



República Federativa do Brasil  
Ministério da Indústria, Comércio Exterior  
e Serviços  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102014025601-6 A2

(22) Data do Depósito: 14/10/2014

(43) Data da Publicação: 17/05/2016

(RPI 2367)



(54) **Título:** PROCESSO DE EXTRAÇÃO E ISOLAMENTO DE SUBSTÂNCIAS ATIVAS PRESENTES NA POLPA DO UMBU, SUBSTÂNCIAS ATIVAS, ALIMENTOS NUTRACÊUTICOS E/OU FUNCIONAIS COMPREENDENDO AS REFERIDAS SUBSTÂNCIAS ATIVAS E SEU USO

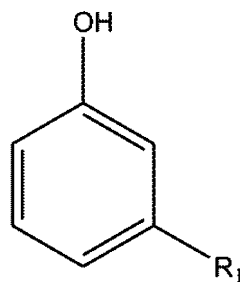
(51) **Int. Cl.:** C07C 37/68; C07C 39/04; C07C 51/42; C07C 63/64; A23L 1/222; (...)

(73) **Titular(es):** UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO, UNIVERSITÉ DE GENÈVE

(72) **Inventor(es):** MARIA LUIZA ZERAIK, EMERSON FERREIRA QUEIROZ, IAN CASTRO-GAMBOA, DULCE HELENA SIQUEIRA SILVA, MURIEL CUENDET, VANDERLAN DA SILVA BOLZANI, JEAN-LUC WOLFENDER, LAURENCE MARCOURT, OLIVIER CICLET

(74) **Procurador(es):** FABÍOLA DE MORAES SPIANDORELLO

(57) **Resumo:** Resumo PROCESSO DE EXTRAÇÃO E ISOLAMENTO DE SUBSTÂNCIAS ATIVAS PRESENTES NA POLPA DO UMBU, SUBSTÂNCIAS ATIVAS, ALIMENTOS NUTRACÊUTICOS E/OU FUNCIONAIS COMPREENDENDO AS REFERIDAS SUBSTÂNCIAS ATIVAS E SEU USO A presente invenção se refere ao processo de extração e isolamento de substâncias ativas presentes na polpa do umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Camara). As referidas substâncias ativas apresentam uma potente atividade quimiopreventiva e, em vista das suas características, o extrato diclorometano fracionado e os ativos obtidos pelo processo ora proposto podem ser aplicados em alimentos nutracêuticos e/ou funcionais.



R<sub>1</sub> = 20 C

**PROCESSO DE EXTRAÇÃO E ISOLAMENTO DE SUBSTÂNCIAS ATIVAS  
PRESENTES NA POLPA DO UMBU, SUBSTÂNCIAS ATIVAS, ALIMENTOS  
NUTRACÊUTICOS E/OU FUNCIONAIS COMPREENDENDO AS REFERIDAS  
SUBSTÂNCIAS ATIVAS E SEU USO**

**Campo da invenção:**

[001] A presente invenção se refere ao processo de extração e isolamento de substâncias ativas presentes na polpa do umbu (*Spondias tuberosa Arr. Camara*). O extrato diclorometano fracionado e as substâncias ativas apresentam potente atividade quimiopreventiva.

[002] Em vista das suas características, o extrato e as substâncias ativas obtidos pelo processo ora proposto podem ser aplicados em alimentos nutracêuticos e/ou funcionais com potente atividade de quimioprevenção.

**Fundamentos da invenção:**

[003] A biodiversidade brasileira é fonte de uma grande variedade de frutos comestíveis, sendo o nosso país um dos três maiores produtores mundiais de frutas.

[004] As frutas tropicais representam uma fonte original e valiosa de compostos bioativos e seu consumo vem aumentando nos mercados nacional e internacional, devido ao crescente reconhecimento de seu valor nutritivo e terapêutico.

[005] No entanto, na maioria dos casos, o potencial destes frutos permanece desconhecido ou pouco estudado quanto aos seus constituintes químicos e suas atividades biológicas, como é o caso do fruto exótico da espécie *Spondias tuberosa Arr. Camara*, conhecido popularmente no Brasil como "umbu".

[006] O umbuzeiro é uma planta tropical nativa do

nordeste brasileiro e desempenha um papel importante na Caatinga, uma vez que floresce e dá frutos durante a estação de seca, fazendo desta planta uma valiosa fonte de renda para a população local.

[007] O umbu é muito apreciado nas regiões norte e nordeste do Brasil, principalmente devido ao seu sabor refrescante e ácido. O fruto pode ser consumido fresco ou na forma de suco, sorvete, doce e geleia, bem como na forma da "umbuzada", doce tradicionalmente nordestino em que a polpa é cozida com leite e açúcar.

[008] Estudos anteriores mostraram que substâncias presentes em frutos brasileiros, como o umbu, apresentavam propriedades antioxidantes. Embora as vitaminas, minerais e compostos voláteis presentes na polpa de umbu já tenham sido identificados, nenhum estudo fitoquímico de isolamento dos metabólitos secundários não voláteis e sua bioatividade voltada para quimioprevenção foi realizado.

[009] O câncer trata-se de um processo crônico, no qual células anormais apresentam um crescimento desordenado e descontrolado, invadindo tecidos e órgãos.

[010] Nas últimas décadas, ocorreu em todo o mundo um expressivo aumento nos casos de câncer, decorrente da interação de fatores externos (como estilo de vida moderno, hábitos, costumes e meio ambiente) e fatores internos, como pré-disposição genética.

[011] A carcinogênese é um processo dividido em 3 etapas, sendo elas: a iniciação (quando células "normais" são expostas a um agente carcinogênico), a promoção (quando as células anormais persistem e iniciam uma etapa pré-neoplásica) e a progressão (fase em que as células estão em

crescimento celular descontrolado).

[012] Ensaios clínicos e pré-clínicos mostraram que os processos envolvidos na carcinogênese devem ser combatidos sob várias frentes. Sendo assim, inúmeras estratégias são conhecidas para evitar a exposição celular a agentes desencadeadores da carcinogênese, dentre elas modificação no estilo de vida e a quimioprevenção.

[013] A quimioprevenção do câncer é feita pela prevenção, atraso ou reversão do processo de carcinogênese, por meio da ingestão de compostos na dieta ou fármacos. A quimioprevenção intervém em todas as fases do processo da carcinogênese, através da eliminação das células pré-malignas e proteção das células normais de uma possível carcinogênese.

[014] Neste contexto, produtos naturais provenientes de espécies de plantas são conhecidos como desmutagênicos e podem reduzir danos ao DNA através da detoxificação dos mutágenos pela indução de enzimas detoxificadoras (enzimas de fase II), como é o caso da enzima quinona redutase (QR).

[015] A redução de quinonas eletrofílicas pela QR é uma via de detoxificação importante, que converte quinonas a hidroquinonas e reduz a formação de agentes oxidativos. Como enzimas de fase I podem ativar procarcinógenos, é desejável que produtos naturais que tenham atividade quimiopreventiva apresentem caráter monofuncional, ou seja, induzam apenas enzimas de fase II.

[016] Assim, o estudo de produtos naturais com o ensaio da QR é importante para o descobrimento e desenvolvimento de novas substâncias capazes de prevenir o câncer.

[017] Estudos descritos na literatura científica

mostram atividades distintas dos extratos de plantas brasileiras sobre a pele, tais como ação hidratante, de proteção solar, despigmentação e ação antioxidante.

[018] Dentre os frutos já estudados e utilizados na indústria de cosméticos, tem-se a acerola, rica em vitamina C e que apresenta efeito antienvhecimento, e a romã, que apresenta eficácia como agente fotoquimiopreventivo, uma vez que seus constituintes químicos atuam na modulação dos danos oxidativos causados na pele pela radiação ultravioleta UVA e UVB.

[019] Esses exemplos mostram que vários fitonutrientes ricos em constituintes antioxidantes podem ser bastante eficazes, evitando o dano oxidativo celular.

[020] Nesse sentido, a presente invenção provê um processo de extração e isolamento de substâncias ativas presentes no extrato diclorometano da polpa do umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Camara). O extrato foi avaliado frente à indução da enzima quinona redutase, para verificar sua atividade quimiopreventiva.

[021] A partir do extrato, são isoladas e identificadas substâncias que apresentam alta atividade quimiopreventiva, conforme se verifica nos testes biológicos realizados.

[022] Os ativos obtidos de acordo com o processo podem ser aplicados em alimentos nutracêuticos e/ou funcionais, em vista da sua potente indução da quinona redutase e consequente atividade quimiopreventiva.

**Breve descrição da invenção:**

[023] A presente invenção se refere ao processo de extração e isolamento de substâncias ativas presentes na polpa do umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Camara), que conferem

alta atividade quimiopreventiva ao extrato diclorometano, avaliada pelo teste de indução da enzima quinona redutase.

[024] Os ativos obtidos de acordo com o processo podem ser aplicados em alimentos nutracêuticos e/ou funcionais.

**Breve descrição das figuras:**

[025] As Figuras 1A-1D representam estruturalmente o ácido anarcádico e os cardanóis obtidos de acordo com o processo da presente invenção.

[026] As Figuras 2A e 2B representam graficamente a análise do extrato diclorometano da polpa dos frutos de *Spondias tuberosa* por HPLC/UV (fase reversa) e HPLC/UV/ELSD (fase normal), respectivamente.

[027] As Figuras 3A-3E representam graficamente a análise do extrato diclorometano da polpa dos frutos de *Spondias tuberosa* por HPLC/UV (fase reversa) após fracionamento por SPE em concentrações de metanol a 20, 40, 60, 80 e 100%.

[028] A Figura 4 é um cromatograma do extrato diclorometano da polpa dos frutos de *Spondias tuberosa* obtido por HPLC/UV/ELSD.

**Descrição detalhada da invenção:**

[029] A presente tecnologia descreve o processo de extração e isolamento de substâncias ativas presentes na polpa do umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Camara), o qual consiste nas etapas de:

- a) obtenção do extrato diclorometano;
- b) análise do extrato diclorometano obtido;
- c) fracionamento do extrato diclorometano obtido; e
- d) isolamento das substâncias ativas.

[030] A seguir, as etapas do processo são mais bem

detalhadas.

a) Obtenção do extrato diclorometano:

[031] Para a obtenção do extrato diclorometano da polpa, os frutos de *Spondias tuberosa* Arr. Camara foram coletados no verão (mais especificamente, em fevereiro), época do ano que favorece a colheita de frutos com a concentração de ativos desejada.

[032] A polpa dos frutos de umbu foi separada das sementes e homogeneizada com o auxílio de um misturador. Após este passo, a polpa foi congelada e liofilizada.

[033] A polpa pulverizada foi exaustivamente extraída por maceração com hexano, seguido por diclorometano e metanol. Todos os solventes estavam puros.

[034] Os extratos secos foram obtidos após a remoção do solvente por evaporação sob pressão reduzida, em uma faixa que varia de 500 a 400 mBar, em uma temperatura que varia de 40 a 42 °C, utilizando rotaevaporador.

b) Análise do extrato diclorometano obtido:

[035] As análises dos extratos diclorometano foram realizadas por um sistema HPLC-UV-PDA com detector de arranjo de diodos, HPLC-UV-ELSD (fase normal) e por LC-PDA-MS.

[036] No HPLC-UV-PDA, a separação foi realizada utilizando octadecilsilano (C18) como fase estacionária, precedida por uma pré-coluna (contendo mesma fase). O sistema de solvente utilizado como fase móvel foi uma mistura de água (A) e metanol (B), ambos com 0,01 a 0,5% de ácido fórmico, no modo gradiente de 5 a 100% de B em 60 minutos, com gradiente linear.

[037] As amostras foram injetadas automaticamente, com

vazão de 1,0 mL.min<sup>-1</sup>.

[038] O cromatograma foi registrado e os espectros de UV dos picos individuais foram monitorados na faixa de comprimento de onda de 200 a 400 nm.

[039] As análises por HPLC-ELSD-UV foram realizadas em um sistema de cromatografia líquida Spot Prep II, com coluna preenchida com sílica (fase normal).

[040] O sistema de solvente utilizado foi uma mistura de acetato de etila (A) e hexano (B), com modo gradiente de 5 a 100% de B em 60 min, com gradiente linear. A vazão foi de 5,0 mL min<sup>-1</sup> e o volume de injeção foi de 1 mL.

[041] Dados LC-PDA-MS foram obtidos por meio de um sistema consistindo de um amostrador automático, bomba de mistura de alta pressão e um detector PAD ligado a um espectrômetro de massa tipo quadrupolo, equipado com uma interface de electrospray.

[042] A coluna e as condições cromatográficas foram as mesmas que as utilizadas para as análises por HPLC-UV-PDA. O volume de injeção foi de 20 µL e a vazão foi de 0,2 mL min<sup>-1</sup>.

[043] Para o espectrômetro de massa, a tensão capilar foi de 30 a 50 V, a temperatura capilar foi de 150 a 250°C, a fonte de tensão foi de 4,5 a 5,0 kV e a fonte de corrente foi de 60 a 90 mA. As análises foram realizadas nos modos íons positivos e negativos.

c) Fracionamento do extrato diclorometano obtido:

[044] O fracionamento bioquímico do extrato diclorometano da polpa de umbu foi realizado por um sistema de cromatografia por SPE, com cartucho empacotado com a fase estacionária C18, a fim de localizar a região ativa no



ensaio de indução de quinona redutase.

[045] O sistema de solvente utilizado foi uma mistura de água (A) e metanol (B), nas seguintes proporções: 20:80, 40:60, 60:40, 80:20, 100:0.

[046] A vazão foi de 1,0 mL min<sup>-1</sup> e o volume de injeção foi de 5 mL.

[047] A separação resultou em 5 frações, as quais foram analisadas por HPLC-UV-PDA sob as mesmas condições utilizadas para a análise do extrato dos frutos e também foram submetidas ao ensaio de indução de quinona redutase.

d) Isolamento das substâncias ativas:

[048] O isolamento das substâncias ativas presentes no extrato diclorometano da polpa dos frutos de *S. tuberosa* foi realizado com um sistema semipreparativo HPLC/UV/ELSD, o qual forneceu 40 frações.

[049] A coluna foi preenchida com sílica como fase estacionária e, para fase móvel, foi utilizado acetato de etila (A) e hexano (B), com gradiente de eluição otimizado, sendo ele:

- 0 a 10 min: 2-5% de B em A,
- 10 a 25 min: 5-10% de B em A
- 25 a 30 min: 10% de B em A
- 30 a 40 min: 10-15% de B em A
- 40 a 70 min: 15-60% de B em A.

[050] A vazão utilizada foi de 5,0 mL min<sup>-1</sup> e o volume de injeção foi de 2 mL, com absorvância no UV detectada a 254 nm. As frações foram coletadas a cada 10,0 mL. Após esta etapa, cada fração foi concentrada em rotaevaporador e depois foram secas usando N<sub>2</sub>.

[051] Todas as 40 frações obtidas foram monitoradas por

HPLC/UV. A fração 5 forneceu uma mistura de ácidos graxos; a fração 11 forneceu um ácido anacárdico com R sendo um pentadecil (Figura 1A) e a fração 13 forneceu uma mistura de três cardanóis com Rs sendo 20, 22 e 24 carbonos, respectivamente mostrados nas Figuras 1B, 1C e 1D.

[052] A identificação estrutural das substâncias foi realizada por RMN e HRMS.

**Teste realizado:**

[053] Para avaliação da atividade quimiopreventiva do extrato diclorometano e das substâncias ativas obtidas, foi realizado o seguinte teste:

**- Ensaio de indução da quinona redutase:**

[054] A avaliação da atividade quimiopreventiva do extrato e das substâncias ativas foi realizada por meio da indução da enzima quinona redutase. O ensaio foi efetuado segundo método conhecido do estado da técnica.

[055] Para a avaliação de amostras como indutores da enzima quinona redutase, empregou-se uma cultura de células hepáticas, Hepalcl7.

[056] O método proporciona resultados quantitativos e reprodutíveis para detectar compostos puros e extratos de plantas promissores.

[057] A atividade específica da QR é determinada pela medição do NADPH mediada pela redução através do uso de MTT. Ações sobre a proteína são determinadas pela coloração violeta. A atividade da indução de QR será expressa como a concentração necessária para dobrar a atividade específica da enzima.

[058] Resumidamente, a atividade da quinona redutase foi determinada após dois dias de incubação das células com

as amostras. As células foram, então, lisadas e a redução do MTT foi medida em um espectrofotômetro de microplacas em  $\lambda = 595 \text{ nm}$ .

[059] Em paralelo, a quantidade de células viáveis foi determinada por quantificação da proteína usando coloração de cristal de violeta e medida a absorção a 595 nm no mesmo espectrofotômetro. A 4'-bromoflavona foi utilizada como controle positivo.

#### **Resultados obtidos:**

[060] Foram analisadas as três partes dos frutos de *Spondias tuberosa* separadamente: cascas, polpa e sementes. Em cada parte do fruto foi realizada a extração por maceração à exaustão (por 48 h) com polaridade crescente de solvente: hexano, diclorometano e metanol.

[061] Bioensaios de atividade quimiopreventiva foram realizados em todos os extratos.

[062] O extrato diclorometano da polpa apresentou uma potente atividade de quimioprevenção, avaliada por meio da indução da enzima quinona redutase em células Hepalclc7 - hepatocarcinoma murino selvagem.

[063] Os resultados demonstraram que o extrato diclorometano da polpa dos frutos de *Spondias tuberosa* é capaz de promover uma significativa indução da enzima quinona com a razão de indução de 2,8 a 20  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em células Hepalclc7. Adicionalmente, a viabilidade destas células foi de 78,6%, na mesma concentração, o que comprova que o extrato não apresentou citotoxicidade.

[064] O extrato diclorometano da polpa dos frutos de *Spondias tuberosa* foi analisado por HPLC/UV (fase reversa) e HPLC/UV/ELSD (fase normal), como é possível observar nas

Figuras 2A e 2B.

[065] Ainda, foi realizado um fracionamento bioguiado por SPE com o extrato diclorometano da polpa dos frutos de *Spondias tuberosa*, ativo no ensaio de quimioprevenção, a fim de identificar a região ativa na indução da quinona redutase. Todas as frações obtidas foram analisadas por HPLC/UV e os respectivos cromatogramas estão mostrados nas Figuras 3A a 3E.

[066] Os testes de indução da quinona redutase e de viabilidade foram realizados para todas as frações obtidas por SPE e os resultados estão descritos na Tabela 1 abaixo.

[067] A quinona redutase é um tipo de flavoproteína que catalisa a redução de dois elétrons, favorecendo, assim, a desintoxicação de quinonas e seus derivados e levando à proteção das células contra processos redox, estresse oxidativo e neoplasias.

[068] Vários indutores de QR podem servir como protetores contra o estresse oxidativo e eletrofílico.

*Tabela 1 - Teste de indução da quinona redutase e % de viabilidade para as frações obtidas por SPE.*

<b>Amostra</b>	<b>IR</b>	<b>% de viabilidade</b>
<b>20% de metanol</b>	1,68	85,53
<b>40% de metanol</b>	1,31	86,28
<b>60% de metanol</b>	2,92	56,46
<b>80% de metanol</b>	3,22	70,74
<b>100% de metanol</b>	8,98	26,58

[069] Assim, para realizar o isolamento das substâncias ativas presentes no extrato diclorometano da polpa dos frutos de *Spondias tuberosa*, foi feito o microfracionamento a fim de identificar rapidamente as substâncias ativas.

Obteve-se cerca de 40 frações (vide Figura 4).

[070] As frações foram analisadas por LC/MS e RMN, sendo identificados ácidos graxos, ácido anacárdico e cardanóis.

[071] A fração 5 forneceu uma mistura de ácidos graxos. A fração 11 forneceu um ácido anacárdico com R sendo um pentadecil (Figura 1A). O espectro de MS-ESI mostrou o íon molecular a  $m/z$  347.14  $[M-H]^-$ , que está em concordância com a fórmula molecular  $C_{22}H_{36}O_3$  (o cálculo para  $C_{22}H_{36}O_3$  fornece 348.27). A fração 13 forneceu uma mistura de três cardanóis com Rs sendo 20, 22 e 24 carbonos, respectivamente mostrados nas Figuras 1B, 1C e 1D. Os espectros de MS-ESI mostraram os íons moleculares a  $m/z$  373.28, 401.32, 429.35  $[M-H]^-$ , que estão em concordância com as fórmulas moleculares  $C_{26}H_{46}O$ ,  $C_{28}H_{50}O$  e  $C_{30}H_{54}O$ , respectivamente.

[072] A significativa atividade quimioprotetora indica a possível utilização do extrato do umbu como alimento funcional/nutracêutico.

[073] Embora a versão preferida da invenção tenha sido ilustrada e descrita, deve ser compreendido que a invenção não é limitada. Diversas modificações, mudanças, variações, substituições e equivalentes poderão ocorrer, sem desviar do escopo da presente invenção.

## REIVINDICAÇÕES

1. Processo de extração e isolamento de substâncias ativas presentes na polpa do umbu **caracterizado** por compreender as etapas de:

- a) obtenção do extrato diclorometano;
- b) análise do extrato diclorometano obtido;
- c) fracionamento do extrato diclorometano obtido; e
- d) isolamento das substâncias ativas.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que, na etapa "a", a polpa dos frutos de *Spondias tuberosa* Arr. Camara coletados no verão é separada das sementes, homogeneizada com o auxílio de um misturador, congelada e liofilizada.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que a polpa liofilizada é exaustivamente extraída por maceração com hexano, seguido por diclorometano e metanol.

4. Processo, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** pelo fato de que os solventes são puros.

5. Processo, de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que os extratos secos são obtidos após a remoção do solvente por evaporação sob pressão reduzida, em uma faixa que varia de 500 a 400 mBar, em uma temperatura que varia de 40 a 42 °C.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que, na etapa "b", o extrato metanólico é analisado por um sistema HPLC-UV-PDA com detector de arranjo de diodos, HPLC-UV-ELSD (fase normal) e por LC-PDA-MS.

7. Processo, de acordo com a reivindicação 1,

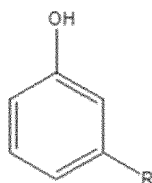
**caracterizado** pelo fato de que, na etapa "c", o fracionamento bioguiado do extrato diclorometano da polpa de umbu é realizado por um sistema de cromatografia por SPE, com cartucho empacotado com a fase estacionária C18 e sistema de solvente com mistura de água (A) e metanol (B), nas proporções de 20:80, 40:60, 60:40, 80:20, 100:0.

8. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que, na etapa "d", o isolamento das substâncias ativas presentes no extrato diclorometano é realizado com um sistema semipreparativo HPLC/UV/ELSD, com coluna preenchida com sílica e fase móvel de acetato de etila (A) e hexano (B), com gradiente de eluição otimizado.

9. Processo, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado** pelo fato de que o gradiente de eluição otimizado é:

- 0 a 10 min: 2-5% de B em A,
- 10 a 25 min: 5-10% de B em A
- 25 a 30 min: 10% de B em A
- 30 a 40 min: 10-15% de B em A
- 40 a 70 min: 15-60% de B em A.

10. Substâncias ativas, obtidas conforme o processo descrito nas reivindicações 1 a 9, **caracterizados** pelo fato de serem um mistura de ácidos graxos, ácido anacárdico com R sendo um pentadecil e uma mistura de três cardanóis com estrutura



em que os Rs são 20, 22 e 24 carbonos.

11. Alimentos nutracêuticos e/ou funcionais

**caracterizados** por compreenderem as substâncias ativas da polpa do umbu obtidas conforme o processo definido nas reivindicações 1 a 9.

12. Uso das substâncias ativas da polpa do umbu **caracterizado** por ser no preparo de alimentos nutracêuticos e/ou funcionais para quimioprevenção.



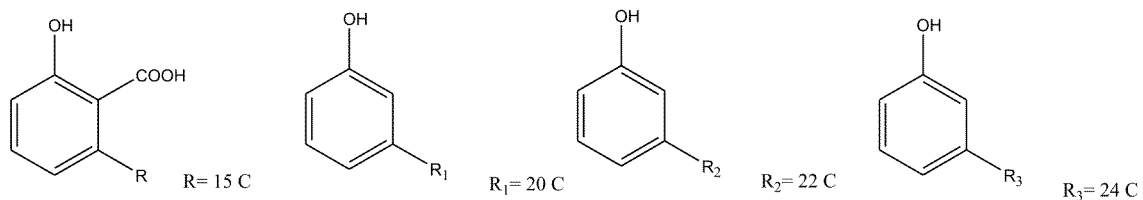


FIGURA 1A

FIGURA 1B

FIGURA 1C

FIGURA 1D

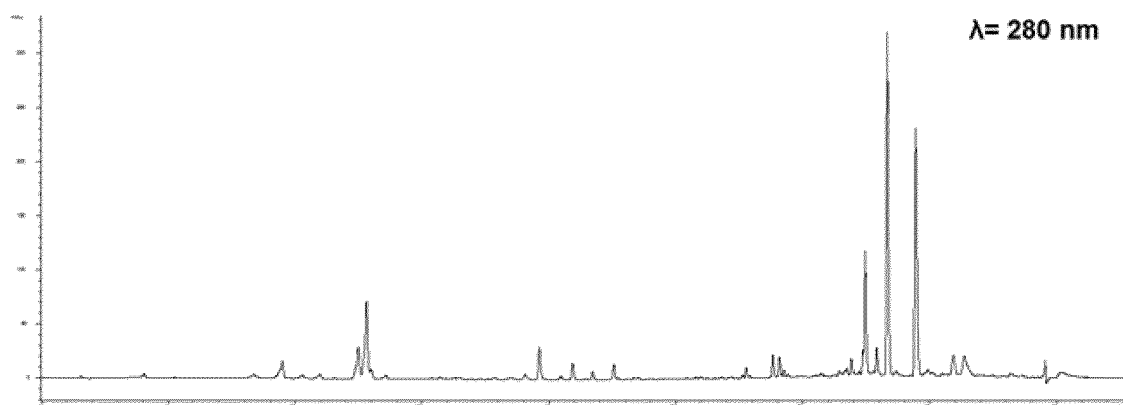


FIGURA 2A

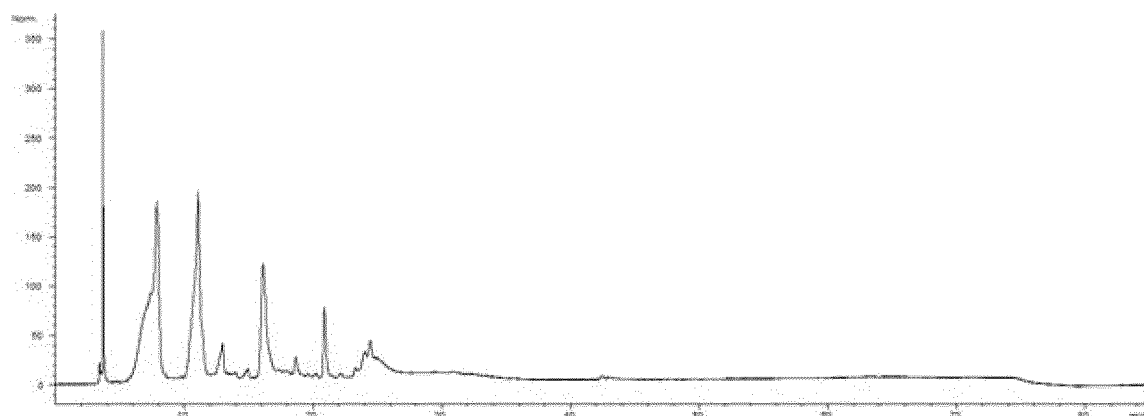


FIGURA 2B

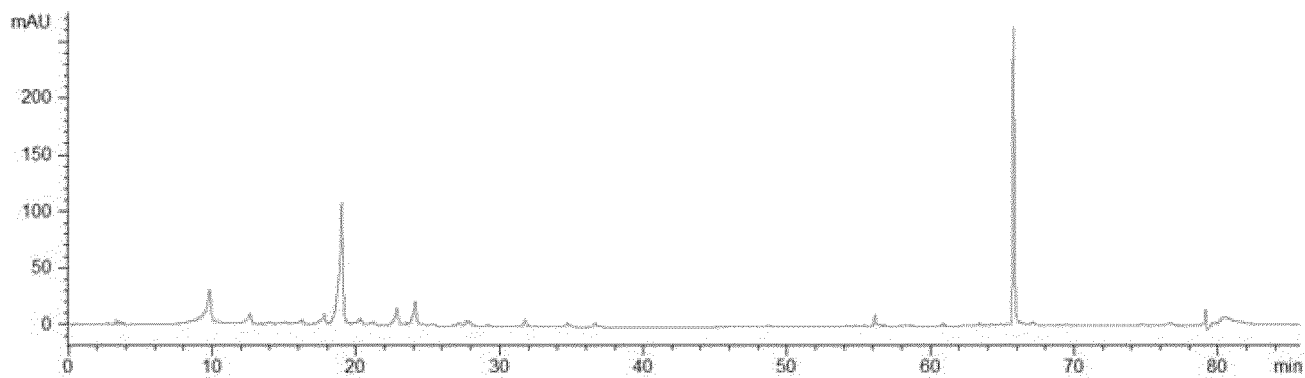


FIGURA 3A

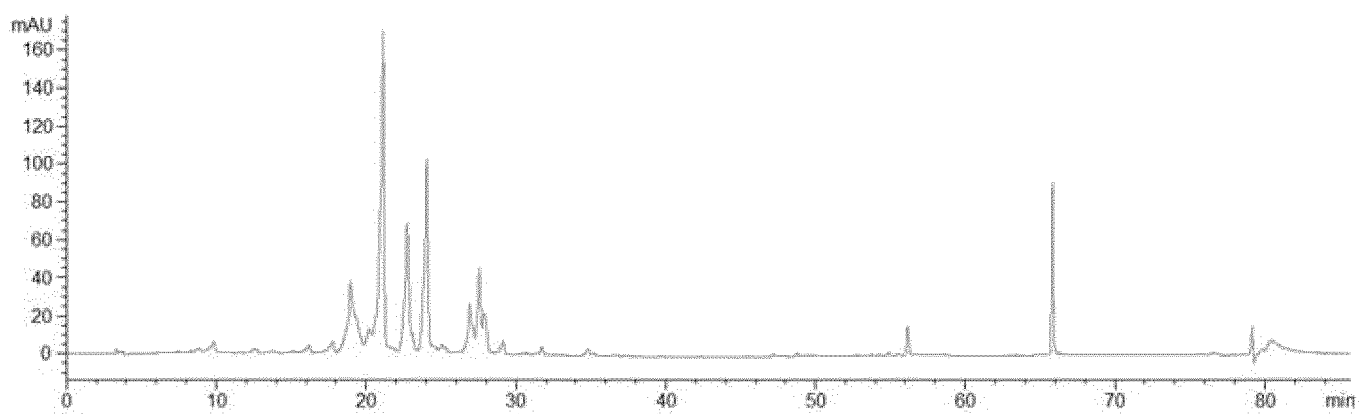


FIGURA 3B

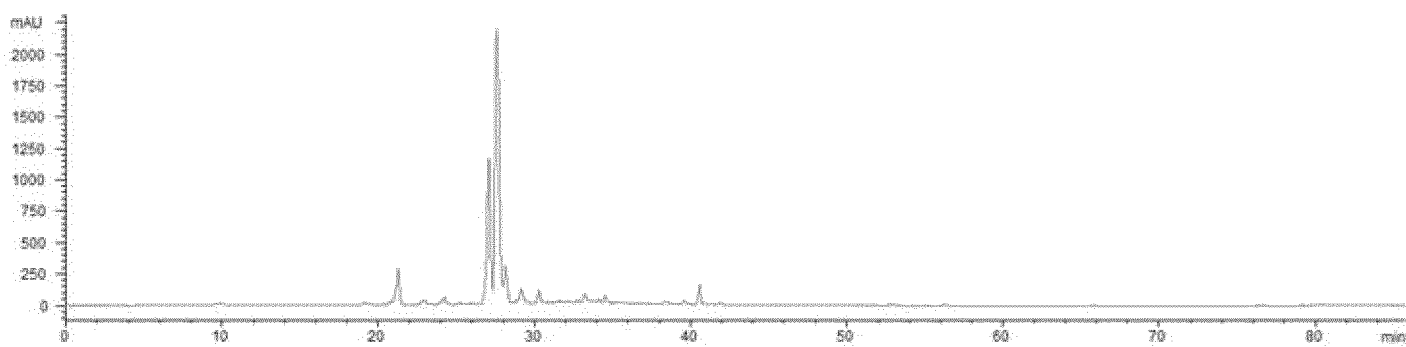
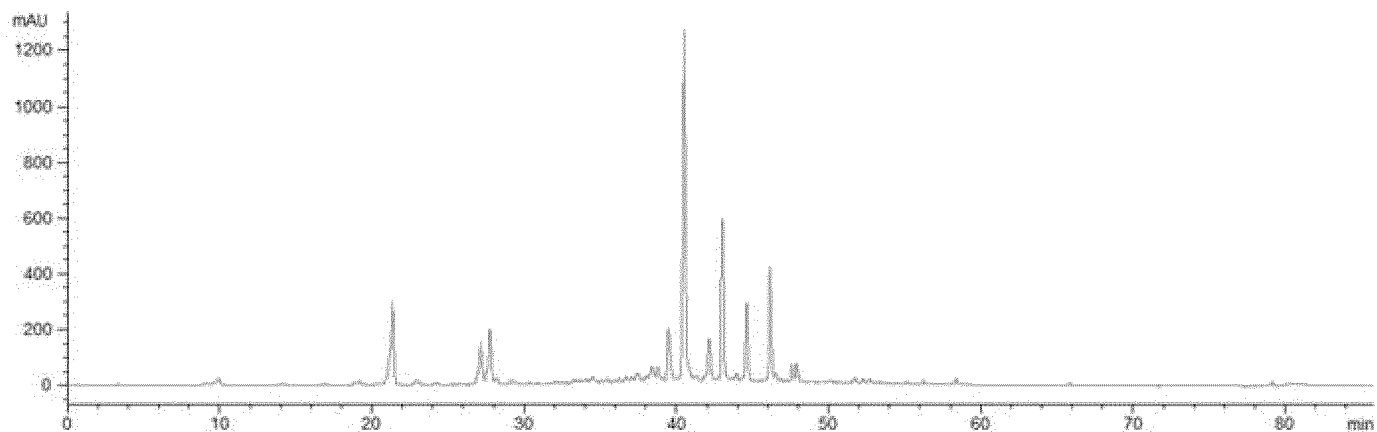
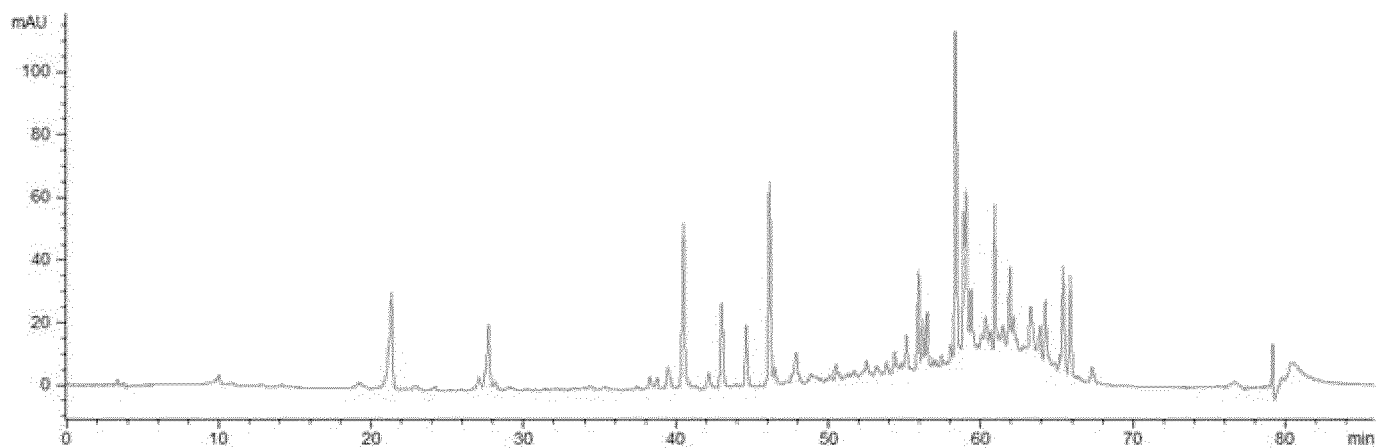


FIGURA 3C



**FIGURA 3D**



**FIGURA 3E**

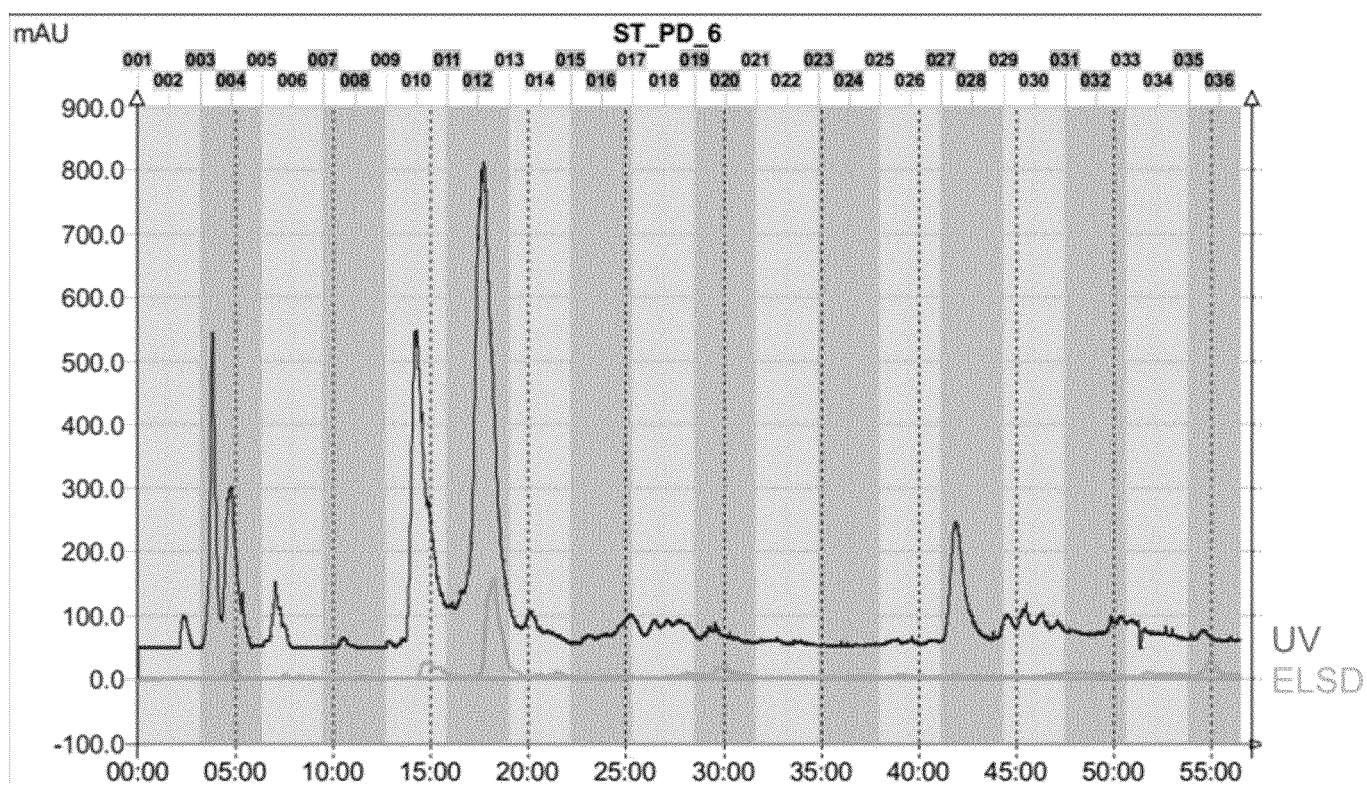


FIGURA 4

Resumo

**PROCESSO DE EXTRAÇÃO E ISOLAMENTO DE SUBSTÂNCIAS ATIVAS  
PRESENTES NA POLPA DO UMBU, SUBSTÂNCIAS ATIVAS, ALIMENTOS  
NUTRACÊUTICOS E/OU FUNCIONAIS COMPREENDENDO AS REFERIDAS  
SUBSTÂNCIAS ATIVAS E SEU USO**

A presente invenção se refere ao processo de extração e isolamento de substâncias ativas presentes na polpa do umbu (*Spondias tuberosa Arr. Camara*). As referidas substâncias ativas apresentam uma potente atividade quimiopreventiva e, em vista das suas características, o extrato diclorometano fracionado e os ativos obtidos pelo processo ora proposto podem ser aplicados em alimentos nutracêuticos e/ou funcionais.