

**Extrato hidroalcoólico de *Eucalyptus camaldulensis* como ativo fitoquímico
no desenvolvimento de dentifrícios**

*Hydroalcoholic extract of Eucalyptus camaldulensis as active phytochemical in developing
toothpastes*

Gabriela Gambato¹, Mirian Salvador², Mariana Roesch Ely³, Kellen C. B. de Souza⁴ & Valéria
Weiss Angeli¹

¹ Curso de Farmácia da Universidade de Caxias do Sul (UCS)

² Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes - Instituto de Biotecnologia (UCS)

³ Laboratório de Genômica, Proteômica e Reparo de DNA - Instituto de Biotecnologia (UCS)

⁴ Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

Autor correspondente: Gabriela Gambato, e-mail: gabigambato@yahoo.com.br Universidade
de Caxias do Sul - Instituto de Biotecnologia / Bloco 57, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130
- CEP 95070-560 - Caxias do Sul/RS - Brasil (54) 81329572 ou (54) 32182100 - ramal 2682

RESUMO

O interesse por produtos contendo derivados vegetais vem crescendo cada vez mais na odontologia. Extratos preparados a partir das folhas de *Eucalyptus camaldulensis* mostraram-se efetivos no controle de diversos patógenos. Entretanto, muitos destes extratos são obtidos com solventes orgânicos agregando custo e toxicidade residual, o que limita seu uso pela indústria farmacêutica e cosmética. Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi analisar a droga vegetal e o extrato hidroalcoólico obtidos de *E. camaldulensis*, bem como determinar a atividade antioxidante e citotóxica do extrato obtido a fim de preparar formulações de dentifrícios incorporando o extrato como ativo. A partir dos ensaios realizados, verificou-se a presença de flavonoides, taninos e saponinas na droga vegetal. Um teor considerável de polifenóis totais foi determinado no extrato hidroalcoólico ($0,59\% \pm 0,008$). O extrato não foi citotóxico nas concentrações de 1% e 5% e as formulações de géis dentais desenvolvidas apresentaram características organolépticas ideais para seu consumo.

Palavras-chave: Eucalipto, Polifenóis, Antioxidante, Espalhabilidade

ABSTRACT

The interest in research using natural products containing phytochemical derivatives is increasing in the dentistry field. Leaf extracts of *Eucalyptus camaldulensis* have been effective in controlling several pathogens. However, many of these extracts are obtained with organic solvents, which add cost and residual toxicity and limits its use by the pharmaceutical and cosmetic industries. Therefore, the objective of this work was to analyze the *E. camaldulensis* herbal drug and hydroalcoholic extract obtained as well to determine antioxidant and cytotoxic activity of the extract in order to develop dentifrices formulations. We verified the presence of flavonoids, tannins and saponins in the vegetable drug. A considerable content of polyphenols was determined in hydroalcoholic liquid extract ($0.59\% \pm 0.008$). The extract was not cytotoxic at 1% and 5% and the gels showed organoleptic characteristics suitable for consumption.

Keywords: Eucalypto, Polyphenols, Antioxidant, Spreadability

INTRODUÇÃO

As plantas são uma fonte importante de compostos biologicamente ativos utilizados como precursores na síntese de fármacos ou diretamente na terapêutica. Evidências têm mostrado que alimentos e bebidas enriquecidos com estes compostos beneficiam a manutenção da saúde bucal. Neste contexto, o interesse por produtos contendo derivados vegetais vem crescendo cada vez mais na odontologia (Yoo *et al.*, 2011).

Desde tempos antigos a medicina popular emprega o *Eucalyptus* como antisséptico anti-inflamatório e antipirético no tratamento de diversas patologias, até mesmo em afecções dentárias (Sadlon & Lamson, 2010). Para as folhas de *Eucalyptus camaldulensis* (família Myrtaceae) já foi relatada a presença de saponinas (Babayi, 2004; Ayepola & Adeniyi 2008), óleos (Sadlon & Lamson, 2010), glicosídeos cardiotônicos (Ayepola & Adeniyi 2008) e compostos polifenólicos (El-Ghorab *et al.*, 2003; Ayepola & Adeniyi 2008). Os polifenóis caracterizam-se quimicamente pela sua capacidade redutora, a qual está diretamente relacionadas à sua atividade frente espécies reativas como os radicais livres (Halliwell, 2007). Estudos têm mostrado que os polifenóis são ativos contra a iniciação e propagação de diversas patologias, inclusive em processos cariogênicos e periodontites (Yoo *et al.*, 2011).

Relatos na literatura destacam a atividade antibacteriana (Babay *et al.*, 2004; Ayepola & Adeniyi 2008), antifúngica (Falahati *et al.*, 2005; Moghimipour *et al.*, 2009), antioxidante (El-Ghorab *et al.*, 2003; Singab, *et al.*, 2011) e citotóxica (Singab, *et al.*, 2011) para os extratos de *E. camaldulensis*. Observa-se, entretanto uma ampla diversidade nas formas de obtenção destes extratos. Além disso, muitos dos quais empregam solventes orgânicos na extração dos metabólitos ativos, tornando-se um fator limitante no uso destes pela indústria farmacêutica e cosmética, pois agregam custo e toxicidade residual ao produto final.

O objetivo deste trabalho foi analisar a droga vegetal e o extrato hidroalcoólico obtidos a partir das folhas de *E. camaldulensis*, bem como determinar a atividade antioxidante e citotóxica do extrato obtido para posterior incorporação em géis dentifrícios.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da droga vegetal

O material vegetal foi coletado no município de Farroupilha - Rio Grande do Sul (N: 037°33'59" e E:126°058'00") e depositado no Herbário da Universidade de Caxias do Sul (exsicata HUUCS39594) sob responsabilidade do professor Ronaldo A. Wasum. As folhas do *E. camaldulensis* foram coletadas, higienizadas em água corrente, secas em estufa de ar circulante a $40 \pm 5^\circ\text{C}$ (TE-394/2, Tecnal) por 6 dias e reduzidas em moinho de facas (TE-650, Tecnal). A droga vegetal moída foi armazenada em frasco hermeticamente fechado ao abrigo de luz e umidade até o momento do uso.

Caracterização da droga vegetal

Para a caracterização da droga vegetal foram realizados a prospecção fitoquímica e ensaios de pureza. Na prospecção fitoquímica a ocorrência de alcaloides, cumarinas, flavonoides, metilxantinas, quinonas, saponinas e taninos foi pesquisada, mediante metodologias propostas por Matos (2009).

Os ensaios de pureza referente ao percentual de material estranho e o teor de umidade pelo método gravimétrico foram realizados em triplicata, conforme preconizado na 5ª edição da Farmacopeia Brasileira volume I (2010).

Obtenção do extrato hidroalcoólico

Foram preparados três extratos com diferentes proporções de droga vegetal: solução hidroalcoólica 50% (1:5, 1:10 e 1:15). Realizou-se a correção do teor de umidade presente na droga vegetal. Após 3 dias em maceração a temperatura ambiente com agitação ocasional os extratos hidroalcoólicos foram filtrados e armazenados em frascos âmbar até o momento da utilização. Em estudo prévio, o extrato preparado na proporção 1:5 droga vegetal: solução hidroalcoólica 50% apresentou melhor perfil de redução do radical DPPH (dados não apresentados) e, portanto, foi escolhido para condução deste trabalho.

Caracterização do extrato hidroalcoólico

Foram determinados o pH, a densidade relativa e o percentual de resíduo seco, em triplicata, de acordo com a 5ª edição da Farmacopeia Brasileira, volume I (2010). Para a cromatografia em camada delgada (CCD) utilizou-se como fase estacionária placas de sílica-gel GF₂₅₄ (Merck®) e para a fase móvel uma solução composta por acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água destilada (100:11:11:26 v/v/v/v). Após total eluição a placa foi revelada com solução de difenilborato de aminoetanol 1% (m/v) e em seguida com solução polietilenoglicol 5% (p/v) em metanol. Examinou-se o aparecimento das bandas sob a luz ultravioleta a (365nm).

O doseamento dos polifenóis totais foi realizado com embasamento na monografia da *Maytenus ilicifolia* descrita na 5ª edição da Farmacopeia Brasileira, volume II (2010). Utilizou-se o ácido clorogênico como padrão devido à positividade na CCD.

Atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico

A atividade antioxidante *in vitro* do extrato hidroalcoólico foi determinada através da sua capacidade de reduzir o radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Spada *et al.*, 2008). Nesta reação, 200 µL do extrato nas concentrações de 0,1 a 1 % foram adicionados a 800 µL do tampão Tris-HCl (100 mM, pH 7,0) em seguida, foi adicionado 1 mL da solução de DPPH (250 µM em etanol). Após 20 minutos ao abrigo da luz, foi realizada a leitura do produto da reação em espectrofotômetro (modelo UV-1700, Shimadzu) a 517 nm.

Atividade citotóxica do extrato hidroalcoólico

O inóculo de 2×10^7 células/mL da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem XV185-14C), em fase estacionária de crescimento, foi tratado com peróxido de hidrogênio 75 mM (controle positivo), solução salina 0,9% (controle negativo/branco) e com o extrato hidroalcoólico nas concentrações de 1 a 15%. Os tratamentos foram incubados a 28°C por 1 hora, e em seguida, foram plaqueados em meio *Yeast Extract Peptone Dextrose* (YEPD) sólido composto por 1% (p/v) de extrato de levedura, 2% (p/v) de peptona e 2% (p/v) de glicose. As placas foram incubadas a 28 °C por 48 horas. Após este período, as colônias foram contadas em cada placa e foram determinados os percentuais de sobrevivência celular considerando o controle negativo como 100% de sobrevivência. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Desenvolvimento e avaliação das formulações dentifrícias

Após a análise da droga vegetal e do extrato hidroalcoólico duas formulações de géis dentais foram propostas incorporando o extrato como ativo terapêutico. As formulações (Tabela 2) foram avaliadas quanto às características organolépticas: aspecto, cor, odor e sabor, pH e a consistência por espalhabilidade (Borghetti & Knorst, 2006). Os testes foram realizados em triplicata para cada formulação e as médias calculadas.

Análise estatística

Todos os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão das triplicatas experimentais. Para análise estatística utilizou-se o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS 19.0) no qual foi realizado o teste de análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

A droga vegetal obtida das folhas do *E. camaldulensis* apresentou coloração verde clara sob a forma de pó com odor característico de eucaliptol. De acordo com os dados da Tabela 1 verifica-se que a mesma apresentou-se adequada para a preparação do extrato hidroalcoólico. Além de apresentar metabólitos biologicamente ativos como flavonoides (flavonas, flavonois, flavanonas, chalconas e isoflavonas), saponinas e taninos hidrolisáveis.

Tabela 1: Caracterização da droga vegetal e do extrato hidroalcoólico obtidos a partir das folhas de *E. camaldulensis*.

Análise	Droga vegetal	Extrato vegetal
Polifenóis totais*	126,50 mg/g \pm 3,01	5,90 mg/mL \pm 0,08
Material estranho	0,42 % \pm 0,01	-
Teor de umidade	7,2 % \pm 0,05	-
Densidade	-	0,94 g/mL \pm 0,00
pH	-	5,46 \pm 0,01
Resíduo seco	-	2,75 % \pm 0,10

*Polifenóis totais expressos em ácido clorogênico

A presença de polifenóis bem como de ácido clorogênico no extrato foi observada através da cromatografia em camada delgada. Na qual foram observadas manchas características de polifenóis sendo que a mancha de maior intensidade ostentou $R_f = 0,69$ e cor azul, correspondente à mancha do padrão ácido clorogênico de $R_f = 0,62$ de mesma coloração. Foram doseados $0,59\% \pm 0,008$ de polifenóis totais expressos em equivalentes de ácido clorogênico no extrato hidroalcoólico obtido. Por se tratar de um extrato com teor considerável de polifenóis, os quais são reconhecidos pela sua capacidade redutora, a atividade antioxidante foi determinada. No Gráfico 1 é apresentado o perfil de redução do radical livre DPPH. Verificou-se que para reduzir 50 % do radical (IC_{50}) foi necessário $0,85\% \pm 0,036$ do extrato hidroalcoólico obtido, concentração esta que não se mostrou citotóxica para as células eucarióticas.

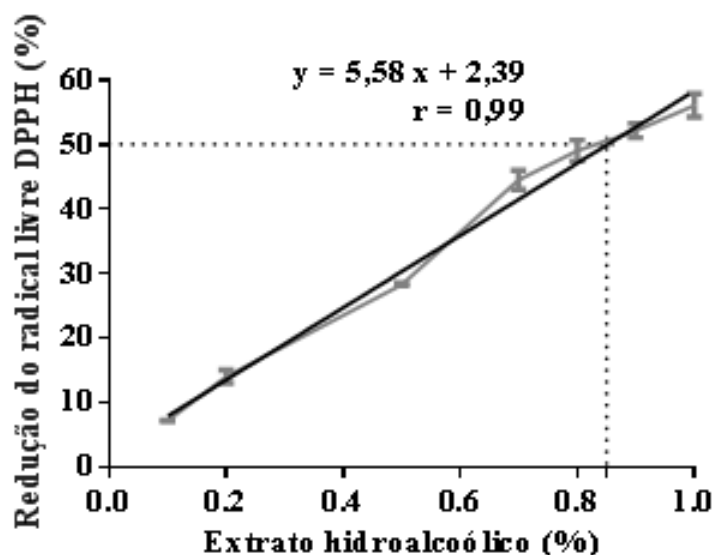


Gráfico 1. Percentual da redução do radical livre DPPH frente às diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico (%). IC_{50} . Resultados expressos em média e desvio padrão da triplicata experimental.

Conforme pode ser observado no Gráfico 2, concentrações iguais ou inferiores a 5% de extrato não foram citotóxicas para células eucarióticas enquanto que concentrações iguais ou superiores a 10% e 15% mostraram-se citotóxicas uma vez que apresentaram $66,64\% \pm 10,31$ e $59,63\% \pm 3,78$ de sobrevivência, respectivamente.

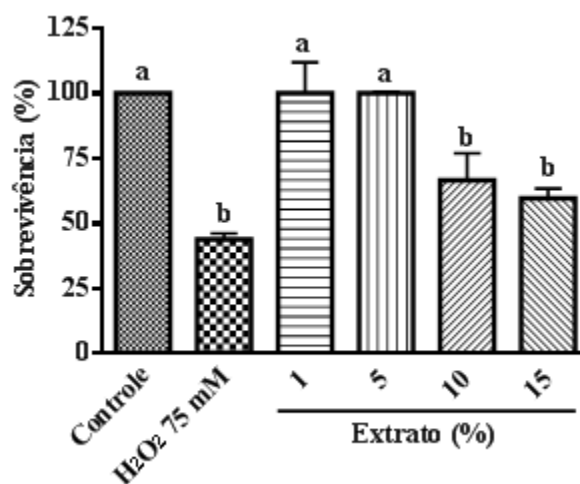


Gráfico 2. Percentual de sobrevivência da levedura *Saccharomyces cerevisiae* tratada com diferentes concentrações do extrato. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste de ANOVA e pós teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os resultados percentuais apresentam média e desvio padrão.

Na Tabela 2 são apresentadas as duas formulações de géis dentais desenvolvidas contendo o extrato hidroalcoólico de *E. camaldulensis*. Ambas as formulações apresentaram aspecto homogêneo, sem grumos ou precipitados. A coloração levemente amarela característica do extrato foi ajustada para verde com a incorporação dos corantes verde e azul. O odor apresentado foi típico da essência alimentícia de hortelã, o sabor adocicado foi proporcionado pela sacarina e pelo sorbitol, enquanto que o mentol conferiu sensação de refrescância. O pH da formulação contendo Natrosol[®] foi $6,20 \pm 0,02$ e o da formulação contendo Carbopol Ultrez[®] foi de $5,14 \pm 0,05$, ambos ajustados com trietanolamina para pH=7,0. Observa-se no Gráfico 3 que a fórmula contendo Natrosol[®] apresentou valores de espalhabilidade significativamente superiores ($p < 0,05$) em relação à fórmula que continha o Carbopol Ultrez[®] como espessante.

Tabela 2: Formulações dentífricas desenvolvidas contendo extrato de *E. camaldulensis*.

Agente	Concentração (%)		Finalidade
	Formulação 1	Formulação 2	
Sacarina Sódica	0,2	0,2	Adoçante
<u>Sorbato de Potássio</u>	0,3	0,3	Conservante
<u>Sorbitol</u> (solução 70 %)	30	30	Umectante
<u>Lauril sulfato de sódio</u>	2	2	Detergente
Extrato de <i>E. camaldulensis</i>	5	5	Antioxidante/Anti-inflamatório
Essência	1	1	Flavorizante
Dióxido de silício	10	10	Abrasivo
<u>Goma xantana</u>	0,40	0,40	<u>Viscosificante</u>
<u>Natrosol</u> [®]	0,30	-	<u>Espessante</u>
<u>Carbopol Ultrez</u> [®]	-	0,30	<u>Espessante</u>
Fluoreto de Sódio	0,32	0,32	Agente Profilático
Mentol	0,1	0,1	Refrescante
Água destilada	qsp 100g	qsp 100g	Veículo
<u>Trietanolamina</u>	qsp pH=7,0	qsp pH=7,0	<u>Alcalinizante</u>

DISCUSSÃO

Em todo o mundo é crescente a utilização de plantas medicinais seja pelo fácil acesso, seja pelo apelo convidativo ao “produto natural”. Desta forma, a produção de drogas vegetais também tem sido crescente para alcançar a demanda (Gil, 2007). Fato este que torna fundamental o controle de qualidade das matérias-primas vegetais (teor de ativos, pureza, eficácia e inocuidade) possibilitando seu emprego em produtos farmacêuticos. Segundo a Farmacopeia Europeia (2007), a droga vegetal obtida das folhas do *Eucalyptus sp.* deve apresentar no máximo 2% (p/p) de material estranho e até 10% (p/p) de umidade. Assim, conforme a Tabela 1 verifica-se que a droga vegetal obtida está adequada ao preconizados na literatura. Para as folhas da espécie *E. camaldulensis* Ayepola e Adeniyi (2008) relataram a presença de taninos e saponinas, embora não tenham encontrado flavonóides, enquanto que Begum e colaboradores (2002) identificaram um composto

denominado ácido eucaliptoico (triterpenoide do tipo α -amirina) o qual apresentou significativa atividade espasmolítica.

Através do doseamento verificou-se um teor considerável de polifenóis no extrato obtido sendo de caráter majoritário o ácido clorogênico. Ferrazzano e colaboradores (2009) reportaram a ação anticariogênica dos polifenóis, dentre os quais, o ácido clorogênico seria o principal responsável por reduzir a aderência do *Streptococcus mutans* na superfície dos dentes. Yoo e colaboradores (2011) relatam a importância destes compostos fitoquímicos na inibição da enzima glicosiltransferase, responsável pela formação de dextranas, as quais permitem a adesão de bactérias como o *S. mutans* e *Streptococcus sobrinus* formadoras de cáries dentárias.

Outro ponto importante a ser considerado relaciona-se a prevenção da evolução da lesão periodontal, na qual leucócitos polimorfonucleares produzem espécies reativas de oxigênio (ERO) como mecanismo de defesa frente ao agente infeccioso. A produção acelerada de ERO pode induzir ao estresse oxidativo na mucosa, o qual está diretamente relacionado ao dano inflamatório progressivo. Portanto, a terapia com antioxidantes oferece benefícios no manejo do processo inflamatório periodontal (Maruyama *et al.*, 2011).

Como pode ser observado no Gráfico 1 o extrato obtido neste estudo possui importante atividade antioxidante uma vez que é necessário $0,85\% \pm 0,036$ do extrato para inibir 50% do DPPH. Singab *et al.* (2011) relatam que apenas $14,0 \mu\text{g/mL} \pm 0,20$ do extrato de *E. camaldulensis* seriam necessários para obter a mesma resposta. No entanto, o extrato deveria ser obtido com solvente orgânico (acetona) além de passar pela operação de secagem, agregando assim custos e toxicidade residual significativos no produto final.

Por apresentar atividade antioxidante e não ser citotóxica em célula eucariota, a concentração de 5% de extrato foi escolhida para incorporação nos géis dentifrícios. Caracterizando um produto destinado a finalidade profilática de um processo cariogênico e inflamatório. Assim, a variabilidade entre as formulações desenvolvidas (Tabela 2) limita-se ao tipo de espessante empregado (Natrosol® ou Carbopol Ultrez®) sendo este um fator chave na formulação de géis devido à influência dos mesmos no comportamento reológico e na estabilidade física do produto (Corrêa *et al.*, 2005).

A espalhabilidade é uma característica importante das formulações de aplicação tópica e semi-sólidas como os géis (Borghetti & Knorst, 2006). Relaciona-se diretamente à facilidade de utilização de um produto, transferência de dosagem do princípio ativo, extrusibilidade a partir de uma embalagem e acima de tudo, a preferência pelo consumidor (Garg *et al.*, 2002).

Os perfis de espalhabilidade em função do peso adicionado são apresentados no Gráfico 3. Verifica-se que a fórmula contendo Carbopol Ultrez® apresentou maior consistência quando comparada ao gel de Natrosol® uma vez que a espalhabilidade foi significativamente inferior ($p < 0,05$). Obtendo-se um produto típico para comercialização em embalagem do tipo bisnaga na qual uma força deve ser exercida para que o produto saia da embalagem e seja utilizado. Para a fórmula contendo Natrosol® este tipo de embalagem não seria ideal devido à baixa consistência a qual se torna ideal para outras embalagens.

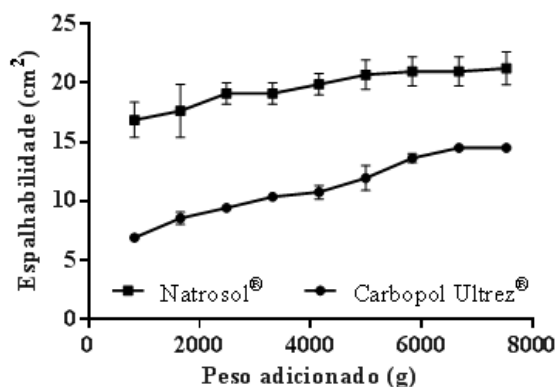


Gráfico 3. Espalhabilidade das formulações contendo Natrosol® e Carbopol Ultrez® em função do peso adicionado (n=3).

A escolha do tipo de apresentação destes dentífricos, de maior ou menor consistência, depende da exigência de cada consumidor, bem como das propriedades reológicas requeridas. Ambos os géis dentais desenvolvidos apresentaram características organolépticas adequadas ao consumo.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, concluiu-se que, a partir da droga vegetal do *E. camaldulensis*, foi possível obter um extrato hidroalcoólico com teor considerável de polifenóis. O qual apresentou importante atividade antioxidante, podendo ser empregado no desenvolvimento de dentífricos com a finalidade de prevenção de um processo cariogênico e inflamatório. Embora as formulações obtidas tenham apresentado características adequadas ao consumo, mais estudos são necessários para verificar a sua eficácia, segurança e inocuidade.

REFERÊNCIAS

Ayepola OO & Adeniyi BA. The antibacterial activity of leaf extracts of *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae). *J. Appl. Sci. Res.* 4(11): 1410-13, 2008.

Babayi H, Kolo I, Okogun JI, Ijah UJJ. The antimicrobial activities of methanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalis catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biokem.* 16(2): 106-11, 2004.

Begum S, Sultana I, Siddiqui BS, Shaheen F, Gilani AH. Structure and spasmolytic activity of eucalyptanoic acid from *Eucalyptus camaldulensis* var. *obtusata* and synthesis of its active derivative from Oleanolic acid. *J. Nat. Prod.* 65: 1939-41, 2002.

Borghetti GS, Knorst MT. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. *RBCF.* 42 (4): 531-37, 2006.

Farmacopéia brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2010. V.1, 853p.

Corrêa NM, Júnior FBC, Ignácio RF, Leonardi GR. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. *RBCF.* 41(1): 73-8, 2005.

El-Ghorab AH, El-Massry KF, Marx F, Fadel HM. Antioxidant activity of *Eucalyptus camaldulensis* var. *brevirostris* leaf extract. *Nahrung.* 47(1): 41-5, 2003.

European Pharmacopoeia Commission. European pharmacopoeia. 6.ed. Strasbourg: Council of Europe, c2007. 2 v.

Falahati M, Tabrizi NO, Jahaniani F. Anti dermatophyte activities of *Eucalyptus camaldulensis* in comparison with griseofulvin. *IJPT.* 4(2): 80-83, 2005.

Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, De Natale A, Pollio A. Anti-cariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia.* 80: 255-62, 2009.

Garg A, Aggarwal D, Garg S, Singla AK. Spreading of semisolid formulations: an update. *Pharm. Tech.* 26(9): 84-105, 2002.

Gil ES. Controle físico-químico de qualidade de medicamentos. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2007. 485 p.

Halliwell B & Gutteridge JMC. Free radical in biology and medicine. 4. ed. New York: Oxford, 2007. 851 p.

Maruyama AT, Tomofuji T, Endo Y, Irie K, Azuma T, Ekuni D, Tamaki N, Yamamoto T, Morita M. Supplementation of green tea catechins in dentifrices suppresses gingival oxidative stress and periodontal inflammation. *Arch. Oral Biol.* 56(1): 48-53, 2011.

Matos FJA. Introdução à fitoquímica experimental. Ceará: editora da UFC, 2009. 150 p.

Moghimpour E, Ameri A, Saudatzadeh A, Salimi A, Siahpoosh A. Formulation of an anti-dermatophyte cream from hydro-alcoholic extract of *Eucalyptus camaldulensis* leaves. *JJNPP.* 4(1): 32-40, 2009.

Sadlon EA, Lamson DW. Immune-modifying and antimicrobial effects of eucalyptus oil and sample inhalation devices. *Altern. Med. Rev.* 15(1): 33-47, 2010.

Silva R, Ferreira GAL, Baptista JA, Diniz EFV. A química e a conservação dos dentes. *QNEsc.* 13: 3-8, 2001.

Singab A, Ayoub N, Al-Sayed E, Martiskainen O, Sinkkonen J, Pihlaja K. Phenolic constituents of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, with potential antioxidant and cytotoxic activities. *Rec. Nat. Prod.* 5(4): 271-80, 2011.

Spada PDS, Souza GGN, Bortolini GV, Henriques JAP, Salvador M. Antioxidant, mutagenic, and antimutagenic activity of frozen fruits. *J. Med. Food.* 11(1): 144-51, 2008.

Yoo S, Murata RM, Duarte S. Antimicrobial traits of tea- and cranberry-derived polyphenols against *Streptococcus mutans*. *Caries Res.* 45(4): 327-35, 2011.