



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DE SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ROXANA COSTA NÓBREGA ACIOLI

**PREPARAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
FORMULAÇÕES PARA USO TÓPICO COM EXTRATO ETANÓLICO
DAS CASCAS DE BANANA (*Musa paradisiaca*)**

CAMPINA GRANDE – PB

AGOSTO DE 2017

ROXANA COSTA NÓBREGA ACIOLI

**PREPARAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
FORMULAÇÕES PARA USO TÓPICO COM EXTRATO ETANÓLICO
DAS CASCAS DE BANANA (*Musa paradisiaca*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Pablo Queiroz Lopes

CAMPINA GRANDE – PB

AGOSTO DE 2017

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

A181p Acioli, Roxana Costa Nóbrega.
Preparação e avaliação da atividade antimicrobiana de formulações para uso tópico com extrato etanólico das cascas de banana (musa paradisíaca) [manuscrito] / Roxana Costa Nóbrega Acioli. - 2017.
104 p. : il. color.

Digitado.
Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.
"Orientação: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira, Departamento de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas".

1. Doenças infecciosas. 2. Casca de banana. 3. Atividade antimicrobiana. 4. Sustentabilidade ambiental. I. Título.
21. ed. CDD 615.321

ROXANA COSTA NÓBREGA ACIOLI

**PREPARAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
FORMULAÇÕES PARA USO TÓPICO COM EXTRATO ETANÓLICO
DAS CASCAS DE BANANA (*Musa paradisiaca*)**

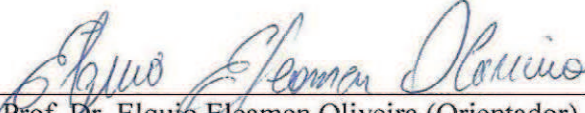
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

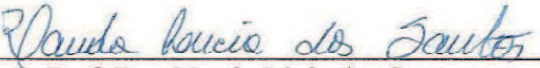
Orientador: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira

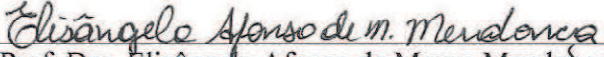
Co-orientador: Prof. Dr. Pablo Queiroz Lopes

Aprovada em: 24/08/2014

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof. Dra. Vanda Lúcia dos Santos
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof. Dra. Elisângela Afonso de Moura Mendonça
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Dedico este trabalho a todos aqueles que contribuíram para sua realização.

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo.

Aos meus pais Lêdo e Lúcia pelo amor incondicional e dedicação.

Ao meu querido marido Michel pelo carinho, compreensão e força em todos os momentos.

Aos meus irmãos Rodrigo e Rodolfo pelo exemplo.

À minha estudiosa sobrinha Letícia pelo incentivo.

À meu tio e padrinho Petrônio Justiniano Nóbrega (*in memorian*) por toda contribuição aos meus estudos.

Agradeço a Universidade Estadual da Paraíba e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas por esta oportunidade e contribuição para minha qualificação.

Ao meu Orientador Dr. Elquio Eleamen pela paciência, compreensão e orientação.

A meu Co-orientador Dr. Pablo Queiroz Lopes pelo apoio e colaboração.

Aos Professores Dr. Ricardo Olímpio Moura, Dr. Eduardo Guedes, Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima, Dr. Luiz Alberto Lira Soares e Dra. Magda Rhayanny Assunção Ferreira pelas colaborações.

Aos meus colegas Rawnny Galdino, Helimarcos, Malu Reis e Ana Emannuely pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

A Doutoranda Silvana Cartaxo (UFRN) e a mestranda Jéssika (UFPB) pelo carinho, apoio e atenção.

Aos alunos de iniciação científica Wliana Alves (UFPE), Lívia e Lucas (UEPB) pela colaboração nas análises.

As técnicas de laboratório Airlla (LABDEM), Juliana (LSVM) e Macely (ACAM) pela ajuda e orientação.

Aos alunos de graduação Rommel, Luan, Kammila, Lidiane e Karolayne (UEPB) pela participação.

À todos, o meu muito obrigado e que Deus abençoe suas vidas.

Essa conquista só foi possível pela colaboração de todos vocês.

“ Quanto mais apagamos e redesenhamos, mais perfeitos vão se tornando nossos traços... e as marcas que ficam, nada mais são do que um sinal de aprendizado”.

Red Rose

RESUMO

O uso de plantas medicinais no tratamento de doenças é uma prática bastante utilizada no mundo. Diversos extratos de plantas medicinais têm efeitos antimicrobianos, principalmente quando associados aos antibióticos de uso clínico, representando alternativa terapêutica para doenças infecciosas. *Musa paradisíaca*, conhecida popularmente como Banana, é uma espécie pertencente à família Musaceae, sua utilização é diversificada, tendo sido relatada como cicatrizante, antidiarreica, antipirética, analgésica, hipoglicemiante, antialérgica, no tratamento de úlceras gástricas e venosas, aftas, doenças oculares e leishmaniose. Devido esta ampla utilização na medicina popular e na busca de produtos farmacêuticos à base de produtos naturais, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos das cascas de banana (*Musa paradisíaca*) provenientes da colheita e descarte, e desenvolver formulações contendo estes extratos na concentração de 5% e 10%. A partir do processo extrativo por maceração e turbólise preparou-se quatro extratos etanólicos, os quais foram submetidos a um screening fitoquímico através da cromatografia em camada delgada (CCD). Todos os extratos analisados evidenciaram a presença de flavonoides (rutina) e terpenos (betasitosterol); sendo a rutina evidenciada e quantificada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de fotodiodos. Conforme preconizado pelo Formulário Nacional da Farmacopéia Brasileira, preparou-se as bases de creme não iônico e gel de natrosol e incorporou-se os extratos na concentração de 5% e 10%. Os produtos foram avaliados frente a cepas de bactérias gram-positivas e gram-negativas, leveduras e fungos filamentosos. Para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi utilizada a técnica de microdiluição. Os extratos das cascas de banana (*M. paradisíaca*) do descarte obtidos por maceração (E1) apresentaram boa atividade antimicrobiana frente as cepas de *S.aureus*, *S. epidermidis* e *B.subtillis* com CIM de 512 µg/mL como também frente as cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. Krusei* com CIM de 256 µg/mL, enquanto que os extratos das cascas de banana (*M. paradisíaca*) da colheita obtidos por turbólise (E4) apresentaram CIM de 512 µg/mL frente as cepas de *S.aureus*, *S. epidermidis*, *B.subtillis*, *E.coli*, *T. mentagrophytes* e *M.gypseum*. Observamos que apenas as formulações de gel natrosol com os extratos obtidos da turbólise (F7, F13 e F15) apresentaram resultados frente as cepas fúngicas estudadas, sendo a F13 capaz de inibir as cepas de *C. tropicalis* e *C. krusei*, e a F15 apenas as cepas de *C.albicans*, ambas com CIM de 512 µg/mL. Com isso, o presente trabalho conseguiu avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos da casca de banana, como também das formulações tópicas, demonstrando que os extratos mostraram uma boa atividade antimicrobiana, porém esta atividade foi inibida ou reduzida quando incorporado na formulação. O estudo de estabilidade realizado no período de 60 dias demonstrou boa estabilidade físico-química da formulação testada, frente as condições de temperatura e tempo pré-estabelecidas. Esses dados direcionam à novas pesquisas com as cascas de banana (*Musa Paradisíaca*), buscando o desenvolvimento de formulações com produtos de descarte, e desta forma contribuindo com a sustentabilidade do meio ambiente.

Palavras-chave: doenças infecciosas, cascas de banana, atividade antimicrobiana, sustentabilidade.

ABSTRACT

The use of medicinal plants in the treatment of diseases is a widely used practice in the world. Several extracts of medicinal plants have antimicrobial effects, especially when associated with antibiotics of clinical use, representing therapeutic alternative for infectious diseases. *Musa paradisiaca*, popularly known as Banana, is a species belonging to the family Musaceae, its use is diversified, and has been reported as healing, antidiarrheal, antipyretic, analgesic, hypoglycemic, antiallergic, in the treatment of gastric and venous ulcers, thrush, ocular diseases and leishmaniasis. Due to this widespread use in folk medicine and in the search for natural products based pharmaceutical products, this work aimed to evaluate the antimicrobial activity of ethanolic extracts from banana peels (*Musa paradisiaca*) from harvest and disposal, and to develop formulations containing these extracts at the concentration of 5% and 10%. From the extractive process by maceration and turbolysis four ethanolic extracts were prepared, which were subjected to phytochemical screening through thin layer chromatography (CCD). All extracts analyzed showed the presence of flavonoids (rutin) and terpenes (betasitosterol); the routine being evidenced and quantified by high performance liquid chromatography coupled to the photodiode array detector. As recommended by the National Formulation of the Brazilian Pharmacopoeia, the bases of nonionic cream and natrosol gel were prepared and the extracts were incorporated in the concentration of 5% and 10%. The products were evaluated against strains of gram-positive and gram-negative bacteria, yeasts and filamentous fungi. The microdilution technique was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). The extracts of the banana peel (*M. paradisiaca*) obtained by maceration (E1) showed good antimicrobial activity against *S. aureus*, *S. epidermidis* and *B.subtillis* strains with MIC of 512 $\mu\text{g} / \text{mL}$ as well as strains of *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. Krusei* with MIC of 256 $\mu\text{g} / \text{mL}$, while extracts of the banana peel (*M. paradisiaca*) of the harvest obtained by turbolysis (E4) presented MICs of 512 $\mu\text{g} / \text{mL}$ strains of *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B.subtillis*, *E.coli*, *T. mentagrophytes* and *M.gypseum*. We observed that only the natrosol gel formulations with the extracts obtained from the turbolysis (F7, F13 and F15) presented results against the fungal strains studied, with F13 being able to inhibit *C. tropicalis* and *C. krusei* strains, and F15 only *C. albicans* strains, both with 512 $\mu\text{g} / \text{mL}$ MIC. Thus, the present work was able to evaluate the antimicrobial activity of the banana peel ethanolic extracts, as well as the topical formulations, demonstrating that the extracts showed good antimicrobial activity, but this activity was inhibited or reduced when incorporated into the formulation. The stability study performed over the 60-day period showed good physicochemical stability of the tested formulation, in view of the pre-established temperature and time conditions. These data point to new researches with banana peels (*Musa paradisiaca*), seeking the development of formulations with discard products, and thus contributing to the sustainability of the environment.

Key words: infectious diseases, banana peels, antimicrobial activity, sustainability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Teor g (%) dos extratos de cascas de banana (<i>Musa paradisiaca</i>) obtidos por maceração e turbólise, E1=maceração/descarte; E2=turbólise/descarte; E3=maceração/colheita; E4=turbólise/colheita.	40
Figura 2. Cromatoplaça dos extratos etanólicos submetidos à CCD, após revelação com NEU-PEG, utilizando Padrão 1- Rutina e Padrão 2 /3 - Ácido caféico/Ácido clorogênico, sendo E1-maceração/descarte; E2-turbólise/descarte; E3-maceração/colheita; E4-turbólise/colheita.	41
Figura 3. Cromatograma CLAE ($\lambda= 350\text{nm}$) do extrato de cascas de <i>Musa paradisiaca</i> da colheita obtido por turbólise (E4).	42
Figura 4. Cromatoplaça CLAE ($\lambda= 350\text{nm}$) do padrão rutina.	43
Figura 5. Cromatograma CLAE ($\lambda= 350\text{nm}$) à esquerda do extrato etanólico da casca de banana (<i>M.paradisiaca</i>) da colheita obtido por turbólise (E4) intencionalmente contaminadas com o padrão rutina e à direita o espectro de varredura do E4 e do padrão rutina sobrepostas entre 190 e 400nm no tempo de 23 minutos.	43
Figura 6. Cromatoplaça dos extratos etanólicos submetidos à CCD, após revelação com Lieberman Burchard, utilizando Padrão β -sitosterol, sendo E1=maceração/descarte; E2=turbólise/descarte; E3=maceração/colheita; E4=turbólise/colheita.	44
Figura 7. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico.	53
Figura 8. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico após 40°C.	53
Figura 9. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico após 50°C.	54
Figura 10. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico após 60°C.	54
Figura 11. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico após 70°C.	55
Figura 12. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico após 80°C.	55
Figura 13. Imagens das amostras no ciclo congela e degela no períodos de 12 dias (6 ciclos).	56
Figura 14. Amostras submetidas à avaliação de suas características organolépticas no tempo	57
Figura 15. Amostras submetidas à avaliação de suas características organolépticas no tempo de 15 dias.	57
Figura 16. Amostras submetidas à avaliação de suas características organolépticas no tempo de 30 dias.	58
Figura 17. Amostras submetidas à avaliação de suas características organolépticas no tempo de 60 dias.	58
Figura 18. Perfil da média e desvio padrão do pH das amostras no período de 0 dias.	59
Figura 19. Perfil da média aritmética do pH das amostras no período de 15 dias.	59
Figura 20. Perfil da média aritmética do pH das amostras no período de 30 dias.	60
Figura 21. Perfil da média aritmética do pH das amostras no período de 60 dias.	60
Figura 22. Perfil da média aritmética da viscosidade das amostras no período de 0 dias.	61
Figura 23. Perfil da média aritmética da viscosidade das amostras no período de 15 dias.	62
Figura 24. Perfil da média aritmética da viscosidade das amostras no período de 30 dias.	62
Figura 25. Perfil da média aritmética da viscosidade das amostras no período de 60 dias.	62
Figura 26. Espalhabilidade das amostras no T0 dias na temperatura de ambiente ($T= 24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$).	63
Figura 27. Espalhabilidade das amostras no T15 dias na temperatura de ambiente ($T= 24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$).	64
Figura 28. Espalhabilidade das amostras no T30 dias na temperatura ambiente ($T= 24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$).	64
Figura 29. Espalhabilidade das amostras no T60 dias na temperatura de ambiente ($T= 24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$).	64
Figura 30. Espalhabilidade das amostras no T0 dias na temperatura de geladeira ($T= 5 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$).	65

Figura 31. Espalhabilidade das amostras no T15 dias na temperatura de geladeira ($T= 5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).	65
Figura 32. Espalhabilidade das amostras no T30 dias na temperatura de geladeira ($T= 5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).	65
Figura 33. Espalhabilidade das amostras no T60 dias na temperatura de geladeira ($T= 5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).	66
Figura 34. Espalhabilidade das amostras no T0 dias na temperatura de estufa ($T= 45^\circ\text{C}$).	66
Figura 35. Espalhabilidade das amostras no T15 dias na temperatura de estufa ($T= 45^\circ\text{C}$).	66
Figura 36. Espalhabilidade das amostras no T30 dias na temperatura de estufa ($T= 45 \text{ }^\circ\text{C}$).	67
Figura 37. Espalhabilidade das amostras no T60 dias na temperatura de estufa ($T= 45 \text{ }^\circ\text{C}$).	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Infecções de pele mais comuns.....	22
Tabela 2. Levantamento bibliográfico de atividades biológicas encontradas no uso tradicional e estudo de algumas partes da banana (<i>Musa spp</i>).....	24
Tabela 3. Levantamento bibliográfico dos fitoquímicos encontrados nas cascas de banana.....	25
Tabela 4. Amostras submetidas à análise do perfil cromatográfico por CCD obtidas por maceração e turbólise.....	30
Tabela 5. Classe de Metabólitos, padrões utilizados, sistemas e reveladores utilizados.	31
Tabela 6. Classes de metabólitos encontradas nos extratos de cascas de banana (<i>Musa paradisíaca</i>) mediante padrões, sistemas e reveladores.	41
Tabela 7. Média do teor em g (%) de Rutina nas amostras utilizando a curva de calibração.....	44
Tabela 8. Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos quatros extratos etanólicos das cascas de banana (<i>Musa paradisíaca</i>) sobre bactérias gram-positivas e negativas –Técnica de microdiluição. ...	46
Tabela 9. Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos quatro extratos etanólicos das cascas de banana (<i>Musa paradisíaca</i>) sobre fungos leveduriformes e filamentosos.	47
Tabela 10. Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) das formulações com o extrato etanólico das cascas de banana (<i>Musa paradisíaca</i>) sobre fungos leveduriformes e filamentosos.	50
Tabela 11. Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) das formulações com o extrato etanólico das cascas de banana (<i>Musa paradisíaca</i>) sobre bactérias gram-positivas e negativas	51
Tabela 12. Resultado das amostras submetidas ao teste de centrifugação.	53
Tabela 13. Resultado das amostras submetidas ao estresse térmico.	53
Tabela 14. Resultados das amostras submetidas ao ciclo de congela-degela.	55
Tabela 15. Resultados das características organolépticas das amostras em 0, 15, 30 e 60 dias.	57
Tabela 16. Média dos valores do pH das amostras durante o período de 60 dias.....	59
Tabela 17. Valores da viscosidade ($\times 10^3$ mPa.s) das amostras durante o período de 60 dias.	61

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Parâmetros para avaliação das características organolépticas.....	38
Quadro 2. Extratos e Formulações submetidas para avaliação da atividade antimicrobiana pela técnica de Microdiluição.	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACAM	Herbário Manoel Arruda Câmara
AN	Ágar nutriente
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASD	Ágar Sabouraud Dextrose
ATCC	American Type Culture Collection
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CEPA	Centro de Ensino e Pesquisa Aplicada
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute.
CBHI	Caldo Brain Heart Infusion
DAD	Detector de arranjo de fotodiodos
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFSCC	International Federation of Societies of Cosmetic Chemists
INLAB	Investigação Laboratorial
LM	Laboratório de Microbiologia
NEU-PEG	Reagente Produtos Naturais – Polietilenoglicol
OMS	Organização Mundial de Saúde
PVDF	Fluoreto de polivinilideno
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UV	Ultra-violeta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	18
2.1 GERAL	18
2.2 ESPECÍFICOS	18
3. REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1 PLANTAS MEDICINAIS	19
3.2 DOENÇAS INFECCIOSAS	20
3.3 MUSA spp.	23
3.4 FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS DE USO TÓPICO	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 FLUXOGRAMA DO PROCESSO	28
4.2 MATERIAL VEGETAL	28
4.2.1 Coleta	28
4.2.2 Identificação	28
4.3 MÉTODOS EXTRATIVOS DE CASCAS DE BANANA (<i>Musa paradisiaca</i>)	29
4.3.1 Preparação das amostras	29
4.3.2 Métodos extrativos utilizados	29
4.4 MÉTODO ANALÍTICO DOS EXTRATOS DE <i>Musa Paradisiaca</i>	29
4.4.1 Análise por Cromatografia em Camada Delgada	30
4.4.2 Análise por Cromatografia Líquida de Alta eficiência	31
4.5 PREPARAÇÃO DAS FORMULAÇÕES	32
4.5.1 Creme não iônico	32
4.5.2 Gel de Natrosol	33
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “ <i>IN VITRO</i> ” DOS EXTRATOS DE <i>Musa paradisiaca</i> E DAS FORMULAÇÕES	33
4.6.1 Microorganismos	34
4.6.2 Antimicrobianos padrões	35
4.6.3 Meios de Cultura	35
4.6.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	35
4.7 ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR DA FORMULAÇÃO	36
4.7.1 Testes de Estabilidade preliminar	36
4.7.1.1 Teste de Estresse térmico	36
4.7.1.2 Teste de Centrífuga	37
4.7.1.3 Ciclos de Congelamento e Descongelamento	37

4.7.2	Testes de estabilidade preliminar acelerada	37
4.7.2.1	Avaliação das características organolépticas.....	38
4.7.2.2	Determinação do pH	38
4.7.2.3	Determinação da viscosidade	38
4.7.2.4	Espalhabilidade.....	39
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	MÉTODOS EXTRATIVOS DE <i>Musa Paradisiaca</i>	40
5.2	MÉTODOS ANALÍTICOS DOS EXTRATOS DE <i>Musa Paradisiaca</i>	40
5.3	PREPARAÇÃO DAS FORMULAÇÕES	45
5.4	ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “ <i>IN VITRO</i> ” DOS EXTRATOS	45
5.5	ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “ <i>IN VITRO</i> ” DAS FORMULAÇÕES	49
5.6	ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES	52
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
	REFERÊNCIAS.....	69
	APÊNDICES	82
	APÊNDICE A - Cromatograma CLAE ($\lambda= 350\text{nm}$) do extrato de cascas de <i>Musa paradisiaca</i> do descarte obtido por maceração (E1).....	82
	APÊNDICE B - Cromatograma CLAE ($\lambda= 350\text{nm}$) do extrato de cascas de <i>Musa paradisiaca</i> da colheita obtido por maceração (E2).	83
	APÊNDICE C - Cromatograma CLAE ($\lambda= 350\text{nm}$) do extrato de cascas de <i>Musa paradisiaca</i> do descarte obtido por turbólise (E3).....	84
	APÊNDICE D - Artigo submetido à Revista Brasileira de Plantas medicinais.: “Avaliação da atividade antimicrobiana de formulações farmacêuticas contendo extrato etanólico da casca da banana (<i>Musa paradisiaca</i>)”	85

1. INTRODUÇÃO

Desde as civilizações mais antigas, o uso de plantas medicinais para o tratamento, prevenção e cura de enfermidades acompanha o homem (FIRMO *et al.*, 2011). Segundo a Organização Mundial de Saúde, “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos sintéticos, caracteriza planta medicinal” (OMS, 1998).

A partir do conhecimento do uso popular das plantas medicinais com ações terapêuticas sua utilização tem contribuído não só para a terapia complementar, como também para o direcionamento de estudos fitoquímicos e farmacológicos (OLIVEIRA; MENINI, 2012).

Embora a medicina moderna esteja bem desenvolvida na maior parte do mundo, a OMS reconhece que grande parte da população dos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional para sua atenção primária, tendo em vista que 80 % desta população a utiliza nos seus cuidados básicos de saúde e 85 % utiliza plantas ou preparações destas (BRASIL, 2006a).

As espécies vegetais têm grande importância para o desenvolvimento de novos fármacos, devido à grande diversidade estrutural dos metabólitos secundários. De todas as novas entidades químicas relatadas à comunidade científica entre 1981 e 2006, 70% das moléculas eram provenientes de produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2007).

As plantas medicinais são bastante utilizadas pela população no tratamento de infecções, e com isso muitas pesquisas têm surgido na busca de novas moléculas com atividade antibacteriana e/ou na otimização do uso dessas plantas (SILVA *et al.*, 2012).

Os extratos vegetais podem ser incorporados em diferentes preparações e, dependendo da classe química de seus ativos, podem ser responsáveis pela atividade do produto (CRESPO, 2012), com isso resultados promissores já foram obtidos no uso de extratos vegetais para a modulação da resistência bacteriana a antimicrobianos (COUTINHO *et al.*, 2012; MATIAS *et al.*, 2012).

As doenças infecciosas são uma das principais causas de morbidade e mortalidade, representando aproximadamente 50% de todas as mortes em países tropicais e até 20% das mortes no continente americano (MAHADY *et al.*, 2008), logo, os microrganismos multirresistentes estão se reafirmando como ameaças mundiais (HAYASHI; BIZERRA; DA SILVA JÚNIOR, 2013).

As infecções bacterianas primárias da pele acometem cerca de 7% da população, mas sua ocorrência pode variar de acordo com diversos fatores. Sabe-se que a predisposição às infecções cutâneas no verão é maior devido o calor e umidade, necessários à proliferação dos micro-organismos (PEREIRA *et al.*, 2011).

Estima-se que as infecções fúngicas superficiais afetem 20 a 25% da população mundial e a sua incidência continua a aumentar (AMEEN, 2010). A maioria é causada por dermatófitos, que são fungos que necessitam de queratina para crescer (SOBERA; ELEWSKI, 2008).

Para o desenvolvimento de novos antimicrobianos, os metabólitos secundários advindos das plantas medicinais são considerados capazes de inibir o crescimento de patógenos (ASKARI *et al.*, 2012), apresentando atividade farmacológica de interesse ao ser humano (DASH *et al.*, 2011; PEREIRA; CARDOSO, 2012).

No tratamento de infecções dermatológicas comuns, de leve a moderada intensidade, os antimicrobianos tópicos têm sido usados por serem administrados localmente e apresentarem menor potencial de risco. A terapia antimicrobiana tópica nas desordens da pele possui vantagens sobre a sistêmica devido a facilidade de administração, redução potencial de reações adversas sistêmicas, maior probabilidade de adesão a tratamento, mais rápida liberação de adequadas concentrações no sítio de infecção e menor custo (dependendo do agente usado) (WANNMACHER, 2006).

Devido a valorização de produtos naturais no âmbito da pesquisa científica, novas opções para o tratamento de doenças infecciosas estão surgindo com o efeito sinérgico da associação de antibiótico com extratos de plantas contra microorganismos resistentes, em especial, quando o antibiótico não é mais eficaz por si só durante o tratamento terapêutico (AIYEGORO; AFOLAYAN; OKOH, 2009).

Na medicina tradicional popular, a bananeira (*Musa spp.*) tem um importante valor. Suas frutas, cascas, folhas, raízes e pseudocaule, são utilizados para aterosclerose (MALLICK *et al.*, 2007), cicatrização (AGARWAL *et al.*, 2009), queimaduras (BALBACH; BOARIM, 1992), diarreia (RABBANI *et al.*, 2001), febre, dor de cabeça e diabetes (ABE; OHTANI, 2013), alergias (TEWTRAKUL *et al.*, 2008), úlceras, aftas, doenças oculares (SILVA, 2005), leishmaniose (SILVA *et al.* 2014; WEIGEL *et al.*, 1994), inflamação, reumatismo, gripe, hipertensão, tosse e bronquite (REID, 1961).

Na literatura, as pesquisas realizadas mostram que foram identificadas na casca da *Musa spp.* substâncias de interesse para as indústrias farmacêuticas e de alimentos, como os compostos de pró-vitamina A (DAVEY *et al.*, 2006), flavonoides (SOMEYA *et al.*, 2002),

(KANAZAWA; SAKAKIBARA; 2000), ácidos graxos polinsaturados (EMAGA *et al.*, 2007), fitoesteróis e triterpenos (KNAPP; NICHOLAS, 1969) e taninos (LINO *et al.*, 2011).

Em relação à atividade antimicrobiana da *Musa spp.*, Zafar e colaboradores (2011) a retrataram na espécie *M. sapientum*; Iman e Akter (2011) mostraram que o extrato de cascas de *M. paradisiaca* var *M. sapientum* mostrou uma melhor atividade contra *Staphylococcus* (Gram-positivo) do que as espécies de *Pseudomonas* (Gram-negativo), Ighodaro (2012) relatou esta atividade nos extratos etanólicos de cascas de *M. paradisiaca* frente à *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus mirabilis*; enquanto que Franco (2014) e Kamel *et al.* (2017) descreveram que membranas de quitosana associadas ao extrato de cascas de *M. paradisiaca* podem inibir o crescimento de *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*.

Com o impacto da crise ambiental, pessoas estão optando por produtos que minimizem os possíveis danos ao meio ambiente e à saúde, através da sustentabilidade (LYRIO *et al.*, 2011; BALANDRIN *et al.*, 1985; ISAAC *et al.*, 2008), onde tem surgido pesquisas voltadas para o reaproveitamento de resíduos agroindustriais.

Logo, vários trabalhos já foram realizados com as cascas de banana, porém poucos deles deram ênfase ao desenvolvimento de formulações farmacêuticas contendo seus extratos, por isto, o presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de formas farmacêuticas de uso tópico (cremes e géis) contendo extratos das cascas de banana (*Musa paradisiaca*) da colheita e do descarte, na concentração de 5% e 10%, na perspectiva de futuros estudos para utilização dessas formulações *in vivo*, e assim contribuir de forma sustentável com o meio ambiente através do reaproveitamento destes resíduos agroindustriais.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Preparar formulação tópica (creme e gel) contendo extrato da casca de banana (*Musa paradisiaca*) e avaliar sua atividade antimicrobiana.

2.2 ESPECÍFICOS

- ❖ Obter extratos da casca de banana (*Musa paradisiaca*) por maceração e turbólise.
- ❖ Identificar os constituintes químicos presentes nos extratos por cromatografia em camada delgada (CCD).
- ❖ Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos das cascas de banana (*Musa paradisiaca*).
- ❖ Preparar cremes de uso tópico com os extratos das cascas de banana (*Musa paradisiaca*).
- ❖ Preparar géis de uso tópico com os extratos das cascas de banana (*Musa paradisiaca*).
- ❖ Avaliar a atividade antimicrobiana das formulações tópicas preparadas.
- ❖ Realizar estudo de estabilidade preliminar acelerada da formulação que apresentar melhor atividade antimicrobiana.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

O reino vegetal é o maior representante da diversidade química conhecida e registrada na literatura científica, porém estima-se que apenas 15% das 300 mil espécies de plantas no mundo foram submetidas a estudos científicos para avaliar suas potencialidades na preparação de novos produtos farmacêuticos (BRANDÃO *et al.*, 2010).

As plantas são fontes ricas de uma grande variedade de metabolitos ativos tais como, taninos, terpenoides, alcaloides e flavonóides (ARIF *et al.*, 2011; SALAS *et al.*, 2011; SERPA *et al.*, 2012).

Flavonóides são um grupo de compostos polifenólicos e metabólitos secundários produzidos por plantas, que podem ser encontrados em frutos e vegetais, apresentam várias atividades biológicas importantes como agentes antioxidantes, antitumorais, antimicrobianos (RAMOS-E-SILVA, 2009). Suas principais classes são as antocianinas, flavanas, flavonas, os flavonóis e isoflavonóides (LAZARY, 2010).

Os flavonoides, segundo testes bioquímicos, inibem a enzima hialuronidase prevenindo a disseminação bacteriana (VIEIRA *et al.*, 2008), devido à sua ampla capacidade em inibir a germinação de esporos patogênicos em plantas. Estes também têm sido propostos para combater infecções causadas por fungos no homem (SALAS *et al.*, 2011).

A rutina (quercetin-3-O-rutinosídeo), flavonóide pertencente à subclasse dos flavonóis, é encontrada na natureza em frutas e vegetais, apresenta grande importância terapêutica por melhorar a resistência e permeabilidade dos vasos capilares, e devido suas atividades antioxidante, anti-inflamatória e anticarcinogênica (BECHO *et al.*, 2009).

Os terpenos, conhecidos também como terpenoides, são compostos que constituem uma classe de metabólitos secundários obtidos das plantas que apresentam uma grande variedade estrutural e funcional (RAVEN *et al.*, 2001; PHILLIPS *et al.*, 2008). São classificados em hemiterpenoides, monoterpenoides, sesquiterpenoides, diterpenoides, triterpenoides e carotenoides (PERES, 2008).

Os terpenoides, assim como os flavonoides, são dotados de atividade antimicrobiana por atuarem na defesa química das plantas contra fungos e bactérias (SAKAR *et al.*, 1988). Os triterpenóides têm várias potencialidades medicinais, com grandes propriedades biológicas tais como: antiinflamatórios, antibacterianos, fungicidas, antivirais, analgésicos, cardiovasculares e antitumorais (PATROČKA, 2003).

A atividade antimicrobiana de extratos vegetais, segundo Arrais *et al.* (2014), pode está relacionada à presença de flavonoides e terpenos, por ter sido evidenciado a presença destes compostos nos extratos estudados de *C. pulegioides* Baill com atividade antimicrobiana para uma ampla variedade de microrganismos.

Quase todas as substâncias ativas antimicrobianas identificadas a partir de plantas são compostos aromáticos ou orgânicos saturados, obtidos mais frequentemente por extração inicial com etanol ou metanol. Entre as substâncias ativas, destaca-se as antocianinas, terpenóides, saponinas, taninos, flavonas e polifenóis (COWAN, 1999).

As ações sinérgicas de metabólitos secundários presentes na planta pode ser uma das justificativas para a inibição do crescimento bacteriano pelo extrato vegetal (ALENCAR *et al.*, 2015). De acordo com Cowan (1999), os compostos fenólicos como taninos atuam na inativação de enzimas e proteínas transportadoras da parede celular podendo ser tóxicos para microrganismos, enquanto que os flavonoides podem se complexar com proteínas extracelulares e interferir na expressão de genes (KIM *et al.*, 2004) e os flavonoides lipofílicos podem romper a membrana plasmática microbiana (FABRI; COSTA, 2012).

3.2 DOENÇAS INFECCIOSAS

Em qualquer área da medicina, as doenças infecciosas são uma das causas mais frequentes de morbidade e mortalidade, e os antimicrobianos têm sido propostos no tratamento quando nossas barreiras de defesa naturais (pele e mucosas), reposta imune inata e a produção de anticorpos sofre enfraquecimento (CRUVINEL *et al.* 2010).

As infecções de pele são causadas principalmente por micro-organismos residentes ou transitórios, entre eles estão: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, bactérias entéricas Gram-negativa e *Cândida albicans* (RIVITTI, 2014), acometendo tanto as pessoas saudias quanto as imunocomprometidas (ANTUNES *et al.*, 2006; CATÃO, 2007; CATÃO *et al.*, 2010).

O *Staphylococcus aureus*, bactéria pertencente ao grupo dos cocos gram-positivos, facilmente encontrada na pele e nas fossas nasais de indivíduos saudáveis (SANTOS *et al.*, 2007), pode causar infecções endógenas e exógenas, e a transmissão ocorre por contato direto ou indireto (TRABULSI; ALTHERTHUM 2005). As infecções de pele mais comumente causadas pelo *S. aureus* são o impetigo, foliculite, terçol, furúnculo, mastite puerperal e a celulite (MDSAÚDE, 2017).

Considerada um micro-organismo oportunista, a *Pseudomonas aeruginosa*, bactéria gram-negativa em forma de bastonete, está presente em diversos ambientes, no entanto, pouco presente na microbiota de indivíduos saudáveis. As infecções por esta bactéria são mais frequentes em pacientes hospitalizados imunodeprimidos. O trato gastrointestinal é um dos principais locais de colonização e reservatório de *P. aeruginosa*, podendo ser encontrada em outros locais também, como orofaringe, mucosa nasal, axilas e períneo (KISKA; GILLIAN, 2003).

Diversos quadros patológicos, como por exemplo, gastroenterites, infecções urinárias, septicemia ou meningites podem ser ocasionadas pela bactéria *Escherichia coli* (LEVINE *et al.*, 1987), bacilo gram-negativo anaeróbio facultativo, que comensalmente habita a microbiota anaeróbia intestinal normal do homem, de mamíferos e aves (DRASAR; HILL, 1974). Devido à preferência desses micro-organismos por ambientes úmidos, a pele é susceptível a contaminação microbiana o que torna a ferida um meio favorável para a proliferação desses patógenos.

Outro agente oportunista é a *Candida albicans*, responsável por diversos tipos de micose superficiais, podendo acometer a pele, mucosas e tecidos mais profundos (NOBRE *et al.*, 2002), é um fungo que comensalmente vive junto com outros micro-organismos no trato gastrointestinal, cavidade oral, sangue e no sistema genital de hospedeiros (PEDROSA, 2012). De acordo com Ryan e Ray (2004), em circunstâncias normais não causam efeito nocivo ao homem, porém podem tornar-se patogênica ao reagir a estímulos ambientais, tais como, alterações no mecanismo de defesa ou comprometimento nas barreiras anatômicas do hospedeiro (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003). Assim, a forma unicelular do tipo levedura da *C. albicans* transforma-se em uma forma filamentosa, multicelular e invasiva, infectando o tecido do hospedeiro.

Segundo a Sociedade Brasileira de Dermatologia (2006), as micoses superficiais foram apontadas como uma das principais causas de atendimento tanto no setor público como no setor privado, e em todos os grupos etários avaliados.

Uma variedade de infecções da pele é causada pelos micro-organismos descritos, a partir de pequenas soluções de continuidade das mucosas, da pele e seus anexos (RAMOS-E-SILVA, 2009), como: impetigo, ectima, foliculites (EMPINOTTI *et al.*, 2012) e micoses superficiais (BRASIL, 2004), conforme mostra Tabela 1.

Tabela 1. Infecções de pele mais comuns.

Infecções cutâneas	Descrição	Agente etiológico mais frequente
Ectima	Infecção que se inicia como o impetigo não bolhoso, mas com uma evolução mais arrastada; gradualmente a infecção torna-se mais profunda evoluindo para uma crosta escura, seca, aderente, com formação de escara de bordos elevados.	<i>Streptococcus pyogenes</i> sendo <i>Staphylococcus aureus</i> , o agente causal secundário com uma ação sinérgica na manutenção da infecção.
Impetigo	Infecção cutânea intra-epidérmica superficial que produz lesões eritematosas, podendo ser acompanhados de lesões pustulares ou bolhosas.	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> ; o qual causa o impetigo bolhoso em crianças recém-nascidas.
Foliculite	Infecção e inflamação dos folículos pilosos. A infecção é caracterizada por pápulas ou pústulas côncavas, perfuradas por pêlo circundado por um halo eritematoso, presente nas nádegas, quadris, coxas e axilas.	<i>Staphylococcus aureus</i>
Furúnculo	Abscesso que se inicia no folículo piloso como um nódulo avermelhado, tornando-se doloroso e amolecido.	<i>Staphylococcus aureus</i>
Carbúnculo	Abscessos subcutâneos múltiplos envolvendo vários folículos e glândulas sebáceas, drenados através dos folículos pilosos.	<i>Staphylococcus aureus</i>
Paroníquia	Infecção superficial na prega da unha que pode ser aguda ou crônica.	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida spp.</i>
Micoses superficiais	Infecções bastante comuns que acometem pele, pêlos, unhas e mucosas (oral e vaginal).	<i>Candida spp.</i> , <i>Epidermophyton spp.</i> , <i>Microsporium spp.</i>

Fonte: Adaptada (ANVISA, 2004).

Visto a relevância das infecções da pele causadas por micro-organismos, e em razão ao grande aumento da resistência microbiana devido ao uso indiscriminado de antibióticos, a pesquisa de extratos vegetais é uma alternativa para o tratamento destas infecções (ANTUNES *et al.*, 2006; CATAO *et al.*, 2006).

Portanto, surgem as pesquisas voltadas aos produtos naturais microbianos que representam importantes fontes para a bioprospecção de novos compostos com possível aplicação na medicina, agricultura e nos estudos de processos biológicos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2013).

A contribuição dos produtos naturais, principalmente das plantas superiores, foi fundamental no desenvolvimento da terapêutica moderna (CALIXTO, 2003). As substâncias oriundas destes produtos, especialmente os de origem vegetal, mostram propriedades biológicas, farmacológicas ou terapêuticas que são potencialmente aplicáveis (CALIXTO, 2005).

Nas últimas décadas, o cenário científico esteve voltado aos estudos fitoquímicos e farmacológicos dos extratos de produtos naturais, em função dos altos custos com pesquisa e elaboração de medicamentos sintéticos, além da diminuição da disponibilidade de matérias-primas (SIMÕES *et al.*, 2003). Com isso, surge a possibilidade de reaproveitamento de resíduos dos produtos naturais que seriam descartados, como matéria-prima e ingredientes de novos produtos, adquirindo assim valor agregado (LAUFENBERG; KUNZ; NYSTROEM, 2003).

A casca de banana (*Musa spp.*) insere-se nesse contexto por ser um resíduo domiciliar e da indústria de alimentos descartado em grande quantidade na natureza, em torno de 1,2 milhões de toneladas de resíduos de casca de banana são geradas anualmente no Brasil (REBELLO, 2013).

Por se tratar de uma fruta mundialmente produzida e consumida, o aproveitamento das cascas de banana (*Musa spp.*) é de grande relevância, visto que já existe na literatura informações sobre seus usos tradicionais, como também estudos fitoquímicos e farmacológicos (IMAN; AKTER, 2011)

3.3 MUSA SPP.

A banana (*Musa spp.*), pertencente à família Musaceae, constitui o quarto produto alimentar mais produzido no planeta. Sua produção mundial chegou à 106.714.205 toneladas (FAO, 2013) e a nacional chegou à 6.892.622 toneladas (IBGE, 2013).

É a segunda fruta mais cultivada no Brasil, sendo precedida apenas pela laranja (CEPA, 2010). É de suma importância no cenário nacional por estar presente na mesa da maioria dos consumidores. O mercado nacional é o 12º maior consumidor mundial desta fruta (SCHULZ, 2010).

A bananeira tem um importante valor na medicina popular, apresentando atividade biológica os frutos, cascas, folhas, raízes e pseudocaule, o que confere a utilização para o tratamento de várias doenças, conforme mostra a Tabela 2.

Tabela 2. Levantamento bibliográfico de atividades biológicas encontradas no uso tradicional e estudo de algumas partes da banana (*Musa spp.*).

Usos tradicionais e estudos	Parte da planta	Espécie	Fonte
Antimicrobiana	Casca	<i>Musa paradisiaca</i>	Ighodaro (2012) Zafar <i>et al.</i> (2011) Karadi <i>et al.</i> (2011)
Cicatrização de feridas	Casca	<i>Musa spp.</i>	Balbach (1945); Agarwal <i>et al.</i> (2009); Pereira (2010); Atzingen <i>et al.</i> (2013)
Inflamação, Tosse, Reumatismo, Gripe, Diabetes, Bronquite, Diarreia, Hipertensão, Adstringente	Casca e Polpa	<i>Musa paradisiaca</i>	Reid (1961)
Leismaniose	Casca, Seiva, Polpa, Casca	<i>Musa paradisiaca</i>	Weigel <i>et al.</i> (1994) Silva <i>et al.</i> (2014)
Hipocolesterolêmica	Folhas, Raiz	<i>Musa paradisiaca</i>	Saraswati; Gnanam (1997) Mallick <i>et al.</i> (2006)
Diarreia	Polpa da banana verde	<i>Musa spp.</i>	Rabbani <i>et al.</i> (2001)

		<i>Musa</i>	
Antiulcerativa	Polpa da banana verde	<i>paradisíaca</i>	Lewis <i>et al.</i> (1999)
		<i>Musa Cavendish</i>	Pannangpetch <i>et al.</i> (2001)
			Onasanwo <i>et al.</i> (2013)
		<i>Musa sapientum</i>	
		<i>Musa Cavendish</i>	
Antioxidante	Casca		Someya <i>et al.</i> (2002)
			Mokbel; Hashinaaga (2005)
		<i>Musa acuminata</i>	González-Montelongo (2010)
		<i>Colla AAA</i>	
Anti-hiperglicêmico	Polpa da banana verde	<i>Musa</i>	Ojewole; Adewunmi (2003)
	Folhas	<i>paradisíaca</i>	Kappel <i>et al.</i> (2013)
Antialérgica	Polpa da casca madura	<i>Musa sapientum</i>	Tewtrakul <i>et al.</i> (2008)
Nanopartículas de prata	Casca	<i>Musa paradisíaca</i>	Bankar <i>et al.</i> (2010)
Antiinflamatório, Antimicrobiana, Continuação da Tabela 2...	Epicarpo	<i>Musa sapientum</i>	Lino <i>et al.</i> (2011) Santos (2012)
Anemia, Depressão, Hipertensão, inchaço, Tabagismo, verrugas, picadas de insetos.	Polpa, casca	<i>Musa</i>	Kumar <i>et al.</i> (2012)
Febre e dor de cabeça	Folhas	<i>Musa spp.</i>	Abe; Ohtani (2013)

Tendo em vista que a banana (*Musa spp.*) é uma das frutas mais populares do mundo, na literatura também foram encontrados estudos de identificação dos constituintes químicos presentes em algumas espécies de banana (*Musa spp.*), como mostra a Tabela 3.

Tabela 3. Levantamento bibliográfico dos fitoquímicos encontrados nas cascas de banana.

Fitoquímicos	Espécie	Referência
Galocatequina, Compostos fenólicos	<i>Musa Cavendish</i>	Someya <i>et al.</i> (2002)
Norepinefrina, Rutina, Tocoferóis	<i>Musa Cavendish</i>	

Ácido ascórbico, Carotenos		Kanazawa; Sakkibara (2000)
β -Sitosterol, Estigmasterol, Campesterol, Cicloeucalenol, Cicloartenol, 24-Metileno cicloartanol	<i>Musa Sapientum</i>	Knapp; Nicholas (1969)
Trans α -Caroteno, Trans- β -caroteno, β -Criptoxantina	<i>Musa</i>	Davey <i>et al.</i> (2006)
Glicosídeos de Apigenina, Glicosídeo de Miricetina, Miricetina-3-O-Rutinoside, Glicosídeos de Naringenina, Rutina, Campferol-3-O-rutinosideo, Quercetina-3-O-rutinoside	<i>Musa</i>	Pothavorn <i>et al.</i> (2010)
Ciclomusalenol, Ciclomusalenone, 24- Metilencicloartanol, Estigmast-7-Metilenecicloartanol, Estigmast-7-en-3-ol, Lanosterol, β -Amiriana	<i>Musa</i>	Ragasa <i>et al.</i> (2007)
Ácido linoleico e linolênico, β -Sitosterol, Estigmasterol, Campesterol, Cicloeucalenol e Cicloartenol	<i>Musa Cavendish</i>	Emaga <i>et al.</i> (2007)
Taninos, Compostos fenólicos, Antocianinas, Alcalóides, Fitoesteróis	<i>Musa paradisiaca</i>	Oliveira (2007)
31-Norcicloaudenona, Cicloeucalenona	<i>Musa Cavendish</i>	Oliveira <i>et al.</i> (2008)
Miricetina-deoxihexose-hexosídeo, Rutina, Campferol-deoxihexose-hexosídeo	<i>Musa spp.</i>	Tsamo <i>et al.</i> (2015)

Vários trabalhos já foram realizados com as cascas de banana (*Musa spp.*), porém poucos deles deram ênfase ao desenvolvimento de formulações farmacêuticas contendo seus extratos, o que é bastante interessante ser estudado devido a crescente procura por produtos terapêuticos à base de extratos de frutas e hortaliças (BÜHLER; FERREIRA, 2008).

3.4 FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS DE USO TÓPICO

Existem várias formas farmacêuticas para incorporar os extratos, destacando-se as formas farmacêuticas tópicas, como géis e cremes, que são bastante utilizadas, possuindo uma

boa aceitação pelos consumidores por apresentarem características sensoriais agradáveis, além de possibilitarem uma boa permeação cutânea de ativos (BÜHLER; FERREIRA, 2008).

Segundo o Formulário Nacional (BRASIL, 2012), creme é definido como uma forma farmacêutica semi-sólida que consiste de uma emulsão, formada por uma fase lipofílica e uma fase hidrofílica, sendo utilizada para aplicação externa na pele ou nas membranas mucosas.

Os géis são sistemas semi-sólidos formados por dois componentes ricos em líquidos, e definidos como uma preparação obtida pela dispersão de polímeros gelificantes; incrementadores de viscosidade, em meio aquoso (VILLANOVA; ORÉLICE; CUNHA, 2010). Em um gel polar típico, um polímero natural ou sintético forma uma matriz tridimensional por meio do líquido hidrofílico. (AULTON, 2005).

No desenvolvimento de formulações farmacêuticas, a realização do estudo de estabilidade se faz necessário antes de disponibilizar os produtos ao consumo, pois através do perfil de estabilidade, é possível avaliar seu desempenho, segurança e eficácia, além da sua aceitação pelo consumidor (BRASIL, 2004).

De acordo com o *International Federation of Societies of Cosmetic Chemists* (IFSCC), o teste de estabilidade é considerado um procedimento preditivo, baseado em dados obtidos de produtos armazenados em condições que visam acelerar alterações passíveis de ocorrer nas condições de mercado. Embora todo procedimento preditivo não represente um resultado absoluto, possui uma ótima probabilidade de fornecer dados relevantes sobre o comportamento de um produto durante o seu armazenamento e utilização (BRASIL, 2004).

Os testes de estabilidade preliminar acelerada visam avaliar a formulação nas condições climáticas forçadas, em um curto período de tempo, no envelhecimento acelerado, permitindo prever os perfis de estabilidade físico-química, microbiológica e funcional segundo os parâmetros específicos para cada forma farmacêutica (BABY *et al.*, 2008).

Nas formulações farmacêuticas, a incorporação de extratos vegetais em bases é uma prática bastante difundida, sendo de fundamental importância à escolha adequada da base à qual os princípios ativos de uso tópico serão incorporados, garantindo assim, a estabilidade e liberação dos princípios ativos e, conseqüentemente, obtenção de seus efeitos terapêuticos esperados.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 FLUXOGRAMA DO PROCESSO



4.2 MATERIAL VEGETAL

4.2.1 Coleta

500g de cascas de banana (*Musa paradisiaca*) do descarte (maduras) foram coletadas em um estabelecimento comercial, onde foram previamente separadas após o uso, e 500g de cascas de banana (*Musa paradisiaca*) da colheita (não maduras) foram coletadas diretamente no plantio, no mês de Dezembro de 2016, no município de Campina Grande. Após a coleta, as amostras foram posteriormente submetidas a identificação.

4.2.2 Identificação

O material botânico foi identificado pelo professor José Iranildo de Miranda Melo, exsicata número 241, no Herbário Manoel Arruda Câmara – ACAM, da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB. Ressaltando-se que as cascas de banana (*Musa paradisiaca*) do descarte foram identificadas junto com as de origem.

4.3 MÉTODOS EXTRATIVOS DE CASCAS DE BANANA (*Musa paradisiaca*)

4.3.1 Preparação das amostras

As cascas coletadas descarte (maduras) e da colheita (não maduras) foram secas separadamente, em estufa de circulação fechada de ar (B2C, De Leo) a 40 °C durante 48 h. Em seguida, foram pulverizadas através de moinho de facas, identificadas e armazenadas para posterior utilização no preparo dos extratos.

4.3.2 Métodos extrativos utilizados

4.3.2.1 Maceração

50g de cascas secas de banana (*M. paradisiaca*) do descarte e da colheita foram submetidas individualmente ao processo de maceração por sete dias (SILVA *et al.*, 2014), à temperatura ambiente ($T = 24 \text{ °C} \pm 3 \text{ °C}$), utilizando como solvente o etanol a 70% (500 mL), com agitação ocasional. Em seguida, os extratos obtidos foram filtrados e o solvente orgânico removido no evaporador rotativo (modelo RV10, IKA[®]) à temperatura de 40 °C.

4.3.2.2 Turbólise

50g de cascas secas de banana (*M. paradisiaca*) do descarte e da colheita foram submetidas individualmente ao processo de turbólise à temperatura ambiente ($T = 24 \text{ °C} \pm 3 \text{ °C}$) utilizando como líquido extrator o etanol a 70% (500mL) por um período de 30 minutos com intervalos a cada 10 minutos para resfriamento do sistema. Posteriormente, os extratos obtidos foram filtrados e o etanol foi removido em evaporador rotativo à temperatura de 40 °C (POLITI, 2009).

4.4 MÉTODO ANALÍTICO DOS EXTRATOS DE MUSA PARADISIACA

Quatro amostras de extratos de cascas de *M.paradisiaca* obtidos por maceração e turbólise foram submetidas à análise do perfil cromatográfico por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) conforme mostra Tabela 4.

Tabela 4. Amostras submetidas à análise do perfil cromatográfico por CCD obtidas por maceração e turbólise.

Amostras	Técnica de Extração	Temperatura	Material	Solvente
E1	Maceração	Ambiente	Cascas secas (descarte)	Etanol 70%
E2	Turbólise	Ambiente	Cascas <i>secas</i> (descarte)	Etanol 70%
E3	Maceração	Ambiente	Cascas <i>secas</i> (colheita)	Etanol 70%
E4	Turbólise	Ambiente	Cascas <i>secas</i> (colheita)	Etanol 70%

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

O teor dos extratos etanólicos de cascas de *Musa paradisiaca* do descarte (maduras) e da colheita (não maduras) foram medidos através da balança de infravermelho (Modelo ID 50, MARTE) com parâmetros de 130 °C, 0,03% e 30s.

4.4.1 Análise por Cromatografia em Camada Delgada

Uma alíquota de 1 mL de cada amostra foi levada a banho maria para total evaporação. Em seguida, foram reconstituídas em metanol para aplicação. As amostras e os padrões foram aplicados em placas cromatográficas de sílica gel 60 - F₂₅₄ (Macherey-Nagel[®]), com auxílio de aplicador semiautomático (Linomat V, Camag[®]). Foram aplicados 20 µL das amostras e 7 µL dos padrões, sendo obtidas três cromatoplas: a primeira contendo flavonoides (rutina e quercetina) e derivados cinâmicos (ácido cafeico/clorogênico), segunda contendo esteroides (β-sitosterol) e a terceira contendo taninos condensados (Catequina) e hidrolisados (Ácido gálico) como padrões (FERREIRA, 2012), conforme descreve Tabela 5.

As placas foram desenvolvidas em cubas após saturação com a fase móvel. A cuba foi saturada durante 15 minutos, aproximadamente, à temperatura ambiente. As bandas foram aplicadas com largura de 1 cm e com uma distância entre elas e das bordas das placas de 0,5 cm. O tamanho da largura e do comprimento das placas cromatográficas foi de 8 e 10 cm, respectivamente. As amostras foram aplicadas a 1 cm da origem e com término 1 cm do final da placa.

Após a eluição das placas, as mesmas foram secas à temperatura ambiente, e observadas em 254 e 365 nm. Na sequência foram reveladas com reagentes específicos para cada metabólito (Tabela 5). As imagens foram adquiridas utilizando um sistema de imagem (Modelo 125, MultiDoc-It[®]), com o software UVP[®] e câmera digital (Rebel T3, EOS 1100 D, Canon[®]). As bandas obtidas foram comparadas às bandas dos padrões correspondentes.

Tabela 5. Classe de Metabólitos, padrões utilizados, sistemas e reveladores utilizados.

Classe de Metabólito	Padrões utilizados	Sistema	Reveladores
Flavonoides	Rutina	90:5:5 *	NEU-PEG
	Quercetina		
Derivados Cinâmicos	Ácido caféico	90:5:5 *	NEU-PEG
	Ácido clorogênico		
Terpenos e Esteroides	β-sitosterol	70:30 *	Lieberman Burchard
Taninos hidrolisados	Ácido Gálico	90:5:5*	Cloreto Férrico
Taninos condensados	Catequina	90:5:5*	Vanilina Clorídrica

* Sistemas: 90:5:5 – Acetato de etila: ácido fórmico: água. 70:30 – Tolueno: acetato de etila
 Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

4.4.2. Análise por Cromatografia Líquida de Alta eficiência

Solução estoque:

Uma alíquota de 2 mL de cada amostra foi levada a banho maria para total evaporação. Em seguida, foi diluída em metanol para balão volumétrico de 5 mL.

Solução amostra:

Uma alíquota de 1 mL de cada solução estoque foi diluída para balão volumétrico de 5 mL, e o volume aferido com água purificada. Ao final, as amostras foram filtradas, em filtros de PVDF de 25 mm e 0,45 µm, para os vials.

Condições de Análise por CLAE

A quantificação de rutina foi conduzida em Cromatógrafo Líquido (Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific[®]), acoplado com Detector de Arranjo de Fotodiodos (DAD; Thermo Fisher Scientific[®]) e equipado com bomba binária (HPG-3x00RS, Thermo Fisher Scientific[®]),

degaseificador e amostrador automático com um loop de 20 µL (ACC-3000, Thermo Fisher Scientific®).

Os dados cromatográficos foram processados com o auxílio do programa computacional Chromeleon versão 6.0 (3000 RS Dionex, Thermo Fisher Scientific®). As análises foram realizadas a 210, 254, 280 e 350 nm; utilizando pré-coluna de 3,9 µm (Phenomenex®), coluna de 250 mm de comprimento (4,6 mm x 5 µm; NST®), empacotada com sílica quimicamente ligada à grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente (25 °C); fluxo da fase móvel de 0,8 mL/minuto.

A fase móvel foi constituída por água ultrapura com ácido trifluoracético a 0,05% como solvente A e metanol com ácido trifluoracético a 0,05% como solvente B, ambas foram degaseificadas em ultrassom e filtradas em membrana com poro de 0,45 µm. A separação foi efetivada utilizando o seguinte gradiente linear: 0–10min, 10–20% B; 10–20min, 20–50% B; 20–25min, 50–70% B; 25–28 min, 70–10% B; 28–30min, 10% B. O volume de injeção utilizado foi de 20 µL.

4.5 PREPARAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

As bases utilizadas neste presente estudo foram escolhidas em função da boa espalhabilidade, boa permeação de ativos e baixa oleosidade (CASTELI *et al.*, 2008).

Inicialmente preparou-se as bases de creme não iônico e gel natrosol (1kg cada), conforme preconizado pelo Formulário Nacional da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2012), como desrito abaixo.

4.5.1 Creme não iônico

<u>Fase oleosa</u>	
Polawax	14 %
Propilparabeno	0,05 %
Lanolina etoxilada 50 %	3 %
<u>Fase aquosa</u>	
Metilparabeno	0,15 %
Glicerina	4 %
Água destilada <i>q.s.p.</i>	1000 g

Preparação:

Aqueceu-se a fase aquosa a 80 °C e a fase oleosa a 75 °C. Em seguida, verteu-se a fase aquosa sobre a fase oleosa e agitou-se vigorosamente em banho-maria a 80 °C durante 10 minutos.

4.5.2 Gel de Natrosol

Metilparabeno (Nipagim)	0,2 %
Hidroxietilcelulose (Natrosol)	2,2 %
Imidazolidinil Uréia (Germall)	0,1 %
Água Destilada <i>q.s.p.</i>	1000 g

Preparação:

Dissolveu-se o Nipagim em água aquecida a 70 °C. Adicionou-se o Natrosol aos poucos, com agitação lenta e constante, até completa dissolução. Resfriou-se a 40 °C, intercalando a agitação com períodos de repouso, e adicionou-se o Germall previamente solubilizado em pequena quantidade de água.

Após preparação das bases, incorporou-se os extratos das cascas de banana (*Musa paradisíaca*) nas concentrações de 5% e 10% . Em seguida, as formulações preparadas (5g de cada) foram submetidas a avaliação da atividade antimicrobiana.

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “*IN VITRO*” DOS EXTRATOS DE *Musa paradisíaca* E DAS FORMULAÇÕES

Para os ensaios biológicos de atividade antimicrobiana, foram utilizados 20 produtos, incluindo extratos e formulações, conforme mostra Quadro 2.

Quadro 1. Extratos e Formulações submetidas à avaliação da atividade antimicrobiana pela técnica de Microdiluição.

Extratos	Descrição
E1	Extrato da casca de banana/descarte/maceração
E2	Extrato da casca de banana/colheita/ maceração
E3	Extrato da casca de banana/descarte/turbólise
E4	Extrato da casca de banana/colheita/turbólise

Formulações	Descrição
F5	Creme não iônico c/extrato 5 % descarte/ turbólise
F6	Creme não iônico c/extrato 10 % descarte/ turbólise
F7	Creme não iônico c/extrato 5 % colheita/ turbólise
F8	Creme não iônico c/ extrato 10% colheita/ turbólise
F9	Creme não iônico c/extrato 5 % descarte/ maceração
F10	Creme não iônico c/extrato 10 % descarte /maceração
F11	Creme não iônico c/extrato 5 % colheita/ maceração
F12	Creme não iônico c/extrato 10 % colheita/ maceração
F13	Gel Natrosol c/ extrato 5 % descarte/ turbólise
F14	Gel Natrosol c/ extrato 10 % descarte/ turbólise
F15	Gel Natrosol c/ extrato 5 % colheita/ turbólise
F16	Gel Natosoll c/ extrato 10 % colheita/ turbólise
F17	Gel Natrosol c/ extrato 5 % descarte /maceração
F18	Gel Natrosol c/ extrato 10 % descarte/ maceração
F19	Gel natrosol c/ extrato 5 % colheita/maceração
F20	Gel Natrosol c/ extrato 10 % colheita maceração

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

4.6.1 Microorganismos

Para os ensaios biológicos foram incluídas cepas de Bactérias: *Staphylococcus aureus* ATCC-25923, *S. aureus* LM-177, *S. epidermidis* ATCC-12228, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC- 25853; *P. aeruginosa* P-03, *B. subtilis* ATCC-6633, *Echerichia coli* ATCC- 10436 e *Echerichia Coli* EC-12; Leveduras: *Candida albicans* ATCC-76645, *C. albicans* LM-120, *C. albicans* LM-111, *Candida tropicalis* ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-64, *C. tropicalis* LM-7, *C. krusei* LM-978, *C. krusei* LM-08, e Fungos filamentosos: *Trichophyton mentagrophytes* LM-02, *Microsporium gypseum* LM-189.

As cepas foram adquiridas no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, pelo Laboratório de Micologia e de Microbiologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba. As mesmas foram mantidas em meios de cultura apropriados, Agar Nutriente- AN para bactérias e Agar Sabouraud Dextrose- ASD para fungos (DIFCO LABORATORIES/France/USA) e conservadas a 4 °C e a 35 °C, respectivamente.

A suspensão microbiana foi preparada conforme o tubo 0.5 da Escala McFarland, ajustada através de um espectrofotômetro (Leitz-Photometer 340-800), para 90% T com

comprimento de onda de 530 nm, o que equivale aproximadamente, a 10^6 UFC/mL (HADACECK; GREEGER, 2000; NCCLS, 2000; CLEELAND; SQUIRES, 1991).

4.6.2 Antimicrobianos padrões

Para o controle de atividade antimicrobiana foi usado Cloranfenicol (100 $\mu\text{g/mL}$) para bactérias, Nistatina (100UI /mL) para leveduras e Fluconazol (50 $\mu\text{g/mL}$) para fungos filamentosos. Os mesmos foram adquiridos comercialmente da SIGMA-ALDRICH® /USA.

4.6.3 Meios de Cultura

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados em Caldo BHI para bactérias e em RPMI 1640 (ACUMEDIA) para fungos leveduriformes e filamentosos. Os meios foram preparados e usados conforme as instruções do fabricante.

4.6.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), quantidade da substância necessária para inibir o crescimento do micro-organismo teste (OSTROSKY *et al.*, 2008), realizada pelo método de microdiluição, de acordo com os procedimentos recomendados pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012).

A CIM dos produtos foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas contendo 96 cavidades com fundo em forma de “U” e em duplicata. Em cada orifício da placa, foram adicionados 100 μL do CBHI para bactérias e meio líquido RPMI para leveduras. Em seguida, 100 μL do produto solubilizado foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. Por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 $\mu\text{g/mL}$ até 32 $\mu\text{g/mL}$, de modo que, na primeira linha da placa encontrou-se a maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foram adicionados 10 μL do inóculo de cada micro-organismo nas cavidades, onde cada coluna da placa referiu-se, especificamente, a uma cepa.

O controle de crescimento do microorganismo foi realizado no meio de cultura com cloranfenicol (100 $\mu\text{g/mL}$) para bactérias, nistatina (100 UI) para leveduras e fluconazol (50 $\mu\text{g/mL}$) para fungos filamentosos. As placas foram seladas e incubadas a 35° C / 24–72 h para

ensaios com bactérias e leveduras e a temperatura ambiente (28-30 °C) para fungos filamentosos.

Para a interpretação dos resultados foi utilizada a verificação visual, que segundo STOPPA *et al.* (2009), a Resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) de cor azul é oxidada na presença de células viáveis à resofurina, substância de coloração vermelha, facilitando a verificação da presença de crescimento microbiano.

No ensaio biológico com as bactérias, após 24 h de incubação, foi adicionado 20 µL de solução do corante resazurina a 0,01% (INLAB), reconhecido como um indicador colorimétrico de óxido-redução (MANN; MARKAN,1998). Após a mudança de coloração do corante (azul para vermelho), considerou-se como indicador de crescimento microbiano; e a permanência de coloração azul indicou a ausência de crescimento microbiano. E foi considerada como CIM, a menor concentração do produto capaz de inibir o crescimento das cepas bacterianas usadas nos ensaios, verificado por uma não mudança da coloração do corante indicador.

Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado expresso pela média geométrica dos valores de CIM obtidas nos dois ensaios (CLEELAND; SQUIRES, 1991; ELOFF, 1998; SOUZA *et al.*, 2007).

4.7 ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR DA FORMULAÇÃO

O estudo de estabilidade foi realizado com a formulação que apresentou melhor resultado na avaliação da atividade antimicrobiana.

4.7.1 Testes de Estabilidade preliminar

O estudo da estabilidade preliminar emprega condições extremas de temperatura com o objetivo de acelerar possíveis reações (ANVISA, 2010), que podem fornecer indicações de instabilidade da formulação, mostrando a necessidade de alteração na sua composição (CORDEIRO *et al.*, 2012).

Os testes de estabilidade preliminar realizados nas amostras foram o teste de centrifugação, estresse térmico e ciclo congela-degela, todos realizados em triplicata (LIMA *et al.*, 2008).

4.7.1.1 Teste de Estresse térmico

No estresse térmico, foram pesados aproximadamente 5g de cada formulação, onde foram submetidas a aquecimento em banho maria nas seguintes faixas de temperaturas 40, 50, 60, 70 e 80 °C, mantendo-se por 30 minutos em cada temperatura.

4.7.1.2 Teste de Centrífuga

Cinco gramas das formulações foram submetidas à centrifugação a 3000 rpm, em temperatura ambiente ($T=24\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$) por 30 minutos (ISAAC *et al.*, 2008; ANVISA, 2008), utilizando centrífuga de Bancada (Excelsa® II Modelo 206 BL, FANEM) .

Depois de realizado ambos os testes, centrifugação e estresse térmico, os produtos foram submetidos ao ciclos de congelamento e descongelamento (LIMA *et al.*,2008; VELASCO *et al.*, 2008).

4.7.1.3 Ciclos de Congelamento e Descongelamento

Em embalagem adequada, as amostras foram submetidas a condições extremas de temperaturas, nos chamados ciclos, sendo considerados para efeito de estudo de estabilidade preliminar, a realização de pelo menos seis ciclos. Os ciclos de congelamento e descongelamento alternaram 24 horas em temperaturas elevadas (45 °C em estufa) e 24 horas em temperaturas baixas (5 °C em geladeira).

4.7.2 Testes de estabilidade preliminar acelerada

Este teste tem como objetivo fornecer dados para prever a estabilidade do produto, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento.

As amostras foram acondicionadas nas embalagens de produto final, o que pode antecipar a avaliação da compatibilidade entre a formulação e a embalagem. (BRASIL, 2004).

O teste de estabilidade preliminar acelerada teve duração de 60 dias (BRASIL, 2004). As amostras foram submetidas a aquecimento em estufa, resfriamento em refrigerador e ao ambiente, com controle da temperatura e analisadas em relação aos vários parâmetros de acordo com a forma farmacêutica estudada.

Foram realizadas avaliações periódicas durante toda a duração do teste. Os parâmetros analisados em todas as amostras foram: aspecto, cor, odor, pH, viscosidade, sendo expressos como a média aritmética dos valores obtidos dos testes realizados em triplicata.

4.7.2.1 Avaliação das características organolépticas

As amostras foram analisadas, identificando qualquer instabilidade, alteração da cor ou separação de fases (MONTAGNER; CORRÊIA, 2004).

Para análise dos resultados, foram utilizados critérios apresentados no Quadro 1, adaptado por Bühler e Ferreira (2008).

Quadro 2. Parâmetros para Avaliação das Características Organolépticas.

Parâmetros	Descrição
N	Normal
LMA	Leve Modificação da Aparência
LMC	Leve Modificação da Cor
LMO	Leve Modificação do Odor
MA	Modificação da Aparência
MC	Modificação da Cor
MO	Modificação do Odor
IMA	Intensamente Modificada da Aparência
IMC	Intensamente Modificada da Cor
IMO	Intensamente Modificada do Odor

Fonte: Adaptada (BÜHLER; FERREIRA, 2008)

4.7.2.2 Determinação do pH

Para a determinação de pH, homogeneizou-se bem as amostras, transferiu-se para um recipiente adequado, medindo-se o pH com auxílio de um potenciômetro (PG 1800, GEAKA), previamente calibrado com soluções tampões de padronização, dotados de pH 4,0 e 7,0.

4.7.2.3 Determinação da viscosidade

A viscosidade é definida como a resistência do fluido ao fluxo, quanto maior a viscosidade, maior a resistência do fluido ao fluxo (MARTIN *et al.*, 1993).

Para o estudo da viscosidade utilizou-se o viscosímetro rotativo (ONE, FUNGILAB), o qual mede eletronicamente a força de torção já convertida em viscosidade, na unidade de

milipascal (mPa.s). As determinações da viscosidade foram realizadas em triplicata. (CHORILLI *et al.*, 2007).

Para as determinações das viscosidades foram utilizadas 25g de cada formulação, “spindle” tipo L6 e velocidades do “spindle” (rpm) variáveis conforme necessidade das amostras.

4.7.2.4 Espalhabilidade

Avaliar esse parâmetro nas formas farmacêuticas semi-sólidas de uso tópico é de grande importância para acompanhar modificações na capacidade da formulação em atingir determinada área através da aplicação (BUGNOTTO, 2006).

Para determinação da espalhabilidade utilizou-se uma placa suporte de vidro (20 cm x 20 cm) posicionada sobre uma folha de papel milimetrado e uma placa molde circular de vidro com orifício central de 1,2 cm de diâmetro posicionada sobre a placa suporte.

A amostra foi introduzida no orifício da placa e a superfície foi nivelada com espátula. Posteriormente, a placa-molde foi cuidadosamente retirada e sobre a amostra foi colocada uma placa de vidro de peso pré-determinado. Após um minuto, foi calculada a superfície abrangida, através da medição do diâmetro através das posições X e Y, com auxílio da escala do papel milimetrado e com posterior cálculo do diâmetro médio.

Este procedimento foi repetido acrescentando-se novas placas, em intervalos de um minuto, registrando-se a cada determinação a superfície abrangida pela amostra e o peso da placa adicionada até um número máximo de 10 placas (KNORST, 1991; apud BORGHETTI *et al.*, 2006).

A espalhabilidade (E_i), determinada a 24 ± 3 °C, foi calculada através da equação (KNORST, 1991):

$$E_i = d^2 \cdot \pi / 4, \text{ onde:}$$

E_i : Espalhabilidade da amostra para um determinado peso em milímetro quadrado (mm^2) e D : Diâmetro médio em milímetro (mm).

Todas as amostras foram analisadas em três temperaturas: Geladeira ($T = 5 \pm 2$ °C); Temperatura ambiente ($T = 24 \pm 3$ °C); Estufa ($T = 45$ °C) e em dias pré-estabelecidos 0, 15, 30 e 60 dias.

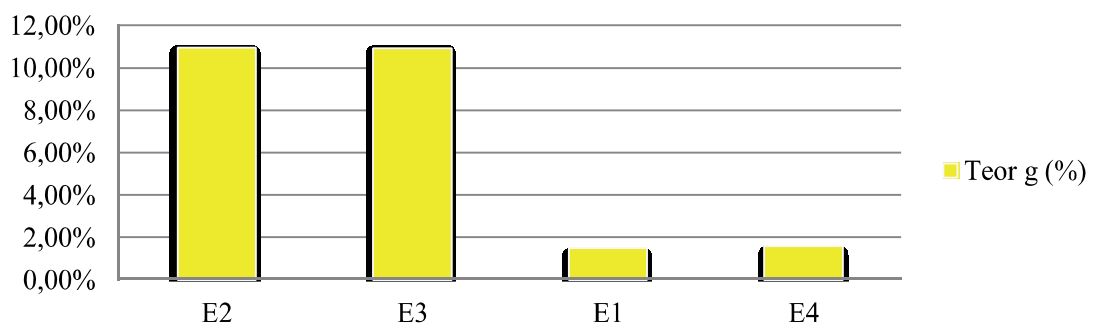
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo inicial a obtenção de extratos etanólicos da casca de banana (*Musa paradisiaca*), E1 a E4, e a realização de um *screening* fitoquímico por CCD, visando caracterizar os compostos químicos presentes, e desta forma poder observar a influência da maturação das cascas (descarte e colheita) e da técnica de extração utilizada (maceração e turbólise) na obtenção destes compostos.

5.1 MÉTODOS EXTRATIVOS DE MUSA PARADISIACA

O teor g (%) dos extratos etanólicos de cascas de banana (*Musa paradisiaca*) do descarte (maduras) e da colheita (não maduras) quantificados em balança de infra-vermelho, variaram entre 1,5% a 10,96%, conforme mostra Figura 1, sendo os extratos das cascas de banana (*M. paradisiaca*) do descarte (maduras) que obtiveram maior teor, tanto através da maceração (10,96%) quanto da turbólise (10,95%), mostrando que o período de maturação (maduras e não maduras) do material coletado pode influenciar no teor dos extratos.

Figura 1. Teor g (%) dos extratos de cascas de banana (*Musa paradisiaca*) obtidos por maceração e turbólise, E1=maceração/descarte; E2=turbólise/descarte; E3=maceração/colheita; E4=turbólise/colheita.



Fonte: Dados da pesquisa.

5.2 MÉTODOS ANALÍTICOS DOS EXTRATOS DE MUSA PARADISIACA

Na Tabela 6 podemos descrever as classes de metabólitos encontradas nos extratos de cascas de banana (*M. paradisiaca*).

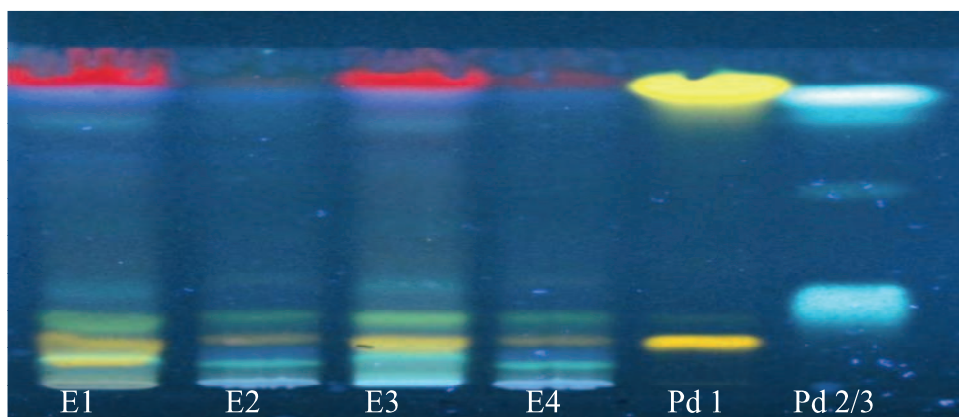
Tabela 6. Classes de metabólitos encontradas nos extratos de cascas de banana (*Musa paradisíaca*) mediante padrões, sistemas e reveladores.

Classe de metabólito	Padrão	Sistema	Reveladores	Resultado
Flavonoides	Rutina Quercetina	90:5:5	NEU-PEG	Positivo
Derivados cinâmicos	Ácido caféico Ácido clorogênico	90:5:5	NEU-PEG	Positivo
Taninos hidrolisáveis	Ácido gálico	90:5:5	Cloreto férrico	Negativo
Taninos condensados	Catequina	90:5:5	Vanilina clorídrica	Negativo
Terpenos e Esteroides	β -sitosterol	70:30	Lieberman Burchard	Positivo

*Sistemas: 90:5: 5 – Acetato de etila: ácido fórmico: água. 70:30 – Tolueno: acetato de etila.

De acordo com a CCD, flavonoides e derivados cinâmicos foram evidenciados nos extratos E1 até E4, sendo possível verificar em todas as amostras a presença de bandas de coloração azuladas e outras de coloração amarela/esverdeadas, após revelação da cromatoplaça com NEU-PEG em 365 nm (Figura 2), utilizando a Rutina como Padrão 1 e o Ácido Caféico/Ácido Clorogênico como Padrões 2 e 3.

Figura 2. Cromatoplaça dos extratos etanólicos submetidos à CCD, após revelação com NEU-PEG, utilizando Padrão 1- Rutina e Padrão 2 /3 - Ácido caféico/Ácido clorogênico, sendo E1-maceração/descarte; E2-turbólise/descarte; E3-maceração/colheita; E4-turbólise/colheita.



Fonte: Dados da pesquisa.

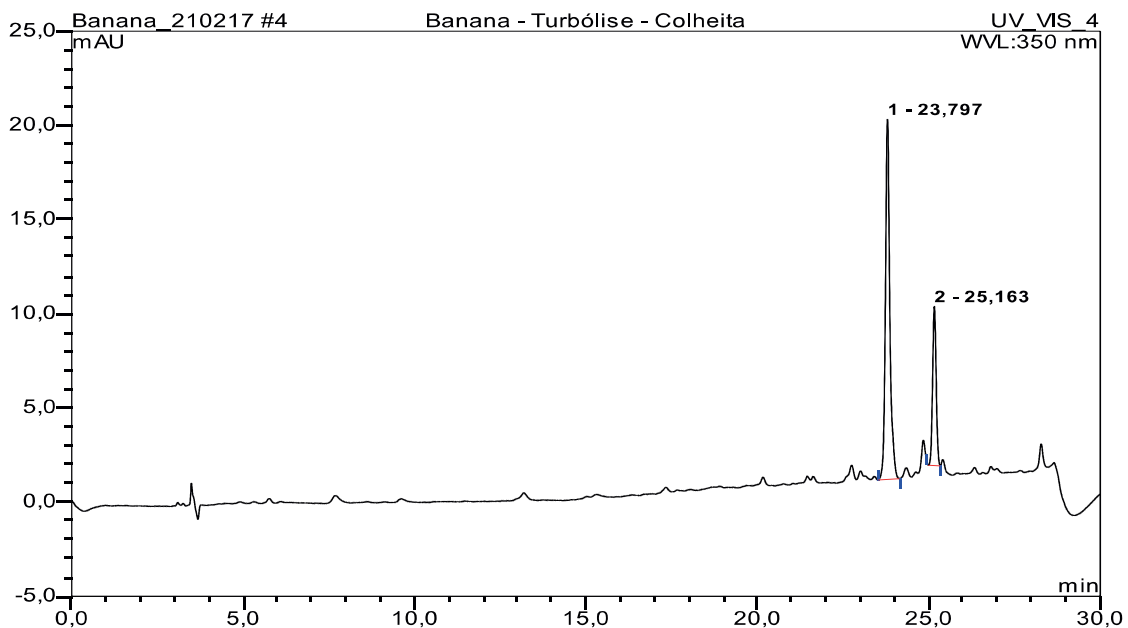
Foi possível confirmar a presença de flavonoides, devido à coloração amarela de bandas presentes em todas as amostras. Além disso, a banda correspondente ao padrão de rutina nas amostras apresentou o mesmo valor de Rf da banda referente ao padrão rutina utilizado ($R_f = 0,15$).

A rutina, tem sido relatada em diferentes espécies de *Musa* (POTHAVORN *et al.*, 2010). Nas folhas de *M. x paradisiaca* evidenciaram a presença de rutina como composto principal e seus efeitos benéficos sobre a regulação da homeostase da glicose, sugerindo potenciais propriedades anti-diabéticas (KAPPEL *et al.*, 2013).

Conforme Figura 2, devido a presença da rutina nas quatro amostras analisadas (E1 a E4), foi feita a sua quantificação através da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de Fotodiodos (CLAE-DAD), cujos cromatogramas foram obtidos no comprimento de onda igual a 350 nm.

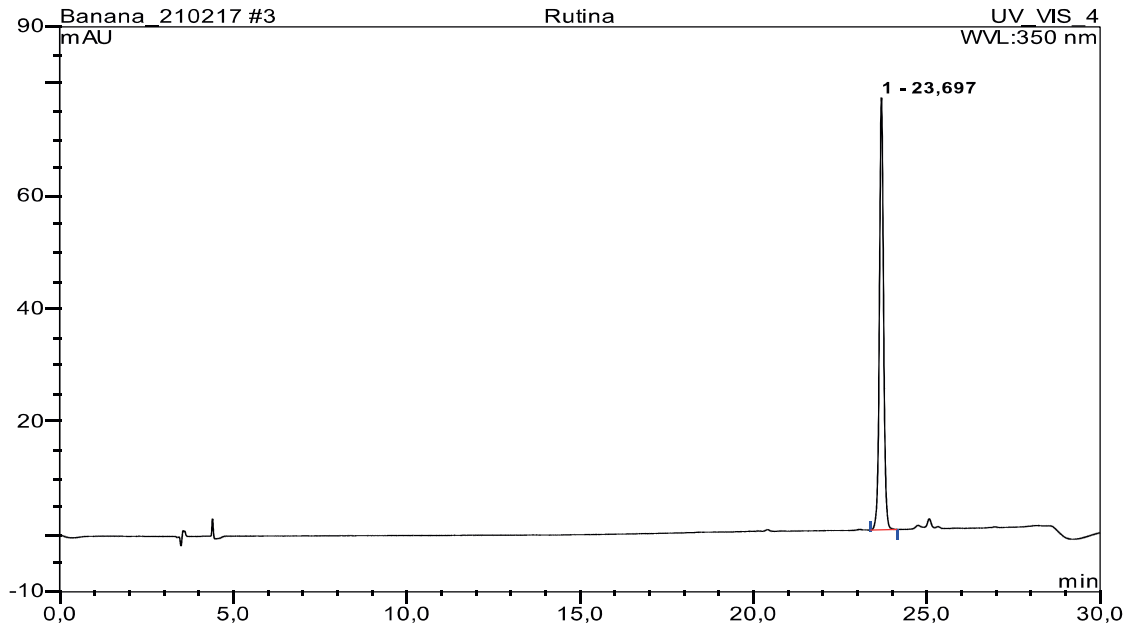
A varredura do pico correspondente a rutina foi realizada nas quatro amostras para evidenciar a sua presença. De acordo com o espectro de varredura do pico que apresentou tempo de retenção em aproximadamente 23,7 minutos (Figura 3), foi possível verificar os máximos de absorção em 203.5, 257.0 e 356.0, os mesmos máximos observados para o padrão de rutina (Figura 4).

Figura 3. Cromatograma CLAE ($\lambda = 350\text{nm}$) do extrato de cascas de *Musa paradisiaca* da colheita obtido por turbólise (E4).



Fonte: Dados da pesquisa.

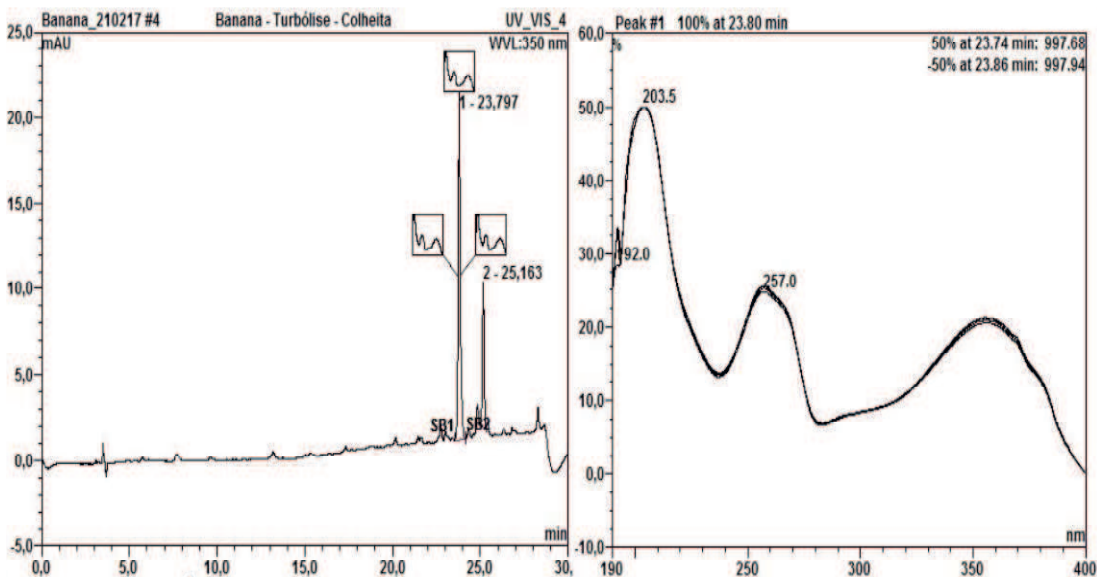
Figura 4. Cromatoplaça CLAE ($\lambda= 350\text{nm}$) do padrão rutina.



Fonte: Dados da pesquisa.

Ademais, as amostras foram intencionalmente contaminadas com o padrão de rutina para confirmar sua presença, conforme Figura 5. Com isso, observou-se que o pico correspondente a rutina na amostra apresentou aumento de área quando adicionado de rutina, confirmando a presença desse metabólito em todos os extratos.

Figura 5. Cromatograma CLAE ($\lambda= 350\text{nm}$) à esquerda do extrato etanólico da casca de banana (*M.paradisíaca*) da colheita obtido por turbólise (E4) intencionalmente contaminadas com o padrão rutina e à direita o espectro de varredura do E4 e do padrão rutina sobrepostas entre 190 e 400nm no tempo de 23 minutos.



Fonte: Dados da pesquisa.

Com isso, foi possível calcular o teor de rutina presente nas amostras, utilizando a curva de calibração obtida para o padrão de rutina ($y = 0,7085x - 0,2917$; $R^2 = 0,9944$). Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (desvio padrão relativo%), conforme Tabela 7.

Tabela 7. Média do teor em g (%) de Rutina nas amostras utilizando a curva de calibração.

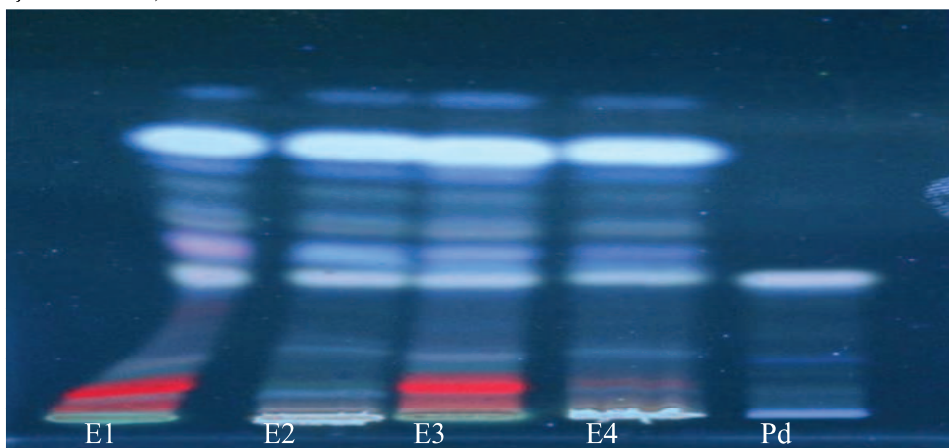
Amostra	Média \pm desvio padrão (desvio padrão relativo%)
(E1) Maceração – Descarte	0,293g (%) \pm 0,0032g (1,10%)
(E2) Turbólise – Descarte	0,022g (%) \pm 0,0002g (1,09%)
(E3) Maceração – Colheita	0,976g (%) \pm 0,0054g (0,55%)
(E4) Turbólise – Colheita	0,868g (%) \pm 0,0154g (1,78%)

Fonte: Dados da pesquisa.

De acordo com os resultados obtidos da curva de calibração, podemos observar que o teor de rutina foi superior nas amostras obtidas por maceração das cascas de banana (*Musa paradisiaca*) da colheita (não maduras), numa média de aproximadamente 0,976g (%) de rutina. Estes resultados corroboram com o estudo realizado por Tsamo *et al.* (2015), onde a rutina foi o glicosídeo de flavonol mais abundante nas cascas de *Musa spp.*, com 242,2 - 618,7 $\mu\text{g/g}$ de peso seco.

Após revelação com Lieberman Burchard e observação sob luz UV em 365 nm, através de bandas de coloração azuladas foi possível evidenciar em todas as amostras a presença de terpenos/esteroides, conforme Figura 6.

Figura 6. Cromatoplaça dos extratos etanólicos submetidos à CCD, após revelação com Lieberman Burchard, utilizando Padrão β -sitosterol, sendo E1=maceração/descarte; E2=turbólise/descarte; E3=maceração/colheita; E4=turbólise/colheita.



Fonte: Dados da pesquisa.

Além disso, uma das bandas é igual em cor e valor de Rf a do padrão utilizado β -sitosterol (0,33), indicando a presença deste metabólito nas cascas de banana (*Musa paradisíaca*) do descarte e da colheita.

Entre os principais compostos presentes em *Musa spp.* estão os esteróis e triterpenos (KNAPP; NICHOLAS, 1969; EMAGA *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2008; ACCIOLY, 2009), sendo o β -sitosterol também encontrado na casca de *Musa spp.* (IMAM; AKTER, 2011).

A *Musa paradisíaca*, segundo Accioly (2009), possui fitoesteroides, sendo os mais abundantes o estigmasterol e o beta-sitosterol, que possuem atividade antimicrobiana e anti-inflamatória. A atividade antiulcerogênica da *M. paradisíaca* também é descrita por Kovganko e Kashkan, (1994) sendo os dois acilglicosídeos de beta-sitosterol, responsáveis por esta atividade.

Por último, foi possível verificar a ausência de taninos hidrolisáveis e taninos condensados em todas as amostras.

5.3 PREPARAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

As bases de creme não iônico e gel natrosol foram escolhidas para a preparação das formulações devido os emulsionantes não-iônicos apresentarem vantagens em relação aos demais tipos de emulsionantes; um menor grau de irritabilidade cutânea, baixa toxicidade, baixa sensibilidade aos aditivos (eletrólitos), maior grau de compatibilidade com substâncias diversas e menor sensibilidade às alterações de pH (ZANON, 2010; BALBINOT; AGNES, 2012).

5.4 ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “*IN VITRO*” DOS EXTRATOS

De acordo com os resultados da avaliação da atividade antimicrobiana “*in vitro*” dos extratos etanólicos das cascas de banana (*Musa paradisíaca*) pelo método da microdiluição, observou-se que os extratos apresentaram atividade inibitória frente às cepas bacterianas testadas conforme mostra Tabela 8.

Tabela 8. Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos quatro extratos etanólicos das cascas de banana (*Musa paradisíaca*) sobre bactérias gram-positivas e negativas –Técnica de microdiluição.

Extrato ($\mu\text{g/mL}$) / Microorganismos	<i>S. aureus</i> ATCC-25923	<i>S. aureus</i> LM-177	<i>S. epidermidis</i> ATCC- 12228	<i>P. aeruginosa</i> ATCC-25923	<i>P. aeruginosa</i> P-03	<i>B. subtilis</i> ATCC- 6633	<i>E. coli</i> ATCC- 10436	<i>E. Coli</i> EC-12
E1	512	512	512	1024	1024	512	1024	1024
E2	512	512	512	1024	1024	1024	1024	1024
E3	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024
E4	512	512	512	1024	1024	512	512	512
Controle do meio	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle da bactéria	+	+	+	+	+	+	+	+
Cloranfenicol/ 100 $\mu\text{g/mL}$	-	-	-	+	-	-	-	+

(+): Crescimento do micro-organismo (-): Ausência de crescimento do micro-organismo
Fonte: Dados da pesquisa.

O extrato etanólico da casca de banana (*M. paradisíaca*) do descarte (E1) obtido por maceração apresentou moderada atividade antimicrobiana com CIM de $512 \mu\text{g/mL}$ frente as cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis* e *B. subtilis*, correspondendo a inibição de 50% das cepas bacterianas do estudo.

Também podemos observar que o extrato etanólico da casca de banana (*M.paradisíaca*) da colheita obtido por turbólise (E4) demonstrou moderada atividade com CIM de $512 \mu\text{g/mL}$ frente as cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis* e cepas de *E.coli*, sendo capaz de inibir o correspondente a 75% das cepas bacterianas, demonstrando a melhor atividade inibitória frente as cepas bacterianas estudadas.

Nos resultados obtidos frente as cepas fúngicas, foi possível considerar que os extratos apresentaram boa a moderada atividade antimicrobiana com valores de CIM de 256 a 1024 $\mu\text{g/mL}$ frente às cepas de fungos leveduriformes e filamentosos em teste, como mostra Tabela 9.

Tabela 9. Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos quatro extratos etanólicos das cascas de banana (*Musa paradisíaca*) sobre fungos leveduriformes e filamentosos.

Extratos ($\mu\text{g/mL}$) / Microorganismos	<i>C. albicans</i> ATCC-76645	<i>C. tropicalis</i> LM-7	<i>C. tropicalis</i> ATCC-13803	<i>C. tropicalis</i> LM-64	<i>C. tropicalis</i> LM-7	<i>C. krusei</i> LM-978	<i>C. krusei</i> LM-08	<i>T. mentagrophytes</i> LM-02	<i>M. gypseum</i> LM-189
E1	256	256	256	256	256	256	512	1024	1024
E2	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	512	512
E3	512	512	1024	1024	+	+	1024	512	512
E4	+	+	1024	1024	+	+	+	512	512
Controle do meio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle fungos	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nistatina/ 100 UI/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluconazol/ 50 $\mu\text{g/mL}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+): Crescimento do micro-organismo (-): Ausência de crescimento do micro-organismo

Fonte: Dados da pesquisa.

Mediante os resultados da atividade antimicrobiana frente às cepas fúngicas testadas (Tabela 9), os extratos das cascas de banana (*M. paradisíaca*) obtidos por maceração (E1 e E2) foram capazes de inibir o crescimento das cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. Krusei*, *T. mentagrophytes* e *M. gypseum*, representando uma inibição de 100% das cepas utilizadas no teste. Além disso, E1 foi capaz de inibir o crescimento de 66,7% das cepas fúngicas com CIM de 256 $\mu\text{g/mL}$, corroborando com estudo de Karadi *et al.*(2011), no qual as cascas de *Musa paradisíaca* mostraram ação inibidora com grande potencial contra cepas fúngicas.

Verificou-se que o extrato (E4) apresentou melhor atividade inibitória frente às cepas bacterianas utilizadas no estudo, porém não se mostrou tão eficaz contra as cepas fúngicas, inibindo apenas 22,2% destas com CIM de 512 µg/mL.

Podemos observar que dependendo da técnica de extração, a atividade biológica do extrato pode ser afetada. Oliveira e colaboradores (2016) citam que o teor de metabólitos presentes pode ser diretamente afetado pelas técnicas de extração como também pela natureza do solvente extrator, podendo interferir em atividades biológicas e farmacológicas.

Iman e Akter (2011) relataram que o extrato de casca de banana (*Musa paradisiaca*) mostrou uma melhor atividade contra *Staphylococcus* (Gram-positivo) do que as espécies de *Pseudomonas* (Gram-negativo), onde a IC50 do extrato aquoso de casca da *M. paradisiaca* foi de 143,5 e 183,1 µg/ml contra espécies de *Staphylococcus* e *Pseudomonas*, respectivamente.

Comparando com os dados de Zafar *et al.* (2011), os extratos metanólicos das cascas da espécie de *Musa sapientum* também evidenciaram atividade antimicrobiana contra cepas Gram-positivas e Gram-negativas, assim como, contra as cepas fúngicas, o que nos sugere interpretar que as espécies de *Musa spp.* possuem atividade antimicrobiana.

A presença de atividade antibacteriana do extrato de cascas maduras e não maduras de banana (*M. paradisiaca*) sobre cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis* no trabalho realizado por Ighodaro (2012), sugere que o mesmo teria melhor propriedade antibacteriana do que antifúngica, no entanto a preparação do extrato foi através de maceração a frio, não podendo confirmar o resultado obtido com E4, por terem sido utilizadas técnicas extrativas diferentes, o que pode afetar os resultados da atividade biológica do extrato.

Contudo, o extrato da casca de banana (*M. paradisiaca*) do descarte obtido por maceração (E1) apresentou melhor atividade inibitória, pois conseguiu inibir tanto cepas bacterianas como fúngicas.

Observamos que os extratos das cascas de banana (*Musa paradisiaca*) do descarte e colheita apresentaram uma boa a moderada atividade antimicrobiana, com valores de CIM entre 256 a 1024 µg/mL frente as cepas estudadas, com diferenças quantitativas dependendo da técnica de extração e do grau de maturação do material vegetal utilizado, sendo o macerado das cascas de *M. paradisiaca* (descarte) mais sensível as cepas fúngicas, enquanto o extrato da turbólise das cascas de *M. paradisiaca* (colheita) mais sensível as cepas bacterianas.

Podemos inferir que a interação dos compostos nos extratos pode ter influenciado nos resultados, levando a perda ou diminuição da atividade biológica. (PAULETTI *et al.*, 2003).

Na grande maioria das vezes, por ser uma mistura de vários compostos, os extratos brutos acarretam a inibição ou diminuição do efeito do verdadeiro composto detentor da atividade, por isso, se faz necessário o isolamento dos compostos majoritários contidos nos extratos e a identificação do responsável pela atividade antimicrobiana (MIRANDA *et al.*, 2015).

As variações referentes à determinação da CIM de extratos de plantas podem ser atribuídas a vários fatores, como: a técnica aplicada, o microorganismo e a cepa utilizada no teste, à origem da planta, a época da coleta, se os extratos foram preparados a partir de plantas frescas ou secas e a quantidade de extrato testada (OSTROSKY *et al.*, 2008).

Fatores naturais também podem influenciar no metabolismo e na produção de metabólitos, como radiação solar, raios UV, solo, nutrientes e estação do ano e ainda fatores artificiais, como poluentes, que podem interferir fazendo com que a planta produza maior quantidade de metabólitos secundários, incluindo flavonoides, como mecanismo de defesa contra patógenos como vírus, bactérias, fungos e insetos (BECHO *et al.*, 2009). Estes fatores ambientais também influenciam nos resultados obtidos nos ensaios antimicrobianos.

Contudo, não existe método padronizado para expressar os resultados de testes antimicrobianos de produtos naturais (FENNEL *et al.*, 2004; OSTROSKY *et al.*, 2008), o que justifica os resultados encontradas no presente estudo, em relação às pesquisas publicadas acerca da atividade bacteriana e antifúngica de *M. paradisíaca*.

5.5 ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “*IN VITRO*” DAS FORMULAÇÕES

Com relação à atividade antimicrobiana das dezesseis formulações testadas, apenas as formulações F7, F13 e F15 foram capazes de inibir o crescimento das cepas fúngicas estudadas.

As formulações F7 e F15 inibiram o crescimento das cepas de *C.albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* com CIM entre 512 a 1024 µg/mL, representando uma inibição de 60% das cepas estudadas, enquanto F13 inibiu 80%.

Apenas a formulação F15 foi capaz de inibir o crescimento das cepas de *C. albicans* com CIM de 512 µg/mL.

Nenhuma formulação foi capaz de inibir o crescimento das cepas fúngicas filamentosas de *T. mentagrophytes* e *M. gypseum*, conforme Tabela 10.

Tabela 10. Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) das formulações com o extrato etanólico das cascas de banana (*Musa paradisiaca*) sobre fungos leveduriformes e filamentosos.

Formulações/ Micro-organismos	<i>C. albicans</i> ATCC-76645	<i>C. albicans</i> LM-120	<i>C. tropicalis</i> LM-7	<i>C. tropicalis</i> ATCC-13803	<i>C. tropicalis</i> LM-64	<i>C. tropicalis</i> LM-7	<i>C. krusei</i> LM-978	<i>C. krusei</i> LM-08	<i>T. mentagrophytes</i> LM-02	<i>M. gypseum</i> LM-189
F5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F7	1024	1024	+	+	1024	1024	1024	1024	+	+
F8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F13	1024	1024	1024	512	512	512	512	512	+	+
F14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F15	512	512	512	1024	1024	1024	+	+	+	+
F16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle do meio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle fungos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nistatina/ 100 UI/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluconazol/ 50 $\mu\text{g/mL}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+): Crescimento do micro-organismo (-): Ausência de crescimento do micro-organismo

Fonte: Dados da pesquisa.

Podemos observar que as 3 formulações que apresentaram atividade antimicrobiana foram incorporadas com extratos obtidos pela técnica de turbólise, sendo uma formulação de creme não iônico (F7) e duas de gel de natrosol (F13 e F15). As formulações contendo os extratos obtidos por maceração não apresentaram atividade antimicrobiana, diferentemente dos resultados observados na avaliação dos extratos de *M. paradisiaca*.

Porém, nenhuma formulação mostrou resultado satisfatório contra as cepas bacterianas em teste, como mostra Tabela 11.

Tabela 11. Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) das formulações com o extrato etanólico das cascas de banana (*Musa paradisiaca*) sobre bactérias gram-positivas e negativas

Formulações/ Micro-organismos	<i>S. aureus</i> ATCC-25923	<i>S. aureus</i> LM-177	<i>S. epidermidis</i> ATCC- 12228	<i>P. aeruginosa</i> ATCC-25923	<i>P. aeruginosa</i> P-03	<i>B. subtilis</i> ATCC- 6633	<i>E. coli</i> ATCC- 10436	<i>E. Coli</i> EC-12
F5	+	+	+	+	+	+	+	+
F6	+	+	+	+	+	+	+	+
F7	+	+	+	+	+	+	+	+
F8	+	+	+	+	+	+	+	+
F9	+	+	+	+	+	+	+	+
F10	+	+	+	+	+	+	+	+
F11	+	+	+	+	+	+	+	+
F12	+	+	+	+	+	+	+	+
F13	+	+	+	+	+	+	+	+
F14	+	+	+	+	+	+	+	+
F15	+	+	+	+	+	+	+	+
F16	+	+	+	+	+	+	+	+
F17	+	+	+	+	+	+	+	+
F18	+	+	+	+	+	+	+	+
F19	+	+	+	+	+	+	+	+
F20	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle do meio	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle da bactéria	+	+	+	+	+	+	+	+
Cloranfenicol/ 100 $\mu\text{g/mL}$	-	-	-	+	-	-	-	+

(+): Crescimento do micro-organismo (-): Ausência de crescimento do micro-organismo

Fonte: Dados da pesquisa.

O método de microdiluição consiste no preparo de diluições sucessivas do antimicrobiano a ser testado, em meios de cultura sólida ou líquida, onde o microorganismo é semeado e posteriormente incubado para verificar a menor concentração (maior diluição) do antimicrobiano que inibiu o crescimento do micro-organismo (CLSI, 2002; 2003). As vantagens desse método são proporcionar mais informações quantitativas e poder ser aplicado a uma variedade mais ampla de isolados do que as provas por difusão (KONEMAN *et al.*, 2001).

Podemos inferir que os excipientes da formulação podem ter interagido com os ativos presentes no extrato, ocasionando assim, a inativação das formulações com atividade antimicrobiana frente às cepas estudadas (BITTENCOURT *et al.*, 2014).

Devido a escassez de estudos de formulações com o extrato de cascas de *Musa paradisíaca*, a atividade antimicrobiana evidenciada nesse trabalho apenas pode ser correlacionada com o estudo realizado por Atzingen e colaboradores (2013), onde o gel da casca de *Musa Sapientum* (não madura) a 4% mostrou resultados satisfatórios na epitelização parcial e contração da ferida nos grupos estudados, como também com o trabalho de Lino *et al.*(2011); que descreve a atividade cicatrizante do gel de CMS com o extrato do epicarpo da *Musa sapientum L.* a 10%, sendo sua atividade relacionada aos taninos evidenciados.

A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada ativa ou não, conforme os seguintes critérios: 50-500 µg/mL= forte/ótima atividade; 500-1500 µg/mL= moderada atividade; >acima de 1500 µg/mL= fraca atividade ou produto inativo (SARTORATTO *et al.*, 2004; HOUGHTON *et al.*; 2007).

A atividade antimicrobiana das formulações, com valores de CIM entre 512 a 1024 µg/mL, foi considerada moderada (SARTORATTO *et al.*, 2004; HOUGHTON *et al.*, 2007), porém segundo Holetz *et al.*(2002), Sousa *et al.* (2015), Estevam *et al.* (2016), a atividade antimicrobiana dos produtos é considerada inativa com CIM > 1000 µg/mL.

Pôde-se concluir neste estudo que os extratos de cascas de banana (*M. Paradisíaca*) apresentaram atividade antimicrobiana como descritos em trabalhos anteriores, porém quando estes extratos foram incorporados as formulações preparadas ocorreu uma redução significativa desta atividade, sugerindo uma possível interação entre excipientes da formulação e os ativos dos extratos.

5.6 ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES

As amostras submetidas ao teste de estabilidade foram às formulações de gel natrosol com o extrato da casca de banana (*Musa paradisíaca*) do descarte obtido da turbólise na concentração de 5% (F13), devido sua atividade antimicrobiana ter sido considerada moderada com CIM de 512 µg/mL na avaliação *in vitro* em relação as demais formulações deste estudo.

TESTE DE ESTABILIDADE PRELIMINAR

Teste de Centrifugação

As amostras foram submetidas à centrifugação por 30 minutos a 3000rpm . Após o teste, apresentaram-se estáveis, não ocorrendo nenhuma alteração nas amostras, sendo classificadas como normal, conforme Tabela 12.

Tabela 12. Resultado das amostras submetidas ao teste de centrifugação.

Amostras	3000 rpm
GEL NATROSOL	N
GEL NATROSOL COM EXTRATO 5%	N

N= Normal. Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Embora observado nas amostras a não ocorrência de separação de fases, esse resultado não assegura sua estabilidade, somente indica que o produto pode ser submetido aos testes de estabilidade acelerada, sem necessidade de reformulação (ISAAC *et al.*, 2008).

Teste de Estresse térmico

As formulações submetidas ao estresse térmico (Figura 7) mantiveram-se estáveis, suportando as temperaturas de 30, 40, 50, 60, 70 e 80°C a que foram submetidas, sendo cada formulação classificada como normal (Tabela 13), não apresentando separação de fases, conforme mostram as Figuras 8, 9, 10, 11 e 12.

Tabela 13. Resultado das amostras submetidas ao estresse térmico.

Amostras	Estresse Térmico				
	40° C	50° C	60° C	70° C	80° C
GEL NATROSOL	N	N	N	N	N
GEL NATROSOL COM EXTRATO 5%	N	N	N	N	N

N= Normal. Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Figura 7. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico.

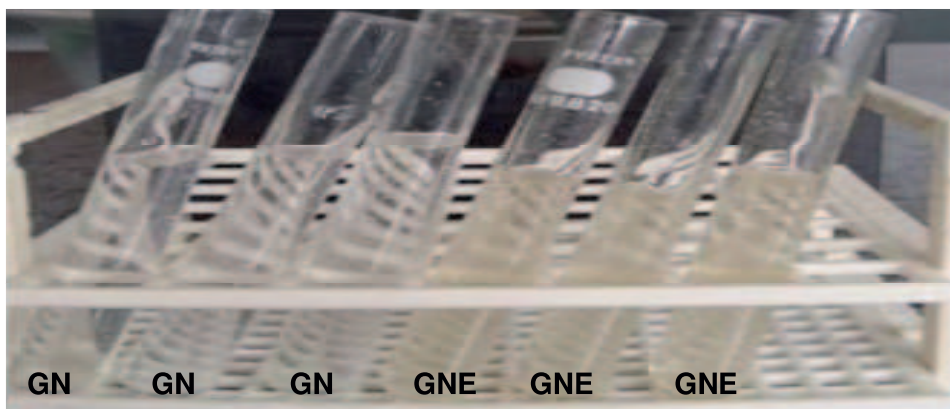
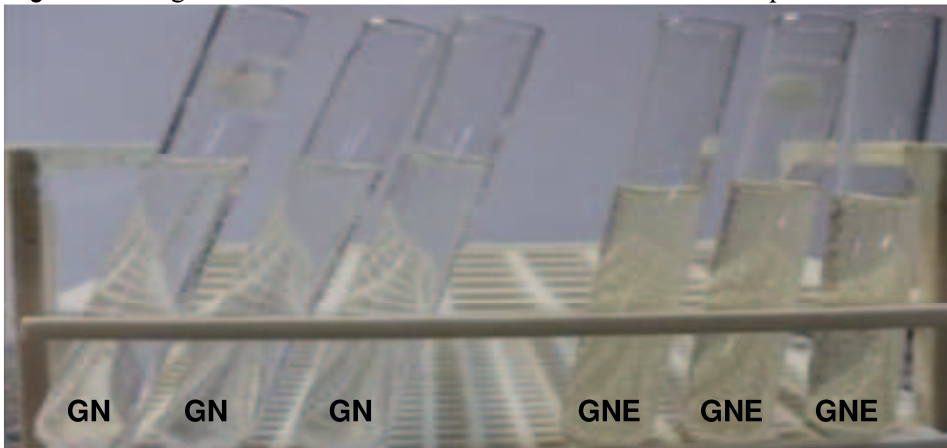
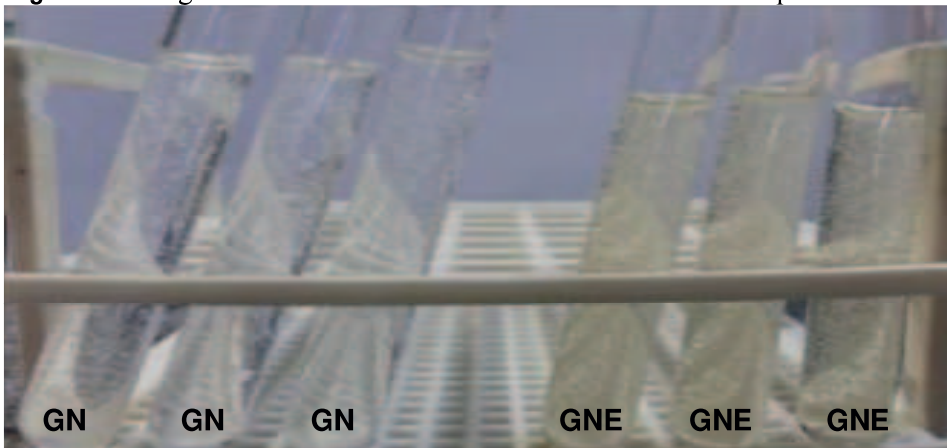


Figura 8. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico após 40°C.



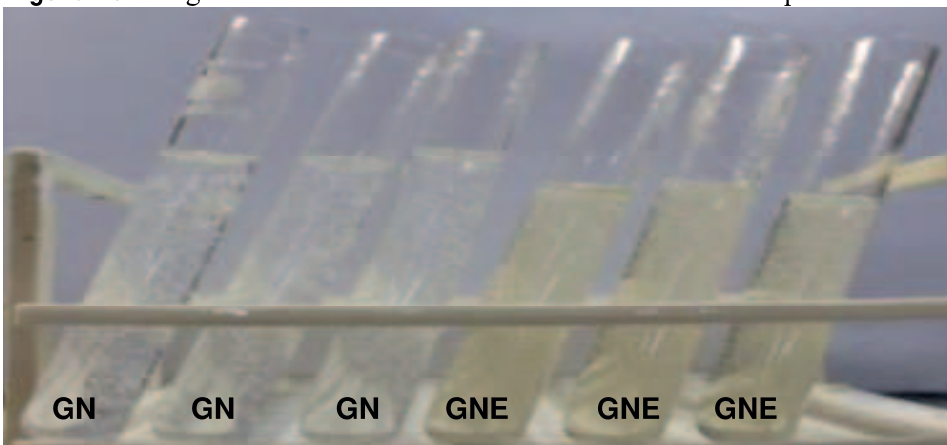
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 9. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico após 50°C.



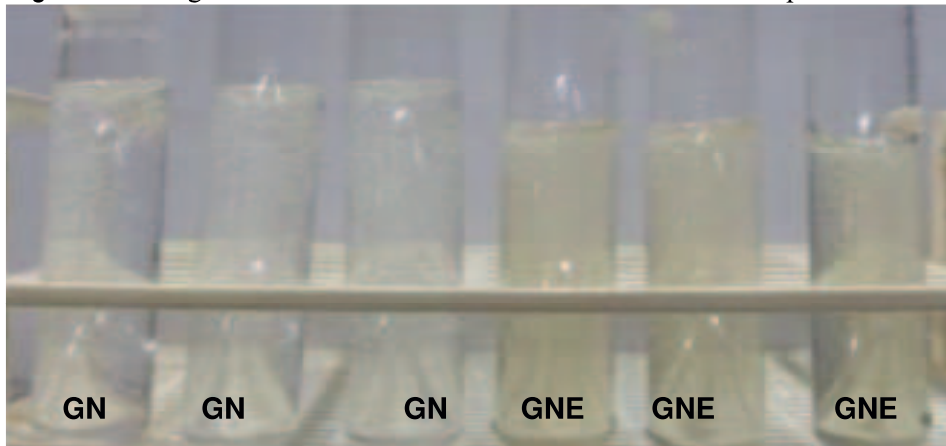
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 10. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico após 60°C.



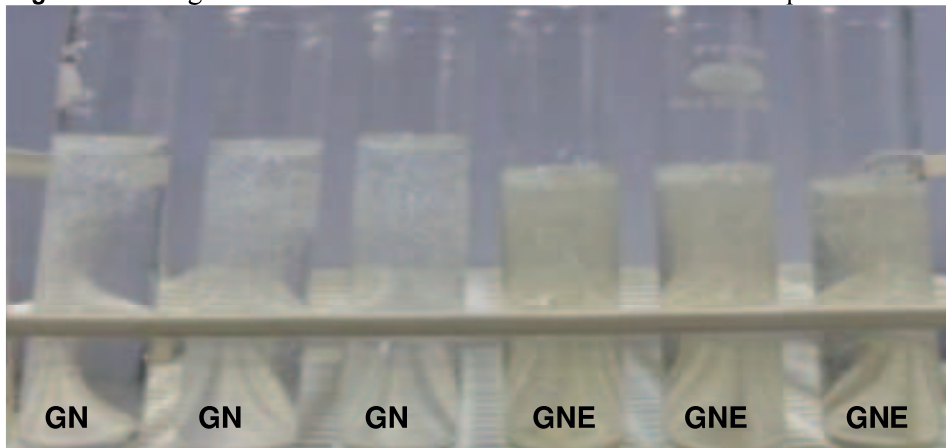
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 11. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico após 70°C.



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 12. Imagem das amostras submetidas ao estresse térmico após 80°C.



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Ciclo congela-degela

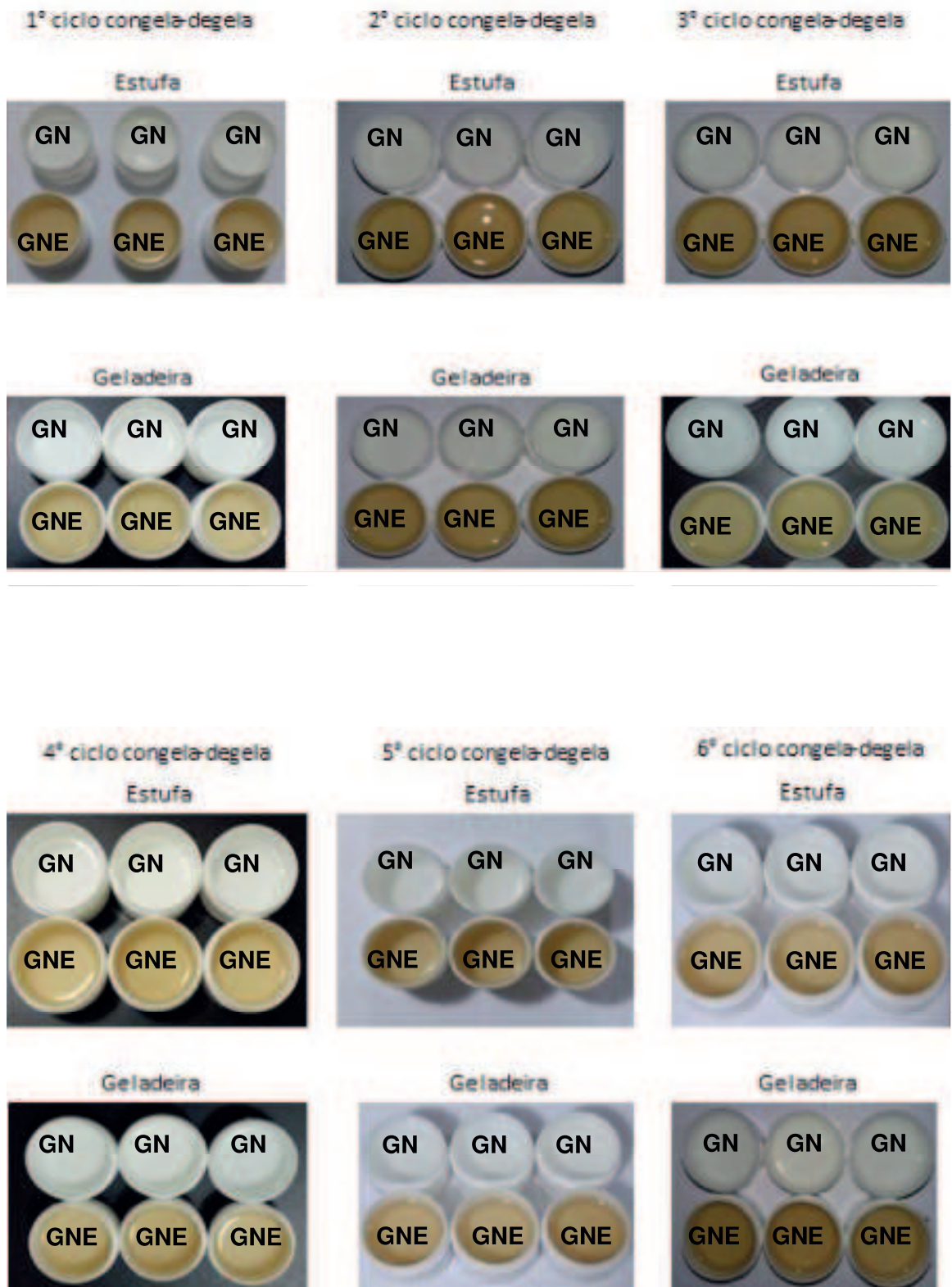
Em relação às características organolépticas, as formulações apresentaram-se aparentemente homogêneas, com coloração incolor (Gel natrosol) e amarela/alaranjada (Gel com o extrato) e com odor característico da banana, sendo consideradas com aspecto normal em todo o período de estudo do ciclo de congela-degela, conforme mostra os resultados na Tabela 14 e Figura 13.

Tabela 14. Resultados das amostras submetidas ao ciclo de congela-degela.

Amostras/ Ciclos	1°	2°	3°	4°	5°	6°
GEL NATROSOL	N	N	N	N	N	N
GEL NATROSOL COM EXTRATO 5%	N	N	N	N	N	N

N= Normal. Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Figura 13. Imagens das amostras no ciclo congela e degela no períodos de 12 dias (6 ciclos).



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

TESTE DE ESTABILIDADE PRELIMINAR ACELERADA

Avaliação das características organolépticas

As amostras de Gel natrosol (GN) e Gel natrosol com extrato a 5% (GNE), foram armazenadas em triplicata à temperatura ambiente (24 ± 3 °C), estufa (45 °C) e geladeira (5 °C). As avaliações das características organolépticas foram realizadas nos tempos 0, 15, 30 e 60 dias.

Como mostra Tabela 15 e Figuras 14, 15, 16 e 17, não houve alteração quanto o aspecto e a cor que foram avaliados visualmente e o odor diretamente através do olfato (BRASIL, 2004).

Tabela 15. Resultados das características organolépticas das amostras em 0, 15, 30 e 60 dias.

Características Organolépticas	GELADEIRA				T.AMBIENTE				ESTUFA			
	0	15	30	60	0	15	30	60	0	15	30	60
GN	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
GNE	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

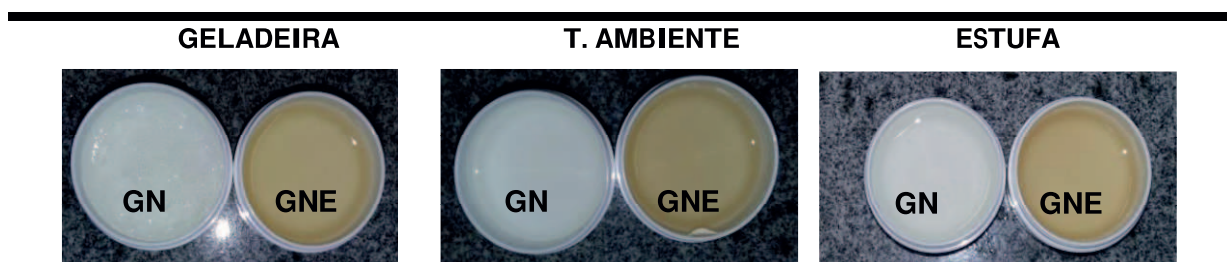
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%, N= Normal. Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Figura 14. Amostras submetidas à avaliação de suas características organolépticas no tempo de 0 dias.



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 15. Amostras submetidas à avaliação de suas características organolépticas no tempo de 15 dias.



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 16. Amostras submetidas à avaliação de suas características organolépticas no tempo de **30 dias**.

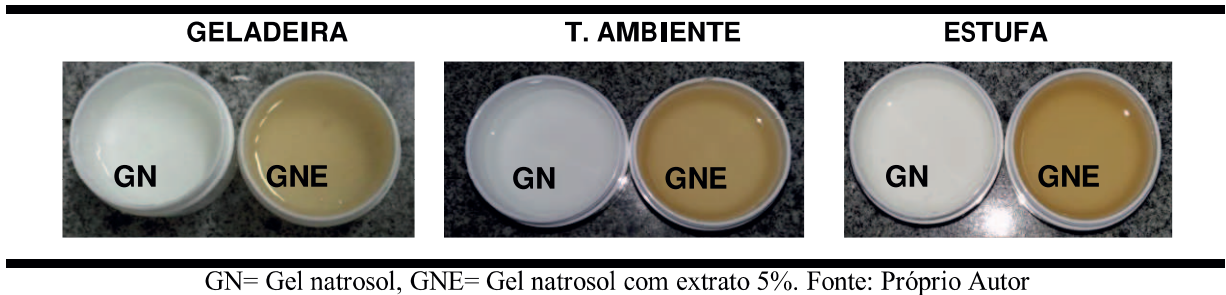
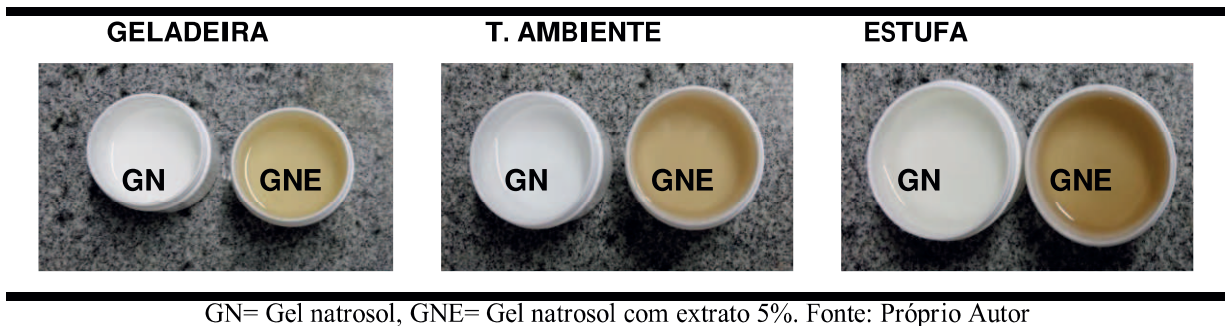


Figura 17. Amostras submetidas à avaliação de suas características organolépticas no tempo de **60 dias**.



Conforme os resultados, às características organolépticas das formulações na estabilidade preliminar acelerada apresentaram-se também homogêneas, com coloração incolor do Gel natrosol (GN) e coloração amarela/alaranjada do Gel com o extrato (GNE) e odor característico da banana, com aspecto normal em todo o período de estudo de 60 dias.

Determinação do pH

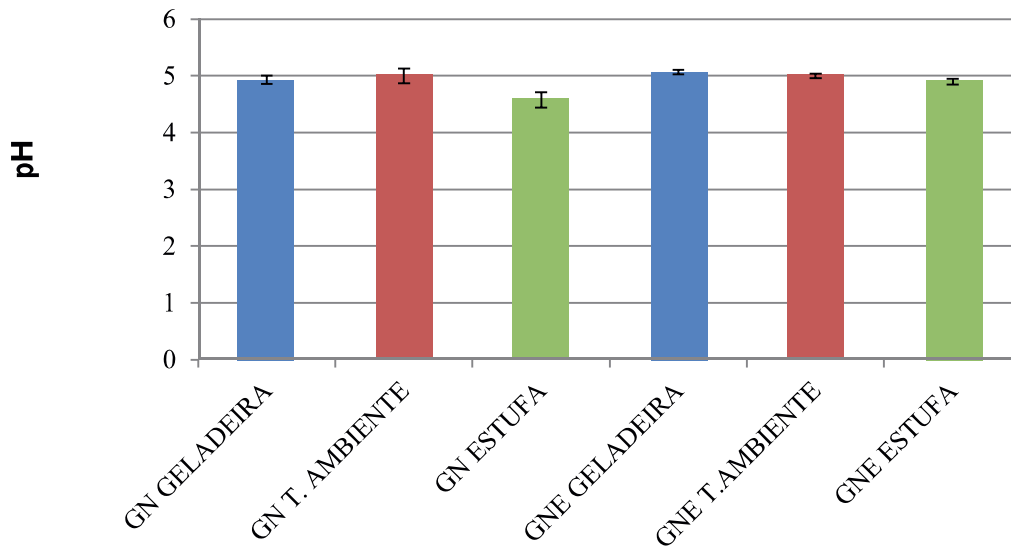
Avaliar o pH da formulação é importante devido a variação de pH poder modificar as características físico-químicas do fármaco veiculado, e conseqüentemente influenciar a estabilidade, biodisponibilidade e biocompatibilidade, comprometendo a segurança e eficácia terapêutica da formulação (BRASIL, 2004).

Com relação aos resultados dos valores de pH das amostras (Tabela 16) apresentaram algumas alterações no decorrer do tempo frente às condições de temperatura pré-estabelecidas, como mostra as Figuras 18, 19, 20 e 21.

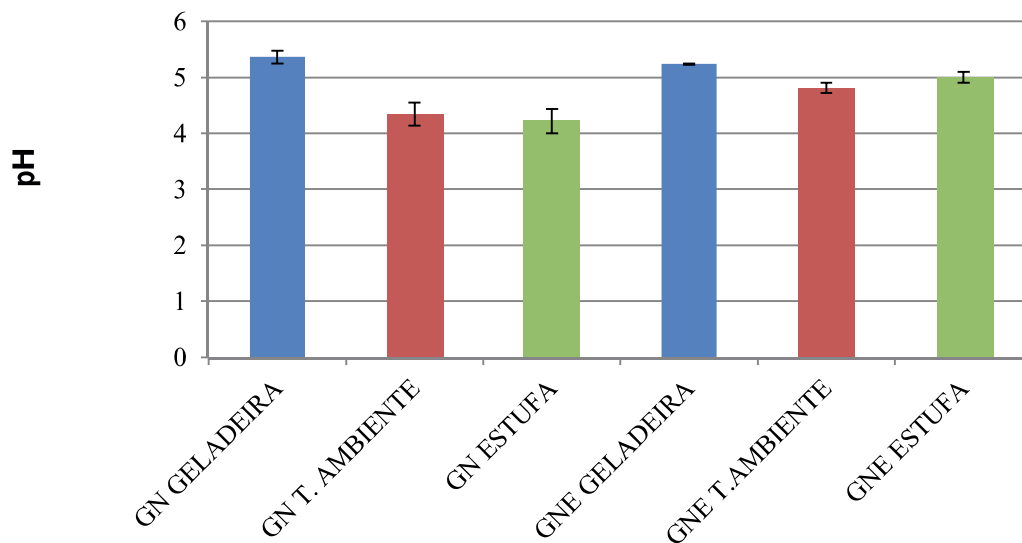
Tabela 16. Média dos valores do pH das amostras durante o período de 60 dias.

pH	GELADEIRA				T.AMBIENTE				ESTUFA			
	0	15	30	60	0	15	30	60	0	15	30	60
GN	5,34	5,36	4,93	5,61	5,55	4,34	4,99	5,37	5,03	4,22	4,6	5,03
GNE	5,13	5,24	5,07	5,35	5,57	4,81	5,00	5,15	5,24	5,00	4,9	4,99

GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%, N= Normal. Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Figura 18. Perfil da média e desvio padrão do pH das amostras no período de 0 dias.

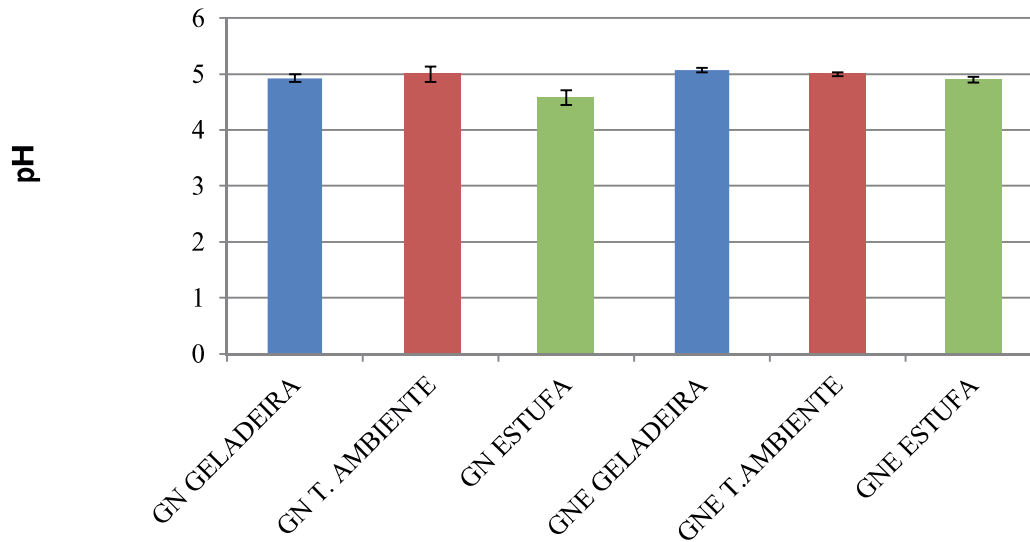
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 19. Perfil da média aritmética do pH das amostras no período de 15 dias.

GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

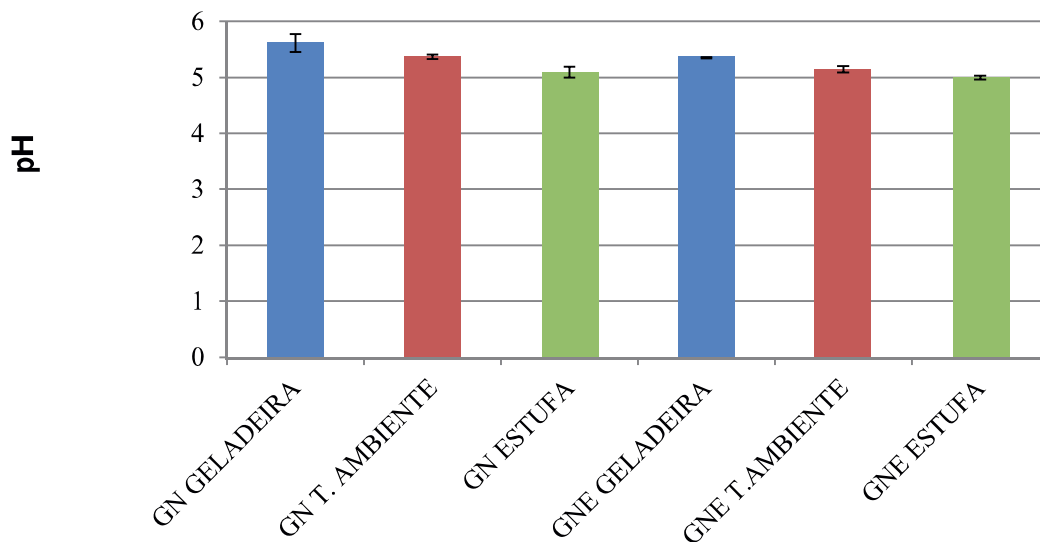
Observamos que o pH das amostras do GNE acondicionada na temperatura ambiente mostrou alteração apenas entre o período de 0 dias (5,57) e 15 dias (4,81), depois manteve-se constante em torno de 5,0 até o período analisado de 60 dias, demonstrando boa estabilidade físico-química.

Figura 20. Perfil da média aritmética do pH das amostras no período de **30 dias**.



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 21. Perfil da média aritmética do pH das amostras no período de **60 dias**.



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Mediante resultados verificamos que o pH das amostras analisadas manteve-se dentro da faixa de pH fisiológico da pele, levemente ácido (4,6 – 5,8) (LEONARDI; GASPAR; CAMPOS, 2002).

Determinação da viscosidade

As amostras apresentaram alterações da viscosidade aparente nas 3 condições as quais foram submetidas durante os períodos pré-estabelecidos de 0,15,30 e 60 dias (Tabela 17).

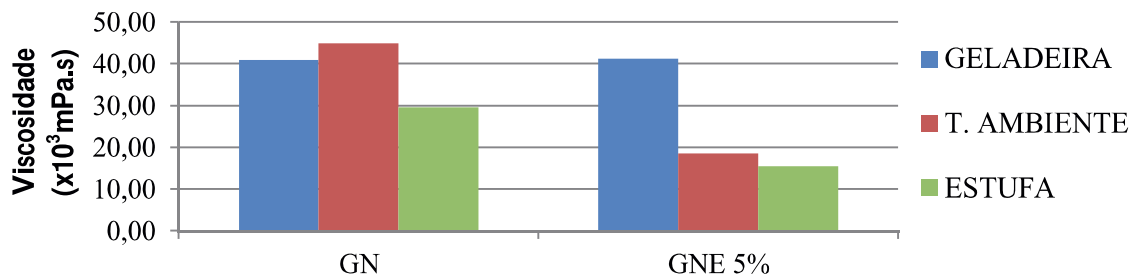
Tabela 17. Valores da viscosidade ($\times 10^3$ mPa.s) das amostras durante o período de 60 dias.

Viscosidade	GELADEIRA				T.AMBIENTE				ESTUFA			
	0	15	30	60	0	15	30	60	0	15	30	60
GN	40,91	28,73	16,13	45,87	44,91	44,41	45,65	45,31	29,53	43,63	70,17	92,28
GNE	41,27	29,65	29,22	30,75	18,51	28,26	28,72	28,91	15,52	29,06	28,82	46,98

GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

No período de 0 dias, conforme mostra Figura 22, o GNE apresentou valores menores que o GN, tanto na temperatura ambiente como na estufa, enquanto que na temperatura de 5 °C não apresentaram variação no valor da viscosidade.

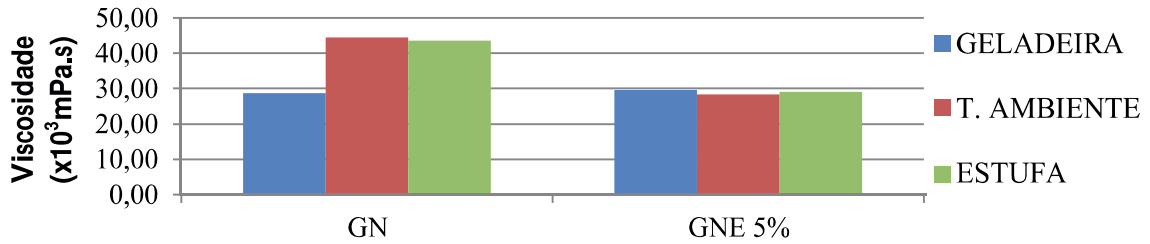
Figura 22. Perfil da média aritmética da viscosidade das amostras no período de 0 dias.



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

No período de 15 dias, a viscosidade das amostras aumentou nas condições de temperatura ambiente e da estufa, enquanto que na temperatura de geladeira a viscosidade diminuiu, conforme mostra Figura 23.

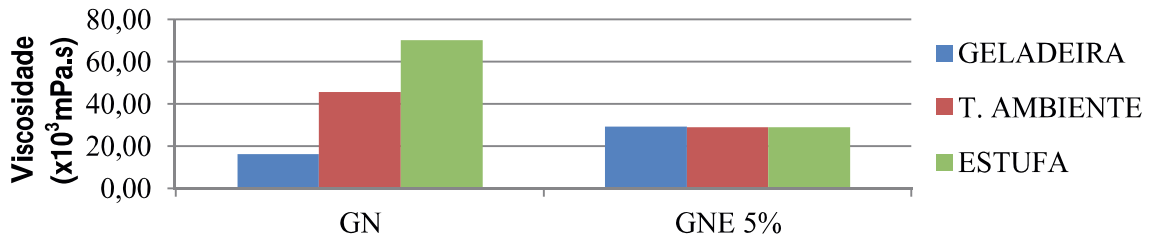
Figura 23. Perfil da média aritmética da viscosidade das amostras no período de **15 dias**.



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

No período de 30 dias, a viscosidade do GNE manteve-se a mesma do período anterior, porém o GN apresentou diminuição da viscosidade na temperatura de 5 °C e aumento na temperatura de 45 °C, conforme mostra Figura 24.

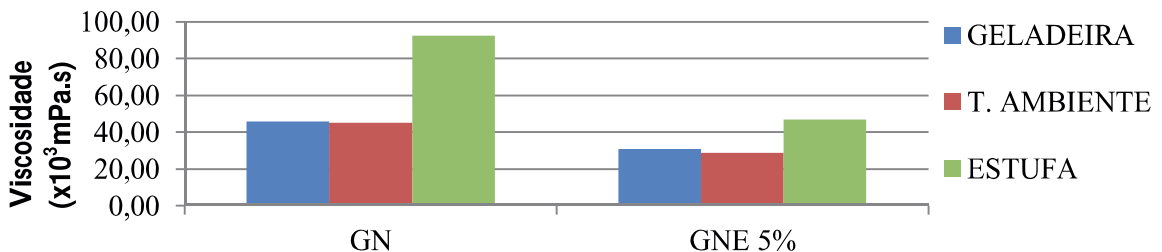
Figura 24. Perfil da média aritmética da viscosidade das amostras no período de **30 dias**.



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

No período de 60 dias, a amostra GN da geladeira e da estufa sofre um aumento na viscosidade, enquanto a da temperatura ambiente permanece inalterada. Entretanto, a amostra GNE da estufa sofre aumento da viscosidade (Figura 25).

Figura 25. Perfil da média aritmética da viscosidade das amostras no período de **60 dias**.



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Contudo, podemos observar que a viscosidade das amostras do GNE acondicionada na temperatura ambiente mostrou alteração apenas entre o período de 0 dias ($18,51 \times 10^3$ mPas) a 15 dias ($28,26 \times 10^3$ mPas), depois manteve-se constante em torno de $28,81 \times 10^3$ mPas até o período analisado de 60 dias, demonstrando boa estabilidade física.

A determinação da viscosidade das amostras realizada nos períodos pré-estabelecidos serviu como parâmetro adicional na avaliação de alterações físicas nas formulações em estudo, pois quanto menor a viscosidade, maior será a facilidade de aplicação (MELO *et al.*, 2013).

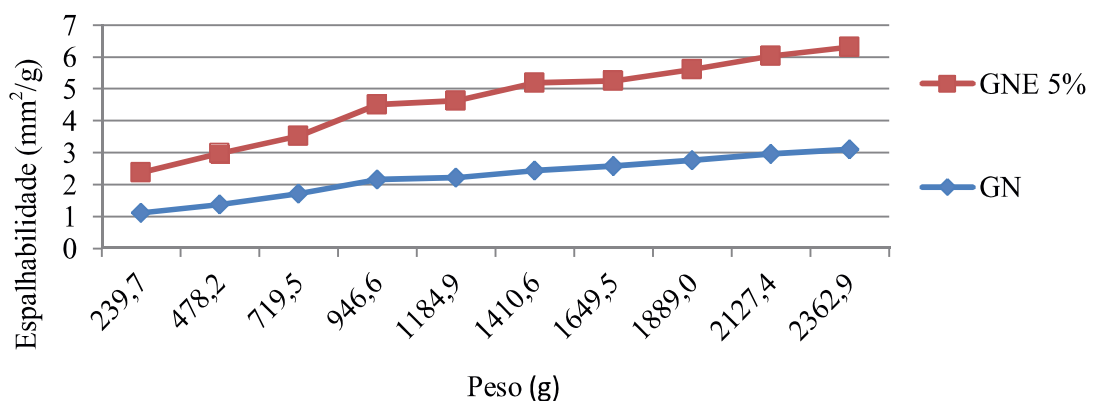
Espalhabilidade

A determinação da espalhabilidade junto com a viscosidade serviu para avaliar alterações nas características reológicas da formulação durante o estudo.

A representação gráfica da espalhabilidade do Gel natrosol (GN) e do Gel com extrato a 5% (GNE), em função da massa aplicada revelou comportamentos semelhantes nas diferentes condições a que foram submetidas, conforme Figuras abaixo.

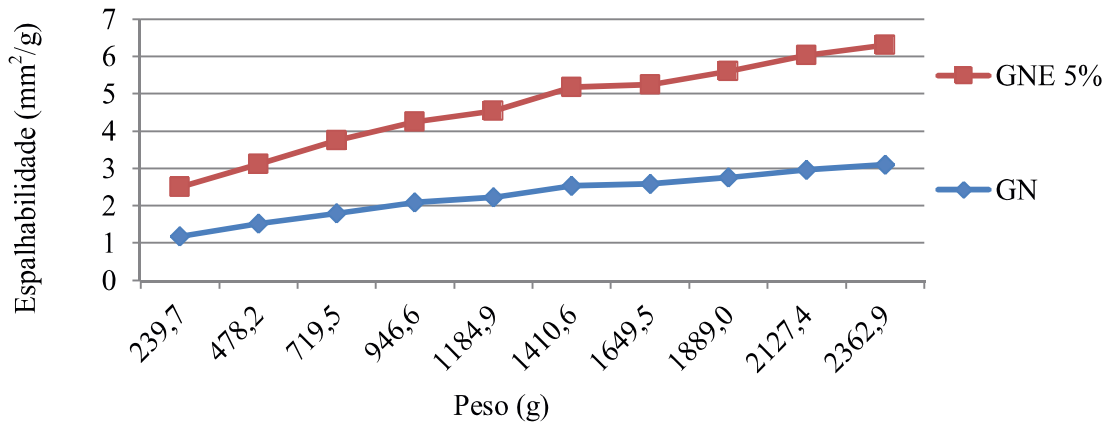
Observando as figuras pode-se verificar que as amostras de Gel natrosol com o extrato a 5% mostrou boa espalhabilidade nas temperaturas pré-definidas no decorrer do tempo estudado de 60 dias.

Figura 26. Espalhabilidade das amostras no **T0 dias** na temperatura de **ambiente** ($T = 24 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$).



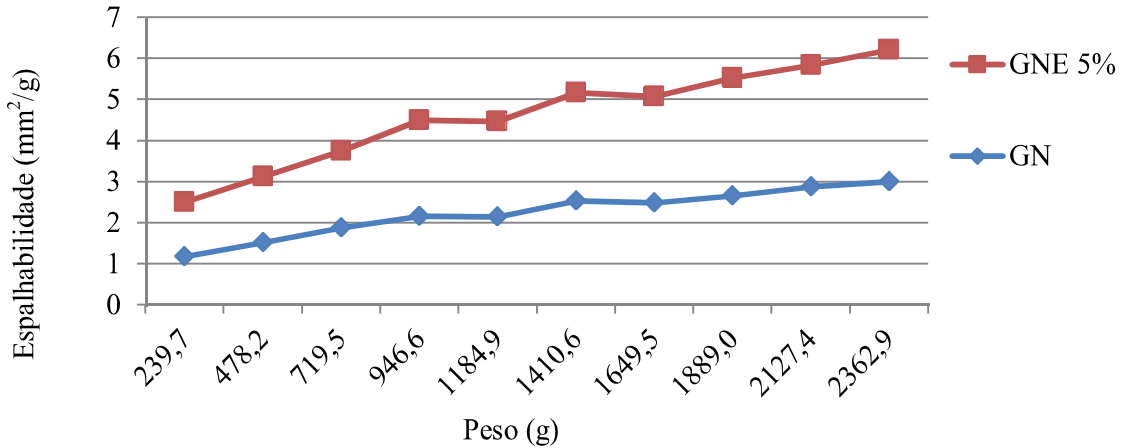
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 27. Espalhabilidade das amostras no **T15 dias** na temperatura de **ambiente** ($T= 24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$).



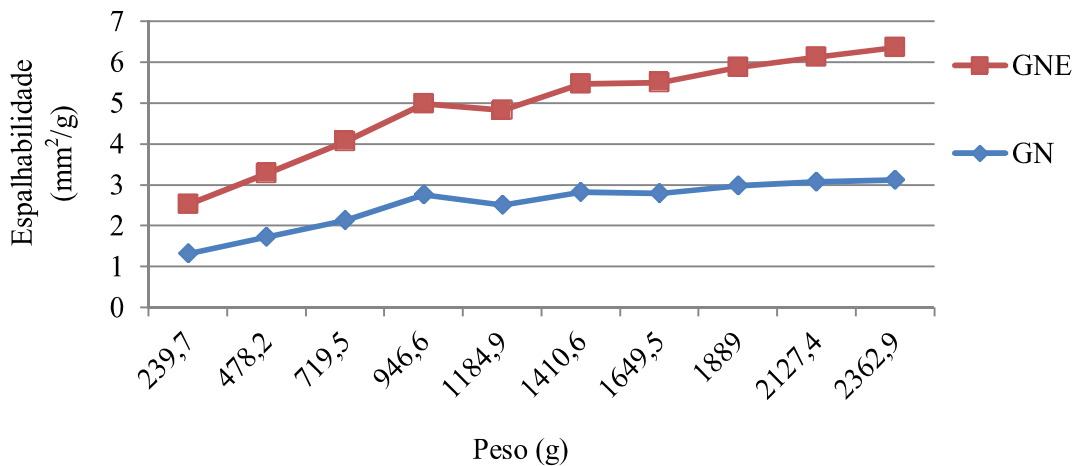
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 28. Espalhabilidade das amostras no **T30 dias** na temperatura **ambiente** ($T= 24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$).



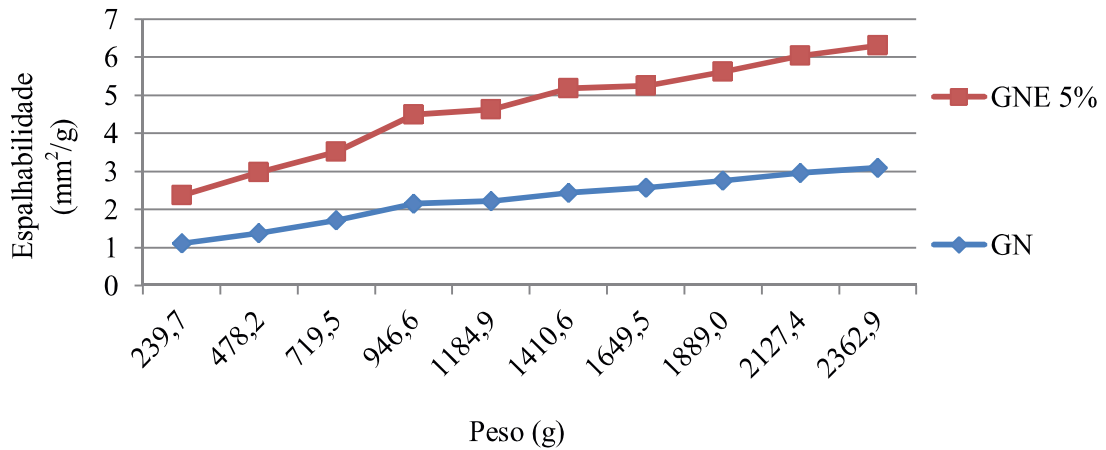
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 29. Espalhabilidade das amostras no **T60 dias** na temperatura de **ambiente** ($T= 24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$).



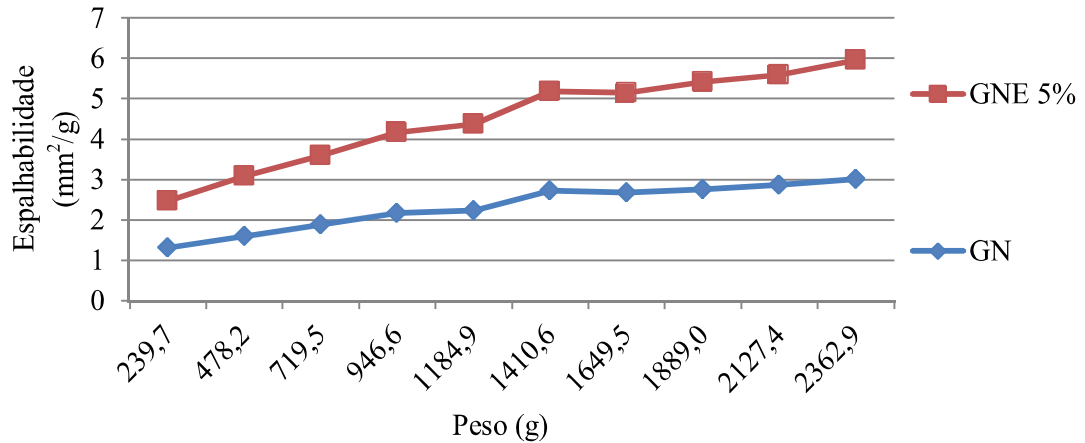
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 30. Espalhabilidade das amostras no **T0 dias** na temperatura de **geladeira** ($T= 5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).



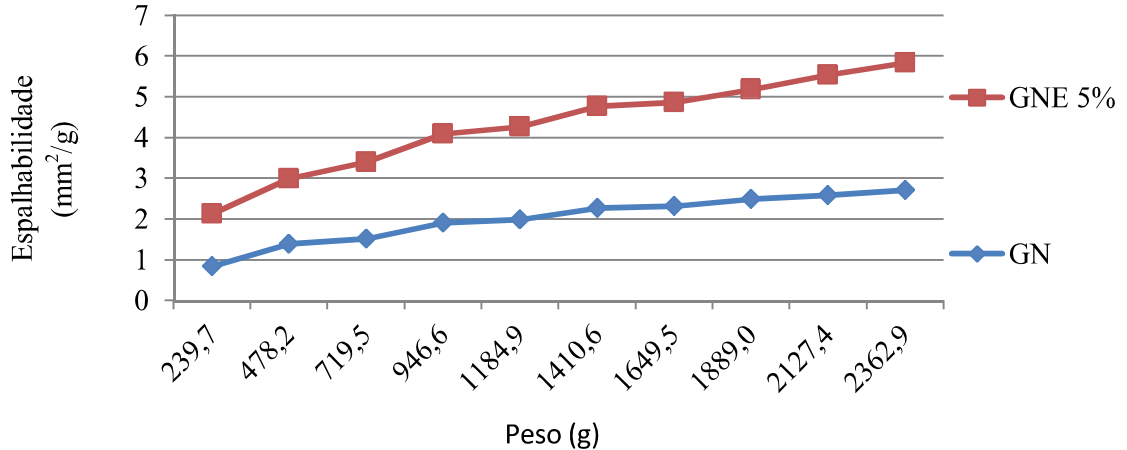
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 31. Espalhabilidade das amostras no **T15 dias** na temperatura de **geladeira** ($T= 5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).



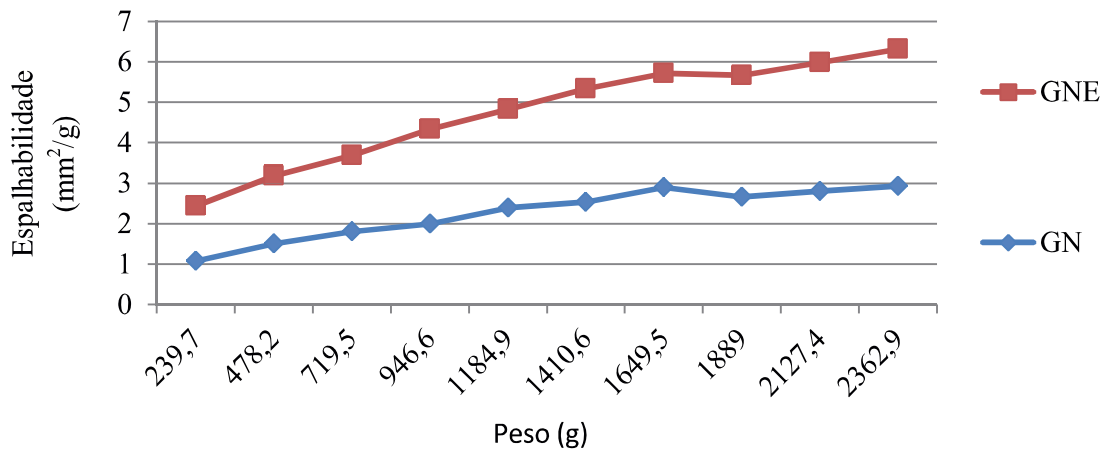
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 32. Espalhabilidade das amostras no **T30 dias** na temperatura de **geladeira** ($T= 5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).



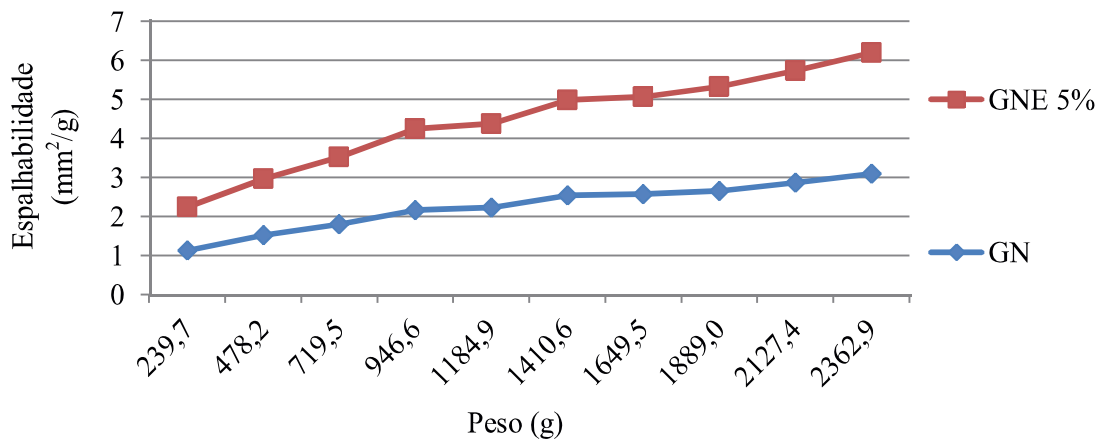
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 33. Espalhabilidade das amostras no **T60 dias** na temperatura de **geladeira** ($T= 5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).



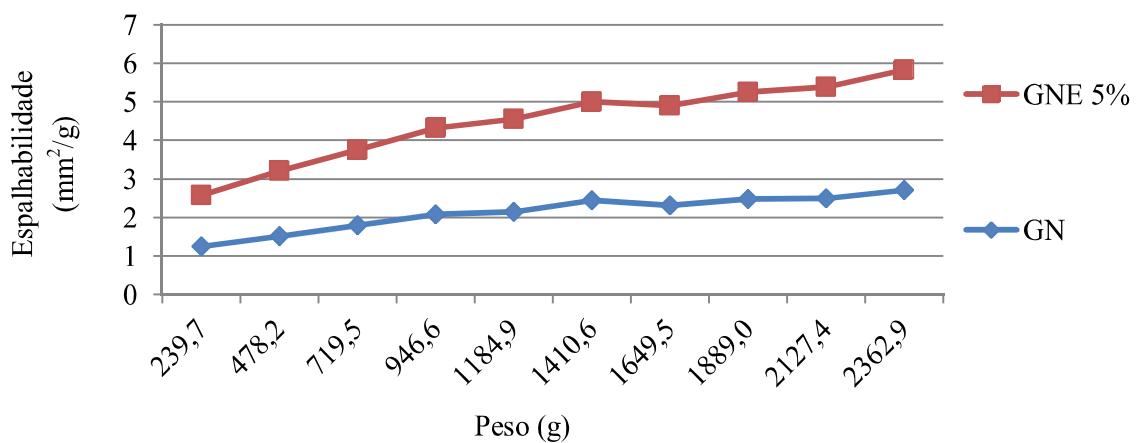
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 34. Espalhabilidade das amostras no **T0 dias** na temperatura de **estufa** ($T= 45^\circ\text{C}$).



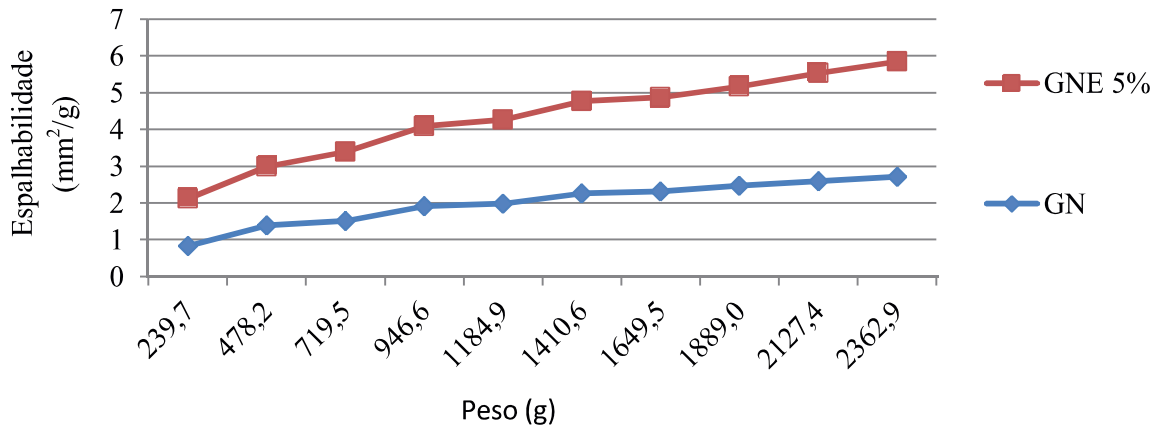
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 35. Espalhabilidade das amostras no **T15 dias** na temperatura de **estufa** ($T= 45^\circ\text{C}$).



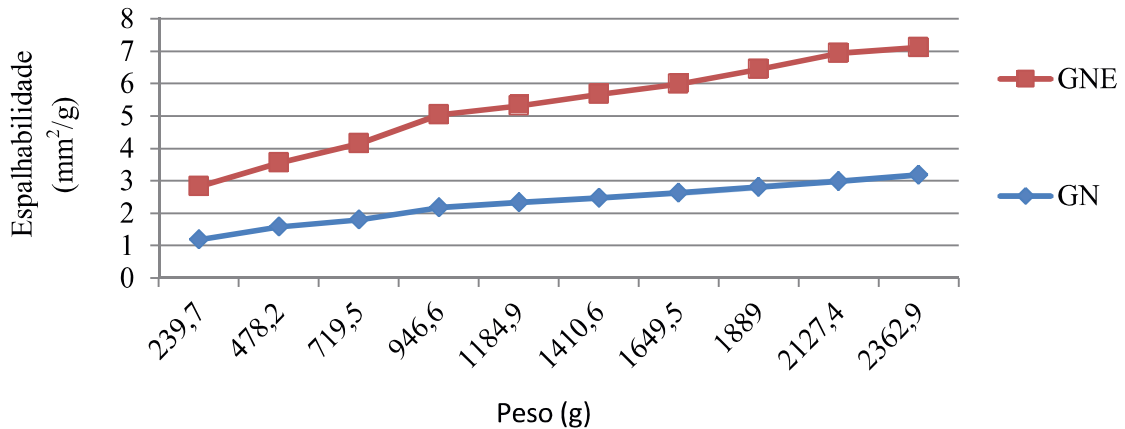
GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 36. Espalhabilidade das amostras no **T30 dias** na temperatura de **estufa** (T= 45 °C).



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Figura 37. Espalhabilidade das amostras no **T60 dias** na temperatura de **estufa** (T= 45 °C).



GN= Gel natrosol, GNE= Gel natrosol com extrato 5%. Fonte: Próprio Autor

Esse teste de espalhabilidade é um teste que se baseia na resistência ao movimento forçado. Os resultados correspondem à relação entre a área de espalhamento com a força aplicada sobre o produto e o esforço limite, relação que corresponde ao fator de espalhabilidade.

O resultado da espalhabilidade foi concordante com os demais resultados dos testes de estabilidade preliminar, demonstrando que a formulação apresentou uma boa capacidade de absorção do extrato etanólico como também de aplicação.

Os testes de estabilidade revelaram que o extrato se incorporou bem na base de gel natrosol escolhida e que as características físico-químicas da formulação mostraram-se normais ao teste.

Esse estudo preliminar indica que é promissora a perspectiva de utilização do extrato de cascas de banana (*Musa paradisiaca*) para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos à base de produtos naturais.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições experimentais utilizadas neste trabalho podemos concluir que:

- ✓ Dos 4 extratos preparados com as cascas de banana (*Musa paradisiaca*) a partir da maceração e turbólise, foi evidenciado a presença de flavonoides e terpenos, sendo a rutina evidenciada nos extratos (E1 a E4) confirmada através da quantificação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Detector de Arranjo de Fotodiodos (CLAE-DAD).
- ✓ Pela técnica da CIM, o extrato das cascas de banana (*Musa paradisiaca*) do descarte obtido por maceração (E1) produziu boa atividade antimicrobiana com CIM de 256 µg/mL inibindo o crescimento das cepas fúngicas de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. Krusei* como também produziu moderada atividade com CIM de 512 µg/mL inibindo o crescimento das cepas bacterianas *S. aureus*, *S. epidermidis* e *B. subtilis*.
- ✓ A partir da determinação da CIM das formulações, estas não apresentaram nenhuma atividade inibitória sobre as cepas bacterianas, apenas sobre as cepas fúngicas, sendo F13 capaz de inibir as cepas de *C. tropicalis* e *C. krusei*, e a F15 apenas as cepas de *C. albicans*, ambas com CIM de 512 µg/mL. A formulação de gel natrosol com o extrato da turbólise das cascas secas de banana (*M. paradisiaca*) do descarte (F13) inibiram o crescimento de 50% das cepas fúngicas com valores da CIM de 512 µg/mL.
- ✓ O estudo de estabilidade realizado no período de 60 dias com a formulação de gel natrosol com o extrato a 5% obtido da turbólise das cascas de banana (*Musa paradisiaca*) do descarte demonstrou boa estabilidade físico-química da formulação testada, frente as condições de temperatura e tempo estabelecidas.
- ✓ Os dados deste trabalho direcionam futuros estudos com as cascas de banana (*Musa Paradisiaca*) na busca do desenvolvimento de formulações com produtos de descarte, como perspectivas futuras pretendemos realizar um estudo de compatibilidade entre os componentes da formulação e o extrato de cascas de banana (*M. paradisiaca*) por calorimetria exploratória diferencial e também realizar os estudos de atividade antimicrobiana dos extratos obtidos em conjunto com os antimicrobianos de referencia usados no mercado para tentar identificar uma ação sinérgica no efeito antimicrobiano dos extratos obtidos.

REFERÊNCIAS

- ABE, R.; OHTANI, K. An ethno botanical study of medicinal plants and traditional therapies on Batan Island, the Philippines. **Journal of Ethno pharmacology**, v.145, p.554–565, 2013.
- ACCIOLY, M. P. **Atividade leishmanicida in vitro de frações de Spondias mombin e Musa paradisíaca sobre Leishmania chagasi**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2009.
- AGARWAL, P.K. et al. Evaluation of wound healing activity of extracts of plantain banana (*Musa sapientum* var. *paradisíaca*) in rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.47, p.322-40, 2009.
- AIYEGORO, O.A.; AFOLAYAN, A.J.; OKOH, A.I. *In vitro* antibacterial time kill Studies of Leaves extracts of *Helichrysum longifolium*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 6, p. 462-467, 2009.
- ALENCAR et al. Efeito modulador do extrato de plantas medicinais do gênero *Spondias* sobre a resistência de cepas de *Staphylococcus aureus* à Eritromicina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.36, n.1, p.111-116, 2015.
- ALLEN JR, L.V. Art, science and technology of pharmaceutical compounding. Washington DC: **American Public Health Association**; 1998.
- AMEEN, M. Epidemiology of superficial fungal infections. **Clinics in Dermatology**, v.28, n. 2, p. 197-201, 2010.
- ANTUNES, R.M.P. et al. Atividade antimicrobiana “*in vitro*” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 517-524, 2006.
- ARIF, T., MANDAL, T.K., DABUR, R. Natural products: Anti – fungal agents derived from plants. **Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry**, v. 81, p. 283 – 311, 2011.
- ARRAIS, L.G. et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de *Croton pulegioides* Baill. (Zabelê). **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, Botucatu, v. 16, n. 2, supl. 1, p. 316-322, 2014.
- ASKARI, G.A. et al. Evaluation of Antimicrobial Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of Leaves of *Vitis vinifera* Collected from Different Regions in Morocco. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**. v.12, n.1, p.85-90, 2012.
- ATZINGEN, D.A.N.C.V. et al. Unripe *Musa sapientum* peel in the healing of surgical wounds in rat. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 28, p. 33– 38, 2013.
- AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 677p.

BABY, A.R. et al. Estabilidade e estudo de penetração cutânea *in vitro* da rutina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.2, p. 233-248, 2008.

BALANDRIN, M.F. et al. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. **Science**, v. 228, n.4704, p. 1154-60, 1985.

BALBACH, A.; BOARIM, D.S.F. **As frutas na medicina natural**. São Paulo: Vida Plena, 1992.

BALBINOT, F.; AGNES, E. J. **Avaliação da estabilidade físico-química de emulsões contendo associação de ácido glicólico e hidroquinona**. 2012. 18 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2012.

BANKAR, A. et al. Banana peel extract mediated synthesis of gold nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 80, n.1, p. 45-50, 2010.

BANKAR, A. et al. Banana peel extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 368, n.1, p. 58-63, 2010.

BECHO, J.R.M. ; MACHADO, H.; GUERRA, M.O. Rutina – estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v. 1, n.1, p. 21-25, 2009.

BITTENCOURT, F. O. et al. Avaliação da atividade antifúngica de formulações semisólidas contendo extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena**, v.10, n.10, 2014.

BORGHETTI, G.S.; KNORST, M.T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de ciências farmacêuticas**, v.42, n.4, p.531-537, 2006.

BRANDÃO, M. G. L. et al. Influence of Brazilian herbal regulations on the use and conservation of native medicinal plants. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 164, p. 369-377, 2010.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência de Investigação e Prevenção das Infecções e dos Eventos. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. Módulo: Principais Síndromes Infeciosas, 2004, p.12-14.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência Geral de cosméticos. **Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos: Uma Abordagem Sobre os Ensaios Físicos e Químicos**. 2 ed. Brasília, 2008, 120p.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência Geral de cosméticos. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Séries temáticas 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia_series.htm>. Acesso em Jan. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégico. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinal e fitoterápico**. Brasília, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A Fitoterapia no SUS e o programa de plantas medicinais da central de medicamentos**. Brasília, 2006b.

BRASIL. **Formulário nacional da Farmacopeia Brasileira**. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2.ed. Brasília: Anvisa, 2012. 224 p.

BROWN, D. G.; LISTER, T.; MAY-DRACKA, T. L. New natural products as new leads for antibacterial drug discovery. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, n. 2, p. 413–418, 2014.

BUGNOTTO, C. et al. Estudo de estabilidade de formulação tópica contendo própolis. **Disc Scientia**. Série: Ciências da saúde, Santa Maria. v.7, n.1, p.1-12, 2006.

BUHLER F. V, FERREIRA J.R.N. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações contendo extratos de *Ilex paraguariensis* St. Hil. a 5 e 10%. **Revista Perspectiva.**, v.32, p. 47-55, 2008.

CALIXTO, J.B. **Biodiversidade como fonte de medicamentos**. Ciência e Cultura., v.55, n.3, p.37-39, 2003.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin América. A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p.131-134, 2005.

CATÃO, et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” do extrato etanólico de *Punica granatum Linn.* (romã) sobre cepas de isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.38, n.2, p. 111-114, 2006.

CATÃO, R.M.R. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e de feitos biológicos de riparinas sobre eliminação de resistência a drogas em amostras de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.42, p.9-14, 2010.

CASTELI, V.C. et al. Desenvolvimento e estudos de estabilidade preliminares de emulsoes O/A contendo Cetoconazol 2,0%. **Acta Scientiarum. Health Sciences.**, v.30, n.2, p.121-128, 2008.

CEPA – Centro de Socieconomia e Planejamento Agrícola, Epagri, governo do estado de Santa Catarina. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina – 2008-2009**. Disponível em: <www.cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/sintese_2009/banana_2010.pdf> Acesso em: junho. 2016.

CHORILLI, M. et al. Influência da viscosidade do veículo na liberação in vitro da cafeína. **Revista Eletrônica de Farmácia** v.IV, n.1, 52-60, 2007.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. Approved Standard. 9th. ed. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: *Clinical and Laboratory Standards Institute*; 2012.

CLELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials “*in vitro*” and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Williams & Wilkins, p. 739-788, 1991.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras**; Norma Aprovada – Segunda Edição. CLSI document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos. 2002.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Sixth Edition. CLSI document M7-A6 (ISBN 1- 56238-486-4). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087- 1898 USA. 2003a.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Cândida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.36, n.5, p.599-607, sep-oct. 2003.

COUTINHO, H.D.M. et al. Fruits to potentiate the antibiotic activity: the effect of *Eugenia uniflora* and *Eugenia jambolanum* L. against MRSA. **Acta Alimentaria**, v.41, n.1, p. 67-72, 2012.

COWAN, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical microbiology reviews**, v.12, n.4, p.564–82, 1999.

CRESPO, J. M. R. S. **Aplicação do extrato da *Allamanda cathartica* L., no desenvolvimento de formulação fitocosmética, para antissepsia das mãos de manipuladores de alimentos**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), 2012.

CRUVINEL, W. M. et al. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira Reumatologia**, v. 50, n. 4, p. 434-61, 2010.

DASH, B. K. et al. Antibacterial Activities of Methanol and Acetone Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum*) and Coriander (*Coriandrum sativum*). **Life Sciences and Medicine Research**, v. 2011, n.27, p.1-8, 2011.

DAVEY, M.W.; KEULEMANS, J.; SWENNEN, R. Methods for the efficient quantification of fruit provitamin A contents. **Journal of Chromatography A**. v. 1136, n.2, p. 176–184, 2006.

DRASAR, B. S. The isolation and identification of non-sporing anaerobes. **In Infection with non-sporing anaerobic bacteria**, edited by I. Phillips and M. Sussman, Edinburgh, London and New York, p. 20, 1974.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Medica**, v. 64, n.8, p. 711-713, 1998.

EMPINOTTI, J.C. et al. Piodermites. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 87, n. 2, p.277-284, 2012.

ELEAZU, C.O.; OKAFOR, P.N. ; AHAMEFUNA, I. Total antioxidant capacity, nutritional composition and inhibitory activity of unripe plantain (*Musa paradisiacae*) on oxidative stress in alloxan induced diabetic rabbits. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.9, n.11, p.1052-1057, 2010.

EMAGA, T. H. et al. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. **Food Chemistry**, vol.103, n.2, p. 590–600, 2007.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Produção internacional de banana. Disponível em: <https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/banana>. Acessado: 16 de junho de 2017.

ESTEVAM, EB.B. et al. Avaliação das atividades antibacteriana, tripanocida e citotóxica do extrato hidroalcolólico das raízes de *Tradescantia sillamontana* Matuda (Veludo Branco) (Commelinaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.18, n.2, 2016.

FABRI, R.L.; COSTA, J.A.B.M. Perfil farmacognóstico e avaliação das atividades citotóxica e antibacteriana de Bromelia antiacantha Bertol. **Revista Eletronica de Farmacia** ., v.9, n.2, p. 37-48, 2012.

FAO – Food Agriculture Organization - **Países produtores de banana**. Disponível em: <http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/bananas/bananafacts/en/#.WUO3bvnytdg>> Acessado: 16 de junho de 2017.

FENNELL, C.W. et al. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: Pharmacological screening and toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**, v.94, p. 205-217, 2004.

FIRMO, W. C. A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de pesquisa**, São Luís, v. 18, n.especial, 2011.

FOGLIO, M.A. et al. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. **MultiCiência: construindo a história dos produtos naturais**, v. 7, out. 2006.

FRANCO, Patrícia Battaglini. **Desenvolvimento e caracterização de membranas de quitosana e casca de banana verde para cicatrização de feridas cutâneas**. 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2014.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, R. et al. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 119, n.3, p. 1030-1039, 2010.

- HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v. 11, n.3, p. 137-147, 2000.
- HAYASHI, M. A.; BIZERRA, F. C.; DA SILVA JÚNIOR, P. I. Antimicrobial compounds from natural sources. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 195, 2013.
- HOSSAIN, M.S. et al. Antidiarrheal, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the *Musa sapientum* Seed. **Avicenna Journal of Medical Biotechnology**, v.3, n.2, p.95–105, 2011.
- HOLETZ, F.B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n.7, p.1027-1031, 2002.
- HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 391-400, 2007.
- HUSSAIN, A.; KHAN, M.N.; IQBAL, Z.; SAJID, S.; KHAN, M.K.. Anthelmintic activity of *Trianthema portulacastrum* L. and *Musa paradisiaca* L. against gastrointestinal nematodes of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 179, n.1, p. 92-99, 2011.
- IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola. Banana**. Fevereiro, 2013. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home> . Acessado junho, 2017.
- IGHODARO, O.M. Evaluation study on Nigerian species of *Musa paradisiaca* Peels: Phytochemical screening, Proximate analysis, Mineral Composition and Antimicrobial Activities, **Researcher** , v.4, n.8, 2012.
- IMAM, M.Z.; AKTER, S. *Musa paradisiaca* L. and *Musa sapientum* L.: a phytochemical and pharmacological review. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v.1, p. 14–20, 2011.
- INIBAP (International Network For The Improvement Of Banana And Plantain). **Net Working Banana and Plantain: INIBAP Annual Report 2001**. Montpellier, France, 2002.
- ISAAC, V.L.B. et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada** . v.29, n.1, p. 81-96, 2008.
- KAMEL, N. A. et al. Chitosan/banana peel powder nanocomposites for wound dressing application: Preparation and characterization. **Materials Science & Engineering: C**, v. 72, p. 543-550, 2017.
- KANAZAWA, K.; SAKAKIBARA, H. High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. V. 48, p 844-848, 2000.
- KAPPEL, V. D. et al. Beneficial effects of banana leaves (*Musa x paradisiaca*) on glucose homeostasis: multiple sites of action. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n.4 p. 706-715, 2013.

- KARADI, R.V. et al. Antimicrobial activities of *Musa paradisiaca* and *Cocos nucifera*. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 2, p. 264-267, 2011.
- KIM, H.P. et al. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.96, n.3, p. 229-45, 2004.
- KISKA, D.L & GILLIAN, P.H. Pseudomonas. In **Manual of Clinical Microbiology**. Murray P. r., Baron e.j., Pfaller, Jorgensen J.H.& Tenover F. C. (eds) 8th ed. Manual of Clinical Microbiology, American Society for Clinical Microbiology, Washington D.C., 2003.
- KNAPP, F.F.; NICHOLAS, H.J. The sterols and triterpenes of banana peel. **Phytochemistry**. v. 8, n. 1, p.207-214, 1969.
- KOVGANKO, N.; KASHKAN, Z. Advances in the chemical transformation of beta-sitosterol. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 30, p. 533, 1994.
- KNORST, Miriam Teresinha. Desenvolvimento Tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides*. **Compositae**, 228p., 1991.
- KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico microbiológico**. 5 ed. Rio de Janeiro : Medsi, , p. 494, 919-920. 2001.
- KUMAR, K.P.S. et al. Traditional and medicinal uses of banana. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry** v.1, p.51-63, 2012.
- LAZARY, V.M.D. **Efeitos do consumo do isoflavona na prevenção do câncer de mama**. [Monografia]. Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde, Núcleo de Estudos em Educação e Promoção da Saúde, NESPROM, Brasília, 2010.
- LAUFENBERG, G.; KUNZ, B.; NYSTROEM, M. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. **Bioresource Technology**, v. 87, p. 167- 198, 2003.
- LEONARDI, Gislaiane Ricci; GASPAR, Lorena Rigo; Campos, Patricia M.B.G Maia. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. Rio de Janeiro, set/out-2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abd/v77n5/en_v77n5a06.pdf> Acesso em: 9 de Agosto de 2017.
- LEVINE, M.M. Escherichia coli that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. **Journal of Infectious Diseases**, v. 155, p. 377-389, 1987.
- LEWIS, D.A. et al. A natural flavonoid present in unripe plantain banana pulp (*Musa sapientum* L. var. *paradisiaca*) protects the gastric mucosa from aspirin-induced erosions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 65, n.3, p. 283-288, 1999.
- LIMA, M. B. et al. Banana: O produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília, DF: Embrapa Mandioca e Fruticultura p.182, 2003.

- LIMA, C.G. et al. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões O/A contendo óleo de babaçu (*Orbignya olrifera*). **Revista Brasileira de Farmácia**, v.89, n.3, p.239-245, 2008.
- LINO, P.B. et al. Evaluation of post-surgical healing in rats using a topical preparation based on extract of *Musa sapientum* epicarp. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.21, n.3, p.491-496, 2011.
- LYRIO, E.S. et al. Recursos vegetais em biocosméticos: conceito inovador de beleza, saúde e sustentabilidade. **Natureza online**, v.9, n. 1, p.47-51, 2011. Disponível em: http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/09_LyrioESetal_4751.pdf. Acesso em: 20 de nov 2016.
- MAHADY, G. B. et al. Natural products as antibacterial agents. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 35(C), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, the Netherlands, p. 423–444, 2008.
- MALLICK, C. et al. Antihyperglycemic Effects of Separate and Composite Extract of Root of *Musa paradisiaca* and Leaf of *Coccinia Indica* In Streptozotocin-Induced Diabetic Male Albino Rat. **African Journal of Tradicional, Complementary and Alternative Medicines**, v.4, n.3, p. 362-371, 2007.
- MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p.538-544, 1998.
- MARTIN, A. Physical pharmacy. 4ª.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.
- MATIAS, E.F.F. *et al.* Screening the *in vitro* modulation of antibiotic activity of the extracts and fractions of *Ocimum gratissimum* L. **African journal of microbiology research**, v. 6, n.9, p.1902-7, 2012.
- MDSAÚDE. Doenças infectocontagiosas. Disponível em: <http://www.mdsaude.com/category/doencas-infectocontagiosas>. Acesso em 30 de junho de 2017.
- MELO, E. K. S. et al. Análise e estudo viscosimétrico de diferentes géis de cetoprofeno 2,5%. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 95-99, 2013.
- MIRANDA, J.A.L. et al. Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1142-1149, 2015 .
- MOKBEL, M.S.; HASHINAGA, F. Antibacterial and Antioxidant Activities of Banana (*Musa*, AAA cv. *Cavendish*) Fruits Peel. **Am. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**,; v.1, n.3, p.125-131, 2005.
- MONTAGNER, D.; CORRÊIA, G.M. Avaliação da estabilidade de cremes com uréia em diferentes pHs. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.85, n.3, p.69-72, 2004.

- NCCLS. National committee for clinical laboratory standards - **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. 7 ed. Villanova. PA: NCCLS, 2000.
- NEWMAN, D. G.; CRAGG, G. M. Natural products sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**, v. 70, n.3, p.461-77, 2007.
- NOBRE, M. O. et al. Esporotricose zoonótica na região sul do Rio Grande do Sul (Brasil) e revisão da literatura brasileira. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.9, n.1, p.36-41, 2002.
- OJEWOLE, J.A.; ADEWUNMI, C.O. Hypoglycemic effect of methanolic extract of *Musa paradisiaca* (Musaceae) green fruits in normal and diabetic mice. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, v.25, n.6, p.453, 2003.
- OLIVEIRA, A. B. **Microencapsulamento de estigmasterol proveniente de Musa paradisiaca L., Musaceae**. Curitiba-PR: UFPR, 2007. 112f. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.
- OLIVEIRA, L. et al. Lipophilic extract from banana fruit residues: a source of valuable phytosterols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p. 9520–9524, 2008.
- OLIVEIRA, E.R; MENINI NETO, L. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do povoado de Manejo, Lima Duarte - MG. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 311-320, 2012 .
- OLIVEIRA, V.B. et al. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de *dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v.18, n.1, supl.1, Botucatu, 2016.
- ONASANWO, S. et al. Anti-ulcer and ulcer healing potentials of *Musa sapientum* peel extract in the laboratory rodents. **Pharmacognosy research**, v.5, n.3, p.173 -178, 2013.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE- OMS. Quality control methods for medicinal plants methods. 1998. p. 41–43.
- OSTROSKY, E.A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.18, n.2, p.301-307, 2008.
- PANNANGPETCH, P. et al. The antiulcerative effect of Thai *Musa* Species in Rats. **Phytotherapy Research**, v.15, p. 407–410, 2001.
- PATOČKA, J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine Signification; **Journal of Applied Biomedicine**, v.1, p.7-12, 2003.
- PAULETTI, P.M.; BOLZANI, V. da S.; YOUNG, M.C.M. Constituintes químicos de *Arrabidaea samydoides* (Bignoniaceae). **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 641-643, 2003.

PEDROSA, Flávia Pinho da Cunha. **Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas pertencentes à CPMA – Coleção de plantas medicinais e aromáticas do CPQBA/UNICAMP**. 2012. 69f. Trabalho de conclusão de Curso(TCC). Instituto de Biociências de Botucatu. Universidade Estadual Paulista – UNESP. Botucatu, 2012.

PEREIRA, L.B. Impetigo. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.87, n.5, p. 804, 2012.

PEREIRA, A. **Avaliação das atividades cicatrizante e antitumoral de extratos provenientes da casca de banana cultivar Prata Anã (*Musa spp*)**. 2010. 138f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Centro de Ciências Biológicas, UFSC, Florianópolis, 2010.

PEREIRA, D.F. et al. Effects of flavonoids on α -glucosidase activity: Potential targets for glucose homeostasis. **Nutrition**, v. 27, p. 1161- 1167, 2011.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.3, n.4, p. 146-52, 2012.

PEREIRA, A., MARASCHIN, M. Banana (*Musa spp*) from peel to pulp: Ethnopharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for human health. **Journal of ethnopharmacology**, v.60, p.149 -163, 2015.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/Universidade de São Paulo, 2004. p. 1-10.

PHILLIPS, M.A. et al. The plastidial MEP pathway: unified nomenclature and resources. **Trends in Plant Science**, v. 13, n. 12, p. 619-23, 2008.

POLITI, F. A. S. **Estudos farmacognósticos e avaliação de atividades biológicas de extratos obtidos das cascas pulverizadas de *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec.** (Humiriaceae). 2009. 144 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2009.

POTHAVORN, P. et al. Sap phytochemical compositions of some bananas in Thailand. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.8782-8787, 2010.

QIAN, H. et al. A new isochroman-4-one derivative from the peel of *Musa sapientum* L. and its total synthesis. **Chinese Chemical Letters**, v.18, p.1227–1230, 2007.

RABBANI G.H. et al. Clinical studies in persistent diarrhea: Dietary management with green banana or pectin in Bangladeshi children. **Gastroenterology**, v.121, n.3, p. 554–560, 2001.

RAGASA C.Y. et al. A Triterpene from *Musa errans*. **Philippine Journal of Science**, v.136, n. 2, p. 167-171, 2007.

RAMOS E SILVA, M.; CASTRO, M.C.R. **Fundamentos de dermatologia**. Rio de Janeiro: Atheneu; 2009.

RAVEN, P. H., EVERT, R. F., EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, 906 p.

- REBELLO, L.P.G. **Avaliação de compostos fenólicos, extração e caracterização de pectina em farinha de casca de banana (AAA)**. 2013. 87F. Tese(Doutorado). Universidade Federal de Viçosa. 2013.
- REID, H.A. Diagnosis, prognosis, and treatment of sea-snake bite. **Lancet**, v. 2, p. 399-402, 1961.
- RIVITTI, E. A. **Manual de Dermatologia Clínica de Sampaio e Rivitti**. São Paulo: Artes Médicas, 2014. 736 p.
- RYAN, K.J.; RAY, C.G. **Sherris Medical Microbiology**, (4th edition). McGraw Hill, p. 362-8, 2004.
- SAKAR, M. K.; TAMER, A. V.; TOKOUR, S. - Antimicrobial activities of some *Hypericum* species growing in Turkey. **Fitoterapia**, São Paulo, v.59, n.1: p.49-52, 1988.
- SALAS, P.M. et al. Antifungal activity and enzymatically – modified flavonoids isolated from citrus species. **Food Chemistry**, v.124, n. 4, p. 1411 – 1415, 2011.
- SAMPAIO, S.A.P.; RIVITTI, E.A. **Dermatoses ocupacionais**. In: Sampaio SAP, Rivitti EA, editores. *Dermatologia*. 3. ed. São Paulo: Artes Médicas; 2007. p. 136775.
- SANTOS, A.L. et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica**. v. 43.n.6, 2007
- SANTOS, Jirliane Martins dos. **Estudo do potencial cicatrizante, antimicrobiano e antiedematogênico da Musa paradisíaca L**. 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem e Farmácia, Programa de Pós Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2012.
- SARASWATHI, N.T., GNANAM, F.D. Effect of medicinal plants on the crystallization of cholesterol. **Journal of Crystal Growth**, v.179, p. 611-617, 1997.
- SARTORATTO, A. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.
- SBD-Sociedade Brasileira de Dermatologia. Perfil nosológico das consultas dermatológicas no Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 81, n. 6, p. 549-558, 2006.
- SERPA, R. et al. *In vitro* antifungal activity of the flavonoid baicalein against *Candida* species. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, p. 1704 – 1709, 2012.
- SILVA, A.A.S. et al. Activity of cycloartane-type triterpenes and sterols isolated from *Musa paradisíaca* fruit peel against *Leishmania infantum*. **Phytomedicine**, v. 21, p. 1419–1423, 2014.
- SILVA, L.F. **A persistência de um saber: medicina popular em Goiás de 1930 a 1950**. ANPUH – XXIII SIMPÓSIO NACIONAL DE HISTÓRIA – Londrina, 2005.

SILVA, M.S.P. et al. Study bioprospecting of medicinal plant extracts of the semiarid Northeast: Contribution to the control of oral microorganisms. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2012; Article ID 681207. doi:10.1155/2012/681207

SIMÔES, O. M. C. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre; Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003. p. 14-15.

SCHULZ, M. A. **Produção de bioetanol a partir de rejeitos da bananicultura: polpa e cascas de banana**. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) - Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2010

SOBERA, J. O. ; ELEWSKI, B. E. **Fungal Diseases**. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP, editors. 2ª ed. Madrid: Mosby Elsevier; 2008. p. 1135-48.

SOMEYA, S. et al. Antioxidant compounds from bananas (*Musa cavendish*). **Food Chemistry**, v.79, n.3, p. 351–354, 2002.

SOUSA, R.M.F. et al. Chemical composition, cytotoxic, and antibacterial activity of the essential oil from *Eugenia calycina* Cambess leaves against oral bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 71-78, 2015.

STOPPA, M.A. et al. Estudo comparativo entre as metodologias preconizadas pelo CLSI e pelo EUCAST para avaliação da atividade antifúngica. **Química. Nova**, v. 32, n. 2, p. 498-502, 2009.

TSAMO, C.V.P. et al. Phenolic profiling in the pulp and peel of nine plantain cultivars (*Musa sp.*). **Food Chemistry** v.15, p.197–204, 2015.

TEWTRAKUL, S. et al. Antiallergic and anti-microbial activities of some Thai crops. Songklanakarin **Journal of Science and Technology**. v.30, n.4, p. 467-473, 2008.

TRABULSI, L.R.; ALTHERTHUM, F. **Microbiologia**. *Staphylococcus aureus*. São Paulo: Atheneu, v.20, p. 175-82, 2005.

TRAVERSA, E. **Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo papaína e avaliação da sua eficácia depilatória sobre o folículo piloso**. 160p. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de São Paulo. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2003.

VELASCO, M.V.R. et al. Desenvolvimento e teste preliminar da estabilidade de formulações cosméticas acrescidas do extrato comercial de *Trichilia catinguá* Adr. Juss (e) *Ptychopetalum olacoides* Benth. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, v.29, n.2, p.181-196, 2008.

VIEIRA, A. P. et. al. Ação dos flavonoides na cicatrização por segunda intenção em feridas limpas induzidas cirurgicamente em ratos Wistar. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 65-74, jan./jun. 2008.

VILLANOVA, J. C. O.; OREFICE, R. L.; CUNHA, A. S.. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros**, São Carlos , v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010 .

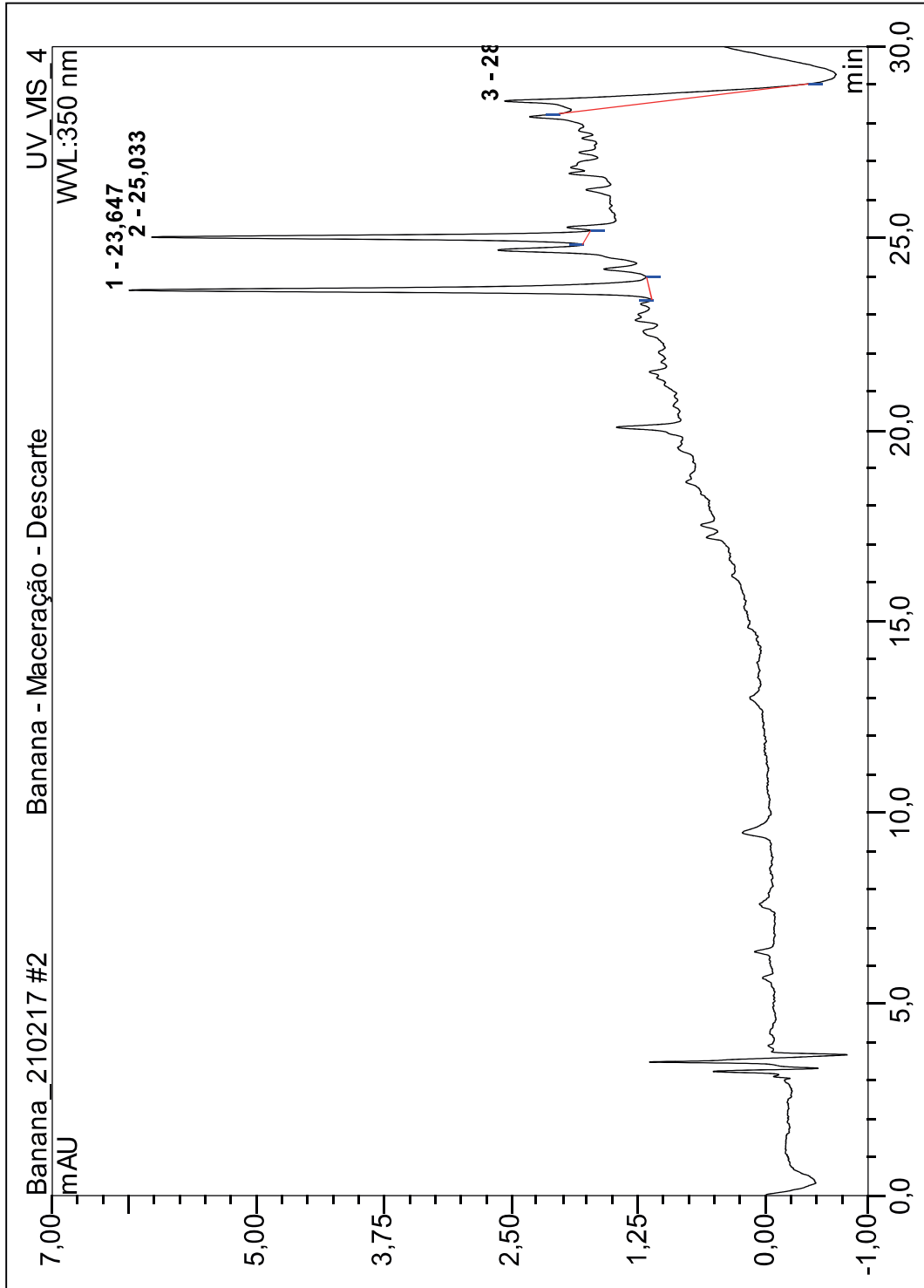
WANNMACHER, L. **Antimicrobianos em dermatologia**. Uso racional de medicamentos: temas. relacionados, Brasília, v. 3, n. 12, p. 1-6, nov. 2006.

WEIGEL, M.M. et al. Cutaneous leishmaniasis in subtropical Ecuador: popular perceptions, knowledge, and treatment. Bull. **Pan American Health Organization journal**, v. 28, n.2, 1994.

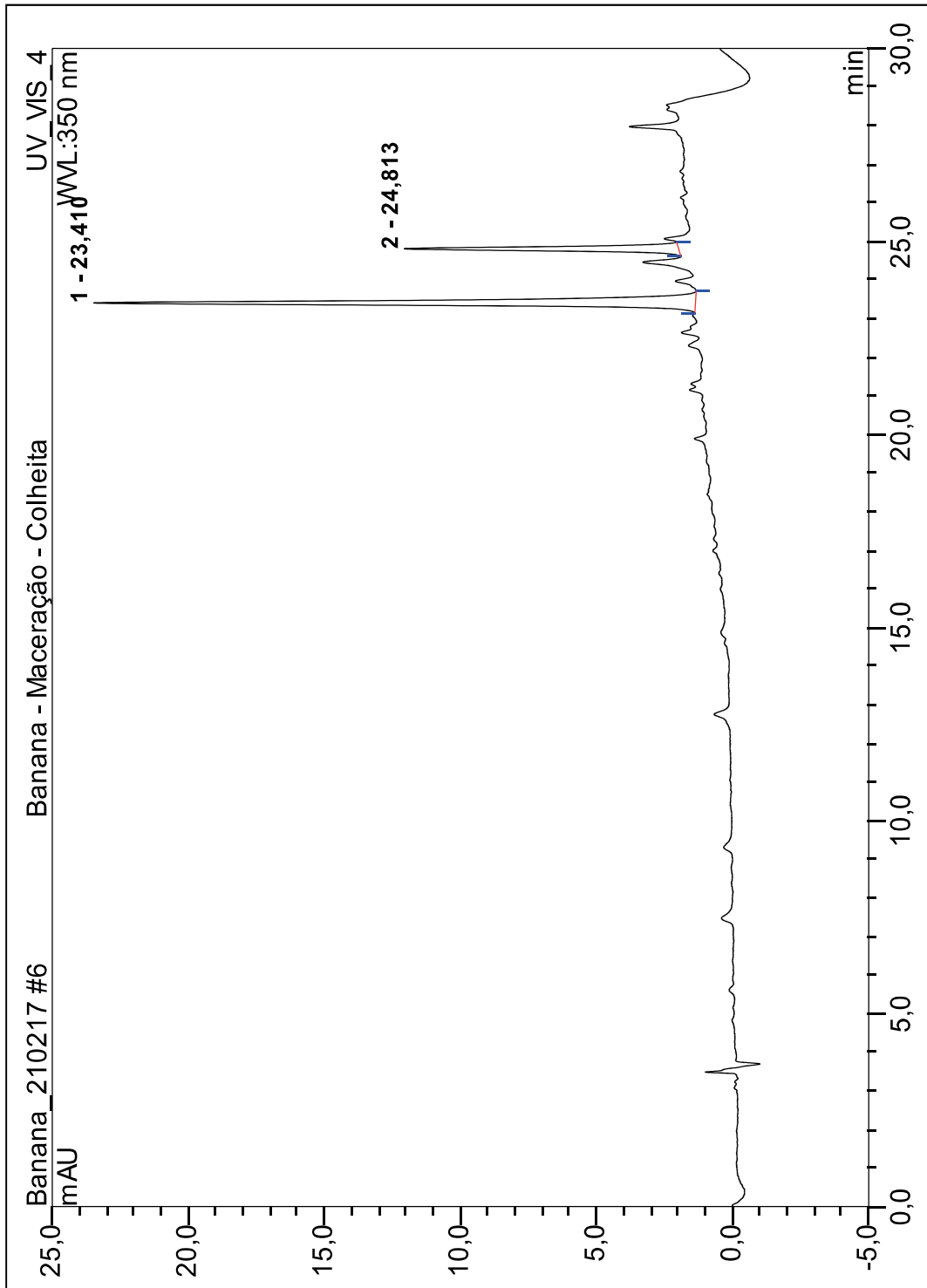
ZAFAR, et al. Antimicrobial and cytotoxic properties of different extracts of *Musa sapientum* L. subsp. *Sylvestris*. **International Research Journal of Pharmacy**, v.2, n.8, p.62 -65, 2011.

ZANON, A. B. **Aspectos teóricos e práticos sobre a avaliação da estabilidade de emulsões manipuladas em farmácia**. 2010. 51 f. Monografia (Bacharel em Farmácia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS). Porto Alegre, 2010.

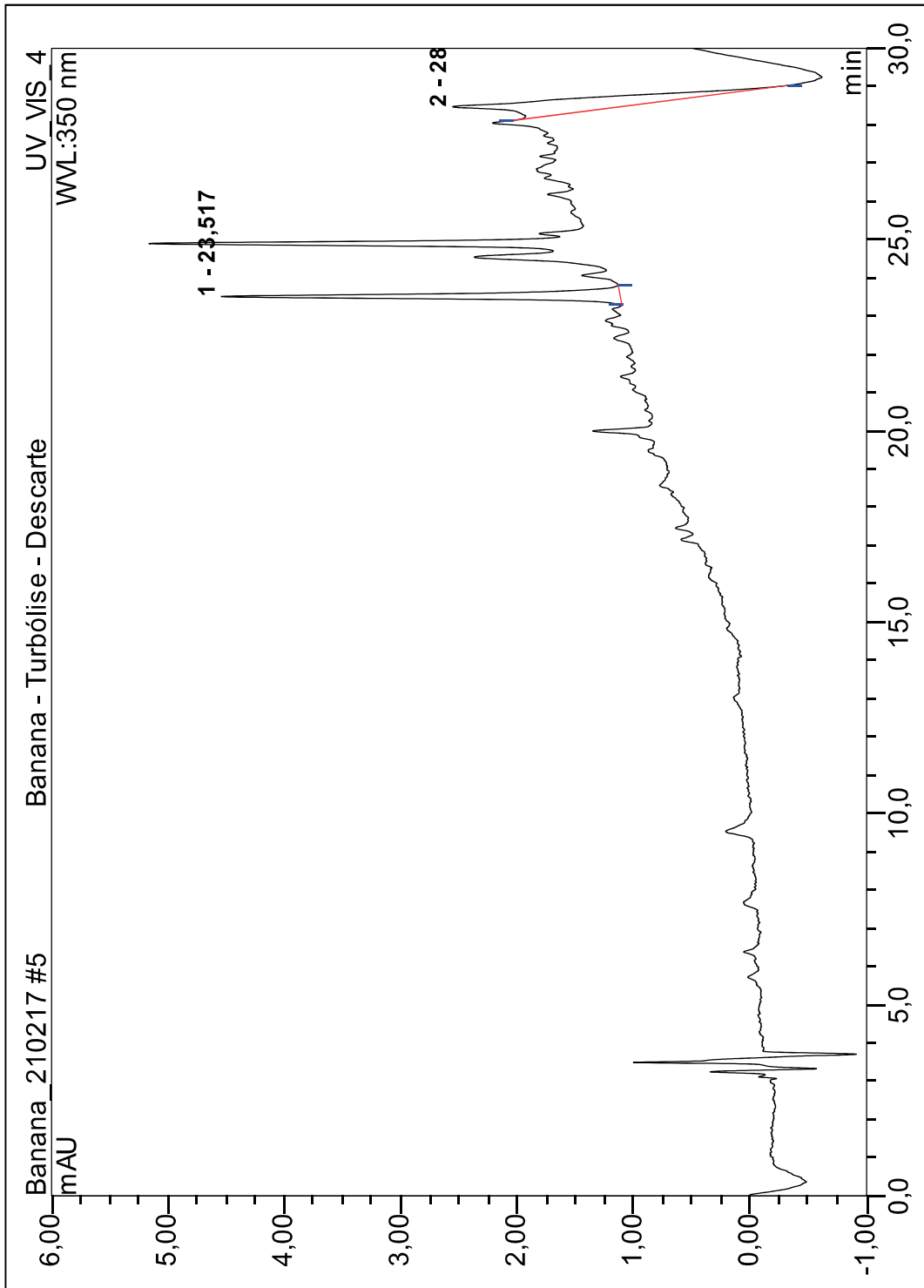
APÊNDICES

APÊNDICE A - CROMATOGRAMA CLAE ($\lambda = 350\text{nm}$) DO EXTRATO DE CASCAS DE *MUSA PARADISIACA* DO DESCARTE OBTIDO POR MACERAÇÃO (E1).

APÊNCIE B - CROMATOGRAMA CLAE ($\lambda = 350\text{NM}$) DO EXTRATO DE CASCAS DE *MUSA PARADISIACA* DA COLHEITA OBTIDO POR MACERAÇÃO (E2).



APÊNDICE C - CROMATOGRAMA CLAE ($\lambda = 350\text{nm}$) DO EXTRATO DE CASCAS DE *MUSA PARADISIACA* DO DESCARTE OBTIDO POR TURBÓLISE (E3).



APÊNDICE D - ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA BRASILEIRA DE PLANTAS MEDICINAIS.: “AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DA BANANA (*MUSA PARADISIACA*)”

ACIOLI, R.C.N.¹; LIMA, E.O.²; LOPES, P.Q.²; SILVA, W.A.V.³; FERREIRA, M.R.A.³; SOARES, L.A.L.³; OLIVEIRA, E.E.¹

¹Universidade Estadual da Paraíba, Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas, Rua Horácio Trajano de Oliveira, S/N, Cristo Redentor, João Pessoa, PB, Brasil, 58071-160. ²Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Castelo Branco, S/N, João Pessoa, PB, Brasil, 58051- 900. ³Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Farmácia, Av. Arthur de Sá S/N, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil, 50740-520. *Autor para correspondência: elquioeamen@yahoo.com.br

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo obter extratos etanólicos de cascas de *Musa paradisiaca* (provenientes de colheita e descarte) e incorporá-los em formulações galênicas para avaliar sua atividade antimicrobiana. Foi realizado um estudo fitoquímico por cromatografia em camada delgada (CCD) dos extratos preparados por maceração e turbólise. Os extratos e formulações obtidos foram avaliados quanto a sua ação antimicrobiana frente as estirpes de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia coli*; *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Microsporium gypseum* pela técnica de microdiluição para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). O estudo fitoquímico evidenciou a presença de flavonóides, derivados cinâmicos, terpenos e esteroides em todos os extratos analisados. Quanto a atividade antimicrobiana, todos os extratos apresentaram uma moderada atividade antibacteriana frente as cepas avaliadas (CIM entre 512 e 1024 µg/mL) e uma atividade antifúngica com CIM variando de 256 a 1024 µg/mL. Porém, das 16

formulações obtidas neste trabalho, apenas 3 apresentaram atividade antifúngica e nenhuma formulação apresentou atividade antibacteriana. Esses resultados demonstram o potencial antimicrobiano dos extratos de *M. paradisiaca* e podem fornecer suporte para estudos futuros visando a obtenção de uma formulação farmacêutica a base de extrato de *M. paradisiaca*.

Palavras-Chave: atividade antibacteriana, atividade antifúngica, medicamento fitoterápico, planta medicinal.

ABSTRACT: Evaluation of the antimicrobial activity of pharmaceutical formulations containing ethanolic extract of the banana peel (*Musa paradisiaca*). The objective of this work was to obtain ethanolic extracts of *Musa paradisiaca* peels (from the harvest and discard) and incorporate them in pharmaceutical formulations to evaluate the antimicrobial activity. A phytochemical screening was performed by thin layer chromatography (TLC) of the extracts prepared by maceration and turbolysis. The extracts and formulations obtained were evaluated for their antimicrobial activity against strains of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia coli*; *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Trichophyton mentagrophytes* and *Microsporum gypseum* by the microdilution technique to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The phytochemical study showed the presence of flavonoids, cinnamic derivatives, terpenes and steroids in all extracts analyzed. Regarding the antimicrobial activity, all the extracts presented a moderate antibacterial activity against the strains evaluated (MIC between 512 and 1024 µg/mL) and an antifungal activity with MIC ranging from 256 to 1024 µg/mL. Nevertheless, only 3 formulations presented antifungal activity from the 16 formulations obtained in this study. Furthermore, no formulation showed antibacterial activity. These results demonstrate the antimicrobial potential of the extracts of *M. paradisiaca* and may provide support for future studies aimed at obtaining a pharmaceutical formulation based on the extract of *M. paradisiaca*.

Key Words: antibacterial activity, antifungal activity, herbal medicine, medicinal plant.

INTRODUÇÃO

A *Musa paradisiaca* pertencente à família Musaceae e o gênero *Musa*, popularmente conhecida como “banana”, é uma planta amplamente cultivada em muitas regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (Oliveira et al., 2008).

Na medicina tradicional, os frutos, cascas, folhas, raízes e pseudocaule desta planta são utilizados na forma oral e tópica como cicatrizante (Agarwal et al., 2009), antidiarreico (Rabbani et al., 2001), antipirético, analgésico e hipoglicemiante (Abe & Ohtani, 2013), antialérgico (Tewtrakul et al., 2008), no tratamento de úlceras, aftas, doenças oculares (Silva, 2005) e leishmaniose (Silva et al., 2014).

Alguns estudos têm evidenciado várias atividades biológicas das cascas de *M. paradisiaca*: antiulcerogênica, antioxidante, antimicrobiana, leishmanicida, demonstrando assim seu potencial medicinal (Pannangpetch et al., 2001; Eleazu et al., 2010; Karadi et al., 2011; Silva et al., 2014). Os compostos químicos identificados no extrato da casca de *Musa paradisiaca* descritos na literatura incluem taninos, compostos fenólicos, antocianinas, alcaloides, fitoesteróides e flavonóides, (Oliveira, 2007; Iman e Akter, 2011; Kappel et al., 2013).

Apesar de vários relatos na literatura sobre a atividade farmacológica das cascas de *M. paradisiaca*, na maioria das vezes, o destino deste material é o descarte, o que leva a graves problemas ambientais (Zhang et al., 2005). Além disso, estudos de uma formulação contendo os extratos de cascas de *M. paradisiaca* para o desenvolvimento de um novo medicamento no mercado não foram encontrados na literatura.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo principal obter extratos de cascas de banana (*Musa paradisiaca*) de descarte comercial e da colheita e

incorporá-los em uma formulação farmacêutica para avaliar a atividade antimicrobiana.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

A coleta das cascas de *Musa paradisiaca* foi realizada em estabelecimento comercial, como também, diretamente no plantio, no mês de dezembro de 2016, no município de Campina Grande/PB.

O material coletado foi identificado pelo professor José Iranildo de Miranda Melo, no Herbário Manoel Arruda Câmara – ACAM, na Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, exsicata número 241.

O material foi seco em estufa de circulação fechada de ar (B2C, De Leo) a 40°C durante 48 h. Em seguida, o material foi triturado e posteriormente utilizado para o preparo dos extratos.

Métodos de Extração

Foram preparados quatro extratos das cascas de *Musa paradisiaca*, E1 a E4 (Tabela 1), utilizando dois métodos de extração:

Maceração

O material foi submetido ao processo de maceração por sete dias (Silva, 2014) à temperatura ambiente ($T=25\pm 3^{\circ}\text{C}$), utilizando como solvente etanol a 70% (v/v). Em seguida, os extratos foram filtrados com papel de filtro e o solvente orgânico removido no evaporador rotativo (modelo RV10 Basic, IKA[®]) a temperatura de 40°C.

Turbólise

As cascas foram submetidas ao processo de turbólise utilizando como líquido extrator etanol a 70% (v/v) por um período de 30 minutos com intervalos a cada 10

minutos para resfriamento do sistema. Posteriormente a solução obtida foi filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotativo (modelo RV10 Basic, IKA®) à temperatura de 40°C.

TABELA 1. Extratos etanólicos obtidos por maceração e turbólise.

Amostras	Técnica de Extração	Material
E1	Maceração	Cascas secas (descarte)
E2	Turbólise	Cascas secas (descarte)
E3	Maceração	Cascas secas (colheita)
E4	Turbólise	Cascas secas (colheita)

Preparação das Formulações

Foram preparadas as bases de creme não iônico e gel de natrosol conforme preconizado pelo Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (Tabela 2) (Brasil, 2012). Nas formulações foram incorporados 5% e 10% de extrato etanólico da casca da banana.

As formulações utilizadas estão descritas a seguir:

Creme não iônico: polawax (14%), propilparabeno (0,05%), lanolina etoxilada 50% (3%), metilparabeno (0,15%), glicerina (4%), água destilada (q.s.p. 250 g). Modo de preparo: Aqueceu-se a fase aquosa a 80°C e a fase oleosa a 75°C. Em seguida, verteu-se a fase aquosa sobre a fase oleosa e agitou-se vigorosamente em banho-maria a 80°C durante 10 minutos.

Gel de natrosol: metilparabeno (0,2%), hidroxietilcelulose (2,2%), imidazolidinil uréia (0,1%), água destilada (q.s.p. 250g). Modo de preparo: Dissolveu-se o metilparabeno em água aquecida a 70°C. Adicionou-se hidroxietilcelulose, com agitação lenta e constante, até completa dissolução. Resfriou-se a 40°C. Por fim, adicionou-se o imidazolidinil uréia previamente solubilizado em pequena quantidade de água.

TABELA 2. Formulações submetidas à avaliação da atividade antimicrobiana pela técnica de Microdiluição.

Formulação	Base galênica	% do extrato	Método extrativo	Cascas secas <i>M. paradisiaca</i>
F1	Creme não iônico	5%	Turbólise	(Descarte)
F2	Creme não iônico	10%	Turbólise	(Descarte)
F3	Creme não iônico	5%	Turbólise	(Colheita)
F4	Creme não iônico	10%	Turbólise	(Colheita)
F5	Creme não iônico	5%	Maceração	(Descarte)
F6	Creme não iônico	10%	Maceração	(Descarte)
F7	Creme não iônico	5%	Maceração	(Colheita)
F8	Creme não iônico	10%	Maceração	(Colheita)
F9	Gel natrosol	5%	Turbólise	(Descarte)
F10	Gel natrosol	10%	Turbólise	(Descarte)
F11	Gel natrosol	5%	Turbólise	(Colheita)
F12	Gel natrosol	10%	Turbólise	(Colheita)
F13	Gel natrosol	5%	Maceração	(Descarte)
F14	Gel natrosol	10%	Maceração	(Descarte)
F15	Gel natrosol	5%	Maceração	(Colheita)
F16	Gel natrosol	10%	Maceração	(Colheita)

Análise por Cromatografia em Camada Delgada

Uma alíquota de 1mL de cada amostra foi levada a banho maria para total evaporação. Em seguida, foram reconstituídas em metanol para aplicação. As amostras e os padrões foram aplicados em placas cromatográficas de sílica gel 60 - F₂₅₄ (Macherey-Nagel®), com auxílio de aplicador semiautomático (Linomat V, Camag®). As placas foram desenvolvidas em cubas após saturação com a fase móvel. A cuba foi saturada durante 15 minutos, aproximadamente, à temperatura ambiente. As bandas foram aplicadas com largura de 1 cm e com uma distância entre elas e das bordas das placas de 0,5 cm. O tamanho da largura e do comprimento das placas cromatográficas foi de 8 e 10 cm, respectivamente. As

amostras foram aplicadas a 1 cm da origem e com término 1 cm do final da placa. Após a eluição das placas, as mesmas foram secas à temperatura ambiente, e observadas em 254 e 365 nm. Na sequência foram reveladas com reagentes específicos para cada metabólito (Tabela 3). As imagens foram adquiridas utilizando um sistema de imagem (Modelo 125, MultiDoc-It[®]), com o software UVP[®] e câmera digital (Rebel T3, EOS 1100 D, Canon[®]). As bandas obtidas foram comparadas às bandas dos padrões correspondentes.

Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana

Para a avaliação da atividade biológica dos extratos das cascas de banana e das formulações (Tabelas 1 e 2), os mesmos foram testados na concentração de 1024 até 32µg/mL. A atividade antimicrobiana dos extratos e das formulações foi avaliada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) (Ostrosky et al., 2008).

Os ensaios de atividade antifúngica foram realizados em Caldo Sabouraud Dextrose–CSD para leveduras e em RPMI 1640 (ACUMEDIA); e Caldo Nutriente-CN para bactérias (DIFCO LABORATORIES). Os meios foram preparados e usados conforme as instruções do fabricante.

Microorganismos

Nos ensaios para avaliação da atividade biológica dos produtos, foram incluídas as cepas: **Bactérias:** *Staphylococcus aureus* ATCC-25923, *S. aureus* LM-177, *S. epidermidis* ATCC-12228, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC- 25853; *P. aeruginosa* P-03, *Echerichia coli* ATCC- 10436 e *Echerichia Coli* EC-12; **Leveduras:** *Candida albicans* ATCC-76645, *C. albicans* LM-120, *C. albicans* LM-111, *Candida tropicalis* ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-64, *C. tropicalis* LM-7, *C. krusei* LM-978, *C.*

krusei LM-08; **Fungos filamentosos:** *Trichophyton mentagrophytes* LM-02, *Microsporum gypseum* LM-189.

As cepas foram adquiridas no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, Laboratório de Micologia e de Microbiologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba.

A suspensão dos micro-organismos foi preparada conforme o tubo 0.5 da Escala McFarland, ajustada através de leitura espectrofotométrica (Leitz-Photometer 340-800), para 90% T (530 nm), correspondendo, aproximadamente, a 10^6 UFC/mL.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da CIM dos produtos foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas contendo 96 cavidades com fundo em forma de “U” e em duplicata. Em cada orifício da placa, foram adicionados 100 μ L do CN (bactérias) e meio líquido RPMI (leveduras). Em seguida, 100 μ L do produto solubilizado foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. Por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 μ g/mL até 32 μ g/mL. Por fim, foram adicionados 10 μ L do inóculo de cada micro-organismo nas cavidades, onde cada coluna da placa referiu-se, especificamente, a uma cepa.

Foi feito controle de crescimento do micro-organismo no meio de cultura; com cloranfenicol (100 μ g/mL) para bactérias, nistatina (100 UI) para leveduras e fluconazol (50 μ g/mL) para fungos filamentosos. As placas foram seladas e incubadas a 35°C / 24 – 72 h para os ensaios com bactérias e leveduras e a temperatura ambiente (28-30° C) para fungos filamentosos. Os ensaios foram realizados em duplicata.

A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada ativa ou não, conforme os seguintes critérios: 50-500 μ g/mL= forte/ótima atividade; 500-1500

$\mu\text{g/mL}$ = moderada atividade; >acima de 1500 $\mu\text{g/mL}$ = fraca atividade ou produto inativo (SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al.; 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este trabalho teve como objetivo inicial a obtenção de extratos etanólicos da casca de *Musa paradisiaca*. Na tabela 3 encontram-se as classes de metabólitos encontradas nos extratos de *M. paradisiaca*. De acordo com a análise por CCD, flavonóides e derivados cinâmicos foram evidenciados em todas as amostras de extrato avaliadas (E1 a E4). Além disso, a banda correspondente ao padrão de flavonoides nas amostras apresentou o mesmo valor de Rf da banda referente ao padrão rutina utilizado (Rf = 0,15).

TABELA 3. Classe de metabólitos, padrões, sistemas e reveladores analisados.

Classe de metabólito	Padrão	Sistema	Reveladores	Resultado
Flavonoides	Rutina Quercetina	90:5:5	NEU-PEG	Positivo
Derivados cinâmicos	Ácido caféico Ácido clorogênico	90:5:5	NEU-PEG	Positivo
Taninos hidrolisáveis	Ácido gálico	90:5:5	Cloreto férrico	Negativo
Taninos condensados	Catequina	90:5:5	Vanilina clorídrica	Negativo
Terpenos e Esteroides	β -sitosterol	70:30	Lieberman Burchard	Positivo

*Sistemas: 90:5: 5 – Acetato de etila: ácido fórmico: água. 70:30 – Tolueno: acetato de etila.

Dados obtidos com a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD) (não apresentados), confirmaram a presença de rutina nos extratos etanólicos de *M. paradisiaca*, confirmando a presença de flavonoides nos extratos obtidos como previamente descrito por Pothavorn et al. (2010) e Kappel et al. (2013).

Após revelação com Lieberman Burchard e observação sob luz UV 365 nm, através da formação de bandas de coloração azuladas também foi possível verificar em todas as amostras a presença de terpenos/esteroides. Além disso, uma das bandas é igual em cor e valor de Rf a do padrão utilizado β -sitosterol (0,33), sugerindo a presença deste metabólito. Knapp & Nicholas (1969), Emaga et al. (2007), Oliveira et al. (2008), Accioly (2009) citam entre os principais compostos presentes em *Musa* spp., os esteróis e triterpenos, sendo o β -sitosterol também encontrado na casca de *Musa* spp. (Imam & Akter, 2011). Por fim, foi possível verificar a ausência de taninos hidrolisáveis e taninos condensados em todas as amostras.

Mediante análise dos resultados da avaliação da atividade antimicrobiana “*in vitro*” dos extratos etanólicos das cascas de *Musa paradisiaca* pelo método da microdiluição, observou-se que os extratos apresentaram atividade inibitória frente às cepas bacterianas (Tabela 4) com CIM de 512 a 1024 $\mu\text{g/mL}$ e frente às cepas fúngicas com valores de CIM de 256 a 1024 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 5).

Considerou-se que os extratos do macerado das cascas de *M. paradisiaca* do descarte (E1) não apresentaram redução de atividade frente aos extratos das cascas da colheita (E2), pois foram capazes de inibir 50% das cepas bacterianas com CIM de 512 $\mu\text{g/mL}$. No entanto, o extrato das cascas da colheita de *M. paradisiaca* obtido por turbólise (E4) inibiu 75% das cepas com CIM de 512 $\mu\text{g/mL}$, mostrando a melhor atividade inibitória frente as cepas bacterianas do estudo.

A atividade antimicrobiana de extratos vegetais pode estar relacionada à presença de flavonóides e terpenos. Segundo descrição de Arrais et al. (2014) e Cushnie & Lamb (2005; 2011), a presença destes compostos contribui com a atividade antimicrobiana em uma ampla variedade de micro-organismos. Souza

(2009) descreve que a atividade antimicrobiana dos flavonoides é decorrente da desestruturação da membrana celular e conseqüentemente destruição da célula bacteriana.

Observamos que dependendo da técnica de extração, a atividade biológica do extrato pode ser afetada. Oliveira et al. (2016) demonstraram esta correlação quando citam que o teor de metabólitos presentes pode ser diretamente afetado pelas técnicas de extração como também pela natureza do solvente extrator, podendo interferir nas atividades biológicas e farmacológicas.

TABELA 4. Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos quatros extratos etanólicos das cascas de *M. paradisiaca* sobre bactérias - Técnica de microdiluição.

Extrato ($\mu\text{g/mL}$) / Microorganismos	<i>S. aureus</i> ATCC-25923	<i>S. aureus</i> LM-177	<i>S. epidermidis</i> ATCC- 12228	<i>P. aeruginosa</i> ATCC-25923	<i>P. aeruginosa</i> P-03	<i>B. subtilis</i> ATCC- 6633	<i>E. coli</i> ATCC- 10436	<i>E. Coli</i> EC-12
E1	512	512	512	1024	1024	512	1024	1024
E2	512	512	512	1024	1024	1024	1024	1024
E3	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024
E4	512	512	512	1024	1024	512	512	512
Controle do meio	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle da bactéria	+	+	+	+	+	+	+	+
Cloranfenicol/ 100 $\mu\text{g/mL}$	-	-	-	+	-	-	-	+

E1=maceração/descarte; E2=turbólise/descarte; E3=maceração/colheita; E4=turbólise/colheita
(+): Crescimento do micro-organismo (-): Ausência de crescimento do micro-organismo.

De acordo com os resultados da atividade antimicrobiana frente às cepas fúngicas, os extratos obtidos por maceração das cascas de *M. paradisiaca* foram capazes de inibir o crescimento de todos os micro-organismos estudados. Ademais,

Controle fungos	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nistatina/ 100 UI/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluconazol/ 50 µg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+): Crescimento do micro-organismo (-): Ausência de crescimento do micro-organismo

Contudo, o extrato da casca de *M. paradisiaca* do descarte obtido por maceração (E1) apresentou um maior espectro de ação, pois conseguiu inibir tanto cepas bacterianas como fúngicas.

Com relação a incorporação dos extratos nas formulações, foi possível obter as 16 formulações sem observar alterações nas características organolépticas e físico-químicas dos produtos, com exceção da alteração da cor, onde as formulações com 10% de extrato apresentaram cor levemente amarela. As bases utilizadas neste presente estudo foram escolhidas em função da boa espalhabilidade, boa permeação de ativos e baixa oleosidade (Casteli et al., 2008).

Referente à atividade antimicrobiana das formulações testadas (ver Tabela 6), apenas F3, F9 e F11 foram capazes de inibir o crescimento das cepas leveduriformes com CIM entre 512 a 1024 µg/mL. F3 e F11 inibiram 60% das cepas fúngicas do estudo, enquanto que a F9 inibiu 80%. Porém, nenhuma formulação mostrou resultado satisfatório contra as cepas bacterianas.

As 3 formulações que apresentaram atividade antimicrobiana foram incorporadas com extratos obtidos pela técnica de turbólise, sendo uma formulação de creme não iônico (F3) e duas de gel de natrosol (F9 e F11). Diferentemente dos resultados observados na avaliação dos extratos de *M. paradisiaca*, as formulações contendo os extratos obtidos por maceração não apresentaram atividade antimicrobiana.

Podemos inferir que os excipientes da formulação podem ter interagido com os ativos presentes no extrato, ocasionando assim, a inativação das formulações com atividade antimicrobiana frente às cepas estudadas (Bittencourt et al., 2014).

TABELA 6. Resultados da avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) das dezesseis formulações com os extratos de *M. Paradisiaca*- sobre fungos leveduriformes e filamentosos, técnica de microdiluição.

Formulações/ Micro-organismos	<i>C. albicans</i> ATCC-76645	<i>C. albicans</i> LM-120	<i>C. tropicalis</i> LM-7	<i>C. tropicalis</i> ATCC-13803	<i>C. tropicalis</i> LM-64	<i>C. tropicalis</i> LM-7	<i>C. krusei</i> LM-978	<i>C. krusei</i> LM-08	<i>T. mentagrophytes</i> LM-02	<i>M. gypseum</i> LM-189
F1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F3	1024	1024	+	+	1024	1024	1024	1024	+	+
F4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F9	1024	1024	1024	512	512	512	512	512	+	+
F10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F11	512	512	512	1024	1024	1024	+	+	+	+
F12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle do meio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle fungos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nistatina/ 100 UI/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluconazol/ 50 $\mu\text{g/mL}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+): Crescimento do micro-organismo (-): Ausência de crescimento do micro-organismo

CONCLUSÃO

O presente trabalho contribuiu para a ampliação dos conhecimentos sob o perfil fitoquímico e da atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de cascas de *M. Paradisiaca* oriundas da colheita e descarte no município de Campina Grande-PB. Pode-se concluir que os extratos de *M. Paradisiaca* obtidos neste estudo apresentaram atividade antimicrobiana como descritos em trabalhos anteriores, porém quando estes extratos foram incorporados às formulações, ocorreu uma redução significativa desta atividade, sugerindo uma possível interação entre os constituintes da formulação e dos extratos. Por fim, este trabalho pode ser considerado como inicial, onde os dados gerados podem ser utilizados em estudos posteriores para o desenvolvimento de uma nova formulação, em especial utilizando extratos de cascas de *M. paradisiaca* obtidos do resíduo agroindustrial, visando, desta forma, contribuir com a sustentabilidade do meio ambiente.

REFERÊNCIAS

ABE, R.; OHTANI, K. An ethno botanical study of medicinal plants and traditional therapies on Batan Island, the Philippines. **Journal of Ethno pharmacology**, v.145, p.554–565, 2013.

ACCIOLY, M. P. **Atividade leishmanicida in vitro de frações de *Spondias mombin* e *Musa paradisiaca* sobre *Leishmania chagasi***. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2009.

AGARWAL, P.K. et al. Evaluation of wound healing activity of extracts of plantain banana (*Musa sapientum* var. *paradisiaca*) in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, v.47, p.322-340, 2009.

ARRAIS, L.G. et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de *Croton pulegioides* Baill. (Zabelê). **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v. 16, n. 2, supl. 1, p.316–322, 2014.

BITTENCOURT, F.O. et al. Avaliação da atividade antifúngica de formulações semi-sólidas contendo extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena**, v.10, n. 10, p.1-11, 2014.

Casteli, V.C. ET AL. DESENVOLVIMENTO E ESTUDOS DE ESTABILIDADE PRELIMINARES DE EMULSÕES O/A CONTENDO CETOCONAZOL 2,0%. **ACTA SCIENTIARUM. HEALTH SCIENCES**, V. 30, N. 2, P.121-128, 2008.

CUSHNIE, T.P.; LAMB, A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.26, p.343–356, 2005.

CUSHNIE, T.P.; LAMB, A.J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.38, n.2, p.99-107, 2011.

ELEAZU, C.O. et al. Total antioxidant capacity, nutritional composition and inhibitory activity of unripe plantain (*Musa paradisiaca*) on oxidative stress in alloxan induced diabetic rabbits. **Pakistan Journal of Nutrition**. v.9, n.11, p.1052-1057, 2010.

EMAGA, T. H. et al. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. **Food Chemistry**, vol.103, n.2, p. 590–600, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comissão da Farmacopéia. Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira, 2º edição, 2012. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/arquivos/2012/FNFB%202_R_evisao_2_COFAR_setembro_2012_atual.pdf. Acesso em: 05 jun. 2017.

HOUGHTON, P. J. et al. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, p.391-400, 2007.

IGHODARO, O.M. Evaluation study on Nigerian species of *Musa paradisiaca* Peels: Phytochemical screening, Proximate analysis, Mineral Composition and Antimicrobial Activities. **Researcher**, v.4, n.8, p.17-20, 2012.

IMAM, M.Z.; AKTER, S. *Musa paradisiaca* L. and *Musa sapientum* L.: a phytochemical and pharmacological review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v.1, p. 14–20, 2011.

KANAZAWA, K.; SAKAKIBARA, H. High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p 844-848, 2000.

KAPPEL, V.D. et al. Beneficial effects of banana leaves (*Musa x paradisiaca*) on glucose homeostasis: multiple sites of action. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n.4 p. 706-715, 2013.

KARADI, R.V. et al. Antimicrobial activities of *Musa paradisiaca* and *Cocos nucifera*. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v.2, p. 264-267, 2011.

KNAPP, F.F.; NICHOLAS, H.J. The sterols and triterpenes of banana peel. **Phytochemistry**, v. 8, n. 1, p.207-214, 1969.

OLIVEIRA, A.B. **Microencapsulamento de estigmasterol proveniente de *Musa Paradisiaca* L., Musaceae**. 2007. 112f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 2007.

OLIVEIRA, L. et al. Lipophilic extract from banana fruit residues: a source of valuable phytosterols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 9520–9524, 2008.

OLIVEIRA, V.B. et al. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de *dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p. 230-239, 2016.

OSTROSKY, E.A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CIM) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, p.301-307, 2008.

PANNANGPETCH, P. et al. The antiulcerative effect of *Thai Musa species* in rats. **Phytotherapy Research**, v.15, p. 407–410, 2001.

POTHAVORN, P. et al. Sap phytochemical compositions of some bananas in Thailand. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.8782-8787, 2010.

RABBANI G.H. et al. Clinical studies in persistent diarrhea: Dietary management with green banana or pectin in Bangladeshi children. **Gastroenterology**, v.121, p. 554–560, 2001.

SARTORATTO, A. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.

SILVA, Leicy Francisca da. **A persistência de um saber: a medicina popular em Goiás** de 1930 a 1950. In: XXIII Simpósio Nacional de História: Guerra e Paz, 2005, Londrina. Editorial Mídia, 2005, v. 23, 550p.

SILVA, A.A.S. et al. Activity of cycloartane-type triterpenes and sterols isolated from *Musa paradisiaca* fruit peel against *Leishmania infantum*. **Phytomedicine**, v.21, p.1419–1423, 2014.

SOUZA, A. J. F. **Avaliação dos efeitos antimicrobianos de rutina e quercetina in vitro**. 2009. 62f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

TEWTRAKUL, S. et al. Antiallergic and anti-microbial activities of some Thai crops. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 30, n. 4, p. 467-473, 2008.

ZHANG, P. et al. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility – a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 443–458, 2005.