



**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E BIOLÓGICA
DOS EXTRATOS DE *Rosa aff. rubiginosa* L.**

JOÃO MARCOS PEDROSO ALVARENGA

2002

JOÃO MARCOS PEDROSO ALVARENGA

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E BIOLÓGICA DOS
EXTRATOS DE *Rosa aff. rubiginosa* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica, para obtenção do título de "Mestre".

Orientadora
Maria das Graças Cardoso

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2002

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Alvarenga, João Marcos Pedroso

Avaliação fitoquímica e biológica dos extratos de *Rosa aff. Rubiginosa* L. /
João Marcos Pedroso Alvarenga. -- Lavras : UFLA, 2002.

52 p. : il.

Orientadora: Maria das Graças Cardoso.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Rosa mosqueta. 2. Planta medicinal. 3. Composição química. 4. Fitoquímica.
5. Fungicida. 6. Cicatrização. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-615.32337

-633.88337

-635.933372

JOÃO MARCOS PEDROSO ALVARENGA

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E BIOLÓGICA DOS
EXTRATOS DE *Rosa aff. rubiginosa* L.**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica, área de concentração Plantas Medicinais para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 26 de fevereiro de 2002.

Dr. Ruy Carvalho

UFLA

Dr. David Lee Nelson

UFMG

Dr. Antonio Carlos Fraga

UFLA

Maria das Graças Cardoso
Dra. Maria das Graças Cardoso
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

**Aos meus pais, José Pereira e Ione,
pela dedicação, carinho e apoio**

OFEREÇO

Aos meus irmãos, Ana Lúcia e José Antônio e minha avó Nadir,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela infinita bondade, por ter me permitido sonhar, e ter me abençoado com saúde e força para que eu pudesse transformá-los em realidade.

Aos meus pais, pelo incentivo e apoio em toda a minha caminhada.

À professora Maria das Graças Cardoso pela oportunidade de realização deste mestrado, orientação, incentivo, dedicação e grande amizade.

Aos Professores Manuel Losada Gavilanes, José Eduardo Brasil P. Pinto, Custódio Donizete de Souza e Marcus Luis de Oliveira Penido pela co-orientação e sugestões.

Às colegas e amigas de curso Grécia Oiama e Andréia pela convivência, amizade e ajuda.

Às amigas Maria Carolina, Ana Paula, Ellen, Carla e Rozane pela amizade e ajuda durante meu primeiro ano de curso, ainda como aluno especial.

Aos grandes amigos do Laboratório de Química Orgânica Josy, Ana Cláudia, Norma, Ana Carolina, Wellington, Priscila, Luciano, Vanisse, Fábio, Taísa e Flávio, o reconhecimento pela presteza e ajuda.

Ao professor David Lee Nelson pela disponibilidade de realização das análises cromatográficas.

Ao professor Marcus Luis de Oliveira Penido pelas análises biológicas.

À minha irmã, Ana Lúcia pela ajuda constante.

À minha prima e amiga Maria Ofélia, pela ajuda nas traduções.

Às amigas Ivani e Jocione pela ajuda na montagem e digitação dos textos.

A UFLA pela oportunidade.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química pelos auxílios constantes.

A todos aqueles que no anonimato, contribuíram de maneira direta ou

indireta para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
1 Introdução.....	1
2 Referencial teórico.....	3
2.1 As plantas medicinais: um breve histórico.....	3
2.2 Introdução ao uso das plantas medicinais	4
2.3. Aspectos taxonômicos da espécie em estudo	8
2.4 Composição química e produtos derivados.....	12
2.5 Indicações e uso clínico	16
2.6 Fitopatógenos em estudo.....	21
2.6.1 Epidemiologia	22
2.6.2 Agentes antifúngicos.....	24
3 material e métodos.....	28
3.1 Coleta do material.....	28
3.2 Preparo do material.....	28
3.3 Obtenção dos extratos brutos	29
3.4 Avaliação fitoquímica.....	30
3.4.1 Identificação dos grupos de substâncias presentes na <i>Rosa aff.</i> <i>rubiginosa</i>	30
3.4.2 Testes de solubilidade	31
3.4.3 Série eluotrópica.....	31
3.4.4 Purificação das substâncias por cromatografia líquida de coluna (CLC)	32
3.5 Identificação das substâncias	33
3.6. Extração de óleo essencial	33
3.7 Estudo biológico.....	33
3.7.1 Escolha dos fungos	33
3.7.2 Preparação dos ensaios.....	34
4 Resultados e discussão.....	35
4.1 Estudo fitoquímico	35
4.1.1 Rendimento da casca em relação à semente.....	35
4.1.2 Obtenção dos extratos.....	35
4.1.3 Teste de solubilidade.....	36
4.1.4 Série eluotrópica.....	36
4.1.5 Triagem fitoquímica	36
4.1.6 Extratos fracionados	36
4.1.7 Cromatografia de camada delgada.....	36
4.1.8 Obtenção da substância purificada.....	36

4.2 Espectrofotometria de infravermelho	42
4.3 Testes biológicos	45
5 Conclusões	47
Referências bibliográficas	48

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.	Aspecto geral da planta rosa mosqueta.....	8
FIGURA 2A.	Flores da planta rosa mosqueta	11
FIGURA 2B.	Frutos da planta rosa mosqueta, também conhecidos como escaramujo	12
FIGURA 3.	Estruturas químicas de alguns compostos presentes na rosa mosqueta.....	15
FIGURA 4.	Estruturas químicas dos principais derivados poliênicos.....	25
FIGURA 5.	Estruturas químicas dos principais derivados imidazólicos utilizados na prática médica.....	26
FIGURA 6.	Estrutura química da griseofulvina.....	26
FIGURA 7.	Separação da casca e semente do fruto da rosa mosqueta	29
FIGURA 8.	Refluxo da casca e semente em diferentes solventes	30
FIGURA 9.	Extratos brutos da semente e da casca obtidos por refluxo em metanol, acetato de etila e hexano, respectivamente.....	36
FIGURA 10.	Teste para carotenóides. 1 – extrato bruto da semente em acetato de etila; 2 – extrato bruto da casca em acetato de etila; 3 – extrato bruto da semente em hexano e 4 – extrato bruto da casca em hexano.	39
FIGURA 11.	Cromatografia de camada delgada.	40
FIGURA 12.	Cromatografia de camada delgada após revelação em atmosfera de iodo	41
FIGURA 13.	Cromatografia de camada delgada de três placas.....	41
FIGURA 14.	Soluções obtidas por cromatografia de camada delgada, correspondendo as substâncias 1 e 2 , respectivamente.....	42
FIGURA 15.	Espectro infravermelho da substância 2	43
FIGURA 16.	Espectro infravermelho do óleo essencial da semente da rosa mosqueta.....	45

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1.	Alguns princípios ativos e sua atuação no organismo	7
TABELA 2.	Diferentes denominações da rosa mosqueta	9
TABELA 3.	Rendimento e aspectos dos extratos obtidos por refluxo.....	35
TABELA 4.	Características de solubilidade dos extratos obtidos nos diferentes solventes	37
TABELA 5.	Reações observadas nos extratos metanólicos da casca e semente	38

RESUMO

ALVARENGA, João Marcos Pedroso. **Avaliação fitoquímica e biológica dos extratos de *Rosa aff. rubiginosa*. L., 2002. 52p. Dissertação (Mestre em Agroquímica e Agrobioquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras***

A busca por substâncias capazes de acelerar o processo de cicatrização das feridas, atenuar manchas da pele, retardar o envelhecimento cutâneo, e minimizar marcas deixadas pelo tempo tem despertado o interesse científico e econômico de pesquisadores, empresas e laboratórios que manipulam e comercializam cosméticos. A *Rosa aff. rubiginosa* L., espécie rica em vitamina C, carotenóides, ácidos graxos essenciais dentre outras substâncias, tem sido utilizada em medicina e cosmetologia devido aos efeitos a ela atribuídos, no tratamento de patologias da pele. Nesse contexto, submetem-se os frutos dessa planta à extração química. Os extratos foram obtidos por meio de refluxo da casca e semente em metanol, acetato de etila e hexano. Uma avaliação fitoquímica desses foi realizada, e identificaram-se nos extratos metanólicos da casca e semente açúcares redutores, proteínas, aminoácidos, depsídeos, depsidonas, saponinas espumídicas, alcalóides e antraquinonas. No extrato metanólico da semente foram identificados apenas flavonóides. Nos extratos em acetato de etila e hexânicos da casca, observou-se a presença de carotenóides, esteróides e triterpenóides. Nos extratos da semente em acetato de etila e hexânicos, foram observados apenas esteróides e triterpenóides. Os extratos metanólicos da casca e semente, por apresentarem rendimento superior aos demais, foram selecionados para purificação mediante cromatografia líquida de coluna. Eluíram-se com diferentes solventes, selecionando a fração obtida em clorofórmio por apresentar maior rendimento. A fração foi purificada por cromatografia de camada delgada, e a substância pura foi encaminhada para identificação por meio de análises espectrofotométricas. Realizaram-se testes biológicos, avaliando-se o potencial inibitório do crescimento dos fungos *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*, não tendo sido observada atividade antifúngica..

* Comitê Orientador: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Orientador), Manuel Losada Gavilanes - UFLA (co-orientador), José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA (co-orientador), Custódio Donizete dos Santos – UFLA (co-orientador).

ABSTRACT

ALVARENGA, João Marcos Pedroso. **Phytochemical and biological study with fruits of *Rosa* aff. *rubiginosa* L.**, 2002. 52p. Dissertação (Master Program on Agrochemical and Agro biochemical) – Universidade Federal de Lavras, Lavras*

A scientific and an economical interest has arisen among researches, companies and laboratories that commercialize and deal with cosmetics in a search for substances that can accelerate the process of healing, the wounds, attenuate the skin stains and delay the skin aging. The *Rosa* aff. *rubiginosa* L., a species rich in vitamin C, carotene, essential fatty acids, other substances, has been used in medicine and cosmetology due to the effects attributed in addition to treating the skin pathologies. In this context, the fruits of this plant were obtained through a reflux of shell and seed in methanol, ethyl acetate and hexane. A phytochemical study of these extracts was done and the presence of reductive sugars, proteins and aminoacids, depsides and depsidones, saponins, alkaloid and anthraquinone was observed in metanolic extracts of seed and shell. Only in metanolic extracts of seed was observed the presence of flavonoid. In the ethyl acetate and hexane extracts of shell, the presence of carotene, steroids and triterpnoids was observed. Only steroids and triterpnoids were observed in the ethyl acetate and hexane extracts of seed. Having a yield superior to the others, the metanolic extracts of shell and seed were separated to a liquid column chromatography (CLC). After eluting with different solvents, a fraction obtained with chloroform was selected since it presented higher yield. This fraction was purified by thin layer chromatography and the pure substance obtained was identified by spectrophotometrical analyses. Biological tests were also performed in order to verify the potential inhibition of growth the fungi *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Candida glabrata*. No antifungal activity was observed.

* Guidance Committee: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Major Professor), Manuel Losada Gavilanes - UFLA, José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA, Custódio Donizete dos Santos – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para curar os mais diversos males é conhecida pela humanidade há centenas de anos. Índícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas mais antigas civilizações, quando o homem primitivo, ao procurar plantas para o seu sustento, foi descobrindo espécies com ação tóxica ou medicinal, formando, assim, um conhecimento empírico das ações medicinais e tóxicas dessas, sem qualquer comprovação científica desse fato. Quando se percebeu que as plantas possuíam princípios biologicamente ativos, e que os mesmos poderiam ser isolados e identificados, vários estudos foram realizados para que novas propriedades corresponderem a um novo fármaco.

O interesse científico e econômico embutido na busca de substâncias ativas com base em princípios vegetais vem do fato de que a variabilidade e complexidade das moléculas sintetizadas pelas plantas têm muitas vezes, síntese "artificial", difícil e dispendiosa, ou, ainda, são desconhecidas. Assim, muitas vezes, torna-se economicamente inviável sintetizar essas substâncias em escala industrial, pela complexidade do processo, baixo rendimento da reação ou pela dificuldade de separação da substância de interesse dos subprodutos gerados durante a síntese. Sendo assim, as indústrias farmacêuticas lançam mão da extração direta a partir do espécime vegetal ou de recursos biotecnológicos, tais como melhoramento genético, indução por estímulos externos da produção dos produtos de interesse e cultura de células vegetais que sintetizam em reatores industriais o produto de interesse em larga escala.

O mundo das plantas medicinais mobiliza, hoje, milhares de engenheiros agrícolas, agrônomos, biólogos, químicos e médicos de todos os continentes. Entre eles, há pelo menos uma certeza: as plantas medicinais são fáceis de usar, mas difíceis de se conhecer cientificamente. Já para os cientistas, as plantas

representam duros desafios, em que longos períodos são gastos em pesquisas para identificar princípios ativos e propriedades curativas.

Na ânsia de descobrir novos princípios ativos, estudos foram dirigidos, principalmente no Chile, para uma flor que cresce de modo selvagem nas zonas andinas e no sul desse país. Seu alto conteúdo em ácidos graxos faz de suas sementes e flores uma importante fonte de elementos destinados a reparar certos problemas cutâneos. Os ácidos graxos essenciais presentes na flor da rosa mosqueta e em seu fruto possuem uma importante capacidade reparadora e estimulante da síntese das fibras de colágeno, desempenhando um papel importante na permeabilidade da barreira epidérmica.

Com base em estudos e em observações utilizando-se o óleo da *Rosa aff. rubiginosa* L. para o tratamento de patologias da pele, bem como de cicatrizes, direcionou-se o presente trabalho para o estudo dos princípios ativos dessa planta e do potencial fungicida para patógenos humanos. Este último, ainda inédito, acrescenta indicações para o uso do óleo ou dos extratos em feridas abertas.

Nesse contexto, com a presente pesquisa teve-se como objetivo estudar os princípios ativos da *Rosa aff. rubiginosa*, visando a identificar estruturas com propriedades cicatrizantes, assim como as atividades fungicidas desses compostos em alguns patógenos humanos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 As plantas medicinais: um breve histórico

Na Antiguidade, os conhecimentos sobre a utilização de plantas, que eram baseados em experiências, foram transmitidos entre as diversas civilizações e aos poucos foram desaparecendo. Foi somente no século XVII, que o acelerado progresso das ciências pôde enriquecer e diversificar os conhecimentos sobre as plantas, até então empíricos, que são baseados atualmente em paleontologia, geografia, citologia, genética, histologia e bioquímica.

No período da Idade Média, a origem das plantas medicinais era considerada obscura e, por esse motivo, essa época não foi caracterizada por rápidos progressos científicos. Entretanto, acredita-se que os conhecimentos adquiridos até então não foram completamente perdidos (Miranda, 1998).

Com o desenvolvimento das Grandes Navegações, os produtos, até então, desconhecidos, principalmente as plantas com qualidades surpreendentes, procedentes dos países longínquos, tornaram-se abundantes, pois já revelavam suas propriedades medicinais muito antes de se ter conhecimento de como delas poderiam ser extraídos seus princípios ativos. Esse fato pode ser exemplificado pelas 1356 plantas levadas para a Europa por botânicos que regressavam do Oriente em 1792.

O auge dos esforços de classificação aconteceu em 1735, quando Lineau, um naturalista sueco, adotou como princípio de classificação a distribuição dos órgãos sexuais nas flores, bem como as características dos estames (órgãos masculinos). Após esse trabalho, os irmãos Jussieu, Joseph, Antoine e Bernard desenvolveram a botânica descritiva, que contribuiu para o aperfeiçoamento da classificação sistemática (Miranda, 1998). O catálogo das

plantas medicinais pôde ser enriquecido em bases científicas, mediante descrição aprofundada das características simples e da indicação de suas utilizações. Segundo o autor, a medicina pelas plantas poderá sempre ser um longo percurso que não está próximo do fim.

2.2 Introdução ao uso das plantas medicinais

Nos últimos tempos, o uso de plantas medicinais no mundo tem sido muito significativo. Dados da literatura mostram que aproximadamente 80% da população mundial fazem o uso de algum tipo de erva na busca de alívio de algum mal, e, pelo menos 30% são indicados por médicos (Martins, 1995).

Apesar de persistir ainda um certo mistério com relação a essas plantas “milagrosas”, a utilização das mesmas tem recebido incentivos da própria OMS (Organização Mundial de Saúde), em virtude do aspectos econômico e social, fatores que vêm colaborando no desenvolvimento de práticas de saúde que incluam plantas medicinais (Furlan, 1998).

De acordo com Martins (1995), a capacidade terapêutica das ervas medicinais pode ser definida de acordo com a frase citada por Von Martius: "as plantas medicinais brasileiras não curam apenas, fazem milagres". Acredita-se que das 200.000 espécies vegetais que possam existir somente no Brasil, pelo menos a metade pode ter alguma propriedade terapêutica útil à população; porém, menos de 1% dessas foi estudado adequadamente. Segundo o autor, muitas substâncias exclusivas de plantas brasileiras encontram-se patenteadas por empresas ou órgãos governamentais estrangeiros, visto que os recursos destinados à pesquisa no Brasil ainda são pequenos. Atualmente, o custo para desenvolver medicamentos sintéticos ou semi-sintéticos é muito elevado e tem-se mostrado pouco proveitoso.

Normalmente, os trabalhos de pesquisa com plantas medicinais dão origem a medicamentos em menor tempo, com custos menores e, conseqüentemente, mais acessíveis à população, que, em geral, encontra-se sem

condições financeiras de assumir os custos elevados da aquisição de medicamentos que possam ser utilizados para o tratamento da saúde, principalmente porque, na maioria das vezes, as matérias-primas utilizadas na fabricação desses medicamentos são importadas. Por esse e outros motivos relacionados com a deficiência da rede pública de assistência da saúde, aproximadamente 80% da população brasileira não têm acesso aos medicamentos ditos essenciais (Barraca & Minami, 1999). Além disso, Furlan (1998) cita que cerca de 30% dos US\$ 300 bilhões referentes ao mercado de medicamentos são relacionados aos produtos obtidos de vegetais.

As plantas medicinais cientificamente aprovadas para serem utilizadas pela população, nas suas necessidades básicas de saúde, têm sido avaliadas quanto a sua eficiência terapêutica e toxicológica, em consequência da facilidade de acesso, o baixo custo e compatibilidade cultural com as tradições populares. Uma vez classificadas como produtos naturais, é permitido legalmente que sejam comercializadas livremente, além de poderem ser cultivadas por pessoas que disponham de condições necessárias. Com isso, a automedicação em casos mais simples tem reduzido a procura por médicos, o que vem facilitar e reduzir ainda mais o custo do serviço de saúde pública (Martins, 1995).

Segundo Accorsi (1994), além da medicina popular, existem inúmeras alternativas terapêuticas, algumas muito antigas e outras mais contemporâneas. Atualmente, as plantas medicinais são estudadas cientificamente pela Fitoterapia, que explica, à luz da química vegetal ou fitoquímica, o motivo pelo qual as plantas curam.

Os constituintes químicos encontrados nos vegetais são sintetizados e degradados por inúmeras reações que constituem o metabolismo da planta. A síntese de substâncias indispensáveis à vida da planta, que se formam em todas as plantas verdes graças à fotossíntese, tais como: açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos e seus polímeros derivados, faz parte do metabolismo

primário das plantas. Os compostos sintetizados por outras vias e que aparentam não ter grande utilidade na sobrevivência das espécies fazem parte do metabolismo secundário, e são denominados de compostos secundários. Esses apresentam diferenças qualitativas e quantitativas entre as diferentes espécies e, apesar de produzidos em pequenas quantidades, os seus efeitos terapêuticos, em contrapartida, são notáveis (Simões et al., 2000).

Após uma série de transformações tecnológicas que faz da planta medicinal uma droga vegetal, esta contém um certo número de substâncias que, na maior parte dos casos, agem sobre o organismo humano. A ciência que se encarrega de estudar as substâncias ativas, sua estrutura, distribuição na planta, modificações e processos de transformação que se produzem ao longo da vida da planta, durante a preparação do remédio vegetal e no período de armazenagem, é a fitoquímica (química dos vegetais), ciência que está em estreita ligação com a farmacologia, que pode ser definida como o estudo dos efeitos das substâncias medicinais sobre o organismo humano, assim como do mecanismo e da velocidade da sua ação, do processo de absorção e eliminação das suas indicações (Rocha, 1998).

Geralmente, essas substâncias não se encontram na planta em estado puro, mas sob a forma de complexos, cujos diferentes componentes se completam e reforçam a sua ação sobre o organismo. A grande vantagem da medicina natural é que a substância ativa não é somente um composto químico, mas apresenta também um equilíbrio fisiológico, sendo mais bem assimilada pelo organismo e não provocando efeitos nocivos (Barraca & Minami, 1999).

Segundo Accorsi (1994), a manipulação dos produtos fitoterápicos tem como base os princípios ativos extraídos das plantas medicinais. Quando esses princípios ativos causam intoxicações no homem ou nos animais, as plantas são denominadas venenosas ou tóxicas.

Alguns grupos de substâncias que determinam a natureza química da

droga podem ser observados na Tabela 1.

TABELA 1. Alguns princípios ativos e sua atuação no organismo (adaptado de Martins, 1995)

Princípio ativo	Atuação no organismo
Alcalóides	Atuam no sistema nervoso central (calmante, sedativo, estimulante, anestésico, analgésico). Alguns podem ser cancerígenos e outros antitumorais.
Mucilagens	Cicatrizante, antiinflamatório, laxativo, expectorante e antiespasmódico.
Flavonóides	Antiinflamatório, fortalece os vasos capilares, antiesclerótico, antiedematoso, dilatador de coronárias, espasmolítico, antihepatotóxico, colerético e antimicrobiano.
Taninos	Adstringente e antimicrobiano (antidiarréico). Precipitam proteínas.
Óleos essenciais	Bactericida, fungicida, antivirótico, cicatrizante, analgésico, relaxante, expectorante e antiespasmódico.

Em síntese, Furlan (1998) cita que uma planta é classificada como medicinal quando possui substâncias com ação farmacológica. Essas substâncias são denominadas princípios ativos e que na maioria das vezes, desconhece-se qual deles realmente estão atuando, uma vez que as plantas medicinais possuem grupos de princípios ativos com características próprias. A fitoquímica estuda cada grupo, desde a estrutura química molecular até as suas propriedades biológicas. O emprego terapêutico de plantas medicinais exige o conhecimento desses grupos para a avaliação das potencialidades terapêuticas, tóxicas e para seu uso e combinação.

Das várias espécies de plantas medicinais encontradas no Chile, a rosa

mosqueta é, sem dúvida, uma planta selvagem utilizada regularmente e, no contexto do mercado internacional, é exportada há vários anos. Suas aplicações são inúmeras, podendo ser exemplificada pela fabricação de geléias, marmeladas, bebidas, cosméticos, bem como na fabricação de tintas e essências (Teske & Trentini, 1997).

2.3. Aspectos taxonômicos da espécie em estudo

Segundo Hoffmann et al. (1992), a rosa mosqueta (Figura 1) é uma planta pertencente à família Rosaceae, que compreende 122 gêneros, abrangendo, aproximadamente, 3.400 espécies. Cresce espontaneamente em toda a cordilheira transamericana, desde o Alaska até a Terra do Fogo, recebendo nesse longo percurso diferentes denominações (Tabela 2).



FIGURA 1. Aspecto geral da planta rosa mosqueta (Fonte: http://www.istitutolavagno.it/rosa_canina.htm)

TABELA 2. Diferentes denominações da rosa mosqueta (Rosal...,19--?)

Idioma	Denominações
Castelhano	rosal montés; rosal campesino; rosal bravo; rosal perruno; rosal de culebra; rosal del diablo; rosal de escaramojos; escaramojo; escarambrojo; caramujo; calambrujo; escambrujera; escambrujo; escaramujo; escarbaculo; tapaculo; zarraculos; carmín; monjolinós; gabarda; galabardera; garrabera; gavano; rosal garbancero; zarza garbancera; agavano; zarzarrosa; zarzaperruna; espino vero; picacostillas; picaespalda; alcaracache.
Português e galego	rosa-de-cao; silva-macha; silvao; roseira; silvo-macho; agavano; gabanceira; peros de can.
Catalão	roser salvatge; roser boscà; roser de marges; roser de pastor; roser bord; escanyavelles; despullabelitres; gavarrera; gavarnera; gardanes; gratacul; tapacul.
Vasco	Astolarrosa; astolarrosa ("rosa de borricos ou rosa silvestre), larrarrosa, arrosatze, sasi arrosa, itxularrosa (rosa de ciegos), otsalarr, otsolarr, otsolaparr, otsolaharr, otxolaharr, otsonaharr (zarza de lobos), sapalarr (zarza de sapo), saparr larr, alkata atza, en Aralarr, alkarakats, arkakarats, arkakaratsa, andarraí, y el fruto, ipurrditapatzeko, basalarrosa, basaarrosa, baso arrosatze, y la flor es arrosa lili.
Italiano	rosa canina
Francês	rosier des chiens, églantier
Inglês	dog rose
Alemão	hundsrose, hagerose

A rosa mosqueta, rosa silvestre ou rosa canina é uma das plantas ornamentais mais conhecidas em todo o mundo. A roseira surgiu em algum

ponto do Oriente, não se sabe ao certo se na China ou na Pérsia, e foi introduzida nos países ocidentais pela Grécia. A rosa mosqueta foi levada ao Chile pelos colonizadores espanhóis, onde cresce hoje espontaneamente nas encostas dos Andes. Na Antiguidade, sua raiz era empregada para dissolver cálculos renais. Os romanos utilizavam a flor no combate à embriaguez e para preparar perfumes. O fruto fresco pode ser utilizado no preparo de geléias, vinhos e na decoração de tortas. O fruto seco é usado como fonte de vitaminas há muito tempo. Durante a Segunda Guerra Mundial, desenvolveram-se estudos que comprovaram ser a rosa mosqueta fonte de vitamina C (Teske & Trentini, 1997).

A rosa mosqueta, uma das plantas que aparecem em grande frequência nos países europeus, é uma roseira selvagem que cresce junto às sebes, formando cercas vivas, podendo crescer em altitudes bem elevadas. Na primavera, sua folhagem torna-se verde e brilhante, a cor rosada de suas flores, juntamente com seu perfume, o mais nobre de todos, anunciaram o início do verão, e a cor vermelha de seus frutos, o outono, conseguindo chegar ao inverno (Neumann..., 19__?).

A roseira cresce em terras pobres, enraizando-se fortemente para todos os lados, multiplicando-se por raízes adventícias que brotam por baixo da terra. Apesar de a planta estar sendo constantemente destruída pelo diversos fatores, como gelo, fogo, vento e animais, ela brota e torna-se novamente a crescer.

Botanicamente se classifica como *Rosa* aff. *rubiginosa*. As flores rosadas perdem posteriormente suas pétalas, ficando somente o fruto, que apresenta cor avermelhada, o qual contém em seu interior as sementes (Figuras 2A e 2B). A casca tem grande potencial como alimento, em razão do seu conteúdo de vitamina C (quase 20 vezes superior ao conteúdo no limão e 20 vezes ao conteúdo da laranja). Sua utilização na indústria agroalimentícia está relacionada com a fabricação de sopas, marmelada, geléias e chás, representando uma importante fonte de riqueza para o setor rural, principalmente no sul do

Chile, onde cresce em quantidade suficiente para permitir sua exploração industrial (Bienvenidos..., 2001)



FIGURA 2A. Flores da planta rosa mosqueta (www.mundomail.net/plantas/escaramujo-ch.jpg)



FIGURA 2B. Frutos da planta rosa mosqueta, também conhecidos como escaramujo (www.calhortsociety.org/.../jan2001/image/dscn3635.jpg).

2.4 Composição química e produtos derivados

A rosa mosqueta é um alimento e uma fonte rica em vitamina. Sua casca, fonte natural alimentícia de alto valor, tem sido usada em diversos países na forma de chá, marmelada, geléia, sopas, iogurtes, etc. Em países onde há baixa exposição das pessoas ao sol, como a Suécia, alimentos baseados em rosa mosqueta fazem parte obrigatória da dieta em jardins de infância e colégios. Por suas propriedades diuréticas, o chá de rosa mosqueta é a bebida indispensável na maioria dos hospitais da Alemanha. Indubitavelmente, sua utilização mais conhecida no mundo é como fonte natural de vitamina C, alcançando concentrações de 970 mg% na sua época de colheita. Além disso, os frutos são altamente ricos em flavonóides, pectinas, minerais e especialmente β -caroteno, o

que torna os produtos derivados da casca dessa flor elementos nutricionais naturais de primeira qualidade, por sua ação antioxidante e antiinflamatória (1.- Productos..., 2001)

A parte da rosa que permanece após a queda das pétalas, conhecida como rosehips, é considerada uma fonte importante de fibras e nutrientes (vitamina C), flavonóides, pigmentos carotenóides, etc (Muñoz et al., 1981). É principalmente constituída de ácido L-ascórbico (4%), carotenóides (0,01 a 0,05%), leucoantocianinas (1,35 a 1,75%), catequinas (0,8 a 0,91%), açúcares (glicose, frutose e sacarose nas concentrações de 11,5 a 15,6%), ácidos orgânicos, como o málico e cítrico (3 a 6%), sais minerais, vitamina A, complexo B, ácido fólico, ácido nicotínico e taninos. Cerca de 30 gramas do fruto fresco podem fornecer até 1.700 mg de vitamina C, dependendo da origem da planta e da forma de processamento (Arthemysa, 2001).

Adicionalmente, o óleo de rosehips é considerado uma importante fonte natural de ácidos graxos insaturados, que podem regenerar os tecidos da pele humana, diminuindo linhas de expressão, eliminando rugas e aprimorando a aparência de cicatrizes (Thielemman et al., 1993).

Segundo Antoniosi Filho & Lanças (1994), encontrou-se uma alta concentração de triacilgliceróis, principalmente os ácidos oléico, linoléico e linolênico, dentre outros, na composição lipídica do óleo de rosa mosqueta. O óleo é normalmente extraído usando solventes orgânicos, principalmente hexano, éter etílico e éter de petróleo (Pareja & Kehl, 1990). Apresenta cor amarela, com um odor e aroma característico, além de ser muito susceptível a reações oxidativas (Illés et al., 1997; Omarova et al., 1997).

As raízes e as folhas da roseira contêm ácido tânico. Entretanto, nas folhas, pode também haver pectina. Nas pétalas, podem ser encontrados: taninos (em pequenas quantidades), diversos ácidos orgânicos (ácido cítrico, ácido málico), materiais gomosos e pequenas quantidades de essência. A fruta ou

escaramujo contém caroteno (um material corante alaranjado), 11,6 a 15,6% de açúcares e 3 a 3,6% de ácidos orgânicos, e nos escaramujos (dessecados), 0,5 a 15,6% de vitamina C ou ácido ascórbico. Os frutículos contêm pequenas quantidades de vanilina, lecitina, açúcar invertido, 8,8% de um ácido graxo, quantidades pequenas de ácido málico, ácido tartárico e ácido succínico (Figura 3) (Rosa....., 1999/2001).

Hoffmann et al. (1992) citam que a rosa mosqueta foi estudada sob o ponto de vista farmacológico e fitoquímico a partir da década de 70, quando alguns de seus componentes foram descobertos. Segundo esse autor, a flor apresenta uma alta quantidade de vitamina C, podendo alcançar até 840 mg% do fruto total, possuindo, no entanto, um baixo conteúdo de proteínas. Outros componentes encontrados foram triacilgliceróis com alto teor de insaturação: ácidos, oléico, linoléico e linolênico e uma pequena porcentagem de ácidos graxos saturados do tipo palmítico e esteárico.

Chaktoura (2000) mostrou, por meio de pesquisas, que o potencial terapêutico do óleo de rosa mosqueta na regeneração dos tecidos danificados foi atribuído ao seu alto conteúdo de ácidos graxos essenciais. Para ele, as sementes da planta contêm aproximadamente 15% de ácido oléico, 44-50% de ácido linoléico e 30-35% de ácido linolênico. Esses óleos são essenciais para a manutenção de uma pele sadia.

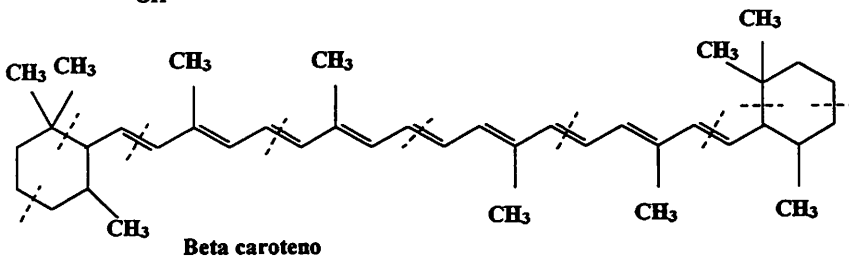
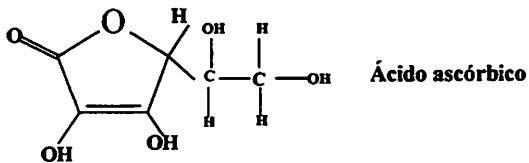
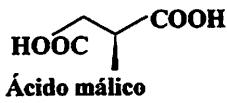
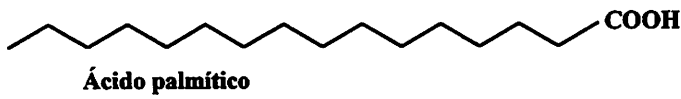
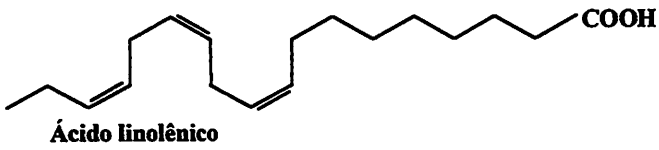
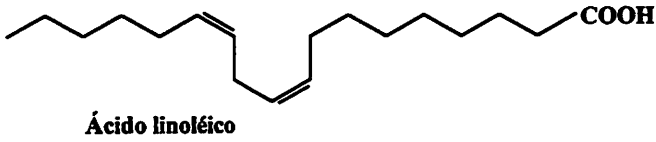
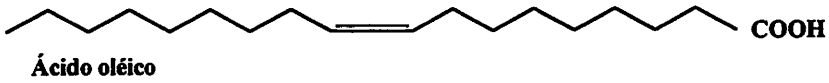


FIGURA 3. Estruturas químicas de alguns compostos presentes na rosa mosqueta (Baseado em Lehninger, 1995)

2.5 Indicações e uso clínico

Durante o Renascimento, a rosa mosqueta era apreciada pelas suas propriedades curativas, que foram principalmente atribuídas à sua propriedade adstringente, por causa de seu alto conteúdo de tanino. A água de rosas, considerada oftálmica, e o creme de rosas são obtidos ou preparados com suas pétalas, que são extremamente perfumadas. O mérito principal dessa planta está presente no escaramujo, de grande valor antiescorbútico, por seu extraordinário conteúdo em vitamina C. Além disso, a eles são atribuídas propriedades diuréticas e, de acordo com a crença popular, propriedades anti-helmínticas (Rosal..., 2001).

A vitamina C é essencial para a produção de colágeno, uma proteína que participa da cimentação das células epiteliais que revestem, por exemplo, as paredes internas dos vasos sanguíneos. Conseqüentemente, na deficiência da vitamina, as paredes dos capilares sanguíneos tornam-se frágeis, favorecendo a ocorrência de hemorragias nas gengivas e até mesmo no cérebro. Por falta de colágeno, substância também indispensável para a formação óssea, a ossificação torna-se insuficiente, ocorrendo, então, a paralisação do crescimento ósseo; e, por deficiência de depósitos de fibrilas de colágeno, a cicatrização de feridas é extremamente prejudicada. Acredita-se que a vitamina C contribui para retardar o envelhecimento e aumentar a resistência do organismo às infecções, graças à ação antioxidante e fotoprotetora que possui. Desse modo, sua utilização poderá promover a diminuição de rugas, a hidratação e elasticidade da pele, diminuição de manchas e proteção à radiação solar (Ota, 2001).

Pelo alto valor vitamínico e de sais minerais, a casca do fruto é muito útil nos restabelecimentos de enfermidades, auxiliando nos estados febris e sendo muito utilizada para prevenir resfriado. Possui ainda ação diurética por um estímulo do metabolismo renal. Normaliza, por fim, a função intestinal, pelo seu alto teor em ácidos orgânicos e pectina, possuindo efeito laxante.

Em razão dos ácidos graxos insaturados presentes no óleo, esse é utilizado como regenerador dos tecidos, conservando a textura da pele, sendo considerado nutriente indispensável na síntese de prostaglandina que atua nos processos fisiológicos e bioquímicos relacionados com a formação do tecido epitelial. A propriedade de reduzir cicatrizes e certos tipos de manchas ocorre graças à ação do ácido transretinóico. Esse age aumentando a velocidade de regeneração epidérmica, tornando mais rápido o ciclo normal da migração dos queratinócitos do extrato basal até a camada córnea. Aumenta também o número e a atividade dos fibroblastos da derme e produz uma angiogênese intensiva (microvasculação), manifestada por um aspecto mais liso e fresco do tegumento (Teske & Trentini, 1997).

Estudos com o óleo de rosa mosqueta, especialmente como cicatrizante, foram desenvolvidos na Faculdade de Química e Farmacologia da Universidade de Concepción no Chile. A pesquisa envolveu 180 pacientes com cicatrizes cirúrgicas, traumáticas e pós-queimadura, bem como em um grupo que sofria de envelhecimento precoce. Pelos resultados obtidos, constatou-se que o óleo de rosa mosqueta possui uma ação regeneradora efetiva sobre a pele. Aplicações contínuas ajudaram na atenuação de cicatrizes e rugas, na prevenção de envelhecimento precoce, e na recuperação da cor e aspecto da pele de maneira efetiva (Rosa..., 1999/2001). Considerando-se esse e outros estudos, pode ser claramente observado que o óleo de rosa mosqueta é uma substância extremamente eficaz para o tratamento de diferentes afecções e alterações dérmicas. Pode ser diretamente utilizado em queimaduras, cicatrizes, estrias, rugas, peles desidratadas, manchas, psoríase e feridas ulcerosas; conjuntamente como base de outros produtos ou como complemento (Indicaciones..., 2001).

Uma primeira linha de tratamento consiste na aplicação direta do óleo na área afetada. A sua ação cicatrizante está envolvida com a síntese de prostaglandina, nos processos de geração de membranas celulares e nos

mecanismos de defesa, crescimento e regeneração celular. Os resultados, tanto em cicatrizes acidentais, hipertróficas, hipertróficas, retráteis e quelóides, em especial nas cirúrgicas, são muito positivos: consegue-se uma excelente regeneração dos tecidos quando tratamentos contínuos são realizados (Una..., 2001a).

Em queimaduras caracterizadas por produção de camadas exteriores e interiores, perda da hidratação natural, perda da elasticidade nos tecidos e da cor natural da pele por hiperpigmentação, a utilização do óleo de rosa mosqueta tem permitido a recuperação da elasticidade e da hidratação dos tecidos danificados, assim como a regulação da hiperpigmentação, devolvendo à pele o aspecto uniforme. A correção da hiperpigmentação dos tecidos danificados é uma constante nos tratamentos de queimadura, traumatismos, etc; observando-se também bons resultados no tratamento de determinados tipos de manchas cutâneas, como as manchas por fotoenvelhecimento. Para o tratamento de rugas, peles desidratadas e envelhecimento precoce, o óleo tem sido utilizado com excelentes resultados. É um poderoso hidratante, uma vez que é precursor de ceramidas, o qual fornece os ácidos graxos necessários para equilibrar o nível de ácidos graxos e água, regulando e mantendo a hidratação dos tecidos. O óleo de rosa mosqueta acelera a velocidade regeneradora das células epidérmicas, renovando o tecido epitelial, ao mesmo tempo que aumenta a síntese de colágeno e elastina, proporcionando maior consistência ao tecido conjuntivo, isto é, uma pele mais lisa e elástica (Una..., 2001a).

Grandes resultados também têm sido obtido no tratamento de rachaduras e feridas ulcerosas, em períodos relativamente curtos em tecidos enxertados, em que sua aplicação contínua facilita sua cicatrização, podendo ser iniciado o tratamento logo após o enxerto, aguardando por um período de 48 horas da sua evolução normal. Bons resultados também têm sido observados nos tratamentos de estrias, tanto na prevenção quanto na recuperação dessas. Em pacientes com

psoríases, a aplicação do óleo de rosa mosqueta tem influenciado na hidratação da camada córnea da pele característica da enfermidade, combatendo, desse modo, seus efeitos, tais como: escamação, enrijecimento, prurido, etc. (Una..., 2001a).

O óleo de rosa mosqueta mostra-se efetivo no tratamento das úlceras varicosas ou traumáticas de membros inferiores, proporcionando um aumento do tecido de granulação e levando a uma epitelização mais rápida (média de 24,1 dias), quando comparado com o grupo-controle (média de 52,2 dias) (Moreno Gimenez et al., 1990).

Outra linha de tratamento está relacionada com a aplicação conjunta do óleo com qualquer outro preparado, seja ele creme, pomada, gel, etc. Apesar dos benefícios fornecidos pelos princípios ativos que incorporam um produto, um dos principais problemas enfrentados pelas indústrias de cosméticos é a limitação da eficiência do mesmo pela sua capacidade de penetração na pele. A aplicação do óleo de rosa mosqueta em conjunto com outros preparados faz com que o mesmo atue reforçando sua efetividade, ao aumentar sua capacidade de penetração em consequência de sua permeabilização pela membrana celular, facilitando a passagem dos nutrientes contidos no próprio óleo e no produto que é aplicado imediatamente depois, aumentando-se, assim, de forma considerável, a efetividade do tratamento (Una..., 2001b).

Uma terceira linha de tratamento estabelece sua aplicação como complemento de outros tratamentos. Graças às propriedades desse óleo, as possibilidades nesse sentido são múltiplas. A preparação dos tecidos antes de uma intervenção cirúrgica ou de um tratamento agressivo tem demonstrado um efeito significativo na reação dos tecidos. Por outro lado, por tratar-se de uma substância totalmente natural, com importante ação regeneradora, hidratante e com alto nível de eficiência na sua função de barreira, sua aplicação está especialmente indicada como complemento a tratamentos como peelings

químicos, dermoabrasivos, vitaminas puras, etc. As unidades de Oncologia também têm obtido ótimos resultados com a utilização do óleo no tratamento dos efeitos secundários produzidos na pele pela radioterapia, tais como: inflamações, congestões, manchas escuras, dermatites, entre outros. Do mesmo modo, tem sido demonstrada sua eficiência como complemento na utilização de laser em processos de cicatrização e em diferentes tratamentos estéticos como depilação elétrica, micropigmentação, lipossucção e retinol (Una..., 2001b).

De acordo com Marchini et al. (1988), estudos realizados no tratamento de feridas abertas, em animais de laboratório, com a aplicação do óleo de rosa mosqueta, têm-se mostrado eficientes, permitindo uma aceleração na cicatrização.

Chaktoura (2000) mostra em suas pesquisas a presença do ácido retinóico no óleo de rosa mosqueta. Esse ácido tem sido utilizado no tratamento de afecções dermatológicas com bons resultados há mais de 30 anos. Segundo os pesquisadores, o ácido retinóico contido nas sementes da rosa mosqueta estão em sua forma natural, como parte de um complexo sistema formado com ácidos graxos insaturados.

Apesar de alguns estudos não apresentarem evidências científicas suficientes para explicar o poder do óleo de rosa mosqueta no tratamento de determinadas cicatrizes, bem como na eliminação de certos tipos de manchas hiperpigmentadas ou rugas de menor tamanho, sem dúvida, outros citam que o óleo é muito apreciado em tratamentos dermatológicos, como queimaduras, cicatrizes cirúrgicas, quelóides, queratoses, melasmas, cloasmas, lentigos, verrugas, psoríases, cicatrizes (atróficas e hipertróficas), hiperchromias e seqüelas de acne. Além disso, contém vitaminas C, E e D, carotenóides (precursores da vitamina A ou retinol), proteínas anticoagulantes e lanolina (Chaktoura, 2000).

Segundo Muñoz (1982), citado por Del Valle et al. (2000) o óleo de rosa mosqueta é competitivamente produzido no Chile e exportado pelo mesmo país

em grandes quantidades (um valor total de mais de US\$ 30 milhões por ano), sendo mundialmente usado pela comunidade médica e como um ingrediente ativo especial por várias companhias de prestígio de cosméticos na Ásia, Europa, América do Norte e América Latina. Durante anos, o óleo de rosa mosqueta tem sido apresentado como produto com capacidade de retardar os sinais de envelhecimento precoce, além de fornecer excelentes resultados no tratamento de queimaduras e cicatrizes da pele.

Em estudos realizados por Moreno Gimenez *et al.* (1990) utilizando-se o óleo de rosa mosqueta para tratamento de úlceras, não foi observada reação alérgica nesses pacientes; o mesmo pôde ser constatado em um paciente que apresentava sensibilização prévia a vários produtos.

2.6 Fitopatógenos em estudo

Os fungos foram, durante muito tempo, considerados como vegetais. Somente a partir de 1969 passaram a ser classificados em um reino à parte. Eles não sintetizam clorofila, não têm celulose na parede celular (exceto em alguns fungos aquáticos) e não armazenam amido como substância de reserva. Essas características permitem sua diferenciação das plantas. Por outro lado, a presença de substâncias quitinosas na maior parte das espécies e a capacidade de armazenar glicogênio os assemelham às células animais (Trabulsi *et al.*, 2000).

De acordo com Raasch & Hopfer, citados por Silva (1998), existem mais de cem mil espécies de fungos. Alguns deles são usados nas indústrias de alimentos, de fermentos e na produção dos medicamentos úteis da medicina atual. Outros, entretanto, são patógenos para plantas e causam infecções em seres humanos. Mais de 90% de todas as infecções humanas causadas por fungos têm como patógenos menos de 20 espécies.

Podem ser encontradas em animais, vegetais, no homem, em detritos e no solo. São seres eucarióticos, com um só núcleo, como nas leveduras, ou



multinucleados, como os fungos filamentosos, bolores e os cogumelos (fungos macroscópicos).

Os fungos podem formar colônias leveduriformes e filamentosas em meios de cultura especiais. Por causa da ausência de clorofila para se nutrirem, necessitam de substâncias orgânicas que eles próprios são incapazes de elaborar, vivendo obrigatoriamente em um estado de saprofitismo, parasitismo ou simbiose. No caso do saprofitismo, utilizam substâncias orgânicas inertes, muitas delas em decomposição. Os parasitas nutrem-se de substâncias existentes nas células dos hospedeiros. Os simbioses associam-se a outros hospedeiros, prestando ajuda mútua em suas funções. A forma micelial ou saprofítica é a forma infectante, geralmente presente em solo e plantas. A leveduriforme ou parasitose é encontrada nos tecidos e *in vitro*. Esse fenômeno chamado dimorfismo é observado em alguns fungos agentes de micoses sistêmicas e subcutâneas. A luz solar direta sobre os fungos funciona como fator fungicida em consequência das radiações ultravioleta (Trabulsi et al., 2000).

2.6.1 Epidemiologia

O reservatório habitual dos fungos que infectam o homem pode ser o próprio homem, animais ou sítios de natureza onde se desenvolvem como saprófitas. As doenças causadas por eles podem atingir apenas as camadas superficiais da pele e dos pêlos nas micoses superficiais, atingindo pele, pêlo, unhas e mucosas, em maior extensão nas micoses cutâneas, atingindo tecido subcutâneo ou mesmo abrangendo órgãos internos e vísceras, sendo chamadas de micoses sistêmicas (Trabulsi et al., 2000).

De acordo com o mesmo, as dermatofitoses são doenças causadas por fungos que atingem a pele, pêlo e unhas e são transmitidas geralmente pelo próprio homem, animais, contato com o solo ou materiais contaminados, como pisos de banheiros, colchões de judô, toalhas de banho, etc. Além de atingirem

indivíduos considerados normais, as micoses têm grande importância por atingirem indivíduos imunocomprometidos, ou seja, pacientes que apresentam câncer, diabetes, AIDS ou fazem uso de imunossuppressores, como os corticóides. A idade, raça, sexo e atividade profissional desempenham um importante papel na frequência de certas micoses.

A integridade da pele, o baixo teor de umidade, a secreção de ácidos graxos saturados pelas glândulas da pele são responsáveis pela resistência natural a esses patógenos. Este último apresenta propriedades antifúngicas (Trabulsi et al., 2000).

O primeiro estágio do processo invasivo dos fungos é a aderência, que é dificultada pela secreção de muco, competição com outros microorganismos e descamação das células epiteliais (Trabulsi et al., 2000).

A atividade das queratinases, elastases e sulfatases são importantes na implantação dos dermatófitos. No caso das lipases, estas auxiliariam o fungo a superar a barreira de ácidos graxos da pele, os quais possuem efeito fungicida, como é o caso do ácido undecilênico ($C_{11}H_{20}O_2$). (Trabulsi et al., 2000).

As manifestações clínicas dos fungos podem variar de acordo com a região do corpo que é acometida e com o tipo de fungo envolvido na patologia. Na pele, podem causar placas circulares, pruriginosas, com descamação, bordas eritematosas (avermelhadas), com vesículas e fissuras. As unhas tornam-se espessadas, fragmentadas, descoloradas e sem brilho. No couro cabeludo, podem aparecer alterações na pele e fragmentação do cabelo, levando ao aspecto de cabelo tonsurado, e na mucosa oral e genital, podem formar placas esbranquiçadas (sapinho) (Jawetz et al., 1984).

Algumas patógenos de grande importância são as *Candidas*, dentre outras leveduras, pela sua elevada incidência em pacientes imunossuprimidos, debilitados, diabéticos, portadores de catéteres endovenosos ou sondas vesicais de demora, que estão em uso de antimicrobianos (pela modificação da flora

bacteriana normal) e uso de corticosteróides. Podem atingir a boca, trato gastrointestinal, genitália, pele, unhas, pulmões e outros órgãos. O tratamento é realizado com a remoção da causa, isto é, manter as áreas acometidas frias e secas, suspender, se possível, os antimicrobianos, e iniciar o tratamento tópico ou oral com antifúngicos (Jawetz et al., 1984).

2.6.2 Agentes antifúngicos

As drogas usadas no tratamento de bactérias têm pequeno ou nenhum efeito sobre as células do hospedeiro; entretanto, os fármacos usados no tratamento das infecções fúngicas são tóxicos em virtude das semelhanças entre a célula fúngica e a humana.

O arsenal antimicótico é ainda relativamente limitado. As drogas podem ser divididas em duas categorias: as que afetam a membrana celular e as que atuam intracelularmente, interrompendo processos celulares vitais como síntese de RNA, DNA ou proteínas. As mais usadas são derivados poliênicos, imidazólicos e compostos como iodetos, sulfetos, tiosulfatos, tolnaftatos, como mostram as Figuras 4, 5 e 6.

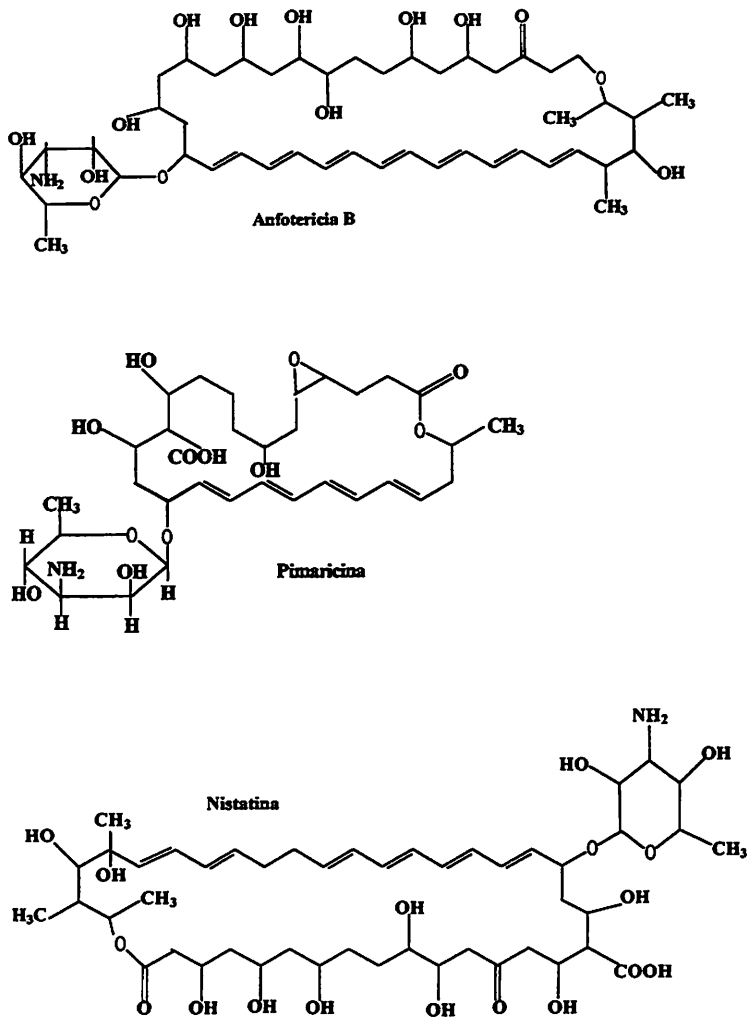


FIGURA 4. Estruturas químicas dos principais derivados poliênicos (Trabulsi et al., 2000)

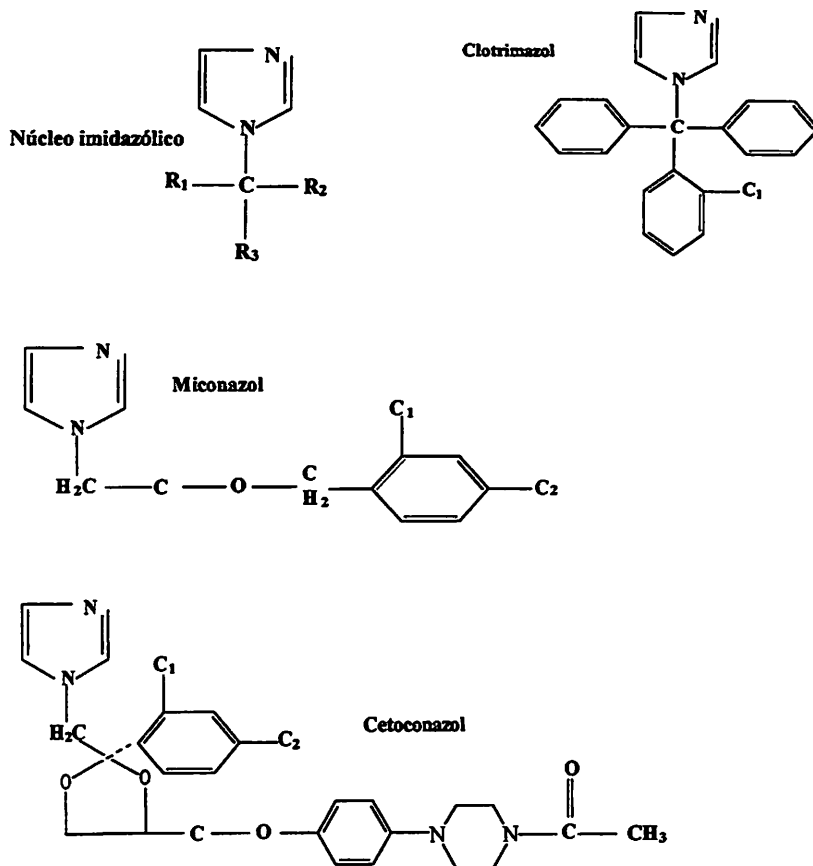


FIGURA 5. Estruturas químicas dos principais derivados imidazólicos utilizados na prática médica (Trabulsi et al., 2000)

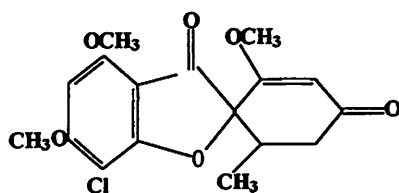


FIGURA 6. Estrutura química da griseofulvina (Trabulsi et al., 2000)

Apesar dos progressos em relação à descoberta de novos antifúngicos, vários novos compostos têm mostrado limitações, não se conhecendo ainda uma droga ideal para o tratamento de todas as micoses. Substâncias efetivas, como a flucitocina e a anfotericina B, por exemplo, são utilizadas com reservas por causa da toxicidade das mesmas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento dividiu-se em duas partes: “A avaliação fitoquímica da rosa mosqueta”, realizada no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras/MG; e “Testes biológicos da ação antifúngica da rosa mosqueta”, realizada no Laboratório do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora/MG.

3.1 Coleta do material

Foram objetos de estudo deste trabalho os frutos de Rosa Mosqueta, cientificamente classificados como *Rosa aff. rubiginosa*.L. Os frutos maduros e parcialmente secos foram adquiridos na Doceria Suíça em Bariloche/Argentina, em agosto de 2000.

A identificação da espécie foi realizada no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), por meio de comparação com dados encontrados em literatura, uma vez que tal espécie não é encontrada no herbário dessa Universidade.

Uma amostra dos frutos foi anexada à carpoteca do Herbário ESAL (Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras UFLA), Lavras/MG.

3.2 Preparo do material

A secagem dos frutos foi feita em estufa de secagem e esterilização (estufa ventilada) Mod. 320-SE-FANEM à temperatura de 35 a 40°C, até peso constante. Em seguida, selecionaram-se os frutos que não apresentavam quaisquer alterações em sua superfície que pudessem sugerir patologias. Os

frutos foram, estão pesados, quebrados e separada a casca da semente, sendo novamente pesados, separadamente, para verificar o percentual da casca e semente (Figura 7). Para isso utilizou-se balança analítica da marca Gehaka, modelo BG 1000.



FIGURA 7. Separação da casca e semente do fruto da rosa mosqueta

3.3 Obtenção dos extratos brutos

Para obtenção dos extratos brutos, foram utilizados 200 g de casca e 200 g de semente, separadamente, colocados em refluxo em metanol (grupo 1), acetato de etila (grupo 2) e hexano (grupo 3) por 48 horas (Figura 8). As amostras foram, então, filtradas em funil de Büchner, obtendo-se seis soluções filtradas: extratos metanólicos da casca e semente, extratos em acetato de etila da casca e semente e extratos hexânicos da casca e semente.

Os filtrados foram levados ao rotavapor modelo Buchi R-114 sob pressão reduzida e, posteriormente, à estufa a 40°C (± 2) para completa evaporação do solvente. Foram então pesados e, armazenados, para posterior estudo. Dos seis extratos obtidos, foram selecionados os metanólicos da casca e semente, por apresentarem rendimento muito superior aos demais.



FIGURA 8. Refluxo da casca e semente em diferentes solventes

3.4 Avaliação fitoquímica

3.4.1 Identificação dos grupos de substâncias presentes na *Rosa* aff. *rubiginosa*

Os extratos metanólicos, em acetato de etila e hexânicos da casca e semente foram utilizados para caracterização dos principais grupos de

substâncias vegetais de interesse, por meio de reações que resultavam no desenvolvimento de coloração (mudança da cor) e/ou formação de precipitado característico. Foram realizadas duas repetições para cada um dos seguintes testes: ácidos orgânicos, açúcares redutores, polissacarídeos, proteínas e aminoácidos, taninos, flavonóides, carotenóides, sesquiterpenlactonas e outras lactonas, azulenos, esteróides e triterpenóides, cumarinas e depsidonas, derivados de cumarinas, saponina espumídica, alcalóides, purinas e antraquinonas.

3.4.2 Testes de solubilidade

Foram utilizadas pequenas quantidades dos extratos brutos metanólicos (casca e semente) em 2 mL dos diferentes solventes: hexano, clorofórmio, acetato de etila, etanol, metanol e água para observação da solubilidade.

3.4.3 Série eluotrópica

Foi realizada a série eluotrópica, utilizando-se placas de cromatografia com sílica gel 60 G (Merck®), nas quais foram aplicadas microgotas dos extratos brutos metanólicos (casca e semente) previamente dissolvidos em metanol, utilizando-se micropipetas. Sobre cada uma das várias “manchas” formadas, foram aplicados vários solventes (eluentes) com polaridades diferentes, para seleção daqueles que seriam utilizados na cromatografia de coluna. Foram utilizados os seguintes solventes: hexano, éter de petróleo, ciclohexano, tetracloreto de carbono, benzeno, tolueno, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, octanol, etanol, metanol, ácido acético e água.

3.4.4 Purificação das substâncias por cromatografia líquida de coluna (CLC)

Para fracionamento dos extratos metanólicos, utilizou-se uma coluna de vidro com 50 cm de comprimento por 2,8 cm de diâmetro, recheada com uma mistura de sílica gel 60, (70-230 mesh) (Merck®) com clorofórmio. Sobre essa foi colocada uma camada de terra diatomácea também misturada em clorofórmio. Os extratos brutos (casca e semente) foram dissolvidos em metanol e aplicados na coluna. Eluiu-se com clorofórmio, acetato de etila, etanol, metanol, ácido acético e água, solventes selecionados por meio da série eluotrópica. Utilizaram-se 50mL do solvente puro e, a seguir, 30 mL contendo uma mistura de solventes (fase de transição), nas seguintes proporções: 10mL (2:1), 10 mL (1:1) e 10 mL (1:2). Foram obtidas onze frações, que foram levadas ao rota-vapor e, posteriormente, à estufa para evaporação completa do solvente. Realizaram-se três repetições para conseguir quantidades suficientes de extratos parcialmente purificados.

Foram selecionados 2 extratos (dos onze obtidos), observando-se apenas o rendimento dos mesmos. Realizaram-se novas análises cromatográficas (camada delgada), utilizando-se inicialmente uma mistura de solventes: clorofórmio/metanol e, a seguir, uma mistura trinária: clorofórmio/metanol/acetato de etila, em proporções variadas, na tentativa de encontrar a proporção ideal capaz de separar duas “manchas” na placa de cromatografia. Após a identificação da proporção ideal dos solventes, foi realizada a cromatografia de camada delgada utilizando-se 150 placas, que se auto-revelaram, e, posteriormente, para uma melhor identificação, foram colocadas em atmosfera de iodo. Foram coletadas as misturas de sílica com “substâncias” 1 e 2 (manchas 1 e 2), separadamente, solubilizando-as em clorofórmio, filtrando-as, e a solução obtida foi levada ao rotavapor e, posteriormente, à estufa, obtendo-se dois extratos purificados.

3.5 Identificação das substâncias

O extrato purificado foi encaminhado para Espectrofotometria no Infra Vermelho (IV), Espectrometria de Massas (EM), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN¹H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN¹³C).

3.6. Extração de óleo essencial

Foram pesados separadamente 30 g de casca e 30 g de semente, que foram colocados em um balão volumétrico contendo água destilada, e este sobre uma manta aquecedora. O balão foi adaptado a um condensador para obtenção do hidrolato. A solução foi aquecida e mantida em ebulição por 2:30 horas. Após esse período, o hidrolato foi retirado, realizando-se a partição com diclorometano. Levou-se ao rotavapor para evaporação do solvente. A solução foi, então, levada à estufa até peso constante. O óleo essencial foi encaminhado para estudos espectrofotométricos no infravermelho (IV) e análises de espectroscopia de massas (EM).

3.7 Estudo biológico

Os extratos brutos obtidos após refluxo em metanol (casca e semente) foram encaminhados para estudo das atividades antifúngicas na Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora/MG.

3.7.1 Escolha dos fungos

As leveduras escolhidas para realização dos testes biológicos foram *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*. As três espécies de leveduras foram cedidas pela fungoteca do Laboratório Central do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora/MG.

3.7.2 Preparação dos ensaios

Para os testes de susceptibilidade das leveduras, foram feitas soluções com dimetilsulfóxido (DMSO) contendo 20mg/mL dos extratos metanólicos da casca e semente. Cada solução foi diluída 1:10 em solução salina estéril e 300 uL/mL foram aplicados nos poços feitos em ágar Sabouraud dextrose. A concentração final utilizada de cada extrato foi de 2000 uL/mL. Como padrão de inibição, foram utilizadas soluções de fluconazol e anfotericina B, na concentração final de 64 ug/mL. As espécies de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata* foram mantidas em ágar Sabouraud dextrose. Culturas de 16 horas foram utilizadas nesses testes. As colônias foram suspensas em solução salina estéril, e a quantidade de células por mililitro, ajustada para conter 1×10^5 células por mL. Essas soluções foram utilizadas para semear placas de ágar Sabouraud dextrose (ASD). Em cada placa, foram feitos poços de 10mm, aos quais foram adicionados 300 uL da solução de cada extrato e deixados difundir por 2 horas à temperatura ambiente. As placas foram, então, incubadas a 37 °C e as observações de halo de inibição foram feitas durante 24 – 48 horas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo fitoquímico

4.1.1 Rendimento da casca em relação à semente

Após secagem e separação da casca e semente, foi pesada cada uma dessas porções, obtendo-se 52% de semente e 48% de casca.

4.1.2 Obtenção dos extratos

Os extratos brutos obtidos pelo refluxo de 200 g da casca e 200 g da semente nos solventes, metanol, acetato de etila, e hexano, apresentaram, após evaporação de todo o solvente, rendimentos e aspectos diferenciados, conforme pode ser observado na Tabela 3 e na Figura 9.

TABELA 3. Rendimento e aspectos dos extratos obtidos por refluxo

Extrato	Casca / semente	Coloração	Textura	Peso (g)	Proporção casca / semente
Metanólico	Casca	Castanho-escuro	Pastoso	30,0	6:1
	Semente	Castanho-escuro	Pastoso	5,10	
Acetato de etila	Casca	Tijolo	Sólido	0,89	8:1
	Semente	Castanho-claro	Pastoso	0,11	
Hexano	Casca	Alaranjado	Sólido	0,20	7:1
	Semente	Amarelo-claro	Pastoso	0,03	

Observa-se, com isso, que substâncias diferentes foram extraídas com os

diferentes solventes. A coloração tijolo obtida no extrato da casca em acetato de etila, bem como a coloração alaranjada do extrato obtido com a casca em refluxo em hexano, sugerem a presença de caroteno, o que pode ser comparado com dados da literatura. Os rendimentos obtidos com os extratos metanólicos da casca e semente foram muito superiores aos dos demais extratos. Isso sugere um elevado teor de substâncias polares naqueles extratos, tendo, desse modo, sido selecionados para os demais testes.

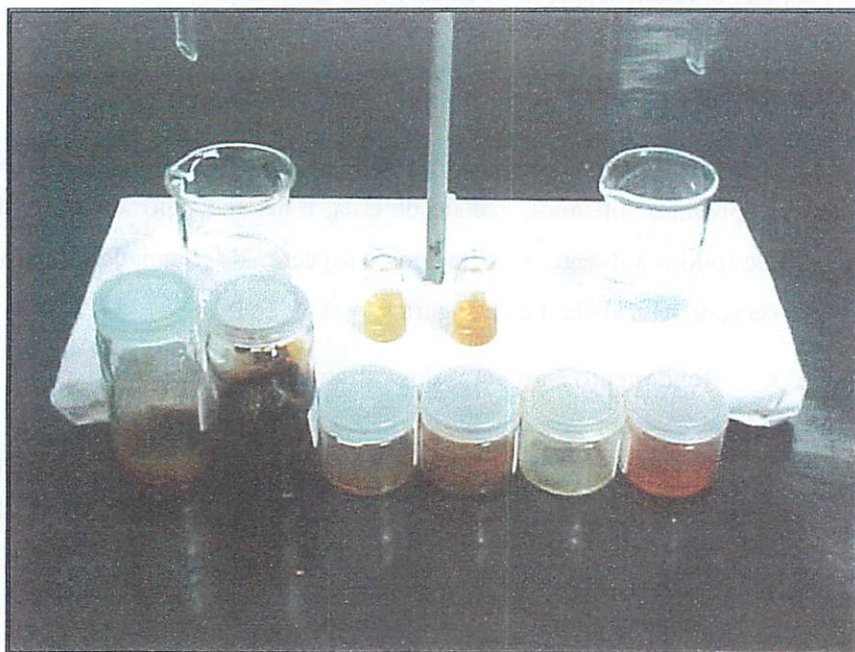


FIGURA 9. Extratos brutos da semente e da casca obtidos por refluxo em metanol, acetato de etila e hexano, respectivamente.

4.1.3 Teste de solubilidade.

Uma maior solubilidade dos extratos metanólicos da casca e semente em solventes polares foi observada, como apresentado na Tabela 4.

TABELA 4. Características de solubilidade dos extratos obtidos nos diferentes solventes

Solventes	Solubilidade	
	Extrato metanólico (casca)	Extrato metanólico (semente)
Hexano	Parcialmente solúvel	Insolúvel
Clorofórmio	Parcialmente solúvel	Insolúvel
Acetato de etila	Parcialmente solúvel	Insolúvel
Etanol	Parcialmente solúvel	Insolúvel
Metanol	Solúvel com pequeno resíduo	Solúvel com pequeno resíduo
Água	Solúvel	Solúvel

Por meio dos dados da tabela acima, observa-se que os extratos metanólicos da casca e semente apresentam uma maior solubilidade nos solventes polares, e à medida que diminuimos a polaridade nos mesmos, a solubilidade também diminui. Isso sugere a presença de substâncias nos extratos, como açúcares, ácidos succínico, málico, ascórbico e cítrico, dotados de grupos polares e cadeias pequenas.

4.1.4 Série eluotrópica

Foi observado um maior deslocamento das manchas com os eluentes metanol e etanol para o extrato da casca, e metanol, etanol e acetato de etila para o extrato da semente. Esses dados foram importantes na definição de quais solventes seriam utilizados na cromatografia de coluna.

Pelos resultados desse teste confirma-se o que foi sugerido no item anterior, ou seja, presença de substâncias polares na amostra.

4.1.5 Triagem fitoquímica

A triagem foi realizada como teste preliminar para identificação de

grupos orgânicos presentes nos extratos. Na Tabela 5 estão as reações positivas e negativas para os extratos metanólicos, em acetato de etila e hexânicos da casca e semente.

TABELA 5. Reações observadas nos extratos metanólicos da casca e semente

Reação	Extrato metanólico		Extrato em acetado de etila		Extrato hexânico	
	C	S	C	S	C	S
Ácidos orgânicos	-	-	I	I	I	I
Açúcares redutores	+	+	I	I	I	I
Polissacarídeos	-	-	I	I	I	I
Proteínas e aminoácidos (Reação de Molish)	+	+	I	I	I	I
Taninos	-	-	I	I	I	I
Flavonóides	-	+	-	-	-	-
Carotenóides	-	-	+	-	+	-
Sesquiterpenlactonas e outras lactonas	-	-	-	-	-	-
Azulenos	-	-	-	-	-	-
Esteróides e triterpenóides	-	-	+	+	+	+
Depsídeos e depsidonas	+	+	-	-	-	-
Derivados e cumarinas	-	-	-	-	-	-
Saponinas espumídicas	+	+	-	-	-	-
Alcalóides Bouchardat	+	+	I	I	I	I
Purinas	-	-	-	-	-	-
Antraquinonas	+	+	-	-	-	-

C Casca;

S Semente;

I Insolúvel em água, não sendo possível realizar o teste

+ Presença

- Ausência

As reações para identificação de ácidos orgânicos, açúcares redutores, polissacarídeos, proteínas e aminoácidos, taninos e alcalóides não foram

possíveis de serem realizadas nos extratos da casca e semente em acetato de etila e hexano. Os extratos não foram solúveis nos solventes utilizados na reação.

A presença da coloração tijolo e alaranjada nos extratos da casca em acetato de etila e hexano, respectivamente, devem-se realmente à presença de carotenóides, como observado no teste de triagem fitoquímica (Figura 10). Observa-se que a reação foi positiva nos tubos 2 e 4.

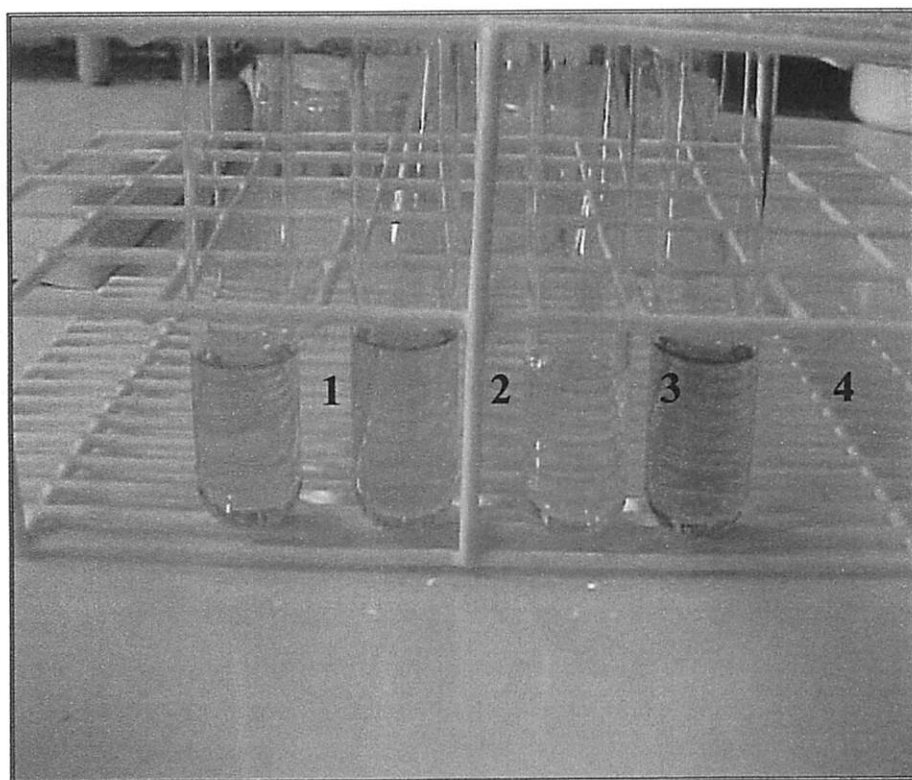


FIGURA 10. Teste para carotenóides. 1 – extrato bruto da semente em acetato de etila; 2 – extrato bruto da casca em acetato de etila; 3 – extrato bruto da semente em hexano e 4 – extrato bruto da casca em hexano.

4.1.6 Extratos fracionados

Após obtenção das nove frações dos extratos parcialmente purificados por meio de CLC, selecionaram-se duas, observando-se como critério apenas o rendimento dos mesmos [extratos da semente obtidos com o clorofórmio e com acetato de etila /etanol (fase intermediária)].

4.1.7 Cromatografia de camada delgada

Após inúmeras tentativas de separação das substâncias dos dois extratos selecionados, conseguiu-se a separação perfeita de duas manchas no extrato “semente/clorofórmio”, utilizando-se como eluente a seguinte mistura trinária: metanol/acetato de etila/clorofórmio (8/1/1).

Pela Figura 11 verifica-se a separação das manchas que se auto-revelaram. Na Figura 12, observam-se as manchas após revelação em atmosfera de iodo.

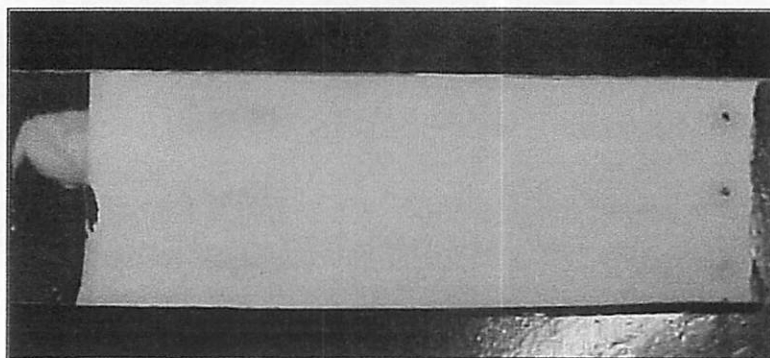


FIGURA 11. Cromatografia de camada delgada.

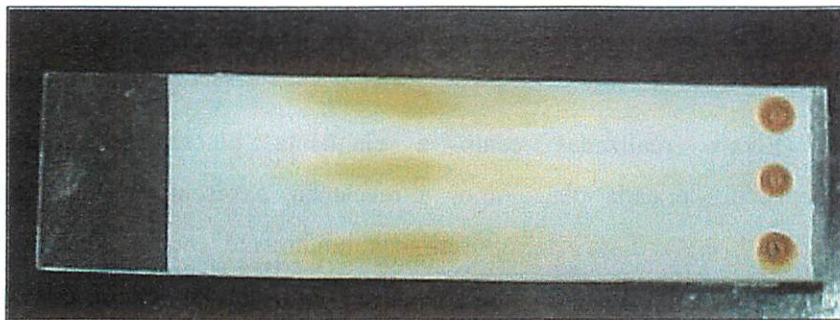


FIGURA 12. Cromatografia de camada delgada após revelação em atmosfera de iodo

O valor de RF (fator de retenção) encontrado para a substância 2 foi 0,69. Observa-se na Figura 13 a similaridade entre as três placas. Com isso, infere-se que a mistura trinária é a mistura ideal de separação, podendo ser um referencial para a reprodutibilidade dos testes, característica importante, sempre presente nas cromatografias de camada delgada.

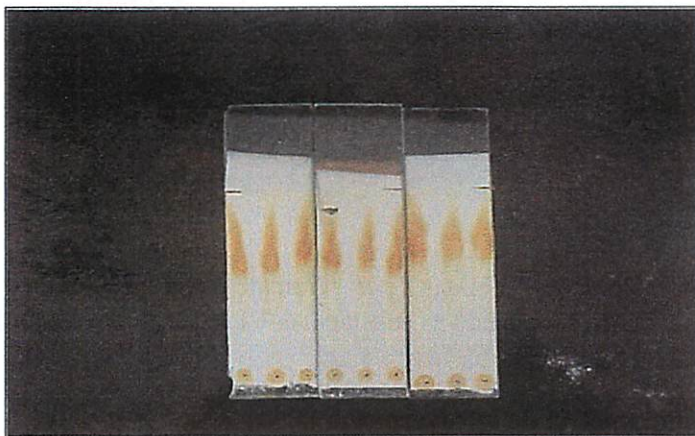


FIGURA 13. Cromatografia de camada delgada de três placas

4.1.8 Obtenção da substância pura

Foram realizadas cento e cinquenta placas de cromatografia (2,4cm/10cm), e cada placa, após a revelação, apresentava duas “manchas” (manchas 1 e 2). Essas foram retiradas juntamente com a sílica e filtradas utilizando-se o clorofórmio como solvente. Foram obtidas, então, duas soluções translúcidas e roxas, com tonalidades diferentes, que foram, posteriormente, levadas ao rotavapor para evaporação do solvente, obtendo-se, assim, as substâncias puras 1 e 2 (Figura 14).

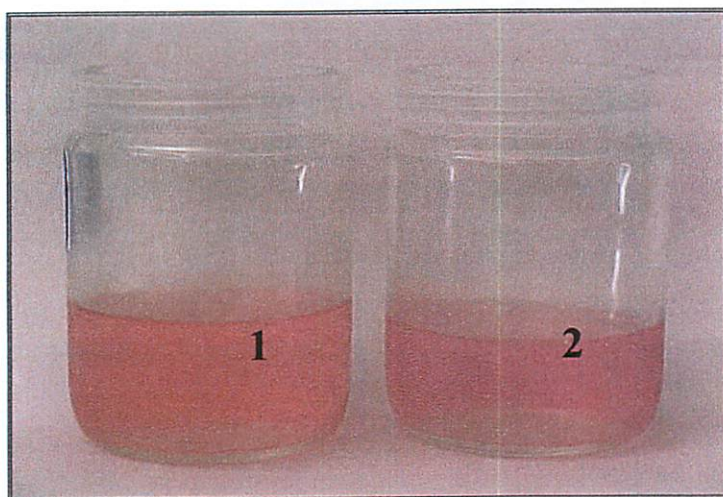


FIGURA 14. Soluções obtidas por cromatografia de camada delgada, correspondendo as substâncias 1 e 2 , respectivamente.

4.2 Espectrofotometria de infravermelho

As substâncias puras 1 e 2, e os óleos essenciais da casca e semente foram levados ao espectrofotômetro de infravermelho.

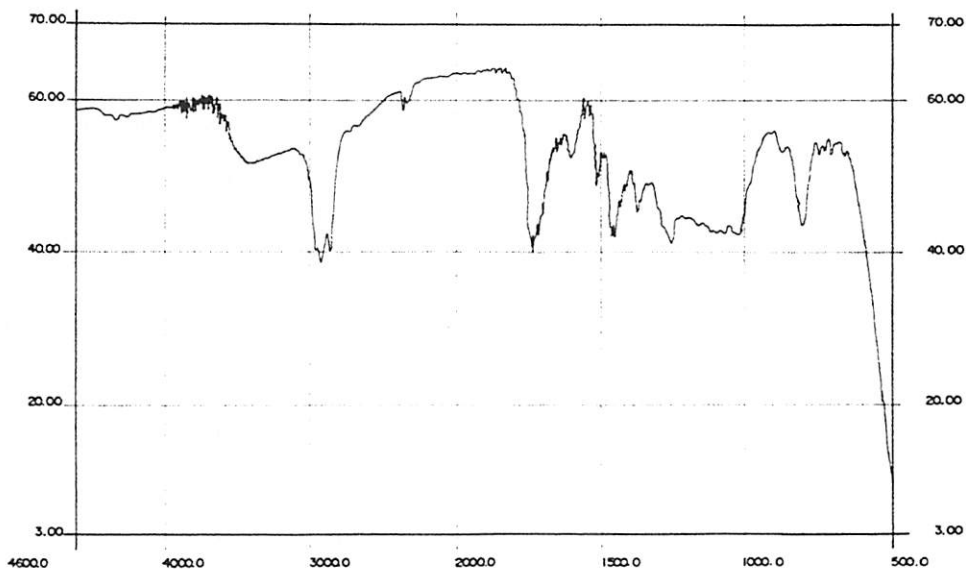



FIGURA 15. Espectro infravermelho da substância 2

Os espectros obtidos das substâncias 1 e 2 são similares e estão representados pela Figura 15. Apresentam as seguintes bandas de absorção: no intervalo compreendido entre $3300 - 2800 \text{ cm}^{-1}$, observa-se uma banda larga, característica de grupos hidroxílicos de ácidos ou álcoois, sobrepostos com grupos metílicos ($-\text{CH}_3$); metilênicos ($-\text{CH}_2$); e metínicos ($-\text{CH}$). A absorção de ligação $\text{C}=\text{O}$ é evidenciada pela presença de um pico característico compreendido na região entre $1732-1727 \text{ cm}^{-1}$. Esse, apresenta banda larga, que pode sugerir a presença de dois grupos carbonila no composto ou a presença de uma dupla ligação conjugada com $\text{C}=\text{O}$. A formação de dímeros entre os ácidos carboxílicos é observada mediante um sinal entre $900-750 \text{ cm}^{-1}$.

A presença de grupos OH , $\text{C}=\text{O}$, CH_3 , CH_2 e CH sugerem que os compostos 1 e 2 possam ser ácidos carboxílicos, podendo ser um diácido como o ácido málico ou succínico, dentre outros. Esses dados estão de acordo com



aqueles encontrados na triagem fitoquímica, e nos citados na literatura, em que a presença de diversos ácidos orgânicos foi identificada na espécie em estudo. Informações complementares com os estudos espectrométricos de massas (EM), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H), e ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN¹³C) serão fundamentais para identificação correta desse composto.

Os espectros dos óleos essenciais da casca e semente apresentam-se bem semelhantes e com bandas de absorções que lhes são peculiares: no intervalo de 3000-2854 cm⁻¹, observam-se sinais característicos da deformação axial dos grupos metílicos (-CH₃); metilênicos (-CH₂); e metínicos (-CH) presentes. Em 1261cm⁻¹, observa-se um sinal, ao qual é atribuída a vibração de deformação angular simétrica fora do plano de grupos metilênicos ou de estiramento C-O. Em 1732cm⁻¹ e 1716cm⁻¹, observam-se dois sinais apresentados como um duplete característicos das duplas C=O, inferindo-se a presença de compostos dicarbonilados. Analisando-se os dados do espectro e comparando-os com os da literatura (Silverstein et al.,1991; Pavia, 1996; Castells & Camps, 1980), infere-se a presença de γ dicarbonilados, que segundo Castells & Camps (1980), apresentam um duplete em 1740cm⁻¹ e 1715cm⁻¹, estando, portanto, condizentes com os encontrados no espectro (1732cm⁻¹ e 1716cm⁻¹). Esses são representados pela Figura 16.

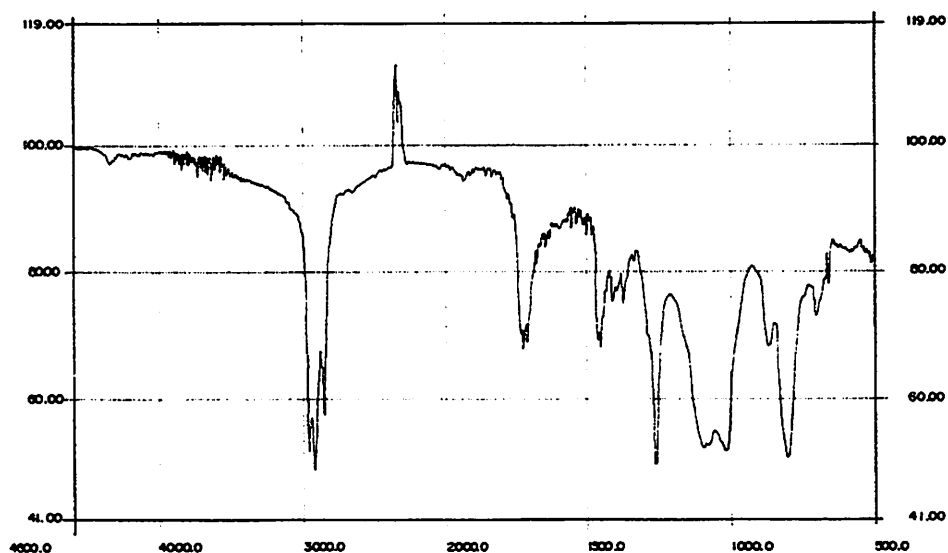


FIGURA 16. Espectro infravermelho do óleo essencial da semente da rosa mosqueta

Dados obtido com base na espectrometria de massas (EM) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H) e ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN¹³C) serão fundamentais para a identificação da substância.

4.3 Testes biológicos

Observou-se que a anfotericina B foi ativa contra *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* na concentração de 64ug/mL, apresentando halos de inibição de 2,4 a 3,7 cm. Entretanto, quando se utilizou o fluconazol, esse apresentou atividade para *C. albicans*, *C. tropicalis*, não inibindo o crescimento de *C. glabrata*. Várias concentrações dos extratos metanólicos da rosa mosqueta

foram utilizadas; no entanto, até a concentração máxima (2000ug/mL), não se observou a inibição no crescimento das espécies testadas. Isso pode ter ocorrido provavelmente por estar utilizando extratos brutos, sem purificá-los, ou pelas substâncias ativas estarem presentes em outros extratos.

5 CONCLUSÕES

O rendimento dos extratos metanólicos mostrou-se superior aos obtidos em acetato de etila e hexano devido à presença, em maior quantidade, de substâncias polares na *Rosa* aff. *rubiginosa* L.

Nos extratos da casca em acetato de etila e hexânicos a presença de carotenóides foi confirmada através da triagem fitoquímica.

Os espectros no infravermelho das substâncias “puras” 1 e 2, sugerem que esses possam ser ácidos orgânicos.

Os espectros no infravermelho dos óleos essenciais obtidos da casca e semente, sugerem a presença de compostos γ dicarbonilados.

Os extratos metanólicos da casca e semente não mostraram atividade antifúngica para leveduras das espécies *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCORSI, W. R.. **Programa de plantas medicinais e fitoterapia: Medicina Popular e Fitoterapia**. Piracicaba: ESALQ-USP, 1994. 81p.

ANTONIOSI FILHO, N. R.; LANÇAS, F. M. Análise da composição do óleo de rosa mosqueta (*Rosa aff. rubiginosa L.*) por HRGC e HT-CGC. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE CROMATOGRÁFIA - COLAGRO, CONCEPCIÓN, 5, 1994 Concepción **Resumo.....**, Concepción: Universidad de Concepción – Facultad de Farmácia, Chile. 1994. p.18.

ARTHEMYSA Ervas e Companhia. **Vitamina C de Rosas: Rose hips**. Disponível: <<http://www.arthemysa.com.br/servicos.asp>>. Acesso em: 19 de jul. 2001.

BARRACA, A. S.; MINAMI, K. **Manejo e produção de plantas medicinais e aromáticas**. Relatório de Estágio Supervisionado Produção Vegetal II. Piracicaba, ESALQ. 1999. 51p.

BIENVENIDOS a la primera web mundial exclusiva sobre rosa mosqueta. Disponível: <<http://www.Rosa-mosqueta.com/home.html>>. Acesso em: 19 jul. 2001.

CASTELLS, J.; CAMPS, F. **Tablas para la elucidación estructural de compuestos organicos por metodos espectroscopicos**. Madrid: Alhambra Lougman, S.A 1980. 253p.

CHAKTOURA, M. R. **La revLolución contra las arrugas: La Rosa Mosqueta..** Disponível: <<http://www.naturalchannel.com/Noticia.asp?idNoticia=463>>. Acesso em: 25 jul. 2001.

DEL VALLE, J. M.; BELLO, S.; THIEL, J.; ALLEN, A. CHORDIA, L. Comparation of conventional and supercritical CO₂ – extracted rosehip oil. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. São Paulo, v.17, n.3, set.2000. Disponível:<www.scielo.br>. Acesso em 25 de jul. de 2001.

FURLAN, M. R. **Cultivo de Plantas Medicinais**. Cuiabá: SEBRAE - 1998.137p. Coleção Agroindústria, 13.

HOFFMANN, A. FARGA, C.; LASTRA, J.; VEGHAZI, E. **Plantas medicinales de uso común em Chile**. Santiago: Ediciones Fundación Claudio Gay. 1992. 267p.

INDICACIONES y uso clínico. Disponível: <<http://www.Rosamosqueta.com/page5.html>>. Acesso em: 14 jul. 2001.

ILLÉS, V. SZALAI, O.; THEN, M.; DAOOD, H.; PERNECZKI, S. Extraction of hip rose fruit by supercritical CO₂ and propane, **Journal of Supercritical Fluids**, New York, US : Elsevier Science. n.10, p.209-218, 1997.

JAWETZ, E. MELNICK, J.L.; ADELBERG, E. A. **Microbiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1984, 568p.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995. 839p.

MARCHINI, F. B.; MARTINS, D. M. F. M.; DE TEVES, D. C.; JESUS SIMÕES, M. Efeito do óleo de rosa mosqueta na cicatrização de feridas abertas. **Revista Paulista de Medicina**. São Paulo, v.106, n.6, p.356 nov/dez, 1988 (resumo).

MARTINS, E. R. CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E.. **Plantas Medicinais**. Viçosa: UFV, 1995. 220p.

McNALLY, M. E. P. Method development in supercritical fluid extraction. **Journal AOAC International**, Washington, v. 79, p. 380-387, 1996.

MIRANDA, P. 1998. **Segredos e Virtudes das Plantas Medicinais**. Disponível: <<http://www.winbr.com/abc/medicina.htm>> Acesso em: 19 jul. 2001.

MORENO GIMENEZ, J. C. BUENO, J., NAVAS, J., CAMACHO, F. Tratamiento de las úlceras cutáneas com aceite de rosa mosqueta. **Medicina Cutânea Ibero Latino Americana**, Madrid. v.18, p. 63-66, 1990.

MUÑOZ, A. *et al.* **El uso medicinal y alimenticio de las plantas nativas y naturalizadas en Chile**. Santiago, Chile: Museo Nacional de História Natural, 1981. Publicación ocasional, 33.

NEUMANN, A. **Rosa Selvagem, Rosa canina L., Rosaceae**, Sob ponto de vista antropológico.

Disponível: <<http://planeta.terra.com.br/saude/plantasmedicinais/pm/rosacan1.htm>>. Acesso em: 19 de julho de 2001.

OMAROVA, M. A. ARTAMONOVA, N. A.; PROSKURIN, B. M. Chemical Composition of a CO₂ extract of rose fruit, **Chemistry of Natural Compounds**, New York, US: Consultants Bureau, v. 33, p.689, 1997.

OTA, L. **Quais são os efeitos da vitamina C na pele?** .Disponível: <http://www.uol.com.br/saude/duv_vitamina_c.htm>. Acesso em: 16 jul. 2001.

PAREJA, B.; KEHL, H. Contribucion a la identificacion de los principios activos en el aceite de Rosa aff. rubiginosa, **Anales de la Real Academia de Farmacia**, Madrid, ES v.56, p.283, 1990.

PAVIA, D. L. LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G.S. **Introduction to spectroscopy: a guide for students of organic chemistry**. 2 ed. New York: Saunders College Publishing, 1996. 511p.

PELLERIN, P. Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavor and perfume industry. **Perfum. Flavor**. Wheaton, v.16, p. 37-39, 1991.

PRODUCTOS derivados de la cascarilla. Disponível: <<http://www.Rosa-mosqueta.com/page2.html>>. Acesso em: 14 jul. 2001.

REVERCHON, E., OSSÉO, S. Comparison of processes for the supercritical carbon dioxide extraction of oil from soybean seeds. **Journal American Oil Chemistry Society**, Champaign, v. 71, p. 1007-12, 1994.