUAcet	13,923 ± 0,178	
Polpa	PetOH	4,315 ± 0,308	-

Notas: Foi aplicada a ANOVA separadamente para cada grupo amostral, com resultados estatisticamente significativos ($p < 0,05$) em todos os casos. As letras em sobrescrito foram determinadas com base no teste de Tukey pós-ANOVA ($p < 0,05$), sendo que letras iguais não apresentam diferença estatística ao nível de 95% de confiança.

Fonte: A autora

As folhas tiveram o maior rendimento de fenólicos totais, atingindo até 175 mg EAG.g⁻¹ do composto quando submetidas à extração com acetona, por mais 7 dias, após a extração inicial com etanol 70%. De forma oposta, a polpa obteve o rendimento mais baixo, cerca de 40 vezes inferior se comparada a FMacAcet, fato que pode ser explicado, além de diferenças na composição química entre os tecidos vegetais, pela ausência de segunda extração.

De modo geral, a acetona se mostrou mais eficiente na extração dos compostos fenólicos, superando o desempenho do acetato de etila e do metanol. Contrariamente, o metanol apresenta menor taxa extrativa destes compostos. Com base nestes resultados, as amostras FMacAcet ($175,086 \pm 1,413$ mg EAG.g⁻¹), SVBUAcet ($21,321 \pm 1,858$ mg EAG.g⁻¹), SMMacAcet ($18,341 \pm 0,308$ mg EAG.g⁻¹) e PetOH ($4,315 \pm 0,308$ mg EAG.g⁻¹) foram selecionadas para os ensaios antioxidantes de acordo com os resultados obtidos.

As propriedades medicinais de drogas vegetais são advindas de seus fitoconstituintes, também conhecidos como metabólitos secundários. Neste sentido, a nespereira é rica, especialmente, em fenólicos, flavonoides e carotenoides, compostos fundamentais na manutenção da integridade da pele mediada pela atividade antioxidante com a eliminação de radicais livres (Costa *et al.*, 2022; Pawłowska *et al.*, 2023).

Mogole, Omwoyo e Mtunzi (2020) extraíram os fitoconstituintes das folhas de nespereira por 24 horas, utilizando diferentes solventes. O metanol foi o mais eficiente ($3,810$ mg EAG.g⁻¹). Já Fu *et al.* (2020) obtiveram resultados que variaram de $15,43$ a $34,36$ mg EAG.g⁻¹, embora o objetivo principal tenha sido a extração de polissacarídeos em etanol 80% e água deionizada, em extrações de no máximo duas horas. Em um estudo mais recente, Kuo *et al.* (2025) utilizaram diferentes solventes por 24 horas, e o metanol apresentou rendimento de $35,59$ mg EAG.g⁻¹, enquanto que a acetona obteve $15,06$ mg EAG.g⁻¹. No que tange às cascas do fruto, Zhang *et al.* (2015) tiveram valores de $30,58$ a $43,70$ mg EAG.g⁻¹ e na polpa de $9,90$ a $13,73$ mg EAG.g⁻¹, em extrações realizadas com etanol 95% e ácido fórmico 1%.

Uma das possíveis explicações para os altos níveis de fenólicos obtidos nesta pesquisa diz respeito à metodologia da extração, em que as amostras ficaram embebidas em etanol 70% durante 168 horas, ou seja, 7 dias e, posteriormente, um segundo solvente foi aplicado ao conteúdo remanescente, durante mais 7 dias (maceração) ou 15 minutos (banho ultrassônico). Estima-se, também, que o etanol, que possui polaridade semelhante à do metanol, tenha extraído grande parte dos compostos, esgotando a amostra e reduzindo a eficiência do metanol. Por outro lado, a acetona, por ser um solvente polar-apolar intermediário, atuou de modo complementar, extraindo moléculas que não tiveram afinidade pelos solventes anteriores, o que explica os altos valores de quantificação observados.

Kim *et al.* (2025) identificaram 10 compostos fenólicos nas folhas de *E. japonica*, pertencentes a classes altamente polares, como os conjugados de ácido fenólico-quínico, também presente no fruto (Costa *et al.*, 2022), ácido fenólico-chiquímico e os fenólicos glicosilados. Por isto, com o aumento da polaridade do solvente, eleva-se a quantidade de

fenólicos no extrato (Mogole, Omwoyo e Mtunzi, 2020). Contudo, a nespereira também possui compostos estruturalmente mais simples, cuja polaridade é moderada, como o trans-*p*-ácido cumaróico, e ésteres metílicos (cumaroilquínico e cafeoilquínico) (Kim *et al.*, 2025), sendo, idealmente, extraídos com solventes como a acetona.

Além disto, fatores ambientais desempenham papel fundamental na síntese de compostos fenólicos (Dhiman *et al.*, 2021), que são os responsáveis por adaptarem as folhas ao estresse fisiológico e à radiação UV e, portanto, estão aumentados nestas circunstâncias (Mogole, Omwoyo e Mtunzi, 2020). As amostras deste estudo foram coletadas em junho de 2024, no município de Ponta Grossa (PR), ou seja, durante o inverno. Beruski, Pereira e Sentelhas (2015) observaram que a Transmitância Solar Global (Tg), parâmetro diretamente associado à intensidade de luz e radiação UV, é mais elevada nesta região durante os meses do outono e inverno, especialmente em dias ensolarados. Tal fato é atribuído aos menores índices de nebulosidade para a região nesta época do ano, o que contribui para um clima mais seco e com maior incidência de radiação solar. Portanto, a origem geográfica, além do período de coleta, pode afetar a composição dos metabólitos secundários quantificados em amostras vegetais (Pawłowska *et al.*, 2023).

5.3.2 Flavonoides Totais

A curva obtida na determinação de fenólicos totais foi $y = 6,4713x - 0,0096$ ($R^2 = 0,99$). A Tabela 5 expressa os resultados obtidos em mg EQ.g⁻¹ e percentual (%) em relação aos fenólicos totais.

Foram selecionadas as amostras com maior rendimento percentual de flavonoides em relação aos fenólicos totais para dar seguimento aos ensaios antioxidantes, sendo uma estimativa comparativa e não exata. Foram utilizados o teste T, ANOVA e Pós-Teste de Tukey para análise dos dados. Nos casos em que o valor de $p > 0,05$ (T), optou-se pela amostra com maior média para prosseguir com a análise da variância.

Tabela 5 – Flavonoides totais (FT) expressos em mg EQ.g⁻¹ e %

Grupo	Amostra	FT (mg EQ.g ⁻¹)	FT (%)	Teste T
Folhas	FMacAdE	0,753 ± 0,042	0,461	$p < 0,05$
	FBUAdE	0,602 ± 0,077	0,710 ^b	

Grupo	Amostra	FT (mg EQ.g ⁻¹)	FT (%)	Teste T
Folhas	FMacMet	0,584 ± 0,045	1,119^a	$p > 0,05$
	FBUMet	0,650 ± 0,031	1,093	
	FMacAcet	0,653 ± 0,089	0,373	$p < 0,05$
	FBUAcet	0,613 ± 0,018	0,807 ^b	
Sementes Verdes	SVMacAdE	0,030 ± 0,001	0,195 ^b	$p < 0,05$
	SVBUAdE	0,027 ± 0,000	0,172	
	SVMacMet	0,026 ± 0,001	0,214	$p < 0,05$
	SVBUMet	0,026 ± 0,002	0,303^a	
	SVMacAcet	0,024 ± 0,000	0,132	$p > 0,05$
	SVBUAcet	0,028 ± 0,002	0,131 ^c	
Sementes Maduras	SMMacAdE	0,031 ± 0,005	0,217 ^{ab}	$p > 0,05$
	SMBUAdE	0,027 ± 0,001	0,183	
	SMMacMet	0,020 ± 0,003	0,138	$p > 0,05$
	SMBUMet	0,022 ± 0,002	0,157 ^b	
	SMMacAcet	0,028 ± 0,001	0,153	$p < 0,05$
	SMBUAcet	0,035 ± 0,003	0,251^a	
Polpa	PetOH	0,290 ± 0,017	6,721	-

Notas: Foi aplicada a ANOVA separadamente para cada grupo amostral, com resultados estatisticamente significativos ($p < 0,05$) em todos os casos. As letras em sobrescrito foram determinadas com base no teste de Tukey pós-ANOVA ($p < 0,05$), sendo que letras iguais não apresentam diferença estatística ao nível de 95% de confiança.

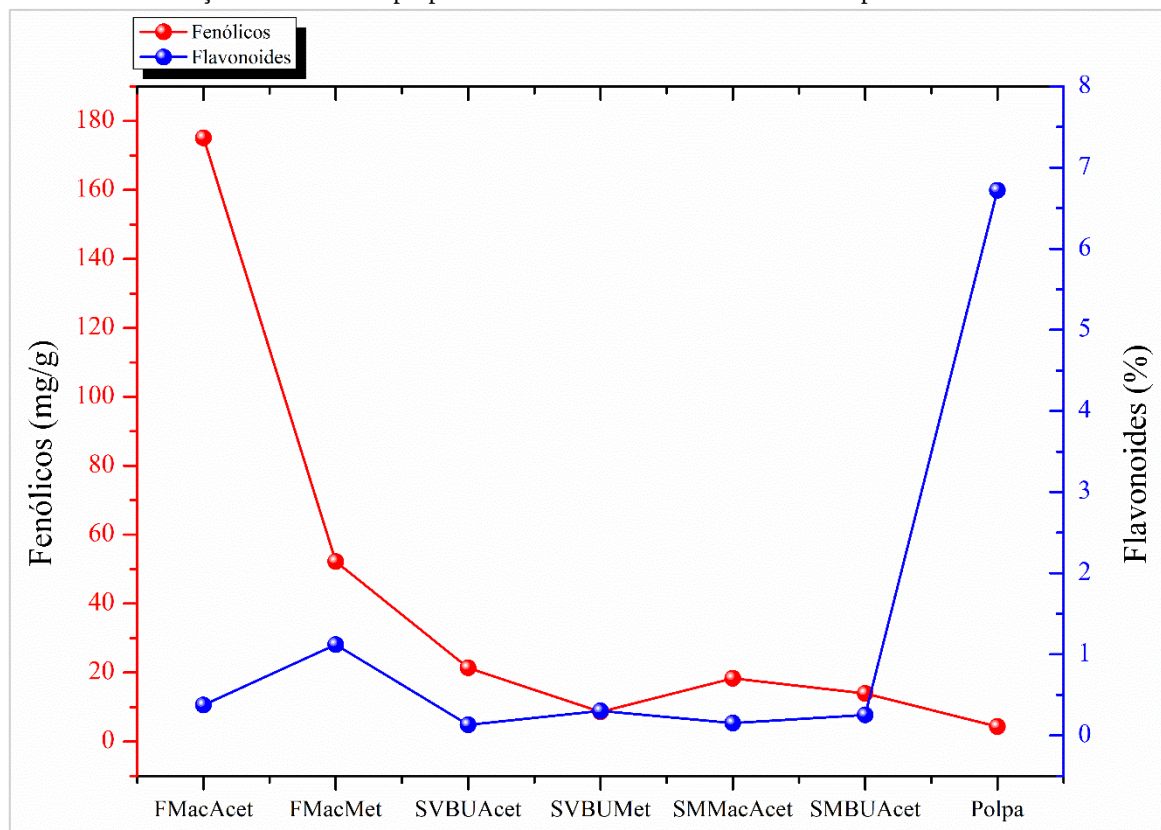
Fonte: A autora

A polpa obteve o maior rendimento de flavonoides totais em termos percentuais (6,721%), enquanto que, em massa, o extrato FMacAdE foi o mais expressivo ($0,753 \pm 0,042$ mg EQ.g⁻¹). Em segundo lugar, no rendimento percentual, destacou-se o extrato FMacMet (1,119%), representando uma redução de, aproximadamente, 6 vezes em relação à PetOH. Já em termos de massa, a própria polpa ocupou a segunda posição ($0,290 \pm 0,017$ mg EQ.g⁻¹), com uma redução de apenas 2,6 vezes em comparação à FMacAdE.

Estes resultados sugerem que, caso uma segunda extração tivesse sido aplicada à polpa, é plausível que seu rendimento de flavonoides em massa fosse ainda mais elevado. Adicionalmente, os dados revelaram uma relação inversamente proporcional entre o percentual de flavonoides e fenólicos totais, especialmente nas amostras FMacAcet e PetOH (Gráfico 1).

As amostras FMacMet (1,119%), SVBUMet (0,303%), SMBUAcet (0,251%) e PetOH (6,721%) foram selecionadas para os ensaios de atividade antioxidante.

Gráfico 1 – Relação inversamente proporcional entre a massa de fenólicos e o percentual de flavonoides



Fonte: A autora

No que tange à polpa, um resultado semelhante foi observado nos dados de Pawłowska *et al.* (2023). Por fim, os autores também concluíram que os dois principais constituintes presentes no fruto, que não estão relatados na literatura, são a apigenina acetilhexosídeo (31,52%), uma flavona, e o ácido rosmarínico (21,87%) (ácido fenólico).

De acordo com Kim *et al.* (2025), podem também ser encontrados na folha flavonoides como o kaempferol e a quercetina, além de flavonóis, flavolignanos, flavonoides glicosilados e flavonoides glicosilados cumaroilados, sendo que os ramnosídeos de flavonoides cumaroilados são exclusivos da nespereira. Nos frutos, são relatados flavonóis glicosilados (Costa *et al.*, 2022).

5.3.3 ABTS^{•+}

Para a análise da neutralização dos radicais ABTS^{•+}, foram utilizadas as amostras com os resultados mais estatisticamente significativos na determinação de fenólicos (Fe) e percentual de flavonoides (Fla). Sendo assim, foram utilizadas FMacAcet (Fe), FMacMet (Fla), SVBUAcet (Fe), SVBUMet (Fla), SMMacAcet (Fe), SMBUAcet (Fla) e PetOH.

O percentual de inibição obtido para as concentrações testadas foi transformado em valores de IC₅₀, apresentados na Tabela 6, através do modelo não linear de regressão logística,

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + (x/x_0)^p} + A_2.$$

O padrão (P) utilizado foi a quercetina e o ácido gálico.

Tabela 6 – Valores de IC₅₀ obtidos no ensaio ABTS^{•+} e significância estatística de ajuste do modelo

Amostra	IC ₅₀ (mg.mL ⁻¹)	R ²	ANOVA
Ácido Gálico (P)	0,000268	0,99	<i>p</i> < 0,05
Quercetina (P)	0,000828	0,99	
FMacAcet (Fe)	0,007770	0,99	
FMacMet (Fla)	0,167780	0,97	
SVBUAcet (Fe)	0,015180	0,99	
SVBUMet (Fla)	0,020900	0,99	
SMMacAcet (Fe)	0,197410	0,99	
SMBUAcet (Fla)	0,030120	0,99	
PetOH	0,133260	0,99	

Notas: verde: menores valores de IC₅₀; amarelo: valores intermediários de IC₅₀; vermelho: maiores valores de IC₅₀.
Fonte: A autora

Sabe-se que o estresse oxidativo ocorre durante desequilíbrios entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a contenção destes radicais pelo organismo. O potencial antioxidante de origem vegetal, advindo, especialmente, dos polifenóis, consegue anular tal cenário (Kim *et al.*, 2025; Kuo *et al.*, 2025; Csepregi *et al.*, 2016). Devido à alta diversificação dos compostos fenólicos, as propriedades antioxidantes de extratos vegetais são, geralmente, caracterizadas como capacidades antioxidantes totais (CAT), e a avaliação da neutralização do radical ABTS^{•+} é um dos métodos mais comuns utilizados (Csepregi *et al.*, 2016).

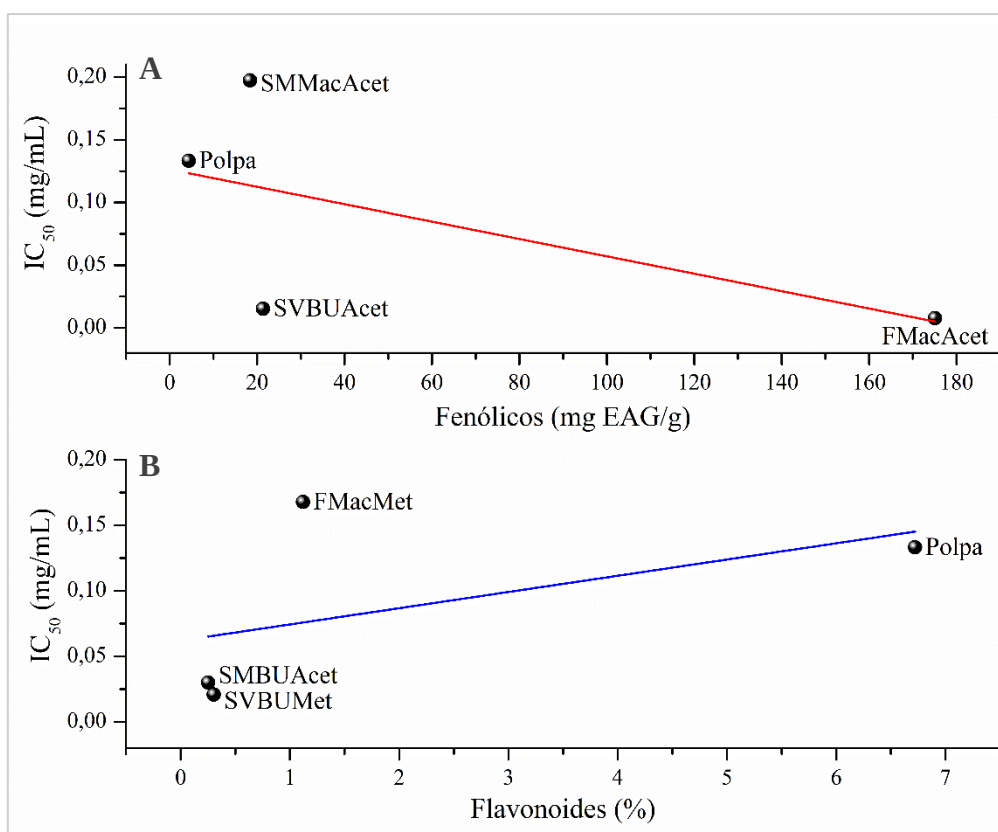
Amostras com menores valores de IC₅₀ apresentam maior capacidade antioxidante (Suriyatem *et al.* 2017). Deste modo, a amostra com menor valor de IC₅₀ foi a FMacAcet (Fe), apresentando um potencial antioxidante apenas 9,3 vezes inferior ao da quercetina. Em contrapartida, a amostra com maior IC₅₀, a SMMacAcet (Fe), demonstrou uma capacidade 238 vezes menor de neutralizar os radicais ABTS^{•+}. A polpa, que expressou o maior percentual de flavonoides totais em relação aos fenólicos, exibiu uma atividade antioxidante 160 vezes

inferior à quercetina. Resultados semelhantes em termos de magnitude foram reportados por Kuo *et al.* (2025), que, ao avaliarem a atividade antioxidante das folhas de *E. japonica* a partir do ensaio ABTS^{•+}, obtiveram valores de IC₅₀ de 0,0354, 0,0636 e 0,0772 mg.mL⁻¹ para os solventes metanol, etanol e acetona, respectivamente.

Todos os valores de IC₅₀ obtidos neste ensaio foram bem descritos pelo modelo logístico, uma vez que as curvas geradas para todas as amostras, representando a relação entre a concentração do extrato e o percentual de inibição, apresentaram comportamento sigmoidal, com um platô visível a partir de aproximadamente 85% de inibição. Estatisticamente, o menor coeficiente de determinação (R^2) foi de 0,97, indicando uma forte aderência do modelo aos dados experimentais. O uso desta forma de ajuste é recomendado para dados de ensaios antioxidantes como o ABTS^{•+}, visto que descreve adequadamente a transição entre as fases mínimas e máximas de inibição (Suriyatem *et al.*, 2017). Por fim, a ANOVA demonstrou significância estatística ($p < 0,05$), reforçando a adequação do ajuste.

A correlação entre IC₅₀ e teor de fenólicos, bem como IC₅₀ e teor de flavonoides, é expressa no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Relação gráfica demonstrando a correlação entre duas variáveis, sendo IC₅₀ e fenólicos (A) (correlação negativa moderada) e IC₅₀ e flavonoides (B) (correlação positiva moderada)



Fonte: A autora

Foi observada uma correlação negativa moderada entre a IC₅₀ e o teor de fenólicos totais ($r = -0,60$; coeficiente de correlação de Pearson), indicando que maiores concentrações de compostos fenólicos estão associadas a uma menor IC₅₀ e, portanto, a uma maior atividade antioxidante, conforme exposto, também, por Dhiman *et al.* (2021).

Por outro lado, a correlação entre a IC₅₀ e o teor de flavonoides foi positiva ($r = 0,52$; coeficiente de correlação de Pearson), sugerindo que o aumento no percentual de flavonoides está associado a valores mais elevados de IC₅₀ e, conseqüentemente, a uma menor atividade antioxidante.

Estes resultados indicam que os flavonoides presentes nos extratos não são os principais constituintes responsáveis pela atividade antioxidante constatada, uma vez que seu aumento aparenta ocorrer em detrimento de outros compostos fenólicos com maior capacidade antioxidante, configurando, assim, uma relação inversamente proporcional entre estes grupos.

5.3.4 FRAP

Para a análise da redução do íon férrico em complexo ferroso (ensaio FRAP) foram utilizadas as mesmas amostras previamente avaliadas no ensaio ABTS^{•+}. A curva analítica obtida foi $y = 4,5429x + 0,0623$ ($R^2 = 0,99$). Os resultados, obtidos a partir da média de, pelo menos, quatro concentrações em triplicata, são expressos em $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$ na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores obtidos no ensaio FRAP equivalentes ao Trolox

Amostra	$\mu\text{mol TE.g}^{-1}$
FMacAcet (Fe)	0,143 ± 0,029
FMacMet (Fla)	0,081 ± 0,046
SVBUAcet (Fe)	0,043 ± 0,022
SVBUMet (Fla)	0,046 ± 0,012
SMMacAcet (Fe)	0,030 ± 0,011
SMBUAcet (Fla)	0,022 ± 0,005
PetOH	0,021 ± 0,008

Notas: verde: maior atividade antioxidante; amarelo: atividade antioxidante intermediária; vermelho: menor atividade antioxidante.

Fonte: A autora

O FRAP, projetado, a princípio, para medir o potencial antioxidante do plasma, foi adaptado e atualmente permite a avaliação da capacidade antioxidante de extratos vegetais (Csepregi *et al.*, 2016). Amostras com maiores valores indicam maior capacidade redutora e, portanto, maior potencial antioxidante. Sendo assim, a amostra FMacAcet (Fe) apresentou a

atividade mais elevada ($0,143 \pm 0,020 \mu\text{mol TE.g}^{-1}$). Resultado semelhante foi observado para a amostra FMacMet ($0,081 \pm 0,046 \mu\text{mol TE.g}^{-1}$). Valores intermediários foram observados nas amostras de sementes verdes, enquanto a polpa apresentou o menor valor antioxidante ($0,021 \pm 0,008 \mu\text{mol TE.g}^{-1}$).

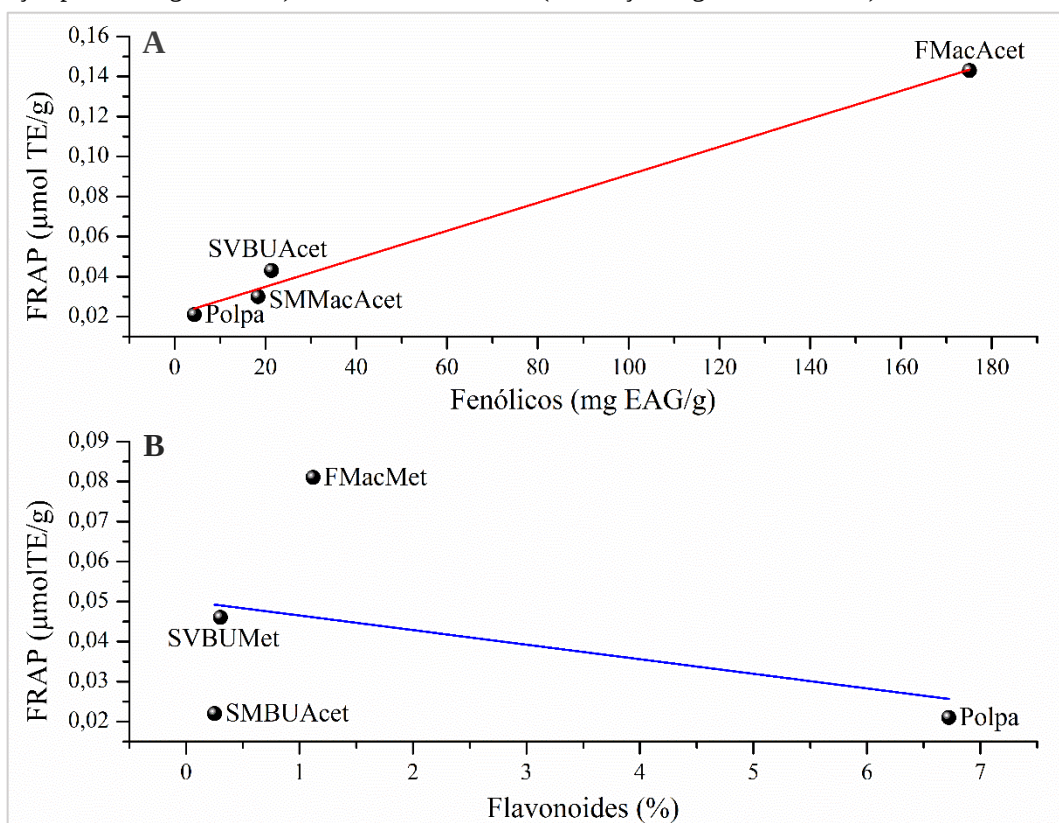
Xu e Chen (2011), em seu estudo, obtiveram como menor valor para polpa $2,17 \mu\text{mol TE.g}^{-1}$. Sabe-se que fatores climáticos e demográficos estão diretamente associados à produção de metabólitos secundários e, conseqüentemente, à atividade destes fitoconstituintes. Neste sentido, alguns compostos antioxidantes, quando são produzidos, podem ficar invisíveis em determinados métodos, especialmente por conta da conformação de moléculas. O FRAP, por exemplo, é falho quando há ausência da estrutura 3-OH em ácidos hidroxicinâmicos, não registra a atividade de glicosídeos de kaempferol e detecta de modo mínimo aquelas produzidas pelos ácidos mono-hidroxibenzóicos e cumarínicos (Csepregi *et al.*, 2016).

Vale ressaltar que o *trans-p*-ácido cumaróico, um fenólico simples, além de flavonoides glicosilados como a quercetina-3-O- β -glucosídeo, quercetina-3-O- β -galactosídeo, quercetina-3-O- α -ramnosídeo, kaempferol-3-O- β -soforosídeo, kaempferol-3-neohesperidosídeo e quercetina-3-O-soforosídeo, e flavonoides glicosilados cumaróilados como kaempferol-3-O- α -ramnopiranosídeo 2'',4''-di-E-p-éster de ácido cumaróico, kaempferol 3-O- α -(3''E,4''E di-p-cumaróil)-ramnosídeo, kaempferol-3-O- α -ramnosídeo 3''-Z,4''-E-di-p-éster de ácido cumaróico, quercetina 3-O-(2'',4''di-E-p-cumaróil)- α -ramnosídeo e, por fim, quercetina-3-O-(3'',''di-E-p-cumaróil)- α -ramnosídeo foram identificados em *E. japonica* (Kim *et al.*, 2025).

Assim como no ensaio ABTS^{•+}, observa-se que as amostras pertencentes ao grupo com maior percentual de flavonoides obtiveram as menores capacidades redutoras, reforçando a hipótese de que a redução no teor de fenólicos totais contribui significativamente para a diminuição da atividade antioxidante dos extratos.

A correlação entre o potencial redutor dos extratos e o teor de fenólicos e flavonoides, respectivamente, é apresentada no Gráfico 3.

Gráfico 3 – Relação gráfica demonstrando a correlação entre duas variáveis, sendo FRAP e fenólicos (A) (correlação positiva significativa) e FRAP e flavonoides (correlação negativa moderada)



Fonte: A autora

Observou-se uma correlação positiva significativa entre o potencial antioxidante e o teor de fenólicos totais ($r = 0,99$; coeficiente de correlação de Pearson), demonstrando que, quanto maior a concentração de fenólicos na amostra, maior sua capacidade de reduzir íons férricos a ferrosos, ou seja, maior sua atividade antioxidante. Esta correlação positiva é documentada, também, no estudo de Mogole, Omwoyo e Mtunzi (2020).

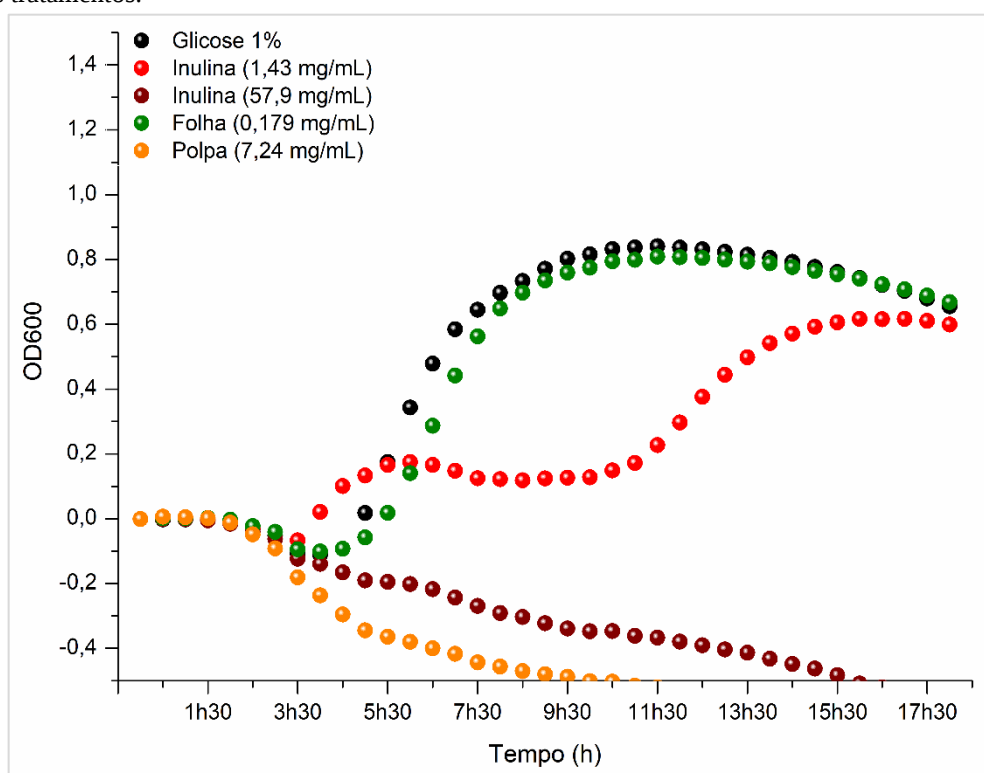
Em contrapartida, a correlação entre a atividade antioxidante e o percentual de flavonoides foi negativa ($r = -0,40$; coeficiente de correlação de Pearson), sugerindo que o aumento no conteúdo de flavonoides está associado a uma redução moderada no potencial redutor dos extratos. Estes resultados reforçam a hipótese de que a maior parte da atividade antioxidante observada nos extratos pode não estar diretamente relacionada à fração de flavonoides, mas sim a outros compostos fenólicos presentes nas amostras.

5.3.5 Atividade Prebiótica

Para a avaliação da atividade prebiótica, foram selecionadas duas amostras: a mais significativa quanto ao teor de fenólicos totais (FMacAcet) e ao percentual de flavonoides totais em relação aos compostos fenólicos (PetOH). Neste sentido, a folha demonstrou possuir excelente atividade prebiótica, sendo que seus resultados foram estatisticamente semelhantes aos controles positivos, glicose 1% e inulina 1,43 mg.mL⁻¹ ($p > 0,05$), conforme apresentado no gráfico 4.

Por outro lado, a polpa apresentou, em todas as suas concentrações, atividade bacteriostática e bactericida frente à *Staphylococcus epidermidis* ao longo das 18 h. O mesmo efeito foi observado para a inulina na concentração de 57,9 mg.mL⁻¹, indicando, neste caso, uma possível saturação do meio e excesso de substrato, fatores que podem ter prejudicado o desenvolvimento bacteriano. O Gráfico 4 expressa o comportamento de cada amostra a cada 90 minutos.

Gráfico 4 – Cinética de crescimento de *Staphylococcus epidermidis* após exposição ao meio enriquecido com diferentes tratamentos.

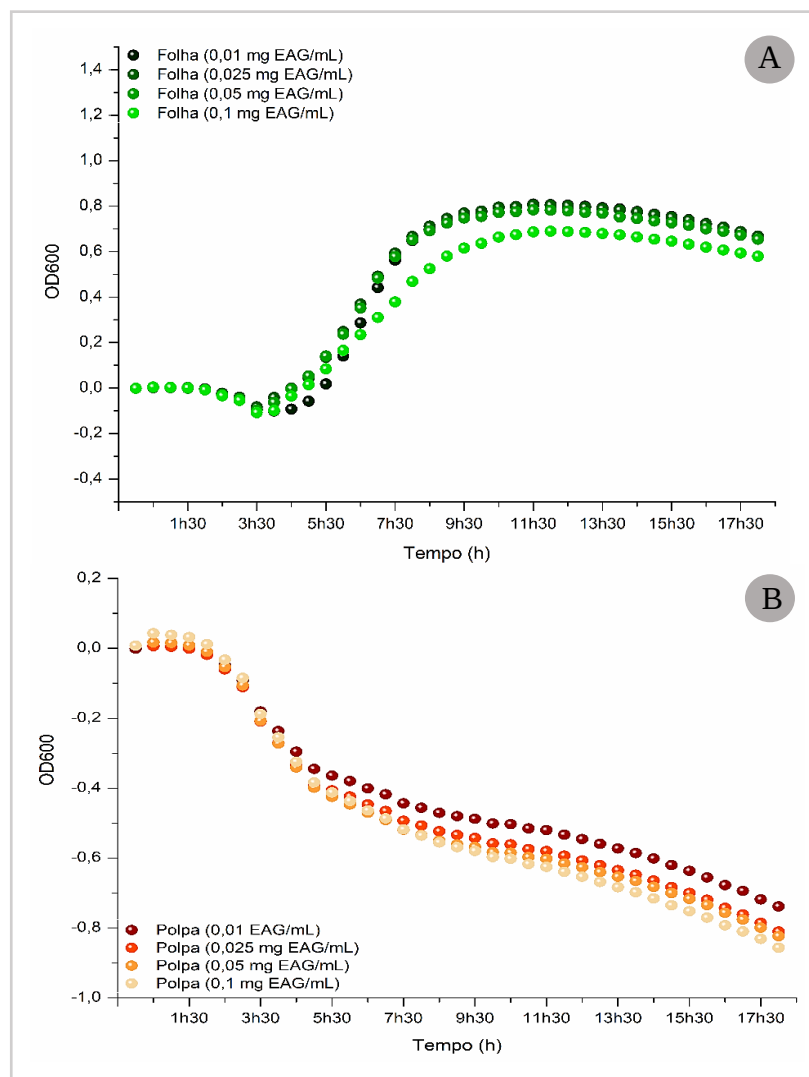


Notas: OD600: densidade óptica a 600 nm.

Fonte: A autora

De acordo com o Gráfico 4, observa-se que a fase de latência ocorre durante os primeiros 90 minutos, sendo que todas as amostras apresentam comportamento semelhante até este momento. A inulina ($1,43 \text{ mg.mL}^{-1}$) apresenta elevação mais acentuada na fase exponencial, porém exibe estabilização inicial após aproximadamente 5h30 de ensaio, enquanto a folha e a glicose atingem a fase estacionária apenas cerca de 9h30 após o início da avaliação. A polpa, por sua vez, exibiu atividade bacteriostática e bactericida, conforme observado pelo declínio constante da absorbância de acordo com a densidade óptica a 600 nm (OD600). O Gráfico 5 mostra a cinética de crescimento correspondente às quatro concentrações de cada extrato, sendo observado que, para a folha, o aumento na concentração não influenciou o crescimento bacteriano ($p > 0,05$).

Gráfico 5 – Cinética de crescimento de *S. epidermidis* após exposição ao meio enriquecido com o extrato da folha (A) e da polpa (B).



Notas: OD600: densidade óptica a 600 nm.

Fonte: A autora

A Tabela 8, por sua vez, exibe as concentrações de extratos utilizadas, sua concentração equivalente de compostos fenólicos e a OD600 a cada 6 horas. Neste estudo, observou-se que o extrato obtido da folha apresentou atividade prebiótica consistente e elevada, dado que o crescimento bacteriano se manteve estável em todas as concentrações testadas, independentemente do teor de fenólicos (Gráfico 5A e Tabela 8). Por outro lado, o extrato da polpa demonstrou atividade antimicrobiana, apresentando efeito bactericida e inibitório (Gráfico 5B e Tabela 8). Estes comportamentos sugerem uma alta variedade de fitoconstituintes fenólicos nas diferentes partes de *E. japonica*.

Tabela 8 – Relação entre concentração, compostos fenólicos e crescimento microbiano medidos através da densidade óptica (OD600).

Extrato	Concentração (mg.mL ⁻¹)	Teor de Fenólicos (mg EAG.mL ⁻¹)	OD600 6h	OD600 12h	OD600 18h
FMacAcet	0,179	0,01	0,135 ± 0,253	0,807 ± 0,048	0,660 ± 0,029 ^a
	0,357	0,025	0,248 ± 0,316	0,798 ± 0,057	0,669 ± 0,032 ^a
	0,714	0,05	0,236 ± 0,285	0,752 ± 0,100	0,655 ± 0,044 ^a
	1,429	0,1	0,165 ± 0,193	0,690 ± 0,146	0,580 ± 0,082 ^a
PetOH	7,24	0,01	-0,380 ± 0,008	-0,533 ± 0,020	-0,748 ± 0,037 ^a
	14,48	0,025	-0,424 ± 0,018	-0,590 ± 0,016	-0,826 ± 0,042 ^b
	28,96	0,05	-0,448 ± 0,003	-0,614 ± 0,006	-0,823 ± 0,005 ^c
	57,91	0,1	-0,441 ± 0,007	-0,639 ± 0,004	-0,856 ± 0,005 ^d

Fonte: A autora

Atualmente, os prebióticos têm sido objeto de crescente interesse científico, uma vez que inúmeras condições médicas apresentam mecanismos fisiopatológicos correlacionados à disbiose de microbiomas distribuídos pelo organismo. Na dermatite atópica (DA), cenário semelhante é observado (Wang, S. *et al.*, 2025). Embora seja uma doença multifatorial, os indivíduos acometidos por esta afecção de pele apresentam redução significativa em cepas comensais do tecido cutâneo, como *S. epidermidis*, promovendo, como consequência, um aumento de colônias patogênicas, como *S. aureus*, e uma redução na produção de peptídeos antimicrobianos (AMPs). Estes fatores, em conjunto, culminam na diminuição da integridade da barreira epidérmica, estrutura já fragilizada por processos inflamatórios e oxidativos (Gatmaitan; Lee, 2023; Wang, S. *et al.*, 2025).

A maioria das pesquisas sobre microbiomas tem se voltado predominantemente ao ambiente intestinal, enquanto a microbiota cutânea permanece relativamente pouco explorada.

Tal carência de estudos é ainda mais evidente quando se trata da avaliação prebiótica de extratos vegetais, especialmente de espécies pertencentes à família Rosaceae, no âmbito epidérmico. Ivanković *et al.* (2023) constataram, a partir do extrato de *Ribes nigrum* L. (Grossulariaceae), efeito estimulante sobre o crescimento de *S. epidermidis* e, ao mesmo tempo, inibitório sobre as cepas de *S. aureus*. Os autores concluíram que as atividades prebióticas e bacteriostáticas foram influenciadas de acordo com os níveis de compostos fenólicos.

Na folha, é possível que os complexos de polissacarídeos-fenólicos, conforme evidenciados por Fu *et al.* (2020), tenham sido os responsáveis pela atividade prebiótica, especialmente se em sinergia com outros metabólitos secundários. A polpa, mais rica em flavonoides, como os flavonóis glicosilados (Costa *et al.*, 2022), pode exercer ação antimicrobiana. Costa *et al.* (2025) demonstraram que flavonoides glicosilados da *Ocotea notata* (Nees & Mart.) Mez (Lauraceae) exibem efeito bacteriostático e bactericida frente a *S. epidermidis*. Mu, Zeng e Chen (2021) constataram que a quercetina, o principal flavonoide da *Coreopsis tinctoria* Nutt. (Asteraceae) é capaz de inibir a formação de biofilme de *S. epidermidis* em concentrações dose-dependentes. Aparentemente, o mecanismo antimicrobiano dos flavonoides envolve a supressão da síntese de ácidos nucleicos, interferências na funcionalidade e permeabilidade da membrana citoplasmática, além da redução e/ou inibição do metabolismo energético, fatores que impactam diretamente o crescimento bacteriano (Shamsudin *et al.*, 2022).

Assim, os resultados obtidos neste estudo evidenciam o potencial prebiótico das folhas de *E. japonica* frente às cepas de *S. epidermidis*, sugerindo que o estímulo ao crescimento bacteriano está mais relacionado à composição qualitativa dos compostos fenólicos do que à sua quantidade total. Este achado expressa o papel modulador do perfil químico dos fitoconstituintes na interação com a microbiota cutânea.

5.3.6 Perfil Fenólico dos Extratos Determinado por HPLC-DAD

Os compostos fenólicos constituem uma das principais classes de metabólitos secundários presentes em plantas e vegetais, com mais de 8000 moléculas identificadas (Crozier *et al.*, 2009). Do ponto de vista estrutural, caracterizam-se pela presença de, pelo menos, um anel aromático, ligado a um ou mais grupamentos hidroxila, podendo variar desde moléculas simples até estruturas altamente condensadas, com elevada massa molecular (Ignat; Volf; Popa, 2011; Crozier *et al.*, 2009; Sánchez-Gutiérrez *et al.*, 2018; Dai; Mumper, 2010). E, embora

desempenhem funções essenciais no metabolismo vegetal, como polinização e proteção, estes compostos também apresentam grande relevância farmacológica, estando associados ao tratamento e à prevenção de distúrbios patológicos (Ignat; Volf; Popa, 2011; Dai; Mumper, 2010).

Diferentes grupos podem ser atribuídos aos compostos fenólicos de acordo com sua estrutura química. Dentre eles destacam-se os ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzoicos, como o ácido gálico, e hidroxicinâmicos, como os ácidos cafeico, cumárico e ferúlico) e os álcoois fenólicos, que possuem um único anel aromático; e os polifenóis, cuja classificação está associada ao número de anéis e aos elementos estruturais que os conectam, (Crozier *et al.*, 2009; Dai; Mumper, 2010; Sánchez-Gutiérrez *et al.*, 2018), ou seja, ao grau e padrão de hidroxilação, metoxilação, prenilização ou glicosilação (Dai; Mumper, 2010).

Neste contexto, incluem-se os flavonoides, que possuem um núcleo flavânico, contendo 15 átomos de carbono arranjados em anéis A, B e C (C6-C3-C6). De acordo com o estado de oxidação do anel central C, os flavonoides são divididos em subgrupos, como flavonóis, flavonas, flavan-3-óis, antocianidinas, flavanonas, isoflavonas, dihidroflavonóis, flavan-3,4-dióis, cumarinas, chalconas, dihidrochalconas e auronas (Dai; Mumper, 2010; Crozier *et al.*, 2009). Outras classes de polifenólicos relevantes incluem os taninos hidrolisáveis, como os derivados do ácido gálico, e taninos condensados, como as proantocianidinas, além de estilbenos e lignanas (Ignat; Volf; Popa, 2011).

Embora diversos métodos espectroscópicos e colorimétricos sejam amplamente empregados na análise de compostos fenólicos, a elevada complexidade estrutural deste grupo, aliada às distintas reatividades dos fenóis frente aos reagentes utilizados nos ensaios, pode resultar em respostas analíticas divergentes e, muitas vezes, pouco comparáveis entre si. Sendo assim, a associação destes métodos com técnicas cromatográficas modernas de alta eficiência representa uma estratégia analítica amplamente consolidada para a caracterização, qualificação e quantificação de compostos fenólicos (Dai; Mumper, 2010).

No cromatograma da FMacAcet, foram observados 17 picos relevantes, sendo estes referentes a diferentes classes de compostos fenólicos presentes na amostra analisada. A Tabela 9 expressa a enumeração dos picos, seus tempos de retenção (tR) e absorção máxima no UV ($\lambda_{\text{máx}}$, nm).

Tabela 9 – Tempo de retenção (tR) e máximos de absorção UV ($\lambda_{\text{máx}}$) dos picos cromatográficos da amostra FMacAcet

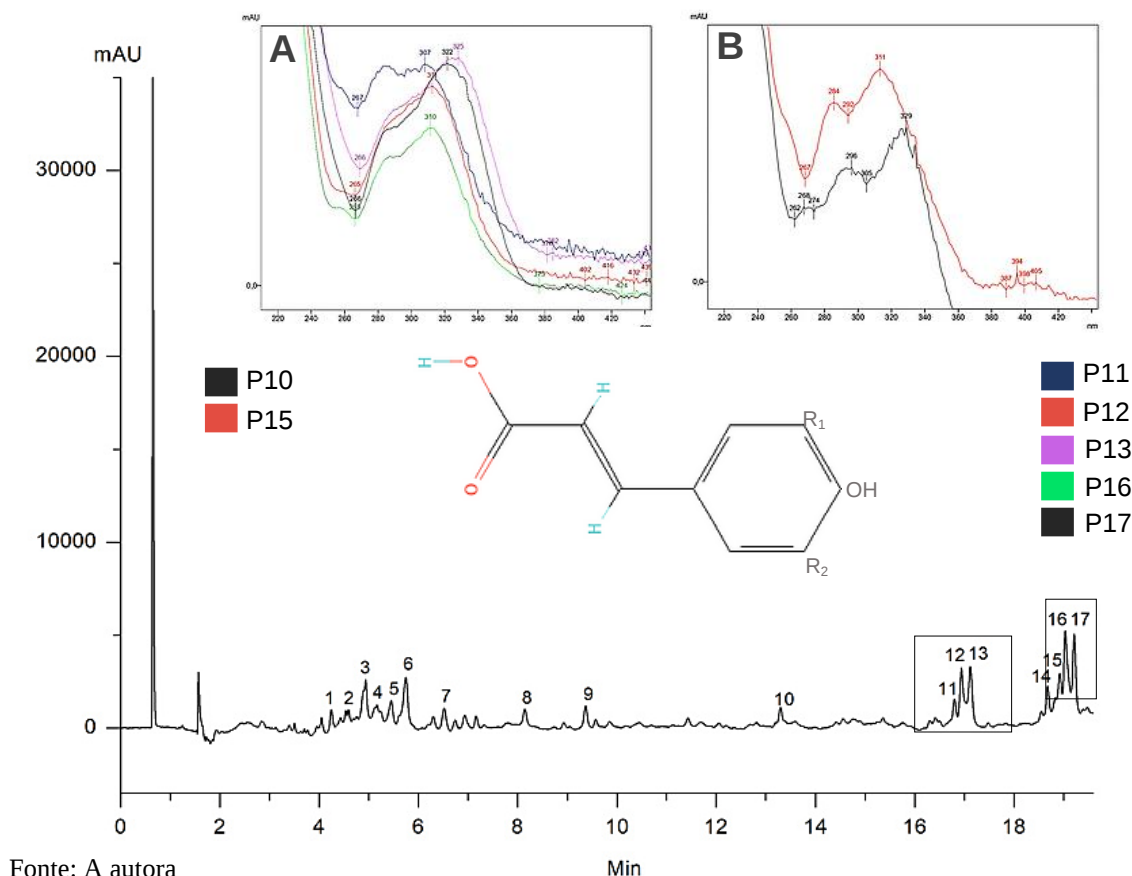
Pico	tR (min)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Classe	Referência
P1	4,260	268, 293sh	FS	Harborne, 1984
P2	4,549	269, 290sh		
P3	4,939	284-292		
P4	5,156	270, 290sh		
P5	5,459	267		
P6	5,763	290	AHB	Sun <i>et al.</i> , 2021
P7	6,456	268, 290sh	FS	Harborne, 1984
P8	8,146	270, 290sh		
P9	9,359	270, 290sh		
P10	13,302	329, 296sh	AHC	Ferreres <i>et al.</i> , 2009
P11	16,811	307		Sánchez-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2018
P12	16,941	311		
P13	17,114	325		
P14	18,674	282, 309sh	FS	Harborne, 1984
P15	18,934	311, 284sh	AHC	Ferreres <i>et al.</i> , 2009
P16	19,021	310		Sánchez-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2018
P17	19,214	322		

Notas: sh = “ombro” (*shoulder*) de absorção; FS = fenólicos simples, definidos neste estudo como compostos fenólicos que não apresentaram características espectrais compatíveis com ácidos hidroxibenzoicos ou hidroxicinâmicos; AHB = ácido hidroxibenzoico; AHC = ácido hidroxicinâmico.

Fonte: A autora

Sánchez-Gutiérrez *et al.* (2018) relataram perfis espectrais UV característicos de ácidos fenólicos do tipo hidroxicinâmico em *Ximenia parviflora* Benth. (Ximeniaceae), com banda I ampla e $\lambda_{\text{máx}}$ situados na região de aproximadamente 310-330 nm. No presente estudo, os picos P11-13, P16 e P17 apresentaram perfis UV semelhantes (Figura 13A), com banda I dominante e $\lambda_{\text{máx}}$ distribuídos nesta mesma faixa espectral, sugerindo a presença de derivados hidroxicinâmicos.

Figura 13 – Cromatograma do extrato foliar de *E. japonica* na concentração de 1 mg.mL⁻¹ e perfis espectrais UV-DAD representativos de ácidos fenólicos do tipo hidroxicinâmico (HC). (A) Derivados HC com banda I ampla em 310-330 nm (P11-P13, P16 e P17). (B) Derivados HC com banda I dominante acompanhada de “ombros” em menores comprimentos de onda (P10 e P15)



Fonte: A autora

Já os picos P10 e P15, embora também tenham apresentado $\lambda_{\text{máx}}$ característico de ácidos hidroxicinâmicos, apresentaram espectros com bandas principais acompanhadas de “ombros” na região de menor comprimento de onda, indicando variações no padrão de conjugação eletrônica (Figura 13B). Perfis espectrais semelhantes foram observados por Ferreres *et al.* (2009) em *E. japonica*.

Adicionalmente, o grau de conjugação estrutural dos compostos pôde ser avaliado a partir do tempo de retenção cromatográfico. Desta forma, além de serem classificados como derivados hidroxicinâmicos, estes compostos foram organizados de acordo com sua complexidade molecular relativa, do mais hidrofílico para o mais hidrofóbico, conforme a seguinte ordem: P10 < P11, P12 e P13 < P14, P16 e P17.

O pico P6 apresentou $\lambda_{\text{máx}}$ em 290 nm, perfil espectral compatível com ácidos fenólicos simples, especialmente os hidroxibenzoicos. Sun *et al.* (2021), ao analisarem os ácidos gálico e elágico em folhas de *Elaeagnus angustifolia* L. por HPLC-DAD, utilizando metanol e ácido fosfórico 1% como fase móvel, relataram $\lambda_{\text{máx}}$ próximo de 270 nm e tempo de retenção em torno

de 6 minutos. A similaridade entre o perfil UV, aliada ao menor tempo de retenção, fornece indícios de que este pico corresponda a um ácido hidroxibenzoico.

Xu, Li e Chen (2014) avaliaram o perfil fenólico de *E. japonica*, identificando os ácidos clorogênico, neoclorogênico, 4-o-cafeoilquínico, cafeico e o-cumárico (hidroxicinâmicos), além dos ácidos protocateico e 4-hidroxibenzoico (hidroxibenzoicos). Os autores concluíram que os ácidos hidroxicinâmicos são os mais comuns nesta espécie, fato que entra em conformidade com o perfil químico da família Rosaceae. Ferreres (2009) e Zhang *et al.* (2015) obtiveram resultados semelhantes.

Os picos restantes (P1-P5, P7-P9 e P14) foram interpretados como fenólicos simples, de acordo com os critérios espectrais de Harborne (1984). Sendo assim, estes compostos apresentaram $\lambda_{\text{máx}}$ predominantemente na região de 260-290 nm, acompanhados, em sua maioria, por “ombros” em comprimentos de onda ligeiramente maiores, padrão típico de fenólicos estruturalmente menos conjugados e de complexidade reduzida, especialmente se comparados aos ácidos hidroxicinâmicos e flavonoides.

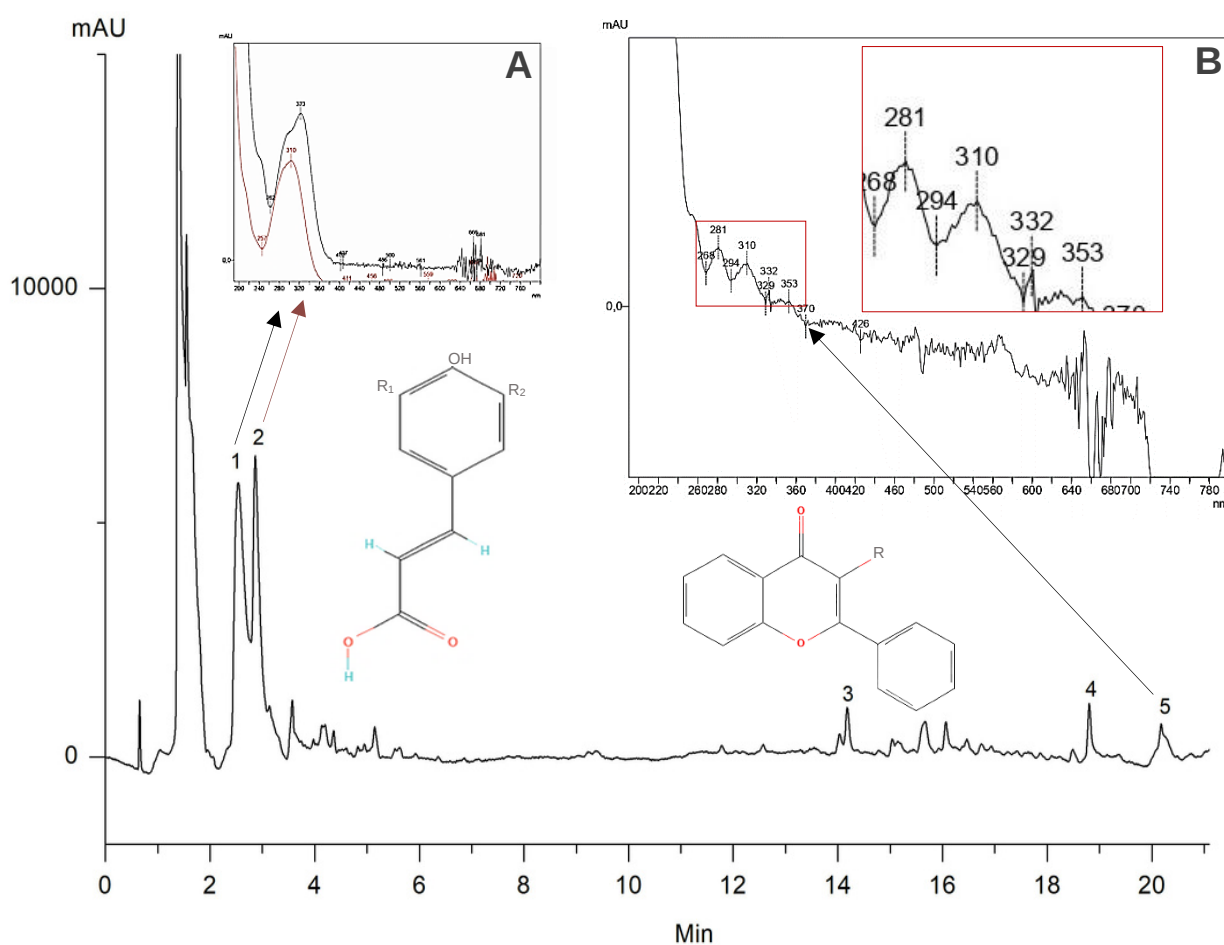
Segundo Harborne (1984), as principais classes de flavonoides apresentam perfis espectrais UV caracterizados pela presença de duas bandas bem definidas, com máximos entre 300-380 nm (banda I) e 240-280 nm (banda II). A banda I está associada ao sistema cinamoilíco, enquanto a banda II relaciona-se ao sistema benzóico, envolvendo os anéis B e C, e o anel A, respectivamente (Tonin, 2007). No presente estudo, observou-se para FMacAcet, especialmente, uma única banda principal (260-290 nm), acompanhada de “ombros” e/ou bandas pouco desenvolvidas com $\lambda_{\text{máx}}$ maiores.

Portanto, a ausência do padrão espectral característico de flavonoides, aliada aos menores tempos de retenção observados, indica que, nas condições analíticas adotadas, os compostos majoritários presentes nos extratos foliares correspondem predominantemente a ácidos fenólicos e outros fenólicos simples, não sendo observada contribuição expressiva de flavonoides.

O comportamento cromatográfico observado sustenta a correlação com os valores observados na determinação de fenólicos totais (Folin-Ciocalteu), flavonoides totais e atividade antioxidante (ABTS⁺⁺ e FRAP), evidenciando a maior contribuição relativa dos ácidos fenólicos na composição química dos extratos. Zhang *et al.* (2015) e Xu, Li e Chen (2014) constataram correlação semelhante, indicando que os ácidos neoclorogênico, clorogênico e o-cumárico, ou seja, hidroxicinâmicos, estão associados aos resultados obtidos no teste de Folin-Ciocalteu e nos ensaios antioxidantes, entrando em concordância com este estudo.

Para a PetOH, em contraste com o extrato foliar, os dados espectrais UV-DAD sugerem que, além de ácidos hidroxicinâmicos mais polares (P1 e P2) (Figura 14A) e de um ácido hidroxibenzoico (P3; $\lambda_{\text{máx}} = 290 \text{ nm}$), a presença de flavonoides (P4 e P5) foi evidenciada sob as condições cromatográficas analisadas (Figura 14B). Em P4, foram observados $\lambda_{\text{máx}} = 281 \text{ nm}$ (banda II) e 307 nm (banda I), com “ombro” em 332 nm ; e em P5, $\lambda_{\text{máx}} = 281 \text{ nm}$ (banda II) e $310\text{-}332 \text{ nm}$ (banda I), com “ombro” em 353 nm , configurando espectros compatíveis com flavona (P4) e flavona ou flavonol glicosilado (P5).

Figura 14 – Cromatograma da polpa de *E. japonica* na concentração de 1 mg.mL^{-1} e perfis espectrais UV-DAD representativos de ácidos fenólicos do tipo hidroxicinâmico (HC) (A) e flavonoide (B)



Fonte: A autora

De acordo com Mabry, Markham e Thomas (1970), estes compostos, em metanol, exibem dois principais picos de absorção, correspondentes à banda I (300-380 nm) e à banda II (240-280 nm). A banda I das flavonas ocorre, em geral, entre 304-350 nm, enquanto a dos flavonóis (3-hidroxi flavonas) situa-se entre 352-385 nm. No entanto, quando a hidroxila na

posição 3 dos flavonóis encontra-se metilada ou glicosilada, a banda I pode se sobrepor à região típica das flavonas, resultando em espectros com formato geral semelhante ao destas.

Os resultados obtidos para esta matriz também estão intimamente correlacionados aos valores observados na determinação de fenólicos e flavonoides totais. Sendo assim, os perfis cromatográficos e espectrais UV-DAD corroboram os dados dos ensaios globais, indicando que a polpa de *E. japonica* apresenta uma composição fenólica mais diversificada.

5.4 CONCLUSÃO

Eriobotrya japonica apresentou elevados níveis de compostos fenólicos, especialmente nas folhas. Evidenciou-se que a extração com etanol, seguida de acetona, promoveu um extrato mais rico em fenólicos, superando o desempenho do acetato de etila e do metanol. Isto porque a acetona possivelmente apresentou caráter complementar ao etanol, possibilitando a recuperação de moléculas com menor afinidade pelo solvente inicial. O método extrativo teve menos influência na extração do que o solvente utilizado. A época de coleta, bem como as condições climáticas e ambientais, pode também ter contribuído para os níveis de quantificação obtidos.

Os flavonoides, por sua vez, apresentaram concentrações mais elevadas na polpa em relação ao conteúdo total de fenólicos, mesmo com a aplicação de um único ciclo extrativo com etanol. Sugere-se que, caso uma segunda extração tivesse sido realizada, o rendimento desta classe poderia ser ainda superior, o que reforça a riqueza destes fitoconstituintes nesta fração da planta. As sementes obtiveram rendimento de fenólicos e flavonoides intermediários quando comparadas à folha e à polpa.

A amostra com maior rendimento de compostos fenólicos totais (FMacAcet) apresentou, também, a maior atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+}. Este resultado sugere que maiores concentrações de compostos fenólicos estão associadas a uma maior capacidade de neutralização de radicais livres, enquanto percentuais mais elevados de flavonoides em relação aos fenólicos parecem se correlacionar a uma menor capacidade antioxidante total. Sendo assim, o aumento da atividade antioxidante possivelmente ocorre em detrimento da presença de outros compostos fenólicos, mais ativos neste âmbito do que os flavonoides predominantes.

A mesma amostra (FMacAcet) apresentou também o maior valor no ensaio FRAP, contudo, os valores obtidos por este método foram inferiores aos observados no ABTS^{•+},

indicando que a atividade antioxidante de *E. japonica* se dá, principalmente, por mecanismos de sequestro e neutralização de radicais livres, e não por processos de redução de complexos férricos. Deve-se considerar, inclusive, que o FRAP não detecta adequadamente a atividade de determinados flavonoides e possui baixa sensibilidade para alguns fenólicos simples, especialmente os ácidos hidroxicinâmicos, o que pode explicar, em parte, os valores apresentados neste estudo.

No que tange à atividade prebiótica, a FMacAcet apresentou capacidade de estimular o crescimento de *S. epidermidis*, com resultados semelhantes à glicose 1% e à inulina. O crescimento ocorreu de forma independente da concentração de fenólicos totais. Já para a polpa, não foi observado crescimento microbiano, sugerindo uma ação bacteriostática frente a esta cepa. Tal comportamento pode ser atribuído ao maior percentual de flavonoides presentes nesta amostra, que tendem a apresentar efeitos antimicrobianos em concentrações elevadas.

Qualitativamente, os compostos fenólicos de *E. japonica* são predominantemente ácidos fenólicos, com destaque para os hidroxicinâmicos, que parecem ser os principais responsáveis pelas atividades *in vitro* identificadas neste estudo. Nas concentrações avaliadas, não foi evidenciada a presença de flavonoides nas folhas de *E. japonica*, ao contrário da polpa, que sugere a ocorrência adicional de flavonóis glicosilados. Conclui-se que, tanto nos ensaios de atividade antioxidante (ABTS⁺⁺ e FRAP) quanto na avaliação do potencial prebiótico, a composição fenólica qualitativa exerce influência significativa sobre as respostas observadas.

6 CONCLUSÃO GERAL

A caracterização morfoanatômica e histoquímica de *Eriobotrya japonica* providenciou resultados que permitem a segurança em seu uso como planta medicinal, especialmente em aplicações farmacêuticas, promovendo a adequação do controle de qualidade da espécie. Além de grandes células mucilaginosas nas folhas, foram evidenciados, de modo abundante, lipídeos neutros na cutícula e grãos de amido, principalmente nas sementes. A presença de compostos fenólicos, predominantemente na nervura central e no pecíolo, pode justificar, em parte, as atividades biológicas observadas.

De acordo com os testes realizados, a folha extraída com etanol e acetona pelo método de maceração destacou-se como a amostra mais promissora para o desenvolvimento de formulações tópicas, apresentando elevada atividade antioxidante, sendo apenas 9,3 vezes inferior à quercetina no ensaio ABTS⁺⁺, e potencial prebiótico significativo, semelhante ao da glicose 1% e da inulina, favorecendo o crescimento da bactéria comensal *Staphylococcus epidermidis*. As atividades observadas parecem estar associadas, qualitativamente, aos ácidos fenólicos, especialmente aos hidroxicinâmicos, que se apresentam como os compostos fenólicos majoritários da espécie.

Desta forma, sugere-se que *E. japonica* possui ampla capacidade de auxiliar terapeuticamente no manejo de patologias cutâneas, como a dermatite atópica, visto que atuou positivamente *in vitro* sobre dois dos principais mecanismos fisiopatológicos da doença, sendo eles o estresse oxidativo e a disbiose do microbioma cutâneo. Logo, estes resultados refletem a relevância da folha como substância ativa e exigem investigações futuras, como testes *in vivo*, visando consolidar o uso da espécie no âmbito de doenças dermatológicas.

REFERÊNCIAS

- AKHAVAN, N.; HRYNKIEWICZ, K.; THIEM, D.; RANDAZZO, C.; WALSH, A. M.; GUINAN, K. J. *et al.* Evaluation of probiotic growth stimulation using prebiotic ingredients to optimize compounds for in ovo delivery. **Front. Microbiol.**, v. 14, p. 1-12, 2023.
- AMIN, M. N.; LIZA, K. F.; SARWAR, M. S.; AHMED, J.; ADNAN, M. T.; CHOWDHURY, M. I. *et al.* Effect of lipid peroxidation, antioxidants, macro minerals and trace elements on eczema. **Arch. Dermatol. Res.**, v. 307, p. 617-623, 2015.
- BARBI, R. C. T.; TEIXEIRA, G. L.; HORNUNG, P. S.; ÁVILA, S.; HOFFMANN-RIBANI, R. *Eriobotrya japonica* seed as a new source of starch: assessment of phenolic compounds, antioxidant activity, thermal, rheological and morphological properties. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 646-658, 2018.
- BECK, C. B. **An introduction to plant structure and development**. University Press: Cambridge, 2005. 431 p.
- BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. 1 ed. Ames: Iowa State University, 1976. 326 p.
- BERUSKI, G. C.; PEREIRA, A. B.; SENTELHAS, P. C. Desempenho de diferentes modelos de estimativa da radiação solar global em Ponta Grossa, PR. **RBMet.**, v. 30, n. 2, p. 205-213, 2015.
- BIEBER, T. Atopic dermatitis: an expanding therapeutic pipeline for a complex disease. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 21, n. 21-40, 2022.
- BUISSON, D.; LEE, D. W. The developmental responses of papaya leaves to simulated canopy shade. **Am. J. Bot.**, v. 80, p. 947-952, 1993.
- CAIN, A. J. The use of Nile blue in the examination of lipids. **J. Cell Sci.**, v. 88, p. 383-392, 1947.
- CHANG C.-C.; YANG, M.-H.; WEN, H.-M.; CHERN, J.-C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. **J. Food Drug Anal.**, v. 10, p. 1820, 2002.
- COSTA, B. P.; CARPINÉ, D.; ALVES, F. E. da S. B.; BARBI, R. C. T.; MELO, A. M. de; IKEDA, M. *et al.* Thermal, structural, morphological and bioactive characterization of acid and neutral modified loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) seed starch and its by-products. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 47, n. 12, p. 6721-6737, 2021.
- COSTA, B. P. **Potencial tecnológico do amido da semente de nêspira (*Eriobotrya japonica*): características e efeitos de diferentes métodos de extração**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

- COSTA, B. P.; IKEDA, M.; MELO, A. M. de; ALVES, F. E. S. B.; CARPINÉ, D.; RIBANI, R. H. *Eriobotrya japonica* fruits and its by-products: a promising fruit with bioactive profile and trends in the food application – a bibliometric review. **Food Biosci.**, v. 50, p. 1-10, 2022.
- COSTA, I. F. de J. B.; REIS, J. V. R.; KONNO, T. U. P.; TINOCO, L. W.; PINTO, S. C.; LEAL, I. C. R. et al. Antibacterial activity of glycosylated flavonoides isolated from *Ocotea notata* leaves. **Chem. Biodiversity**, v. 22, p. 1-8, 2025.
- CRISTEA, A. M.; SMEU, A.; CÎMPEANU, I.-A.; IFTODE, A.; LIGA, S.; TCHIAKPE-ANTAL, D.-S. et al. Biological effects of Rosaceae species in skin disorders—an up-to-date overview. **Plants**, v. 14, n. 11, p. 1605, 2025.
- CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Nat. Prod. Rep.**, v. 26, p. 1001-1043, 2009.
- CSEPREGI, K.; NEUGART, S.; SCHREINER, M.; HIDEG, É. Comparative evaluation of total antioxidant capacities of plant polyphenols. **Molecules**, v. 21, n. 2, p. 208, 2016.
- CUEVAS, J.; HUESO, J. J.; PUERTAS, M. Pollination requirements of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.), cv. ‘Algerie’. **Fruits**, v. 58, n. 3, p. 157-165, 2003.
- DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313-7352, 2010.
- DAVID, R.; CARDE, J. P. Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpéniques des pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du réactif Nadi. **CR Hebd. Seances Acad. Sci.**, v. 258, p. 1338-1340, 1964.
- DENG, Q. X.; WANG, Y. Q.; YANG, Q.; LIU, L.; FU, Y.; TAO, L. et al. Identification of male fertility of longquan no. 5 lines in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). **Plant Sci. Res.**, v. 3, p. 61-67, 2008.
- DHIMAN, A.; SUHAG, R.; THAKUR, D.; GUPTA, V.; PRABHAKAR, P. K. Current Status of Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.): bioactive functions, preservation approaches, and processed products. **Food Rev. Int.**, v. 38, n. 1, p. 286-316, 2021.
- ELISMANI; NASUTION, R. A. Study morphology of loquat plants (*Eriobotrya japonica* Lindl.) from Karo, Dairi, and Simalungun Districts, North Sumatra. **IOP Conf. Ser.: Earth and Environ. Sci.**, v. 912, 2021.
- FERRERES, F.; GOMES, D.; VALENTÃO, P.; GONÇALVES, R.; PIO, R.; CHAGAS, E. A. et al. Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: variation of phenolics and antioxidative potential. **Food Chem.**, v. 114, n. 3, p. 1019-1027, 2009.
- FISHER, D. B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie**, v. 16, p. 92-96, 1968.
- FOSTER, A. S. **Practical plant anatomy**. 2nd ed. Princeton: D. Van Nostrand, 1949.

- FU, Y.; LI, F.; DING, Y.; LI, H.-Y.; XIANG, X.-R.; YE, Q. *et al.* Polysaccharides from loquat (*Eriobotrya japonica*) leaves: impacts of extraction methods on their physicochemical characteristics and biological activities. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 146, p. 508-517, 2020.
- FURR, M; MAHLBERG, P. G. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **J. Nat. Prod.**, v. 44, p. 153-159, 1981.
- GABE, M. **Techniques histologiques**. Masson, 1968. 1113 p.
- GATMAITAN, J. G.; LEE, J. H. Challenges and future trends in atopic dermatitis. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 24, n. 14, p. 11380, 2023.
- GBD. Global Burden of Disease. **Atopic Dermatitis – Level 4 Cause**. Disponível em: <<https://www.healthdata.org/research-analysis/diseases-injuries-risks/factsheets/2021-atopicdermatitis-level-4-disease>>. Acesso em: 24 jun. 2024.
- GIROLOMONI, G.; BRUIN-WELLER, M. de; AOKI, V.; KABASHIMA, K.; DELEURAN, M.; PUIG, L. *et al.* Nomenclature and clinical phenotypes of atopic dermatitis. **Ther. Adv. Chronic. Dis.**, v. 12, p. 1-20, 2021.
- HARBORNE, J. B. **Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis**. 2. ed. Dordrecht: Springer. 1984. 288 p.
- IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chem.**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011.
- ITO, H.; KOBAYASHI, E.; LI, S.-H.; HATANO, T.; SUGITA, D.; KUBO, N. *et al.* Antitumor activity of compounds isolated from leaves of *Eriobotrya japonica*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 8, p. 2400-2403, 2002.
- IVANKOVIĆ, A. P.; MILIVOJEVIĆ, A.; ČOROVIĆ, M.; SIMOVIĆ, M.; BANJANAC, K.; JANSEN, P. *et al.* In vitro evaluation of enzymatically derived blackcurrant extract as prebiotic cosmetic ingredient: extraction conditions optimization and effect on cutaneous microbiota representatives. **Chem. Biol. Technol. Agric.**, v. 10, n. 1, p. 1-15, 2023.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.
- JUAN, Y.; YONGQING, W.; LIAN, T.; YANG, Q.; QUNXIAN, D.; XIULAN, LV. The pistil structure in loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.). **Pak. J. Bot.**, v. 44, n. 4, p. 1215-1218, 2012.
- KIM, M. H.; YEON, S. W.; RYU, S. H.; LEE, H. H.; TURK, A.; JEONG, S. Y. *et al.* Structural diversity and anti-diabetic potential of flavonoids and phenolic compounds in *Eriobotrya japonica* leaves. **Molecules**, v. 30, n. 3. p. 736, 2025.
- KRAUS, J. E.; SOUSA, H. C. de; REZENDE, M. H.; CASTRO, N. M.; VECCHI, C.; LUQUE, R. Astra blue and basic fuchsin double staining of plant materials. **Biotech. Histochem.**, v.73, n. 5, p. 235-243, 1998.

KUO, P.-J.; CHEN, L.-T.; LI, S.-M.; CHEN, Z.-R.; CHEN, J.-J. Pharmacological and molecular docking investigation of leaves of *Eriobotrya japonica*: antioxidant, enzyme inhibition, and anti-inflammatory effects. **Antioxidants**, v. 14, n. 4, p. 413, 2025.

LIU, X.; CAI, X.; CHEN, Z.; ZHANG, Y.; ZHONG, H.; GUAN, R. Phytochemicals, extraction methods, health benefits, and applications of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) and its by-products: a comprehensive review. **Food Sci. Nutr.**, v. 13, n. 7, p. 1-20, 2025.

LUDKA, F. R.; KLOSOWSKI, A. B.; CAMARGO, G. A.; JUSTO, A. S.; ANDRADE, E. A.; BELTRAME, F. L. *et al.* Brewers' spent grain extract as antioxidants in starch-based active biopolymers. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 59, n. 1, p. 142-150, 2023.

MABRY, T. J.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M. B. **The systematic identification of flavonoids**. 1 ed. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. 1970. 362.

MACE, M. E.; HOWELL, C. R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Can. J. Bot.**, v. 52, 2423-2426, 1974.

MANJELIEVSKAIA J.; BOYTSOV, N.; BROUILLETTE, M. A.; ONYEKWERE, U.; PIERCE, E.; GOLDBLUM, O. *et al.* The direct and indirect costs of adult atopic dermatitis. **J. Manag. Spec. Pharm.**, v. 27, n. 10, p. 1416-1425, 2021.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. London: Oxford University Press, 1950. 724 p.

MOGOLE, L.; OMWOYO, W.; MTUNZI, F. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and α -amylase inhibition study using different extracts of loquat (*Eriobotrya japonica*) Leaves. **Heliyon**, v. 6, n. 8, p. 04736, 2020.

MU, Y.; ZENG, H.; CHEN, W. Quercetin inhibits biofilm formation by decreasing the production of EPS and altering the composition of EPS in *Staphylococcus epidermidis*. **Front. Microbiol.**, v. 12, p. 1-8, 2021.

MUR, L.; LEBLEU, A.; MOURET, L.; MOREL, C.; BERGERON, L.; IMBERT, I. 224 Influence of the skin microbiota on the composition and properties of a rose flower extract. **J. Invest. Dermatol.**, v. 144, n. 12, p. 266, 2024.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.

OLIVEIRA, F. de; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia: Identificação de Drogas Vegetais**. 2ª ed. Editora Atheneu, 2014. 436 p.

PAWLOWSKA, A. M.; ŻUREK, N.; KAPUSTA, I.; DE LEO, M.; BRACA, A. Antioxidant and antiproliferative activities of phenolic extracts of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. fruits and leaves. **Plants**, v. 12, n. 18, p. 3221, 2023.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry: Theoretical and Applied**. 3 ed. The Williams & Wilkins Company, 1972. 866 p.

POWOa. Plants of the World Online. *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. 2024. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Acesso em: 17 jan. 2026.

POWOb. Plants of the World Online. *Eriobotrya* Lindl. 2024. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Acesso em: 17 jan. 2026.

POWOc. Plants of the World Online: *Rosaceae* Juss. 2026. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Acesso em: 19 jan. 2026.

PROSKAUER, J. On *Takakia*, especially its mucilage hairs. **J. Hattori Botanical Lab.**, v. 25, p. 217-233, 1962.

PUTRANTO, R-A.; HERLINAWATI, E.; RIO, M.; LECLERCQ, J.; PIYATRAKUL P.; GOHET, E. *et al.* Involvement of ethylene in the latex metabolism and tapping panel dryness of *Hevea brasiliensis*. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 16, p. 17885-17908, 2015.

QIN, Y.; QUN-XIAN, D.; YONG-QING, W.; LU, L.; YAN, F.; YING-HONG, L. *et al.* Study on characteristics of *in situ* pollen germination and pollen tube growth of loquat. **Plant Sci. Res.**, n. 1, v. 3, P. 50-55, 2022.

RAESKI, P. A. **Caracterização microscópica de cristais de *Baccharis* (Asteraceae): uma contribuição para a diferenciação das espécies.** Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020.

RASHED, K. N.; BUTNARIU, M. Isolation and antimicrobial and antioxidant evaluation of bio-active compounds from *Eriobotrya japonica* stems. **Adv. Pharm. Bull.**, v. 4, n. 1, p. 75-81, 2013.

ROMBERGER, J. A.; HEJNOWICZ, Z.; HILL, J. F. **Plant structure: function and development.** Berlin: Springer-Verlag, 1993.

SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, J. A.; VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, M.; ÁLVAREZ-BERNAL, D.; MARES-QUÍÑONES, M. D.; VALIENTE-BANUET, J. I.; MEDINA-MEDRANO, J. R. *et al.* Determination of phenolic compounds and the antioxidant capacity of *Ximenia parviflora* Benth. var. *parviflora* (Olacaceae) fruit by high-performance liquid chromatography with diode array detection. **Anal. Lett.**, v. 51, n. 13, p. 1986-1998, 2018.

SAKAI, T.; HATANO, Y. Stratum corneum pH and ceramides: key regulators and biomarkers of skin barrier function in atopic dermatitis. **J. Dermatol. Sci.**, v. 118, n. 2, p. 51-57, 2025.

SHAH, J.; MCKNIGHT, G.; HARGEST, R. Physiology of the skin. **Surgery (Oxford)**, v. 42, n. 11, p. 788-792, 2024.

SHAMSUDIN, N. F.; AHMED, Q. U.; MAHMOOD, S.; SHAH, S. A. A.; KHATIB, A.; MUKHTAR, S. *et al.* Antibacterial effects of flavonoids and their structure-activity relationship study: a comparative interpretation. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1149, 2022.

SIMÃO-BIANCHINI, R. *Eriobotrya* in Flora e Funga do Brasil. C2024. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB87434>>. Acesso em: 25 ago. 2024.

SIVARANJANI, N; RAO, S. V.; RAJEEV, G. Role of reactive oxygen species and antioxidants in atopic dermatitis. **J. Clin. Diagn. Res.**, v.7, p. 2683-2685, 2013.

SOUZA, W. M. de; SANTOS, C. A. de M.; DUARTE, M. do R.; BARDAL, D. Morfo-anatomia das folhas da nespereira – *Eriobotrya japonica* Lindl., Rosaceae. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 13, n. 1, 2003.

SUN, Y.; LIU, J.; BAYERTAI; TANG, S.; ZHOU, X. Analysis of gallic acid and ellagic acid in leaves of *Elaeagnus angustifolia* L. from different habitats and times in Xinjiang by HPLC with cluster analysis. **Acta Chromatogr.**, v. 33, n. 2, p. 195-201, 2021.

SURIYATEM, R.; AURAS, R. A.; INTIPUNYA, P. RACHTANAPUN, P. Predictive mathematical modeling for EC₅₀ calculation of antioxidant activity and antibacterial ability of Thai bee products. **J. Appl. Pharm. Sci.**, v. 7, n. 9, p. 122-133, 2017.

TONIN, F. G. **Análise de flavonoides por cromatografia líquida de alta eficiência e eletroforese capilar – otimização de separação e aplicações tecnológicas**. 2007. 201 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

VIDAL, B. C. Dichroism in collagen bundles stained with Xylidine-Ponceau 2R. **Ann. Histochim.**, v. 15, n. 4, p. 289-296, 1970.

WANG, L.; ZHANG, P.; CHEN, J.; LI, C.; TIAN, Y.; XU, F. Prebiotic properties of the polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt fruit and its protective effects in high-fat diet-induced intestinal barrier dysfunction: a fecal microbiota transplantation study. **Food Res. Int.**, v. 164, p. 112400, 2023.

WANG, S.; PENG, G.; ABUDOUWANLI, A.; YANG, M.; SUN, Q.; ZHAO, W. *et al.* The interaction between the skin microbiome and antimicrobial peptides within the epidermal immune microenvironment: bridging insights into atopic dermatitis. **Allergol. Int.**, p. 1-10, 2025.

WANG, Z.; YUAN, F.; ZHONG, X.; FENG, S.; SONG, T. Skin microbiome and skin aging: emerging strategies for manipulation. **Microbiol. Res.**, v. 300, p. 128285, 2025.

WILCOCK, C.; NEILAND, R. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. **Trends Plant. Sci.**, v. 7, n. 6, p. 270-277, 2002.

WILLIAMS, H.; ROBERTSON, C.; STEWART, A.; KHALED-AÏT, N.; ANABWANI, G.; ANDERSON, R. *et al.* Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the international study of asthma and allergies in childhood. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 103, n. 1, p. 125-138, 1999.

- WU, D.-T.; FU, Y.; GUO, H.; YUAN, Q.; NIE, X.-R.; WANG, S.-P. *et al.* In vitro simulated digestion and fecal fermentation of polysaccharides from loquat leaves: dynamic changes in physicochemical properties and impacts on human gut microbiota. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 168, p. 733-742, 2021.
- XU, H.-X.; LI, X.-Y.; CHEN, J.-W. Comparison of phenolic compounds contents and antioxidant capacities of Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits. **Food Sci. Biotechnol.**, v. 23, n. 6, p. 2013-2020, 2014.
- XU, H.-X.; CHEN, J.-W. Commercial quality, major bioactive compound content and antioxidant capacity of 12 cultivars of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits. **J. Sci. Food Agr.**, v. 91, n. 6, p. 1057-1063, 2011.
- XU, Z.; DENG, M. Rosaceae. In: **Identification and Control of Common Weeds: Volume 2**. Springer, Dordrecht, p. 495-546, 2017.
- YODER, L. R.; MAHLBERG, P. G. Reactions of alkaloid and histochemical indicators in laticifers and specialized parenchyma cells of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). **Am. J. Bot.**, v. 63, p. 1167-1173, 1976.
- YOKOTA, J.; TAKUMA, D.; HAMADA, A.; ONOGAWA, M.; YOSHIOKA, S.; KUSUNOSE, M. *et al.* Scavenging of reactive oxygen species by *Eriobotrya japonica* seed extract. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 29, n. 3, p. 467-471, 2006.
- ZARRILLO, S.; KOOYMAN, B. Evidence for berry and maize processing of Canadian Plains from starch grain analysis. **American Antiquity**, v. 71, n. 3, p. 473, 2006.
- ZHANG, W.; ZHAO, X.; SUN, C.; LI, X.; CHEN, K. Phenolic composition from different loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars grown in China and their antioxidant properties. **Molecules**, v. 20, n. 1, p. 542-555, 2015.
- ZHANG, Y.; HEINEMANN, N.; RADEMACHER, F.; DARVIN, M. E.; RAAB, C.; KECK, C. M. *et al.* Skin care product in antioxidants and anti-inflammatory natural compounds reduces itching and inflammation in the skin of atopic dermatitis patients. **Antioxidants (Basel)**, v. 11, n. 6, p. 1071, 2022.
- ZHENGUANG, C.; SHUNQUAN, L.; QINGLIANG, L. Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). In: BAJAJ, Y. P. S. (ed.), **Trees III: Biotechnology in Agriculture and Forestry**, v. 16, p. 62-75, 2013.
- ZHU, X.; WANG, L.; ZHAO, T.; JIANG, Q. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicity of *Eriobotrya japonica* leaves: a summary. **J. Ethnopharmacol.**, v. 298, p. 115566, 2022.