



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

ÍTALA SAMARA DA SILVA DIAS

Caracterização da droga vegetal de *Schinopsis brasiliensis* e prospecção da atividade anti-inflamatória do infuso

**CAMPINA GRANDE
2019**

ÍTALA SAMARA DA SILVA DIAS

Caracterização da casca de *Schinopsis brasiliensis* e prospecção da atividade anti-inflamatória do infuso

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Vanda Lucia dos Santos.

CAMPINA GRANDE

2019

É expressamente proibido 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 do trabalho.

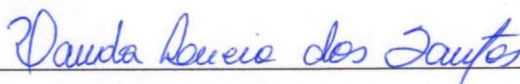
D541c Dias, Ítala Samara da Silva.
Caracterização da droga vegetal de *Schinopsis brasiliensis* e prospecção da atividade anti-inflamatória do infuso [manuscrito] / Ítala Samara da Silva Dias. - 2019.
71 p. : il. colorido.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.
"Orientação : Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos , Departamento de Farmácia - CCBS."
"Coorientação: Profa. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva , UFPE - Universidade Federal de Pernambuco"
1. Plantas medicinais. 2. Droga vegetal. 3. Braúna. 4. Chás. 5. Atividade anti-inflamatória. I. Título
21. ed. CDD 615.321

ÍTALA SAMARA DA SILVA DIAS

Caracterização da droga vegetal de *Schinopsis brasiliensis* e prospecção da atividade anti-inflamatória do infuso

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

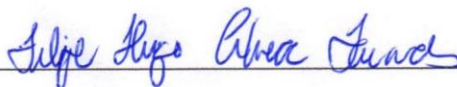
Aprovado em: 19 / 02 / 2019



Prof.^a Dr.^a Vanda Lucia dos Santos

Universidade Estadual da Paraíba

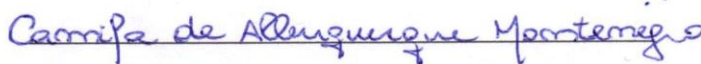
Orientadora



Prof. Dr. Felipe Hugo Alencar Fernandes

Universidade Estadual da Paraíba

Avaliador



Prof.^a Dr.^a Camila de Albuquerque Montenegro

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Avaliadora

Dedico este trabalho:

A Deus, o pintor de todo o universo;

Aos meus pais, Idineide e Maria Cláudia e ao meu irmão Paulo Vitor;

Ao meu avô (in memoriam), Dirceu Dias da Silva;

As fortes mulheres que lutam contra o patriarcado;

AGRADECIMENTOS

“Tudo se torna mais fácil quando se tem fé. Não uma fé oscilante, mas uma fé firme naquEle que tudo pode e tudo nos concede” (Irmã Dulce). Senhor, obrigada por seus anjos de luz que me protegem incessantemente, me amparando nos momentos de desânimo, me ajudando a trilhar caminhos por vezes tão difíceis, auxiliando na minha evolução espiritual;

Toda gratidão aos meus pais, meus mentores terrenos. Sem o apoio diário, o amor constante, a torcida frequente, a confiança inabalável, eu não teria vencido. Palavras não são suficientes para expressar o meu amor;

Aos meus avôs, Dirceu (in memoriam) e Emanuel, e as minhas avós Jaci e Isabel, vocês fazem parte dessa vitória. Obrigada por cada conselho, por sempre acreditarem em mim e por todo o amor. Vovó Dirceu, não tenho sua presença física, mas sei que seu coração está cheio de orgulho por mais uma vitória, obrigada por ter me propiciado as conversas mais agradáveis da vida, saudade eterna;

Ao “coisa linda” todo o meu denço, obrigada por cada “boa noite, durma bem, descanse, vai dar certo”, por cada olhar de paciência, cumplicidade, respeito e carinho;

As minhas amigas Sabrina, Layse, Diane, Jéssica, Aline, Rafaela, Tereza, Vanessa, meu muito obrigada, vocês fizeram, por diversas vezes, o papel de família, foram a minha fortaleza. Não há palavras para descrever a importância que cada uma teve nesta árdua caminhada. Os momentos que vivemos serão eternos dentro do meu coração;

O meu muito obrigada a minha querida orientadora Vanda, que me acompanha desde a graduação. Gratidão por abrir as portas da sua casa, dedicar o seu tempo, por transmitir com paciência todo o seu conhecimento, por vibrar por cada bom resultado, por acreditar que sou capaz e depositar a sua confiança no meu trabalho. Espero ter cumprido o meu papel de aluna, tão bem quanto você desempenhou o seu de professora;

A minha querida professora Ana Cláudia, por todas as palavras de incentivo que me fizeram acreditar no meu potencial;

Agradeço de coração a professora Camila e ao Professor Felipe, por gentilmente aceitarem fazer parte da banca examinadora. Desde já, obrigada por todas as considerações;

A todos os alunos do Laboratório de Ensaio Farmacológicos, em especial aos futuros mestres Pablo e Renally, muita força na caminhada. Um obrigada especial a futura Farmacêutica Cris, que me auxiliou em quase todas as análises, sendo meu braço direito (e esquerdo). Gratidão por toda a dedicação e empenho, por ter se transformado em uma amiga, acredite em seu potencial, você irá longe!

Aos amigos do LABDEM (Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos), Widson, Lucas, Jéssica, por terem me auxiliado em todas as vezes que precisei; Aos amigos Dr. Jhonatta, Rayane, Jéssica, e todos que compõe o departamento de antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, muito obrigada por toda ajuda no desenvolvimento de parte da minha pesquisa;

A professora Teresinha, por abrir as portas do laboratório, possibilitando que eu realizasse toda a parte do estudo biológico;

A todos os funcionários e professores do departamento de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas;

A Universidade Estadual da Paraíba;

Ao CNPq e Capes pelo financiamento;

Enfim, muito obrigada a todos que contribuíram para a realização desse trabalho!

Caracterização da droga vegetal de *Schinopsis brasiliensis* e prospecção da atividade anti-inflamatória do infuso Ítala Samara Da Silva Dias. Orientadora: Prof^a Dr^a Vanda Lucia dos Santos; Coorientadora: Prof^a Dr^a Teresinha Gonçalves da Silva. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UEPB, 2019.

RESUMO

As plantas medicinais compõem uma alternativa acessível de assistência à saúde, especialmente para comunidades com baixo poder aquisitivo, e correspondem a uma fonte de matéria prima de grande valor para as indústrias. Os chás são um recurso utilizado no tratamento de diversas patologias, por serem de fácil acesso e baixo custo. A *Schinopsis brasiliensis*, braúna, é largamente utilizada pela população na forma de chás e xaropes para o tratamento de diversas doenças, dentre elas as inflamatórias. O objetivo deste estudo foi realizar a caracterização da droga vegetal obtida da casca de *S. brasiliensis* (DVSb) e prospecção da atividade anti-inflamatória do chá. Para a caracterização foram realizadas a microscopia óptica (MO), determinação da densidade (d), Teor de Cinzas Totais (TCT), Cinzas Resistentes a Ácido (CRA), Perda por Dessecação (PD), pH, técnicas térmicas (Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)), determinação do marcador químico utilizando cromatografia de alta eficiência (CLAE) e a análise fitoquímica da DVSb. Para a prospecção da atividade biológica do chá (infuso) da casca de *S. brasiliensis* (CCSb) a atividade antioxidante foi realizada utilizando o ensaio de DPPH e a atividade anti-inflamatória utilizando os modelos animal de edema de pata e peritonite induzida por zimosan e bolsão de ar induzido por carragenina; para determinar a segurança do chá, foi avaliado a citotoxicidade em eritrócitos e a toxicidade aguda em camundongos. A MO demonstrou que aberturas de 180, 150 e 75 μm permitiram a passagem de partículas de 308,8; 289,2; 251,85 μm , respectivamente, bem maiores que seus poros. A densidade variou de 0,278 a 0,333 g/mL. Os TCT e CRA foram de 8,33 a 9,45% e 0,41 e 0,86%, respectivamente, o que indica segundo a Farmacopeia Brasileira 2010, baixa contaminação por matérias inorgânicas não voláteis. A PD variou de 9,10 a 9,95% demonstrando que a droga vegetal está em bom estado de secagem. Da menor partícula (SB06) foi extraído 117 mg/g de polifenóis, 1,837 4mg/g de flavonoides e 10 mg/g de taninos. O pH variou de 4,94 a 5,28 corroborando com a presença desses metabólitos ácidos. Na TG foi observado dois eventos iniciais, sugestivos para perda de água. Na DTA, observou-se dois eventos endotérmicos, esses eventos também são sugestivos para a desidratação, corroborando com o que foi observado na TG. Na CLAE foi possível determinar como marcador químico o ácido gálico, com tempo de retenção em torno de 8,5 minutos. O CCSb apresentou considerável atividade antioxidante. No ensaio de edema de pata os CCSb demonstraram significativo poder antiedematogênico desde a primeira hora, com redução na formação de edema em 68,15%, 86,66% e 75,51% para as doses de 5, 10 e 20 % respectivamente, e mantiveram a eficácia significativa até a oitava hora observada. Já no ensaio de peritonite o CCSb apenas na concentração de 20% foi capaz de reduzir (47,60%) a migração leucocitária para a cavidade peritoneal. No modelo de bolsão de ar, o CCSb não apresentou resultado significativo na redução da inflamação, mesmo na maior concentração testada (20%). A citotoxicidade em eritrócitos e a toxicidade aguda em camundongos, demonstraram que o chá apresenta baixa toxicidade. Dessa forma, foi possível realizar a caracterização da DVSb e comprovar que o CCSb apresenta promissora atividade anti-inflamatória, corroborando com seu uso popular.

Palavras-chave: Braúna; Caracterização; Infuso; Atividade anti-inflamatória

Characterization of the vegetal drug of *Schinopsis brasiliensis* and prospection of the anti-inflammatory activity of the infusion. Ítala Samara da Silva Dias. Advisor: Vanda Lucia dos Santos; Co-advisor: Teresinha Gonçalves da Silva. Master's thesis. Post-grad Program in Pharmaceutical Sciences.Center of Biological and Health Science. UEPB, 2019.

ABSTRACT

Medicinal plants make up an affordable alternative to health care, especially for low-income communities, and are a source of valuable raw materials for industries. Teas are a resource used in the treatment of various pathologies, because they are easy to access and inexpensive. *Schinopsis brasiliensis*, Braúna, is widely used by the population as teas and syrups for the treatment of various diseases, including inflammatory diseases. The objective of this study was to characterize the vegetal drug obtained from the bark of *S. brasiliensis* (DVSb) and to investigate the anti-inflammatory activity of the tea. For the characterization, optical microscopy (OM), density determination (d), total ash content (TLC), acid resistant ash (CRA), desiccation loss (PD), pH, thermal techniques (thermogravimetry) and differential thermal analysis (DTA), determination of the chemical marker using high performance chromatography (HPLC) and the phytochemical analysis of DVSb. In order to prospect the biological activity of *S. brasiliensis* bark tea (CCSb) the antioxidant activity was performed using the DPPH assay and the anti-inflammatory activity using the animal models of paw edema and zitsan-induced peritonitis carrageenan-induced air pocket; to determine the safety of tea, erythrocyte cytotoxicity and acute toxicity in mice were evaluated. MO showed that openings of 180, 150 and 75 μm allowed the passage of particles of 308.8; 289.2; 251.85 μm , respectively, much larger than their pores. The density ranged from 0.278 to 0.333 g / mL. The TCT and CRA were from 8.33 to 9.45% and 0.41 and 0.86%, respectively, indicating according to the 2010 Brazilian Pharmacopoeia, low contamination by non-volatile inorganic materials. PD ranged from 9.10 to 9.95%, demonstrating that the vegetable drug is in a good state of drying. From the smallest particle (SB06), 117 mg / g of polyphenols, 1.837-4mg / g of flavonoids and 10mg / g of tannins were extracted. The pH varied from 4.94 to 5.28 corroborating with the presence of these acid metabolites. In TG, two initial events were observed, suggestive of water loss. In DTA, two endothermic events were observed; these events are also suggestive of dehydration, corroborating with what was observed in TG. In CLAE it was possible to determine as gallic acid the gallic acid, with retention time around 8.5 minutes. CCSb showed considerable antioxidant activity. In the paw edema test, CCSb demonstrated significant anti-oedematogenic power from the first hour, with a reduction in edema formation at 68.15%, 86.66% and 75.51% at doses of 5, 10 and 20%, respectively, and maintained significant efficacy up to the eighth hour observed. In the peritonitis test, the CCSb only at the concentration of 20% was able to reduce (47.60%) the leukocyte migration to the peritoneal cavity. In the air pocket model, CCSb did not present significant results in the reduction of inflammation, even in the highest concentration tested (20%). Cytotoxicity in erythrocytes and acute toxicity in mice, showed that tea has low toxicity. Thus, it was possible to perform the characterization of DVSb and to prove that CCSb presents promising anti-inflammatory activity, corroborating with its popular use.

Palavras-chave: Braúna; Description; Tea; Anti-inflammatory activity

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA- ácido araquidônico

AINES- anti-inflamatórios não esteroidais

AEIs- anti-inflamatórios esteroidais

COX- ciclooxigenase

CLAE- cromatografia de alta eficiência

CCSb- Chá da casca de *Schinopsis brasiliensis*

DVSb- Droga vegetal de *Schinopsis brasiliensis*

FTC β - Fator transformador de crescimento β

GR- receptores glicocorticóides

HAT- histona acetiltransferase

IL- interleucinas

LOX- lipoxigenase

LTs- leucotrienos

OMS- Organização Mundial de Saúde

PNPIC- Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

PLA₂- Fosfolipase A

PGs- Prostaglandinas

PGI₂- prostaciclina

RDC 10- Resolução da Diretoria Colegiada N°10

RENISUS- Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde

SUS- Sistema Único de Saúde

TNF- fator de necrose tumoral

TXs- Tromboxanos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Distribuição geográfica dos membros da família Anacardiaceae.....	19
Figura 2- <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler	21
Figura 3: <i>Schinopsis brasiliensis</i> de forma detalhada (folhas, flores, frutos e sementes)	22
Figura 4- Estrutura do ácido elágico, ácido gálico e catequina	24
Figura 5- Droga vegetal da casca do caule de <i>S. brasiliensis</i>	39
Figura 6- Droga vegetal obtido a partir da casca de <i>S. brasiliensis</i> separado em 6 diferentes tamanhos de partícula após tamisação (malhas 710, 355, 180, 150, 75, 38 μm)	40
Figura 7: Curvas termogravimétricas da SB01, SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06 na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de ar sintético.	45
Figura 8- Curvas da Análise Térmica Diferencial (DTA) da SB01, SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06 na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de ar sintético.	47
Figura 9- Cromatograma do padrão de ácido gálico em 271nm	49
Figura 10- Cromatogramas da DVSb SB01, SB02, SB03 em 271nm	49
<i>Figura 11- Cromatogramas da DVSb SB04, SB05 e SB06 em 271nm</i>	50
Figura 12- Efeito da administração oral do CCSb (20, 10 e 5%) no edema de pata, induzido por zimosan a 2%, em camundongos <i>Swiss</i>	57
Figura 13- Efeito da administração oral do CCSb em diferentes concentrações (20, 10 e 5%) na contagem de leucócitos no exsudato, induzido por carragenina, no modelo da bolsa de ar em camundongos.	59
Figura 14- Efeito antiquimiotático do CCSb sobre o número de leucócitos totais no exsudato da cavidade intraperitoneal de camundongos <i>Swiss</i> após peritonite induzida por zimosan a 2%.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Atividades biológicas da <i>S. brasiliensis</i> em diferentes extratos e partes da planta ..	23
Tabela 2- Porcentagem de pó obtida após o processo de tamisação	40
Tabela 3- Características físico-químicas da droga vegetal de <i>S. brasiliensis</i>	42
Tabela 6- Análise fitoquímica semiquantitativa da droga vegetal de <i>S. brasiliensis</i>	44
Tabela 4- Parâmetros termogravimétricos da DVSb em seis diferentes tamanhos de partículas	46
Tabela 5- Parâmetros térmicos diferenciais (DTA) da droga vegetal de <i>S. brasiliensis</i> em diferentes tamanhos de partículas.....	48
Tabela 7- Atividade antioxidante do chá de <i>S. brasiliensis</i>	52
Tabela 8- Potencial hemolisante do CCSb preparado com a partícula SB06 em diferentes tipos sanguíneos (A, B e O).....	53
Tabela 9- Efeito da administração oral do CCSb na evolução ponderal (alteração da massa corpórea) e no consumo de água e ração em camundongos Swiss durante 14 dias	54
Tabela 10- Efeito da administração oral do CCSb sobre o peso relativo dos órgãos no ensaio de toxicidade aguda	55
Tabela 11- Determinação dos parâmetros hematológicos de camundongos Swis fêmeas tratadas com CCSb 2000mg/ kg	56

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	<i>Objetivo geral</i>	15
2.2	<i>Objetivos específicos</i>	15
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1	<i>Plantas medicinais: Uma alternativa para a cura desde a antiguidade</i>	16
3.2	<i>Chá: a bebida mais consumida no mundo</i>	17
3.3	<i>Da família Anacardiaceae ao gênero Schinopsis</i>	19
3.4	<i>Entendendo o processo inflamatório e o tratamento farmacológico</i>	24
3.5	<i>Produtos naturais como um campo estratégico na descoberta de novos anti-inflamatórios</i>	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	<i>Coleta e preparação do material vegetal</i>	31
4.2	<i>Preparação dos pós</i>	31
4.3	<i>Determinação do tamanho de partículas</i>	31
4.3.1	<i>Granulometria da droga vegetal</i>	31
4.3.2	<i>Microscopia óptica</i>	31
4.5	<i>Análise fitoquímica semiquantitativa</i>	32
4.5.1	<i>Determinação de Polifenóis totais</i>	32
4.5.2	<i>Determinação de Flavonoides totais</i>	33
4.5.3	<i>Determinação de Taninos totais</i>	33
4.6	<i>Análise térmica</i>	34
4.6.1	<i>Termogravimetria (TG)</i>	34
4.6.2	<i>Análise Térmica Diferencial (DTA)</i>	34
4.7	<i>Impressão digital do CCSb</i>	34
4.8	<i>Preparo do chá</i>	35
4.9	<i>Atividade biológica do chá da casca de S. brasiliensis</i>	35
4.9.1	<i>Atividade antioxidante</i>	35
4.9.2	<i>Toxicidade aguda</i>	35
4.9.3	<i>Citotoxicidade em Eritrócitos</i>	36
4.9.4	<i>Atividade anti-inflamatória</i>	37
4.9.5	<i>Análise estatística</i>	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39

5.1	<i>Caracterização da droga vegetal</i>	39
5.1.1	<i>Processamento da droga vegetal</i>	39
5.2	<i>Análise fitoquímica semiquantitativa</i>	43
5.3	<i>Análise Térmica</i>	45
5.3.1	<i>Termogravimetria (TG)</i>	45
5.3.2	<i>Análise Térmica Diferencial (DTA)</i>	47
5.4	<i>Impressão digital do CCSb</i>	48
5.5	<i>Prospecção da atividade biológica do CCSb</i>	52
5.5.1	<i>Determinação da atividade antioxidante</i>	52
5.5.2	<i>Citotoxicidade em eritrócitos humanos</i>	53
5.5.3	<i>Toxicidade Aguda em camundongos</i>	54
5.5.4	<i>Edema de pata induzido por zimosan</i>	56
5.5.1	<i>Bolsão de ar induzido por carragenina</i>	58
5.5.2	<i>Peritonite induzido por zimosan</i>	59
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
	ANEXOS	64
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1 INTRODUÇÃO

As plantas são uma alternativa para o tratamento de diversas enfermidades, uma vez que representam o recurso mais acessível para muitas comunidades carentes em relação aos medicamentos industrializados (CARNEIRO et al, 2014). No Brasil, aproximadamente 82% da população faz uso de plantas e elas podem ser encontradas facilmente em feiras livres, mercados populares ou até mesmo nos quintais de casa (SANTOS et al, 2016).

O saber popular do uso de plantas medicinais no Brasil é plural, deve-se principalmente aos indígenas e também aos negros e aos europeus que ajudaram a colonizar o país. Essa miscigenação ocasionou uma diversificação não apenas étnica, mas também nos saberes, gerando um grande conhecimento no uso de plantas e seus aspectos medicinais (REZENDE; MONTEIRO COCCO, 2002).

Arelado a todo esse conhecimento popular, o Brasil apresenta uma das maiores biodiversidades do planeta. Sua flora é considerada uma das mais ricas do mundo, abrigando cerca de 40 mil espécies de plantas (18 mil endêmicas), o que representa aproximadamente 10% da flora mundial. Essa diversidade biológica é muito expressiva tanto em relação às potencialidades genéticas, como em relação ao número de espécies e de ecossistemas (ALVES, 2018).

A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro, formada por florestas tropicais sazonalmente secas, cuja fisionomia e composição florística varia consideravelmente. O clima é caracterizado por longas estações secas e chuvas irregulares que se concentram entre novembro e junho (SILVA, SANTOS, GARCIA, 2016). Sua flora é composta por plantas xenófilas, que apresentam a capacidade de sobrevivência em clima seco e com escassez de água (SANTOS, 2010). Atualmente 341 espécies do Nordeste são utilizadas para finalidades medicinais, sendo 34 exclusivas da Caatinga. No entanto, apesar de ser um bioma promissor na descoberta de novos bioativos, com diversificado potencial de uso, como anti-inflamatórios, analgésicos, antitumorais e antibióticos, ainda é uma das regiões brasileiras pouco estudadas, uma vez que os esforços científicos estão concentrados em alguns pontos em torno das principais cidades do país (VELLOSO et al., 2002; LEAL et al., 2003; MELO-BATISTA E OLIVEIRA, 2014).

A *Schinopsis brasiliensis* Engler é representante da família Anacardiaceae e está presente nas áreas tropicais de todos os continentes. No Brasil, ocorre em quase toda a área das caatingas, da Bahia a Paraíba, com poucos representantes nos estados do Rio Grande do

Norte ao Piauí. O seu nome popular varia de acordo com a região, sendo conhecida como braúna. (JOVITO, 2016).

Na medicina tradicional, a braúna é utilizada por suas propriedades anti-inflamatórias, bem como para o tratamento de fraturas, impotência sexual, tosse, gripe, febre, diarreia, micoses superficiais e feridas. É utilizado as mais diferentes partes da planta: o caule, folhas, frutos e resina (ALBUQUERQUE et al., 2007). Os chás e os xaropes são as preparações mais usadas pela população (AGRA et al, 2007).

Apesar da grande utilização da braúna na medicina tradicional, existem poucos estudos relacionados as suas atividades biológicas. Grande parte das pesquisas com essa planta são direcionadas a sua atividade antimicrobiana (CHAVES et al., 2011; SARAIVA et al., 2011; SILVA et al., 2012) mesmo sendo utilizada para uma gama diversificada de doenças, como citado acima. Dessa forma, é necessário um maior empenho na descoberta de novas atividades biológicas presentes na *S. brasiliensis*, podendo representar uma nova alternativa terapêutica para várias patologias, dentre elas as doenças anti-inflamatórias.

A ampla distribuição da braúna no Nordeste, sua diversificada utilização na medicina popular e a existência de poucos estudos científicos que comprovem suas propriedades biológicas, motivou o desenvolvimento deste trabalho, que teve como objetivo principal a caracterização da droga vegetal e avaliação farmacológica da atividade anti-inflamatória da casca do caule, atentando aos aspectos de eficácia e segurança para o consumo dessa planta pela população.

2 OBJETIVOS

2.1 *Objetivo geral*

Realizar a caracterização da droga vegetal da casca de *Schinopsis brasiliensis* Engler e avaliar a atividade anti-inflamatória e antioxidante do infuso da casca.

2.2 *Objetivos específicos*

- a. Obter a droga vegetal em diferentes tamanhos de partículas, a partir da casca de *S. brasiliensis* (DVSb);
- b. Caracterizar a DVSb utilizando técnicas analíticas e ensaios farmacopeicos;
- c. Analisar os aspectos fitoquímicos, obtendo uma impressão digital (fingerprint) do infuso;
- d. Realizar o ensaio de citotoxicidade e toxicidade aguda não clínica do infuso (chá) da casca de *S. brasiliensis* (CCSb);
- e. Avaliar a atividade anti-inflamatória e antioxidante do CCSb, utilizando diferentes modelos farmacológicos em animais.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 *Plantas medicinais: Uma alternativa para a cura desde a antiguidade*

As plantas medicinais são utilizadas desde a antiguidade para tratar as mais diversas doenças e melhorar a saúde e o bem-estar dos seres humanos. Estima-se que entre 50.000 a 80.000 plantas são utilizadas para fins medicinais em todo o mundo. Compõem uma alternativa mais acessível de assistência à saúde e uma fonte importante de subsistência para populações indígenas e rurais. É também uma matéria prima de grande valor para as indústrias, uma vez que são uma fonte de ingredientes ativos para muitos produtos farmacêuticos (HILONGA et al, 2018), onde quase metade de todas os medicamentos produzidos no mundo são derivados de produtos naturais, dos quais as plantas superiores contribuem com 25% desse total (WYK et al, 2018).

A medicina botânica está se tornando cada vez mais popular em todo o mundo, especialmente nos países em desenvolvimento, onde as plantas estão disponíveis e apresentam baixo custo (KHARCHOUFA et al, 2018). A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem grande apressado em relatar o uso de plantas medicinais em várias regiões do mundo. Relatórios da OMS mostram que dois terços da população mundial dependem das plantas medicinais para tratar uma infinidade de doenças e que embora as drogas convencionais sejam por algumas vezes mais eficazes que os compostos bioativos, apresentam também efeitos colaterais mais graves, estimulando assim o uso de produtos naturais como uma alternativa no tratamento de várias patologias (RAJALAKSHMI et al, 2018).

Grandes avanços acerca do uso de fitoterápicos e plantas medicinais no Brasil foram sendo conquistados ao longo dos anos. Um deles foi a criação, em 2006, da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC), que estabeleceu importantes diretrizes. Dentre elas, podemos destacar a elaboração da Relação Nacional de Plantas Medicinais e de Fitoterápicos, que estabelece critérios para inclusão e exclusão baseado nos conceitos de eficácia e segurança; a identificação das necessidades da população, das doenças passíveis de serem tratadas com plantas medicinais e fitoterápicos, e torna-las disponíveis nas Unidades de Saúde, de forma complementar, utilizando um ou mais dos seguintes produtos: a planta medicinal "in natura", planta medicinal seca (droga vegetal), fitoterápico manipulado ou o fitoterápico industrializado (BRASIL, 2006a).

Ainda no mesmo ano, o Ministério da Saúde criou o projeto de Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Com ele foi estabelecido diretrizes e linhas prioritárias

para o desenvolvimento de ações, com o objetivo de garantir o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos em nosso país, buscando o desenvolvimento de tecnologias e inovações e o fortalecimento das cadeias e dos arranjos produtivos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade brasileira e ao desenvolvimento do complexo produtivo da saúde (BRASIL, 2006b).

Várias regiões do nosso país já aderiram a implementação de políticas públicas de plantas medicinais e fitoterápicos. Essa prática compõe uma alternativa para reduzir os gastos públicos com medicamentos, aliando a eficácia dessas plantas com o baixo custo operacional, uma vez que há uma facilidade de acesso a essas plantas em nosso meio. Além do grande conhecimento popular, que aliado a todos esses fatores pode ser uma ferramenta importante para a participação da população na promoção do processo curativo (SILVELLO, 2010).

Outro grande incentivo do ministério da saúde, foi a publicação, em 2009, da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS). Nessa lista constam as plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS). Dentre as espécies listadas, constam plantas usadas pela sabedoria popular, com atividades biológicas já confirmadas cientificamente. A criação dessa lista é um iniciativa importante, uma vez que direciona a pesquisa clínica e o ensino para este conjunto de plantas (BRASIL, 2009).

3.2 Chá: a bebida mais consumida no mundo

O chá e a água são as bebidas mais consumidas no mundo. Evidências arqueológicas indicam que o chá foi consumido pela primeira vez durante o início do Paleolítico, mas as primeiras referências documentadas do chá surgiram na China no terceiro século, aproximadamente no ano de 2.375 a.C. e desde essa época já era utilizado para fins medicinais (MUNDAY, 2016). Além de ser a bebida mais antiga que se tem relatos, o chá apresenta enorme importância médica, econômica e cultural desde a antiguidade (XIA et al, 2017).

É uma bebida que além de agradar por suas propriedades organolépticas, como cheiro e sabor, o que atrai o consumo de milhares de pessoas, também é um recurso utilizado no tratamento de diversas doenças, dispensando, algumas vezes, o uso de medicamentos alopáticos (SAIGG; SILVA, 2009).

Os chás são ricos em compostos biologicamente ativos tais como, flavonoides, catequinas, polifenóis, alcaloides, vitaminas, sais minerais, substâncias antioxidantes que

atuam em diferentes níveis de proteção do organismo e que ajudam a neutralizar os espécies reativas, impedindo sua formação e conseqüentemente o envelhecimento celular precoce, além de contribuírem para a prevenção e o tratamento de várias doenças (SCHMITZ et al, 2005).

O perfil de alta atividade antioxidante dos chás, está relacionada a capacidade de compostos fenólicos de alta atividade serem extraídos no processo de infusão. Devido a esse fator, os chás são bastante estudados, uma vez que essa atividade é de suma importância por provocar impacto positivo nas condições de saúde, vitalidade celular e corporal de seus consumidores (KALIORA, 2014).

O chá mais consumido no mundo é produzido principalmente a partir das folhas da planta *Camellia sinensis* e dependendo do processo de fermentação se diferencia em quatro tipos: o chá preto, chá verde, chá branco e chá oolong, dentre eles o de maior consumo é o preto, correspondendo em 78% da produção. O consumo periódico dessa bebida tem sido considerado um hábito promotor de saúde por muitos pesquisadores. Esses potenciais benefícios para a saúde do chá têm sido atribuídos a seus vários compostos fenólicos com propriedades biológicas únicas, como a atividade antioxidante, termogênica, anti-inflamatória, de redução do colesterol, antimicrobiana, neuroprotetor, anti-hipertensivo e anti-carcinogênica, tendo efeitos benéficos em muitas doenças crônicas, como câncer, doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes e doenças neurológicas (SANLIER et al, 2018).

Sabendo-se que o uso de drogas vegetais é uma das formas mais tradicionais no uso de plantas medicinais e que o Ministério da Saúde promoveu o incentivo na inserção da Fitoterapia no SUS, a Anvisa publicou a Resolução da Diretoria Colegiada N°10 (RDC10), que regulamenta a produção e o uso das drogas vegetais, tanto pelas empresas produtoras, como pela população. Nesta RDC as espécies foram padronizadas segundo as indicações terapêuticas, forma de uso, posologia e os cuidados e restrições a serem observados no seu uso.

A RDC 10/10 foi elaborada com base na normativa alemã para os “chás medicinais”, seguindo os requisitos de qualidades citados naquela legislação. De acordo com essa nova resolução, a produção de drogas vegetais devem obedecer às Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPFC) específicas, objetivando reduzir a possibilidade da ocorrência de falsificações e contaminações desses produtos (BRASIL, 2010).

Vale ressaltar que essa norma abrange o uso de drogas vegetais industrializadas e notificadas na Anvisa, destinadas ao uso episódico, oral ou tópico, para o alívio sintomático das doenças, devendo ser disponibilizadas exclusivamente na forma de droga vegetal para o

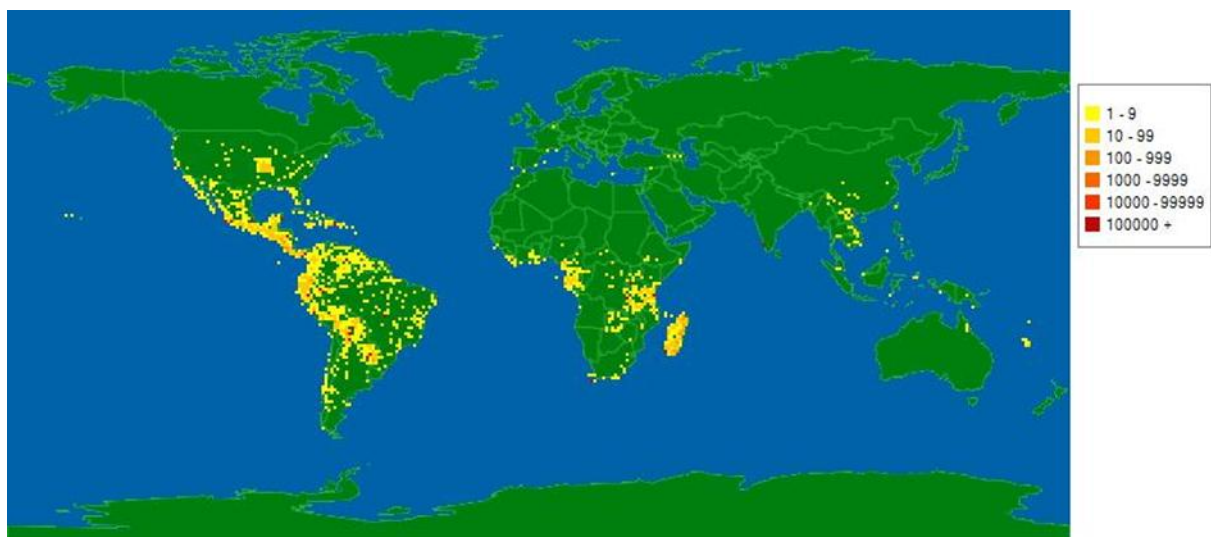
preparo de infusões, decocções e macerações, não devendo ser confundido com os fitoterápicos. Uma vez que as drogas vegetais são constituídas da planta seca, inteira ou rasurada, partida em pedaços menores e utilizadas na preparação dos populares “chás”, e que os medicamentos fitoterápicos são produtos tecnicamente mais elaborados, apresentados na forma final de uso, isto é, comprimidos, cápsulas e xaropes (CARVALHO; SILVEIRA, 2010).

Diante de todo o valor cultural e medicinal que essa bebida apresenta, devemos enxergá-la como uma perspectiva viável para o tratamento de diversas patologias, sendo uma alternativa terapêutica de baixo custo e de grande aceitabilidade e acesso pela população.

3.3 Da família Anacardiaceae ao gênero *Schinopsis*

Anacardiaceae é uma grande família, que apresenta aproximadamente 76 gêneros, que estão subdivididos em cinco grupos (Anacardieae, Dobineae, Rhoeeae, Semecarpeae e Spondiadeae) e que apresenta 600 espécies. Sua distribuição (Figura 1) está concentrada na região das Américas e no Caribe, e em algumas regiões da África, Ásia, Europa e Oceania (SCHULZE-KAYSERS et al., 2015). Alguns membros de família apresentam grande importância econômica como a manga (*Mangifera indica* L.), o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e a goiabeira (*Psidium guajava* L.).

Figura 1- Distribuição geográfica dos membros da família Anacardiaceae



Fonte: <http://tropicos.org/NamePage.aspx?nameid=42000260&tab=maps>. Acesso em 07 de julho de 2018.

Essa família vem se destacando por apresentar uma importante fonte de substâncias bioativas, principalmente pela presença de triterpenos, biflavonoides e lipídeos fenólicos

(mistura de compostos fenólicos e catecólicos), além de derivados de fenóis e dos ácidos cinâmicos. Vários estudos descrevem os diferentes potenciais biológicos de membros desta família. Destacam-se as atividades antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e antidiabética, proveniente da presença de polifenóis como ácido gálico, elágico, cafeico e cumarínico (CORREIA et al., 2006).

São encontrados no Brasil cerca de 13 gêneros e 68 espécies pertencentes a essa família. Dentre os gêneros, destacaremos o *Schinopsis*, esse por sua vez é composto por sete espécies, a *S. brasilienses* Engl., *S. haenklana*, *S. lorentzii*, *S. balansae*, *S. heterophylla*, *S. cornuta* e *S. glabra*. As espécies de maior valor econômico, por sua vez são: *S. brasilienses* Engl., *S. haenklana*, *S. lorentzii*, *S. balansae* (NADIA; MACHADO; LOPES 2007).

A *Schinopsis brasiliensis* Engler é uma valiosa espécie madeireira das províncias biogeográficas do Cerrado e do Chaco na América do Sul tropical (LOPÉZ et al, 2016). No Brasil é uma árvore nativa da Caatinga e Mata Atlântica encontrada nas regiões semi-áridas (FERNANDES et al., 2015) de quase todos os estados brasileiros, como por exemplo: Bahia, Ceará, Rio Grande do Norte, Sergipe, Tocantins, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Goiás e Paraíba (JOVITO, 2016).

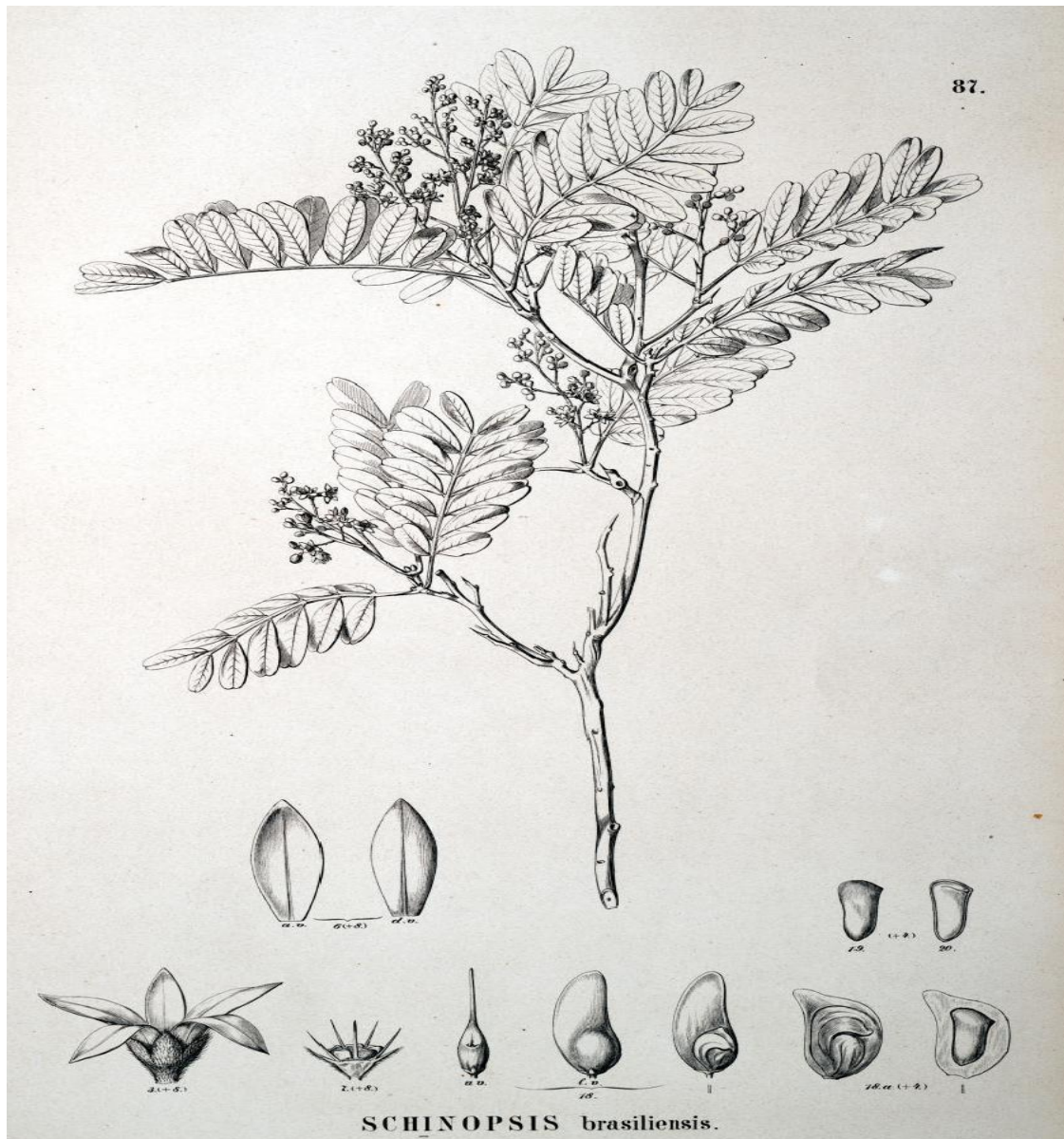
O seu nome popular varia de acordo com a região, sendo conhecida como braúna, baraúna, braúna do sertão, braúna parda, chamacoco, chamucoco, quebracho (FERNANDES et al, 2015). É uma planta xerófita, heliófita, totalmente decídua durante o período seco e floresce em épocas variáveis do ano (LORENZI e MATOS, 2002). Apresenta grande porte, cerca de 10 a 12 metros de altura por 60 cm de diâmetro e com ramos providos de espinhos resistentes. Suas folhas são de coloração verde escura no topo e mais claras na parte inferior. Apresenta flores brancas e pequenas com pouco cheiro. Seus frutos são vagens em formato de foices, arredondadas e cobertas de pelos finos com apenas uma semente (GONZAGA et al., 2003; JOVITO, 2016; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2008).

Figura 2- *Schinopsis brasiliensis* Engler



Fonte: <http://florabrasiliensis.cria.org.br/taxonCard?id=7976> Acesso em: 18 de agosto de 2018

Figura 3: *Schinopsis brasiliensis* de forma detalhada (folhas, flores, frutos e sementes)



Fonte: <http://florabrasiliensis.cria.org.br/taxonCard?id=7976> Acesso em: 18 de agosto de 2018

A braúna é uma espécie de destaque no reino vegetal por apresentar alto valor econômico e medicinal.

O valor econômico, deve-se principalmente ao seu uso pela indústria madeireira, sendo considerada uma madeira nobre bastante utilizada, principalmente nas indústrias de curtimento e construção em geral, devido a sua grande resistência à degradação por umidade, ataque de insetos, fungos e radiação ultravioleta (CARDOSO et al, 2015). No entanto, devido a seu uso irresponsável e desenfreado pela indústria e população em geral, foi considerada

pelo “Primeiro Relatório Nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica” como uma espécie em extinção (CARDOSO et al, 2015).

Na medicina popular são utilizadas diferentes partes da planta, como folhas, frutos e principalmente casca, para o tratamento de várias doenças, como inflamação, gripe, tosse, diarreia, disenteria, vermífugo (ALBUQUERQUE et al., 2007, JUNIOR et al., 2011), anti-séptico natural para o tratamento de feridas e micoses superficiais (SARAIVA et al., 2011), como potente anti-inflamatório para o alívio da cólica (FERREIRA et al., 2011) e como analgésico (CHAVES et al., 2013).

Vários estudos demonstram atividades biológicas da *S. brasiliensis* utilizando diferentes extratos e partes da planta, como apresentados na tabela a seguir (Tabela 1).

Tabela 1- Atividades biológicas da *S. brasiliensis* em diferentes extratos e partes da planta

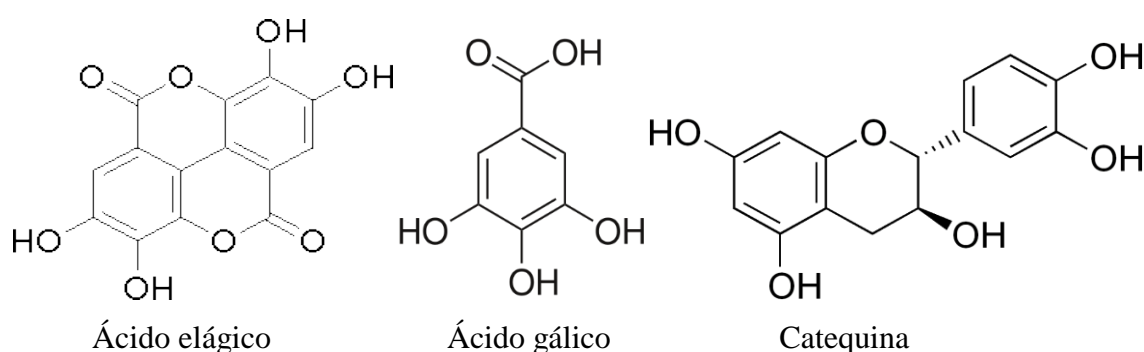
Partes da planta e tipo de extrato	Atividade biológica	Referências
Extrato metanólico das folhas	Atividade antimicrobiana contra cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SARAIVA et al., 2011.
Extrato etanólico das folhas em biofilme	Atividade antimicrobiana contra cepas de <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus parasanguinis</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	SILVA et al., 2012.
Extrato hidroalcoólico das folhas	Atividade antimicrobiana contra cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Candida albicans</i>	CHAVES et al., 2011;
Diferentes extratos e partes da planta	Atividade antioxidante	SANTOS, et al, 2017; LUZ et al, 2018; JÚNIOR et al,

		2011; SARAIVA et al., 2011).
Extrato hidroalcoólico das cascas	Atividade anti-inflamatória e antinociceptiva	SANTOS, et al, 2018.

A braúna é composta por uma diversidade de substâncias fitoquímicas, como taninos, flavonoides, fenóis, antocianidina, antocianinas, xantonas, leucocianinas, saponinas, alcaloides, chalconas, auronas, flavonóis, triterpenos, ácido gálico, galato de metila, ácido elágico, ácido palmítico, ácido linoleico, ácido oleico, b-sitosterol, linoleato de metila, hexadecanoato de metila (CHAVES, 2011, FERNANDES et al. 2015, SANTOS et al. 2017).

Essa rica composição demonstra o potencial biológico dessa planta, uma vez que é atribuído atividades farmacológicas a muitas desses compostos químicos citados. Como por exemplo, a atividade antioxidante (GIL et al, 2000. MULLEN et al, 2002; BUSHMAN et al, 2004), anticarcinogênica (NARAYANAN et al, 1999) e antimicrobiana (PUUPPONEN-PIMIÄ et al, 2005) descritas para o ácido elágico e a atividade anti-inflamatória, antimutagênica e antitumoral presentes no ácido gálico e nas catequinas (figura 4) (AQUINO et al, 2016).

Figura 4- Estrutura do ácido elágico, ácido gálico e catequina



Fonte: <http://aneste.org/compostos-fenlicos.html?page=2>. Acesso em: 04 de janeiro de 2019.

3.4 Entendendo o processo inflamatório e o tratamento farmacológico

O organismo humano ao sofrer estímulos agressivos pode desencadear um processo crucial de defesa, caracterizada por um conjunto de alterações bioquímicas, fisiológicas e imunológicas (XU; LARBIS, 2018). Esse processo envolve uma complexa cascata de

eventos, que incluem extravasamento de fluídos, ativação enzimática, migração celular, liberação de mediadores, sensibilização e ativação de receptores. Esses eventos causam o aparecimento de cinco sinais cardinais: edema, rubor, calor, dor e perda de função, que são conhecidos como inflamação. Dependendo da persistência da lesão, os sintomas clínicos e a natureza da resposta imune, o processo inflamatório pode ser dividido em inflamação de fase aguda e de fase crônica (JONES; SIES, 2015).

A inflamação aguda é compreendida como a resposta inicial à lesão tecidual. É mediada pela liberação de autacóides e pode durar minutos, horas ou dias. Caracteriza-se pela ocorrência de eventos vasculares, com alteração do calibre dos vasos, aumento do fluxo sanguíneo, aumento de permeabilidade vascular e celular, promovendo o processo de marginação e adesão de leucócitos na parede do vaso e posterior passagem para o tecido extravascular, formando o exsudato (SERHAN, 2017). A inflamação crônica, por sua vez, é caracterizada pelo aumento acentuado na produção de mediadores inflamatórios quando há um estímulo agressor persistente, ocasionando destruição contínua dos tecidos e tentativas de cicatrização por reparo fibroso além de respostas autoimunes. Esse processo perdura por um período indeterminado (ZHANG; CAO; ZHANG, 2009).

Estão envolvidos no processo inflamatório, diferentes tipos celulares, tais como neutrófilos, macrófagos, mastócitos, linfócitos, plaquetas, células dendríticas, células endoteliais e fibroblastos, entre outras. Essas células são atraídas e recrutadas para o local da inflamação por meio de um processo chamado de quimiotaxia. As primeiras células a chegarem ao tecido lesionado são os neutrófilos e, em seguida, os macrófagos teciduais (FURLLETON; GILROY, 2016).

Os macrófagos, neutrófilos e as células teciduais, são os responsáveis pela liberação de uma gama de substâncias oxidantes e enzimas. Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio são produzidas em abundância, promovendo a indução de fatores transcricionais relacionados com a expressão de enzimas como a catalase, que participa da eliminação de radicais livres e a colagenase, que promove a degradação das redes de elastina. Também é observado o rompimento de mitocôndrias com liberação de enzimas líticas, peroxidação e destruição de membranas e dano no DNA (BHATTACHARYA, 2015).

Após a injúria, os mediadores do processo inflamatório são produzidos e liberados no local onde se deflagrou o processo. Os macrófagos realizam a sinalização do local onde há material estranho ou lesão através destes mediadores, que irão atrair as células circulantes

(leucócitos polimorfonucleares, macrófagos, eosinófilos, linfócitos) as quais apresentam um papel amplificador no processo inflamatório (CRUVINEL et al., 2010).

Muitos mediadores estão envolvidos no processo inflamatório, realizando a promoção e a resolução desse processo, podendo ser de origem tissular, como as citocinas, os eicosanoides, óxido nítrico, fator ativador de plaquetas e neuropeptídios; ou de origem plasmática, como os sistemas de coagulação, do complemento, das cininas e fibrinolítico (CRUVINEL et al, 2010).

As citocinas são polipeptídeos produzidos por diferentes tipos celulares, principalmente linfócitos e macrófagos ativados, células do endotélio, epitélio e tecido conjuntivo, em resposta a estímulos inflamatórios e imunes ou em resposta a outras citocinas, através da ativação de proteoquinases ativadas por mitógenos. São superfamílias, compreendendo mais de 100 citocinas que incluem as interleucinas (IL), quimiocinas, interferons (IFN), fatores estimulantes de colônias, fatores do crescimento e fator de necrose tumoral (TNF). As ILs são citocinas classificadas como pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-17 e o TNF) e anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL-13 e o fator transformador de crescimento β (FTC β)) (WITTMANN; MCGONAGLE; WERFEL, 2014). As ILs anti-inflamatórias inibem a liberação de citocinas pró-inflamatórias e reduzem a expressão da ciclooxigenase 2, ao passo que as ILs pró-inflamatórias migram e atuam na região lesionada, sinalizando a inflamação (STENKEN; POSCHENRIEDER, 2015).

Um dos mediadores inflamatórios de maior importância são os derivados do ácido araquidônico (AA). A liberação do AA ocorre por meio da ação da fosfolipase A2 (PLA2) na membrana celular, através de estímulos químicos, inflamatórios, traumáticos ou mitógenos (ÁVILA, 2010).

O AA possui um papel fundamental na inflamação, uma vez que é metabolizado por três sistemas enzimáticos principais: a ciclooxigenase, COX, obtendo-se as prostaglandinas (PGs), prostaciclina (PGI₂) e tromboxanos (TXs); lipoxigenase (15-LOX e 5-LOX), produzindo leucotrienos (LTs) e lipoxinas; e o citocromo P450, de cuja atuação obtêm-se os produtos da via da epoxigenase (DUNDER, 2009; FANTONI, 2011). Os produtos do metabolismo do AA são conhecidos como eicosanoides, possuem elevada potência e amplo espectro de atividades biológicas, desempenhando importante função na indução e na facilitação de patologias, principalmente as inflamatórias. Com isso, a supressão de suas ações

tem sido um alvo importante para o desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios (CASTRO, 2011).

A enzima COX, também conhecida como prostaglandina H sintase, é composta por três isoformas: a COX-1, a COX-2 e a COX-3 e desempenham no organismo diferentes funções fisiológicas (CARVALHO, 2011).

A COX-1 é considerada a forma constitutiva predominante e está expressa em todo o organismo, exceto nos eritrócitos. É fonte de PGs para funções de manutenção, como a citoproteção epitelial gástrica, agregação plaquetária, homeostase vascular e conservação do fluxo sanguíneo renal (ZHANG; CAO; ZHANG, 2009). A COX-2 por sua vez, é induzida por citocinas, estresse de cisalhamento e estímulos tumorais, sendo expressa em resposta ao estímulo inflamatório e possivelmente ao câncer. Está presente em diferentes tecidos como: útero, rins, ovários, ossos e endotélio vascular. No sistema vascular, essa isoforma assegura a produção de PGs que produzem efeitos vasodilatadores e evitam a agregação plaquetária (GOODMAN; GILMAN, 20015). Dessa forma, é importante ressaltar que ambas as enzimas contribuem para a homeostase e podem contribuir para a produção de PGs que são mediadores da dor e do processo inflamatório. A última isoforma conhecida é COX-3, ela é considerada uma variante da COX-1, sendo expressa no córtex cerebral, no coração, no endotélio vascular, nos rins e nos tecidos (KAM; SO, 2009). Ainda se sabe muito pouco sobre a sua função, contudo, acredita-se que esta isoforma não produza prostanoídes pró-inflamatórios, mas sim substâncias anti-inflamatórias, o que poderia explicar os períodos de remissão vistos em casos de doenças inflamatórias crônicas, como a artrite reumatoide (KUMMER; COELHO, 2002).

A inflamação é a causa de diversas doenças comuns, tais como a artrite reumatoide, osteoartrite, aterosclerose, diabetes mellitus, neurodegeneração, infecção, alergia e o câncer (PERES et al, 2016). Com isso, os anti-inflamatórios estão entre a classe de medicamentos de maior uso pela população de todo o mundo (RENÉ et al, 2009). São usados para amenizar a dor e a inflamação, sintomas que promovem efeitos incapacitantes, que por vezes prejudicam o convívio social e profissional do indivíduo que é acometido por essa experiência sensitiva e emocional desagradável.

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) representam a maior diversidade de fármacos clinicamente disponíveis para tratar a inflamação. A atividade farmacológica desses medicamentos está relacionada à supressão da biossíntese de prostaglandinas a partir de ácido

araquidônico pela inibição das enzimas COXs (BUCKLEY; GILROY; SERHAN, 2014). Apesar da eficácia terapêutica, o uso dos AINES é limitado devido a seus efeitos colaterais comuns. Os AINES tradicionais, aqueles que inibem de forma não seletiva a produção de COX-1 e COX-2, são conhecidos por ocasionarem principalmente o surgimento de úlceras gastroduodenais, enquanto que os AINES seletivos, que inibem seletivamente a COX-2, ocasionam um desequilíbrio entre os fatores anti e pró-trombóticos, com predomínio de tromboxano (TXA2) em detrimento de prostaciclina (PGI2), o que desencadeia uma série de complicações cardiovasculares. Além do mais, o efeito desses fármacos é fugaz: quando o fármaco é eliminado (questão de horas), a síntese das prostaglandinas é retomada, e os sintomas retornam (MENDES et al, 2012).

Além dos AINEs, os anti-inflamatórios esteroidais (AEIs) também chamados de glicocorticóides atuam em vários tipos de células e tecidos. São utilizados no tratamento de uma gama de doenças inflamatórias e imunológicas, incluindo asma, dermatites, artrite reumatoide a alguns casos de câncer (GOES; JACOBS; BIJLSMA, 2014).

Seu mecanismo de ação envolve interações com receptores intracelulares pertencentes à superfamília dos receptores glicocorticóides (GR) que controlam a transcrição gênica. Ao serem ativados, regulam a expressão de genes-alvo, modificando, assim, os níveis e o conjunto de proteínas sintetizadas, de maneira positiva (transativação) ou negativa (transrepressão) (DEJEAN; RICHARD, 2013).

No mecanismo de transativação, após a formação do complexo GR-hormônio, este se liga à certas regiões dos genes sensíveis aos esteróides, denominada elementos de resposta aos receptores GR, levando a uma lenta indução (24-48 horas) da síntese de lipocortina e p11/calpactina, que inibem a enzima PLA2 do metabolismo do ácido araquidônico, impedindo a formação das PGs e dos LTs; inibidor de protease secretora de leucócitos. Também inibem a expressão de genes da collagenase, elastase, ativador de plasminogênio, NOS (HARRIS et al, 2015).

No mecanismo de transrepressão, o complexo GR se liga a moléculas coativadoras com atividade de histona acetiltransferase (HAT) levando à inativação de fatores de transcrição nuclear pró-inflamatórios como fator nuclear kappa B (NF-kB). Não havendo a expressão de determinados genes como, por exemplo, os que controlam a síntese da COX-2, citocinas e moléculas de adesão (ERRANTE et al., 2014).

Apesar dos AEIs serem considerados os fármacos mais potentes utilizados no tratamento da inflamação e de possuírem ações mais amplas que os AINEs, apresentam

efeitos adversos severos associados principalmente a suas ações sobre o metabolismo, frente ao uso crônico ou em altas doses. Além disso, indivíduos que fazem uso crônico deste tipo de anti-inflamatório ficam predispostos a infecções por seus efeitos imunossupressores (MOTA, 2013).

3.5 *Produtos naturais como um campo estratégico na descoberta de novos anti-inflamatórios*

A Organização Mundial de Saúde (OMS), divulgou em 2014 um relatório que coloca as doenças inflamatórias como a terceira maior causa de mortes no mundo, sendo responsáveis por aproximadamente de 3,46 milhões, cerca de 10,8% de óbitos (WHO, 2012).

Apesar do avanço nas terapias para o controle da inflamação, e da existência de medicamentos eficazes, atualmente não há medicamentos que sejam, ao mesmo tempo eficazes e apresentem mínimos efeitos colaterais. Encontrar substâncias com maior eficácia e com baixa toxicidade tem levado os pesquisadores à uma busca frequente por novos fármacos (NAVIDPOUR et al., 2014).

Dos 51 medicamentos lançados entre 1981 e 2010 para tratar a inflamação, 13 são derivados de produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2012). Dessa forma, o estudo de produtos naturais representa um campo estratégico na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos (NEWMAN; CRAGG, 2010).

Na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) são encontradas 20 plantas medicinais com potente atividade anti-inflamatória, comprovada cientificamente, utilizadas pela população. Dessas 20 plantas, nove espécies são nativas do Brasil, *Arrabidaea Chica* (Craijirú), *Baccharis trimera* (Carqueja), *Caesalpinia ferrea* (Pau-ferro), *Cordia verbenacea* (Erva baleeira), *Mikania laevigata* (Guaco), *Phyllanthus niruri* (Quebra-pedra), *Schinus terebinthifolius* (Aroeiravermelha), *Tabebuia avellanedae* (Ipê-roxo) e *Uncaria tomentosa* (Unha-de-gato) e três já são disponibilizadas no SUS como fitoterápico, *Aloe vera*, *Schinus terebinthifolius* e *Uncaria tomentosa* (MARMITE et al, 2015).

Com isso, percebe-se que o Brasil apresenta uma gama diversificada de plantas com atividade anti-inflamatória, que podem gerar alternativas promissoras para o tratamento da

inflamação, justificando assim o interesse pela comprovação da atividade anti-inflamatória do chá de *S. brasiliensis*, objetivo deste trabalho.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta e preparação do material vegetal

As cascas de *S. brasiliensis* foram coletadas na Fazenda Vereda Grande (7° 31,613' S, 36° 2,991' W) localizada no município de Barra de Santana, região semiárida da Paraíba. A identificação foi feita pela botânica, Dr^a. Prof^a. Dilma Trovão e depositada na exsicata no herbário Arruda Câmara da Universidade Estadual da Paraíba, cujo número de inscrição é 000973. A dissertação foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) com o número de cadastro A137B6D.

4.2 Preparação dos pós

O material vegetal coletado foi desidratado em estufa de circulação de ar com temperatura controlada de 40 °C. O material seco foi moído utilizando o moinho de quatro facas móveis e quatro fixas, de modelo SL31 - Marca Solab.

4.3 Determinação do tamanho de partículas

4.3.1 Granulometria da droga vegetal

A droga vegetal pulverizada foi submetida a um agitador eletromagnético, da marca de peneiras com diferentes tamanhos de poros (tamis): 710, 355, 180, 150, 75 e 38 µm, na velocidade 3, durante 20 minutos.

A droga vegetal obtida nestas diferentes granulometrias foram acondicionados separadamente em frascos de polietileno branco fosco, nomeados de de SB01 a SB06 (SB01, SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06), seguindo a ordem decrescente de tamanho de partículas, onde a partícula SB01 é a de maior tamanho e a SB06 de menor, e posteriormente foram devidamente fechados, para proteção da luz e da umidade e armazenados em temperatura ambiente, em média 25 °C.

4.3.2 Microscopia óptica

Parâmetros físicos como o raio de circunferência, diâmetro e área das partículas de pó foram avaliados por microscopia de vídeo usando um microscópio óptico digital Hirox®, modelo KH - 770. Essas medidas foram determinadas pela média de cem medidas.

4.4 *Controle de qualidade da droga vegetal*

A qualidade da droga vegetal foi determinada por meio de testes de controle de qualidade de acordo com os testes adaptados da Farmacopeia Brasileira (2010).

- Densidade aparente: Amostras de 10 g foram pesadas ($n = 3$), transferidas para provetas de 25 mL e submetidas a 100 batidas em superfície plana, nas quais foi avaliado o volume ocupado. A densidade foi dada pela razão massa/volume.
- Perda por dessecação: Amostras de 1 g da droga ($n = 3$) foram submetidas ao aquecimento em estufa a 110 °C por 5 horas. Em seguida o material foi pesado e verificado o percentual de perda.
- Determinação do pH: Foi preparada uma infusão a 1% da droga vegetal ($n = 3$). Após o resfriamento, o pH foi determinado em um potenciômetro previamente calibrado da marca Gehaka, modelo PG 1800.
- Cinzas totais: Amostras de 3 g ($n = 3$) exatamente pesadas foram incineradas e submetidas à mufla (450 °C), durante 2 horas. Após resfriadas, foram calculadas as cinzas totais em função do peso inicial.
- Cinzas insolúveis em ácido: As cinzas totais obtidas na etapa anterior foram aquecidas à ebulição por 5 minutos. Após secagem, o material foi filtrado em papel o isento de cinzas e calcinado (500 °C) por 4 horas. Após resfriamento, o material foi pesado e as cinzas insolúveis em ácido foram calculadas.

4.5 *Análise fitoquímica semiquantitativa*

4.5.1 *Determinação de Polifenóis totais*

Para a determinação do teor de polifenóis totais, utilizou-se o método descrito por Chandra et al. (2004). Adicionou-se 1 mL do CCSb a 2% (m/v) a 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteau 1 N, e esta mistura permaneceu em repouso por 2 minutos. Logo após, adicionou-se 2 mL de uma solução aquosa de Na_2CO_3 a 20% (m/v), e a mistura permaneceu em repouso por mais 10 minutos. Em seguida, foi feita a leitura da absorbância a 757 nm, contra um branco composto por água destilada, reagente de Folin-Ciocalteau e solução a 20% de Na_2CO_3 .

Para a obtenção da curva analítica, uma solução padrão de 100 $\mu\text{g/mL}$ de ácido gálico foi preparada pela dissolução de 10 mg do padrão em 100 mL de água destilada. A partir

dessa solução foram feitas diluições em triplicata, de forma a obter soluções de 1, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 35, e 40 $\mu\text{g/mL}$. A concentração de polifenóis foi expressa em miligramas equivalentes de ácido gálico (mg Eq.g^{-1}). As análises foram realizadas em triplicata e seguiu-se a metodologia proposta por Chaves et al. (2016).

4.5.2 Determinação de Flavonoides totais

A determinação do conteúdo de flavonóides totais seguiu o método de Meda et al. (2005). Foi adicionado 1 mL do CCSb a 2% (m/v) em 1 mL da solução (em metanol) de AlCl_3 a 2% (m/v). A mistura permaneceu em repouso por 10 minutos antes da leitura da absorvância a 415 nm, contra um branco composto pela solução de AlCl_3 .

A curva de calibração foi obtida a partir de uma solução padrão a 100 $\mu\text{g/mL}$, preparada pela dissolução de 10 mg de quercetina em 100 mL de metanol. A partir dessa solução, foram feitas diluições em triplicata, obtendo-se soluções de quercetina nas concentrações de 2, 4, 6, 8, 10, 13, 16, 19, 22, 26, 28 e 30 $\mu\text{g/mL}$. A concentração de flavonóides foi expressa em miligramas equivalentes de quercetina (mg Eq.g^{-1}). As análises foram realizadas em triplicata.

4.5.3 Determinação de Taninos totais

O teor de taninos condensados foi quantificado utilizando-se o método de Makkar et al. (1993), no qual 0,5 mL da amostra do CCSb foi adicionado a 3 mL de uma solução de vanilina (4% m/v em metanol); em seguida, adicionou-se 1,5 mL de HCl concentrado (37%). A reação ocorreu em tubos de ensaio, mergulhados em água a cerca de 22 °C. A leitura foi feita a 500 nm, contra um branco composto pela solução de vanilina, HCl e uma solução de etanol 50% (v/v) em água.

A curva de calibração para este ensaio foi obtida a partir de uma solução padrão de catequina obtida pela dissolução de 10 mg do padrão em 100 mL de metanol. A partir dessa solução, foram realizadas diluições em triplicata, de forma a obter soluções de catequina nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 $\mu\text{g/mL}$. A concentração de taninos condensados foi expressa em miligramas equivalentes de catequina (mg Cat.g^{-1}). As análises foram realizadas em triplicata.

4.6 *Análise térmica*

4.6.1 *Termogravimetria (TG)*

As curvas termogravimétricas dinâmicas da *DVSb* nas diferentes granulometrias foram obtidas em uma balança modelo DTG-60, da Shimadzu, na razão de aquecimento de $10^{\circ} \text{ C min}^{-1}$, variando de 25° C até temperatura de 900° C . Utilizou-se atmosfera de nitrogênio e de ar sintético, com fluxo de 50 mL min^{-1} . Foi utilizando massa de 5 a 8 mg, acondicionada em cadinho de platina para cada amostra. As curvas foram analisadas através do software TasyS 60, da Shimadzu, para caracterizar as etapas de perda de massa.

4.6.2 *Análise Térmica Diferencial (DTA)*

As curvas térmicas diferenciais da *DVSb* nas diferentes granulometrias foram obtidas em uma balança modelo DTG-60, da Shimadzu, na razão de aquecimento de $10^{\circ} \text{ C min}^{-1}$, variando de 25° C até temperatura de 400° C . Utilizou-se atmosfera de nitrogênio e de ar sintético, com fluxo de 50 mL min^{-1} . Foi utilizando massa de 5 a 8 mg, acondicionada em cadinho de alumínio para cada amostra. As curvas foram analisadas através do software TasyS 60, da Shimadzu, para caracterizar as etapas de perda de massa.

4.7 *Impressão digital do CCSb*

A determinação do marcador químico foi realizada seguindo a metodologia validada por Fernandes (2015). A análise foi realizada por cromatografia de alta eficiência (CLAE), utilizando um cromatógrafo líquido Shimadzu, modelo LC-10, equipado com bomba quaternária (LC-10 AD), controlador de gradiente (FCV-10 AL), degaseificado on-line (DGU-14^a), com detector UV-Vis SPD 10^a e sistema controlador SCL 10 A acoplado ao software Class VP. A coluna utilizada foi de fase reversa, modelo Gemini NX C-18, marca Phenomenex, tamanho 250 x 4,6 mm, com partículas de 5 μm de diâmetro e pré-coluna Gemini NX, marca Phenomenex.

A fase móvel consistiu de ácido ortofórico à 0.05% (fase A) e metanol (fase B) em sistema de gradiente: 90-10% B (0-10 minutos), 70-30% B (11-13 minutos), 40-60% B (14-19 minutos), 60-40% B (19-21 minutos), 80-20% B (22-24 minutos) e 90-10% B (24-30 minutos), totalizando 30 minutos de análise.

4.8 Preparo do chá

O chá foi preparado por infusão, imediatamente antes de cada análise, utilizando as menores partículas obtidas no processo de moagem, nas concentrações de 5, 10 e 20% (p/v).

4.9 Atividade biológica do chá da casca de *S. brasiliensis*

4.9.1 Atividade antioxidante

O método utilizado para avaliação da atividade antioxidante foi adaptado de Chaves et al. (2013). Utilizou-se DPPH, *1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (P.M. = 394,32 g/mol, Sigma Aldrich) preparado a 0,200 mM em etanol. Ácido gálico como padrão e como amostra o CCSb a 2% (p/v). O padrão ácido gálico foi preparado na dose de 50 µg/mL, utilizando etanol como solvente e CCSb foi preparado na dose de 20 µg/mL, utilizando água destilada na temperatura de 100° C por infusão. Em cada poço foi adicionado 100 µL. O branco da reação foi constituído de 100 µL de etanol. Em seguida, 100 µL da solução de DPPH foram adicionados aos poços. Após 30 minutos, a leitura foi realizada e o resultado expresso capacidade sequestrante do radical livre (DPPH livre):

$$DPPH_{livre} = \frac{Abs_{controle} - Abs_{amostra}}{Abs_{controle}} \times 100$$

Em seguida, utilizando a regressão linear simples, foi obtido o IC50 e o EC50. O primeiro corresponde à inibição de 50% da solução de DPPH. O segundo foi obtido em função do peso molecular do DPPH e sua concentração na solução. Esse valor corresponde à concentração da substância responsável por inibir 50% das moléculas de DPPH:

$$EC_{50} = \frac{IC_{50}}{\text{Concentração de DPPH} \frac{mg}{mL}}$$

4.9.2 Toxicidade aguda

Para avaliação da toxicologia aguda foi utilizada a metodologia recomendada pela Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 2001). Camundongos fêmeas *Swiss* (*Mus musculus*), adultas (60 dias), pesando entre 25 e 30g, foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos de três animais cada e mantidas em gaiolas

plásticas em ambiente com temperatura e umidade controlada, ciclo claro-escuro de 12 horas e *comida e água ad libitum*. Uma dose única foi administrada oralmente aos grupos de animais teste. O grupo controle recebeu veículo (solução salina) e o grupo tratado recebeu *CCSb* na dose de 2.000mg/kg. Os animais foram observados nas primeiras duas horas e depois a cada 24 horas diariamente durante 14 dias após a administração do chá. A avaliação foi realizada pelo método de screening hipocrático (Anexo I), além disso, o peso, o consumo de água e ração foram avaliados diariamente. No 14º dia, os animais foram guilhotinados para coleta de sangue e realização dos exames hematológicos e bioquímicos. O cérebro, pulmão, fígado, rim, baço, coração, estômago e ovários foram coletados para análise micro e macroscópica bem como para a determinação do peso relativo dos órgãos.

4.9.3 Citotoxicidade em Eritrócitos

A preparação das hemácias para o teste de citotoxicidade seguiu a metodologia descrita por Cruz-Silva et al (2000), com algumas modificações. Os tipos sanguíneos utilizados (A, B e O) doados por voluntários da própria instituição, foram coletados pelo laboratório de Análises Clínicas da UEPB, acondicionado em tubos com heparina. O plasma foi retirado após centrifugação a 2500 rpm por 5 minutos. Posteriormente, a suspensão de hemácias foi lavada com solução salina 1% três vezes. As hemácias foram ressuspensas com a mesma solução e o volume foi ajustado para 5%. Então, colocou-se 1mL da suspensão de hemácias a 5% juntamente com 1mL das soluções de *S. brasilienses* nas concentrações de 1; 2,5 e 5 mg/mL em tubos de ensaio, os quais foram deixados em repouso durante 1 hora à temperatura ambiente para que acontecesse a hemólise. Após esse período, cada tubo foi centrifugado a 2500 rpm por 10 minutos, sendo o sobrenadante retirado para leitura em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 540 nm (CRUZ-SILVA et al., 2001). O controle positivo utilizado foi a solução de Turk 1% e o negativo a solução salina 1%. A análise foi feita em triplicata. O potencial hemolisante do composto em cada concentração foi calculado conforme a equação:

$$\text{Pot. H} = \frac{\text{Ae} - \text{Ab}}{\text{At}} \times 100$$

Onde:

Pot. H= Potencial hemolisante (%)

Ae= Branco do controle positivo

Ab= Branco da amostra testada

At= Absorbância do controle positivo

4.9.4 Atividade anti-inflamatória

Para os testes farmacológicos foram utilizados camundongos *Swiss* (*Mus musculus*) adultos, de ambos os sexos, pesando entre 25 a 35g. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas em ambiente com temperatura e umidade controlada, ciclo claro-escuro de 12 horas e *comida e água ad libitum*. Os protocolos experimentais foram submetidos a comissão de ética no uso de animais- CEUA, localizado na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), com número de aceite 01.001.2012 (CEUA-CESED) e conduzidos de acordo com as diretrizes éticas propostas pela International Association for Study of Pain (IASP) (ZIMMEMANN, 1983).

Os animais foram mantidos em jejum prévio de 12 horas e os grupos divididos aleatoriamente (grupos n=3), foram tratados por via oral com solução salina (10mL/kg), controle positivo e o *CCSb* nas diferentes concentrações (5, 10 e 20% - m/v).

4.9.4.1 Edema de pata induzida por zimosan em camundongo

Os camundongos (n=6) foram tratados por via oral com 10 mL/kg do veículo, indometacina (10 mg/kg) e o *CCSb* nas diferentes concentrações (5, 10 e 20% - m/v). Após 30 minutos, injetou-se na região subplantar da pata traseira direita, 0,1 mL da solução de solução de zimosan a 2%. A mensuração do volume das patas foi realizada utilizando um pletismômetro no tempo basal, 30 min, 1, 2, 3, 4, 6 e 8 horas após a indução do edema (SOUSA, et al., 2005).

4.9.4.2 Inflamação induzida por carragenina no modelo da bolsa de ar em camundongos

Seguiu-se o modelo experimental baseado no proposto por Miranda et al. (2016), onde foi induzido uma bolsa de ar no dorso dos camundongos (grupo n=6) através da injeção de ar estéril. No primeiro dia foi injetado 2,5 mL de ar no dorso do animal e repetiu-se o procedimento após 72 horas. No sétimo dia do ensaio os animais (jejum prévio de 12 horas) receberam, por via oral, o veículo (salina, 10 mL/kg), dexametasona (0,5 mg/kg, v.o.) e o *CCSb* nas concentrações de 5, 10 e 20% - m/v). Uma hora após, foi injetado 1,0 mL de carragenina a 1% (agente flogístico) dentro da bolsa de ar. Decorridas 6 horas, os animais foram eutanasiados com éter e as bolsas lavadas com 3,0 mL de solução tampão fosfato (PBS pH 7.2) contendo heparina como líquido de arraste para a contagem de leucócitos totais.

4.9.4.3 Peritonite induzida por zimosan em camundongos

Para a realização deste ensaio, utilizou-se a metodologia proposta por Matos et al. (2003). Os camundongos (n=6) foram tratados por via oral com veículo (salina, 10 mL/kg), controle positivo e o *CCSb* nas diferentes concentrações (5, 10 e 20%- m/v). Após 30 minutos, foi realizada a indução na cavidade intraperitoneal utilizando 50 µL de zimosan a 2%. Quatro horas após a indução da inflamação, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e injetou-se 2 mL de solução tampão fosfato (PBS pH 7.2) na cavidade intraperitoneal. O abdômen do animal foi levemente massageado e, através de incisão coletou-se o fluido peritoneal, este foi centrifugado por 10 min a 3000 rpm para isolar o sobrenadante e realizar a contagem de leucócitos totais.

4.9.5 Análise estatística

Para os resultados físico-químicos as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Microsoft Excel 2013®, PAST 3.X e Origin 8.0®.

Para a realização das análises estatísticas utilizou-se o programa Prisma 5.0. Os dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Dunnett para os testes edema de pata induzido por zimosan, inflamação induzida por carragenina no modelo bolsão de ar e peritonite induzida por zimosan. Para avaliação da toxicidade aguda foi utilizado o teste T de Student. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi fixado em 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da droga vegetal

5.1.1 Processamento da droga vegetal

Foram necessários 6 dias em estufa para as cascas de *S. brasiliensis* atingirem o peso constante. A perda de massa no processo de secagem foi de 11%, gerando 849g de material vegetal. A determinação da perda por secagem de materiais vegetais é essencial, uma vez que impede que o material permaneça úmido, devido a uma secagem ineficiente, ou que haja degradação de compostos por secagem excessiva (HUBINGER et al, 2009).

Após a secagem foi realizada a moagem das cascas, etapa essencial no preparo do material vegetal, pois até mesmo o processo de extração mais moderno e a utilização do solvente mais seletivo, pode ter seu rendimento afetado se não conseguir penetrar de forma eficiente no material vegetal (MESSIADES, 2014).

Com a obtenção da DV**Sb** foi possível a análise visual e organoléptica da mesma, sendo esses um dos primeiros aspectos que devem ser observados no controle de qualidade de plantas medicinais (FARIAS et al., 2010, ALBUQUERQUE 2017). A droga vegetal obtida apresenta coloração marrom (Figura 5), sabor levemente amargo e cheiro característico.

Figura 5- Droga vegetal da casca do caule de *S. brasiliensis*



Dados: Fonte da pesquisa, 2018

Com a tamisação da droga vegetal, obteve-se a separação em seis diferentes tamanhos de partículas (Figura 6), de acordo com as malhas do tamis. A malha 180 μm (SB03) foi a que reteve maior quantidade de pó (30,81 %), como demonstrado na tabela 1.

Figura 6- Droga vegetal obtido a partir da casca de *S. brasiliensis* separado em 6 diferentes tamanhos de partícula após tamisação (malhas 710, 355, 180, 150, 75, 38 μm)



A: Sb01(malha 710 μm), B: Sb02(malha 355 μm), C: SB03(malha 180 μm), D: SB04(malha 150 μm), E: SB05(malha 75 μm), SB06 (malha 38 μm).

Tabela 2- Porcentagem de pó obtida após o processo de tamisação

Tamis (Malha μm)	Massa (g)	% de pó obtido
710	92,70	9,76
355	62,31	6,56
180	292,58	30,81
150	278,51	29,33
75	105,87	11,15
38	17,53	12,37

Fonte: dados da pesquisa, 2019

É essencial para o controle de qualidade, que ocorra uma padronização de pós obtidos de plantas, uma vez que a forma da partícula serve como um indicador de reprodutibilidade de um processo. Geralmente os pós de espécies herbáceas apresentam formatos que não se encaixam em nenhuma das formas geométricas, exigindo uma padronização mais efetiva (CORREIA et al, 2013).

A microscopia óptica é uma ferramenta de grande utilidade, permitindo a verificação do tamanho e a distribuição das partículas obtidas no processo de moagem (PROCOPIO et al, 2013). Por meio dessa técnica, foi possível observar a não uniformidade morfológica dos grânulos. Observou-se que as malhas de aberturas de 180 (SB03), 150 (SB04) e 75 (SB05) μm permitiram a passagem de partículas bem maiores que seus poros, 308, 8; 289,2; 251, 85 μm , respectivamente (KECK et al, 2008), sugerindo que o processo de tamisação não ocorreu de forma eficiente.

Isso pode ter ocorrido, porque a determinação do tamanho de partículas por peneiras granulométricas, ou técnicas que permitam a passagem de partículas em diferentes posições, conduz a erros técnicos na afirmação de que, aquele produto pulverizado contém partículas de tamanho abaixo daquele diâmetro preconizado (CORREIA, 2011). Vários fatores podem ocasionar esses erros, um deles é a absorção de umidade pelos pós, gerando a formação de grânulos, impedindo a passagem de partículas menores, ou mesmo a adesão delas a locais específicos das peneiras. A agitação irregular, uma vez que os compêndios oficiais não preconizam a velocidade adequada, também pode influenciar de forma negativa o processo de separação. Outro fator que deve ser levado em consideração é a irregularidade na forma geométrica das partículas, o que pode ocasionar a passagem pela peneira na direção longitudinal, não sendo classificada corretamente de acordo com seu diâmetro, ou na direção transversal, ficando retida na peneira que não corresponde ao seu diâmetro real (CORREIA et al, 2015).

Os resultados dos testes físico-químicos de caracterização do DV**Sb**, nos diferentes tamanhos de partículas, encontram-se na Tabela 2. A Farmacopeia Brasileira (2010) não determina parâmetros de valores para alguns desses testes. No entanto, eles permitem uma caracterização da droga vegetal principalmente para fins de controle da qualidade (ALBUQUERQUE, 2017).

Tabela 3- Características físico-químicas da droga vegetal de *S. brasiliensis*

	SB01	SB02	SB03	SB04	SB05	SB06
Partícula						
Perda por dessecação	9,70±0,34	9,01±0,30	9,45±0,24	9,95±0,30	9,90±0,20	9,55±0,10
pH	5,28±0,20	5,10±0,10	5,30±0,30	5,10±0,20	4,98±0,20	4,94±0,10
Cinzas totais	8,80±0,10	9,07±0,20	8,85±0,10	8,33±0,30	8,40±0,10	9,45±0,20
Cinzas resistente a ácido	3,40±0,15	4,75±0,21	3,81±0,28	3,41±0,11	3,85±0,12	4,65±0,17
Densidade	0,33±0,23	0,31±0,20	0,29±0,20	0,28±0,10	0,28±0,10	0,27±0,30

Fonte: dados da pesquisa, 2019

As partículas do *DVSb* apresentaram perda por dessecação entre 9,70 a 9,55 %. Como a Farmacopeia Brasileira (2010) determina que o teor de água para as drogas vegetais devem estar entre 6 e 15 %, a droga vegetal obtida está em bom estado de secagem. Uma das análises mais importantes de matérias primas vegetais é a determinação da umidade e a perda por dessecação. Esses dois parâmetros, além de permitirem o monitoramento da secagem, possibilitam também a avaliação da quantidade de água presente na droga vegetal, fator importante na qualidade da matéria prima, uma vez que o excesso de água pode propiciar o crescimento de microrganismos, como fungos e bactérias, o aparecimento de insetos, além de favorecer a ocorrência de hidrólise de alguns princípios ativos (ENDERLE et al, 2018; ALBUQUERQUE et al, 2018; COUTO et al, 2009). Além do mais, uma secagem excessiva do material, pode acarretar em danos aos princípios ativos presentes no material (ARAÚJO et al., 2010).

O pH da droga vegetal obtido foi ácido, variando de 4,94 a 5,28 nos diferentes tamanhos de partículas, o que pode sugerir a ocorrência de metabólitos ácidos, capazes de serem extraídos pela água, solvente que foi utilizado. Temos como exemplos de metabólitos secundários hidrossolúveis os polifenóis (KOCABAS, 2017), taninos, saponinas e terpenoides (AZMIR et al., 2013).

Os resultados obtidos para cinzas totais e cinzas resistentes a ácido foram de 8,33 a 9,45% e 3,40 a 4,75%, respectivamente. A Farmacopeia Brasileira (2010) determina que os teores de cinzas devam estar entre 3 e 15%. Essas análises são muito importantes no controle

de qualidade da droga vegetal, pois permitem revelar possíveis contaminações por impurezas inorgânicas não voláteis, resíduo de terra, areia ou pedras (BLAINSKI et al., 2017; SOUZA, 2017).

Dessa forma, os resultados encontrados estão em concordância com as especificações contidas na literatura, demonstrando que a coleta, o preparo e o armazenamento das amostras foram realizados corretamente.

5.2 *Análise fitoquímica semiquantitativa*

Os compostos secundários de plantas são usualmente classificados de acordo com a sua rota biossintética. As três famílias de moléculas que são consideradas as principais são, os compostos fenólicos: taninos, flavonoides, etc; os terpênicos e os compostos nitrogenados: alcaloides (MESSIADES, 2014). Esses metabólitos são os responsáveis pela atividade terapêutica, cujos efeitos são amplamente utilizados pelos seres humanos como medicamentos (COUTINHO, 2009; JAMWAL, 2018).

A prospecção fitoquímica do *CCSb* revelou a presença dos metabólitos descritos na Tabela 5. Foi possível observar que o tamanho da partícula influencia diretamente no poder extrativo do solvente utilizado, desse modo, a partícula de menor tamanho (SB06) foi a que propiciou maior extração dos metabólitos secundários, uma vez que quanto menor o tamanho da partícula, maior será a área de contato com o solvente. Obteve-se 117,15 mg/g de polifenóis totais, 10,59 mg/g de taninos totais e 1,89 mg/g de flavonoides totais, enquanto que a partícula de maior tamanho (SB01) só conseguiu extrair 75; 0,15 e 0,41 mg/g de polifenóis totais, flavonoides totais e taninos totais, respectivamente.

Tabela 4- Análise fitoquímica semiquantitativa da droga vegetal de *S. brasiliensis*

Partícula	Polifenóis totais (mg/g)	Flavonoides totais (mg/g)	Taninos Totais (mg/g)
SB01	75,05±0,1	0,15±0,2	0,41±0,11
SB02	72,33±0,2	0,19±0,1	0,49±0,2
SB03	78,73±0,1	0,87±0,3	1,11±0,3
SB04	77,46±0,3	1,00±0,1	5,48±0,1
SB05	76,58±0,1	0,99±0,1	7,51±0,2
SB06	117,15±0,3	1,83±0,22	10,59±0,2

Dados: Fontes da pesquisa, 2018

Estudos realizados por Fernandes et al (2015), utilizando um extrato hidroalcoólico da casca de braúna e o mesmo método de semiquantificação aqui utilizado, demonstram que o teor total de polifenóis é bastante alto quando comparado aos flavonóides totais, corroborando com os resultados encontrados. Isso ocorre, porque os polifenóis são um amplo e numeroso grupo de compostos, podendo ser classificado em quatro famílias: flavonoides (flavonas, flavanonas, catequinas e antocianinas), ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos (resveratrol) (CLEMES et al, 2015.)

Os polifenóis e flavonoides estão presentes em grande parte das plantas medicinais e a presença desses compostos está relacionada a atividades antioxidantes, antimicrobianas e antiinflamatórias (CORRADINI et al., 2011).

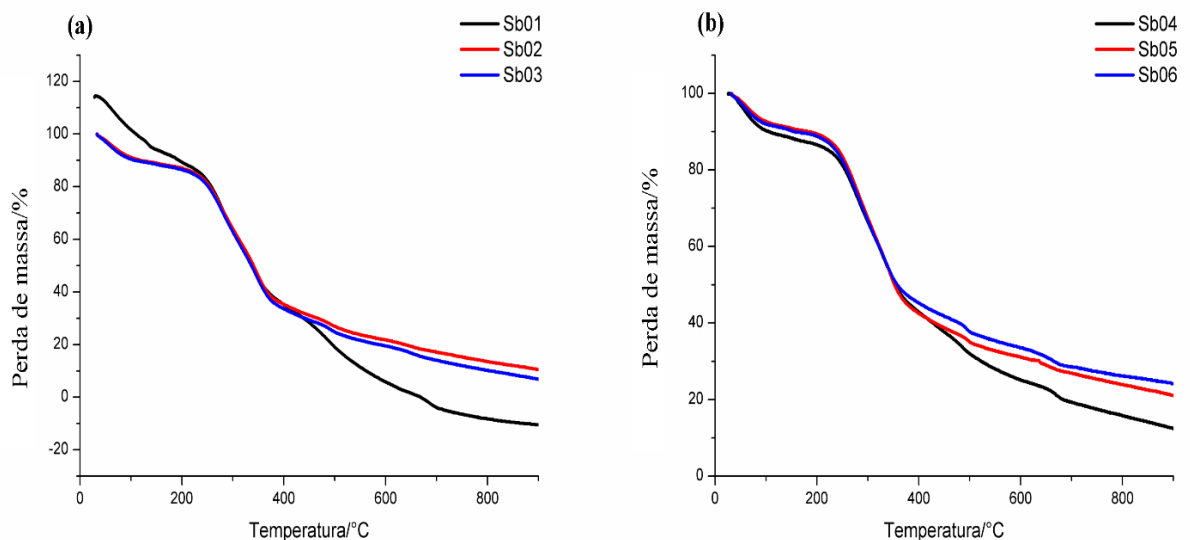
Suplementos com propriedades antioxidantes derivados de plantas, contendo compostos fenólicos, flavonoides e vitaminas desempenham um papel importante na prevenção do estresse oxidativo, inflamação, câncer e doenças relacionadas. Sabendo disso, tem havido considerável interesse na investigação de vegetais e frutas com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias pela indústria farmacêutica (LU, 2018), fazendo da braúna uma planta com grande prospecção econômica.

5.3 Análise Térmica

5.3.1 Termogravimetria (TG)

As curvas termogravimétricas das amostras SB01 apresentam sete etapas de decomposição, enquanto que nas demais partículas (SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06), observa-se apenas 6 etapas de decomposição da droga vegetal (figura 7).

Figura 7: Curvas termogravimétricas da SB01, SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06 na razão de aquecimento de $10^{\circ} \text{C min}^{-1}$ em atmosfera de ar sintético.



Fonte: dados na pesquisa, 2019

Legenda: (a) Curvas referentes as partículas SB01, SB02 e SB03; (b) Curvas referentes as partículas SB04, SB05 e SB06

A primeira etapa ocorreu na faixa de temperatura de $28,22-135,25^{\circ} \text{C}$, $36,06-89,78^{\circ} \text{C}$, $33,95-99,24^{\circ} \text{C}$, $29,60-102,20^{\circ} \text{C}$, $36,31-98,58^{\circ} \text{C}$, $33,54-81,32^{\circ} \text{C}$, representando uma perda de $16,04\%$, $7,23\%$, $9,52\%$, $9,73\%$, $6,75\%$ e $6,15\%$, para SB01, SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06, respectivamente, e a segunda etapa de decomposição ocorreu na temperatura e com perda de massa de $136,3-180,5^{\circ} \text{C}$ ($4,31\%$) para SB01, $90,69-210,42^{\circ} \text{C}$ ($5,45\%$) para SB02, $106,30-251,0^{\circ} \text{C}$ ($9,92\%$) para SB03, $110,66-224,68^{\circ} \text{C}$ ($4,73\%$) para SB04, $104,76-206,33^{\circ} \text{C}$ ($3,27\%$) para SB05 e $86,63-208,32^{\circ} \text{C}$ ($4,60\%$) para SB06 (tabela 3). As perdas de massas observadas nas etapas iniciais são atribuídas possivelmente à volatilização de compostos, principalmente de água. Dessa forma, esses dados indicam uma baixa umidade da droga vegetal, corroborando com os valores que foram encontrados na perda por dessecação.

A terceira etapa, sugestiva de decomposição, foi de 186,0-221,71° C (3,95%) para SB01, 215,43-295,09° C (21,26%) para SB02, 257,18-312,0° C (20,04%) para P3, 229,14-361,42° C(36,15) para P4, 213,40-292,45(18,45%) para P5, 212,74-288,41(17,42%) para SB06 e a quarta etapa de 225,37-357,0° C (38,09%), 300,74-349,36(17,40%), 316,30-371,89(19,64%), 367,66-494,60° C(14,34), 298,63-357,36° C (19,41%), 294,49-385,49(22,60%), para SB1, SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06 (tabela 3), respectivamente. Essas etapas são sugestivas de decomposição de resíduos não degradáveis em atmosfera inerte, como resinas, açúcares, carboidratos, dentre outros.

As etapas 5, 6 e a 7(observada para a partícula 1), correspondem a etapa de degradação completa da droga vegetal, que ocorre a partir da temperatura de 500° C até os 1200° C. Nessas etapas foram observadas variações de perda de massa de 7,16% a 13,44% e 7,11% a 22,15% para a etapa 5 e 6, respectivamente e de 5,59% para a etapa 7.

Tabela 5- Parâmetros termogravimétricos da DV**Sb** em seis diferentes tamanhos de partículas

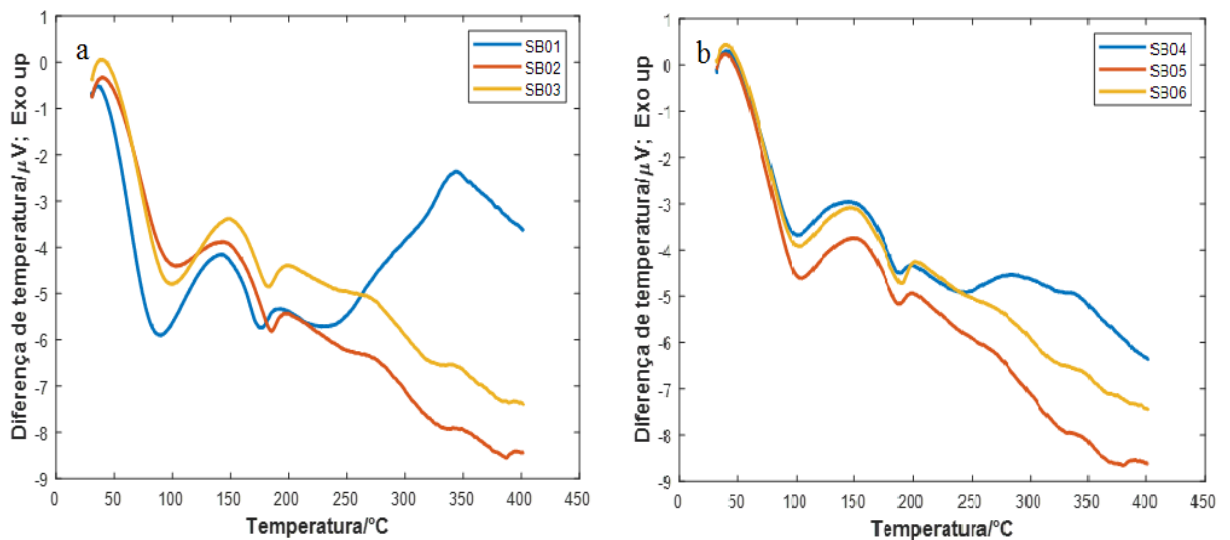
Amostras	Etapa 1		Etapa 2		Etapa 3		Etapa 4		Etapa 5		Etapa 6		Etapa 7	
	Início – Final (°C)	Perda de massa (%)	Início – Final (°C)	Perda de massa (%)	Início – Final (°C)	Perda de massa (%)	Início – Final (°C)	Perda de massa (%)	Início – Final (°C)	Perda de massa (%)	Início – Final (°C)	Perda de massa (%)	Início – Final (°C)	Perda de massa (%)
SB01	28,2-135,2	16,0	136,3-180,5	4,3	186,0-221,7	3,951	225,3-357,0	38,09	388,2-460,6	12,0	468,1-697,4	22,1	700,1-891,8	5,5
SB02	36,0-89,7	7,2	90,6-210,4	5,4	215,4-298,0	21,26	300,7-349,3	17,40	432,9-522,2	7,1	545,6-897,0	13,4	-	-
SB03	33,9-99,2	9,5	106,3-251,0	9,9	257,1-312,0	20,04	316,3-371,8	19,64	378,9-507,3	11,8	511,7-896,8	16,8	-	-
SB04	29,6-102,2	9,7	110,6-224,6	4,7	229,1-361,4	36,15	367,6-494,6	14,34	499,9-682,1	11,9	687,4-893,2	7,1	-	-
SB05	36,3-98,5	6,7	104,7-206,3	3,2	213,4-292,4	18,45	298,6-357,3	19,41	361,7-518,0	13,4	524,2-896,1	12,6	-	-
SB06	33,5-81,3	6,1	86,6-208,3	4,6	212,7-288,4	17,42	295,4-395,4	22,60	402,6-538,4	9,1	545,9-895,0	11,2	-	-

Fonte: dados da pesquisa, 2019

5.3.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

Observando-se o perfil térmico diferencial da *DVSb*, nota-se que a partícula SB01, de maior tamanho, apresenta dois eventos endotérmicos, que são observados em todas as outras partículas (SB01, SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06) e um evento exotérmico que é observado apenas nessa partícula (figura 8).

Figura 8- Curvas da Análise Térmica Diferencial (DTA) da SB01, SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06 na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de ar sintético.



Fonte: dados na pesquisa, 2019

Legenda: (a) Curvas referentes as partículas SB01, SB02 e SB03; (b) Curvas referentes as partículas SB04, SB05 e SB06

No primeiro evento endotérmico, os picos são de $90,15^{\circ}\text{C}$, $102,68^{\circ}\text{C}$, $99,36^{\circ}\text{C}$, $100,01^{\circ}\text{C}$, $105,02^{\circ}\text{C}$, $102,30^{\circ}\text{C}$ para SB01, SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06 (tabela 4), respectivamente, que corresponde a primeira etapa de decomposição térmica que é sugestiva para desidratação, corroborando o que foi observado na termogravimetria.

Fernandes et al (2013), analisando curvas de DTA e TG para extratos hidroalcoólicos de *S. Brasiliensis*, relaciona a grande quantidade de eventos térmicos observados, a ampla variedade de metabólitos secundários presentes nessa planta, principalmente de compostos fenólicos.

Tabela 6- Parâmetros térmicos diferenciais (DTA) da droga vegetal de *S. brasiliensis* em diferentes tamanhos de partículas

Amostras	Pico 1			Pico 2			Pico 3		
	Início - Final (°C)	Pico (°C)	ΔH (J g ⁻¹)	Início - Final (°C)	Pico (°C)	ΔH (J g ⁻¹)	Início - Final (°C)	Pico (°C)	ΔH (J g ⁻¹)
SB01	51,58- 129,21	90,15	319,82	157,59- 187,17	175, 51	30,91	320,26- 383,73	343, 12	70,71
SB02	52,49- 131,43	102,68	164,02	160,08- 193,99	185, 28	25,59	-	-	-
SB03	49,18- 142,46	99,36	352,40	161,58- 195,27	182, 96	42,73	-	-	-
SB04	52,25- 127,35	100,01	294,11	163,90- 196,10	188, 98	23,33	-	-	-
SB05	55,40- 133,45	105,02	318,44	165,25- 198,87	188, 19	26,69	-	-	-
SB06	49,67- 130,57	102,30	299,69	163,56- 199,91	190, 71	46,00	-	-	-

Dados da pesquisa, 2019

No âmbito farmacêutico, a relevância das análises de TG e DTA para a indústria é crescente, uma vez que mostram-se como ferramentas úteis na caracterização de drogas vegetais, avaliando parâmetros térmicos e produzindo informações essenciais acerca do controle de qualidade de drogas vegetais (CORREIA et al, 2011).

É importante salientar que amostras de drogas vegetais são misturas de uma gama de componentes, tanto de compostos orgânicos, como inorgânicos, dessa forma as curvas de decomposição térmica são parcelas de fenômenos físico-químicos que ocorrem quando as mesmas são aquecidas. Com isso, não é possível associar o efeito térmico e a perda de massa à identificação da decomposição de um determinado componente da amostra (SILVA-JÚNIOR, 2006).

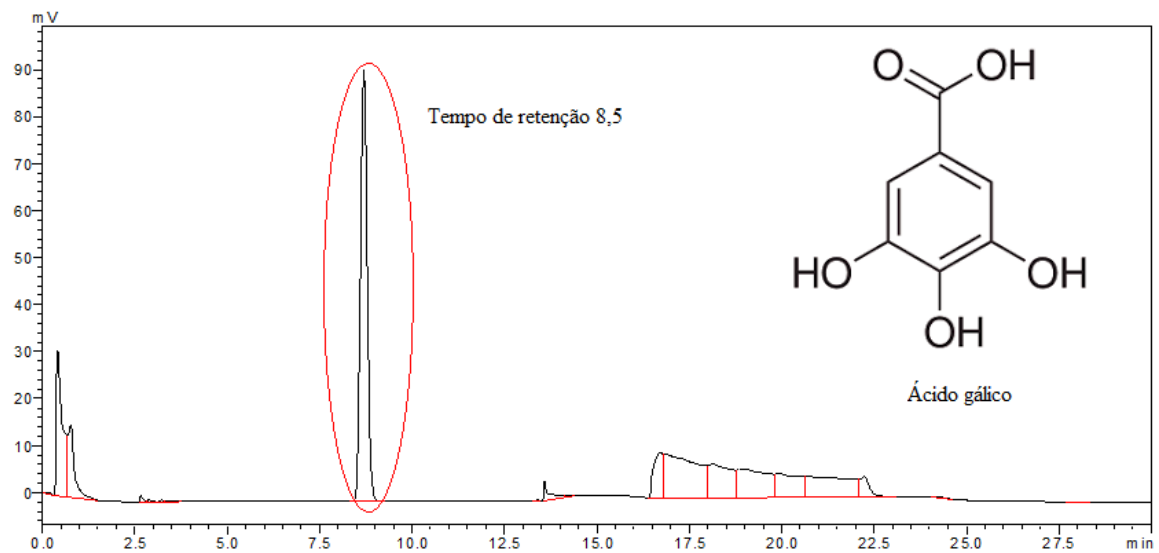
5.4 Impressão digital do CCSb

A determinação do marcador químico é uma etapa primordial para o controle de qualidade de produtos de origem vegetal. Ele pode ou não estar relacionado a atividade

biológica e é definido como um constituinte ou um grupo de substâncias quimicamente definidas e presente no produto vegetal (MARQUES et al.2013).

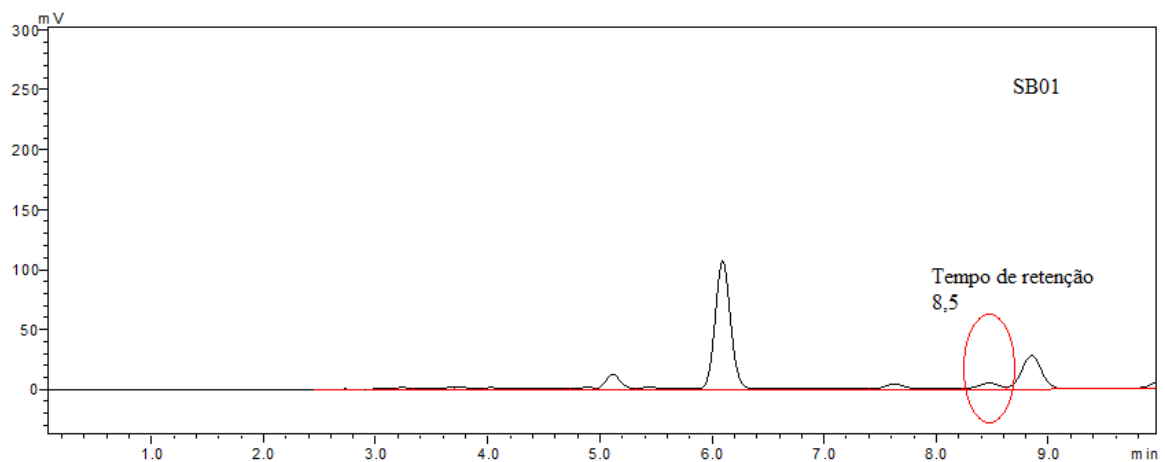
No cromatograma do ácido gálico (ácido 3,4,5 trihidroxibenzoico), definido como o padrão para a *S.brasiliensis* (figura 9), é possível observar um pico com tempo de retenção em torno de 8,5 minutos.

Figura 9- Cromatograma do padrão de ácido gálico em 271nm



Embora seja observado em intensidades diferentes, é possível encontrar um pico com mesmo tempo de retenção para todos os diferentes tamanhos de partículas da DV**Sb** (figura 10). É possível observar também a presença de outros picos, uma vez que a DV**Sb** apresenta uma diversificada composição de fitoconstituintes.

Figura 10- Cromatogramas da DV**Sb** SB01, SB02, SB03 em 271nm



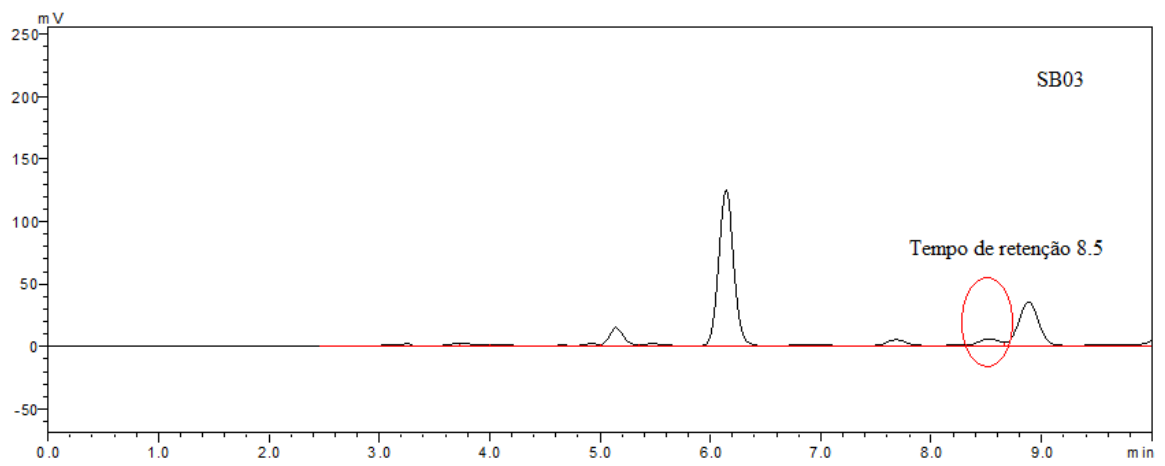
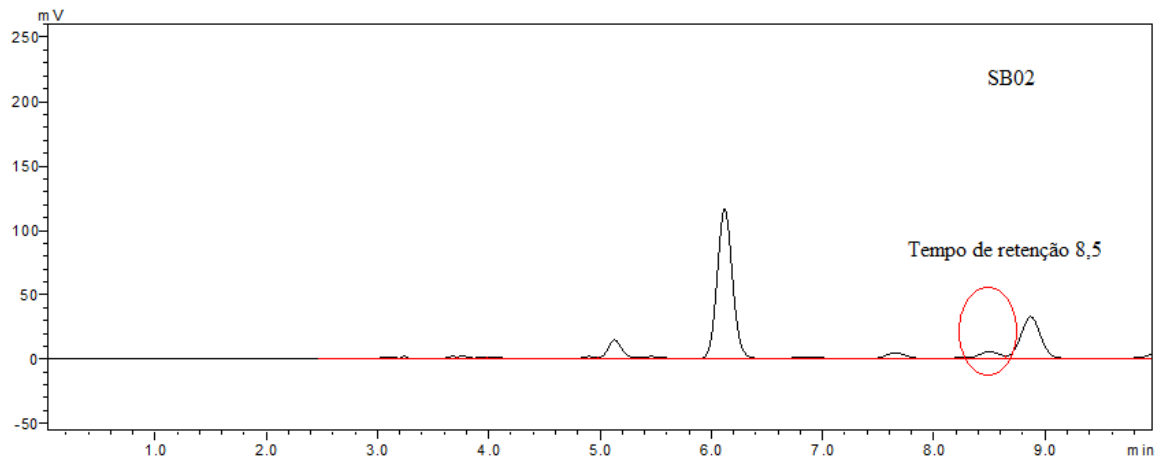
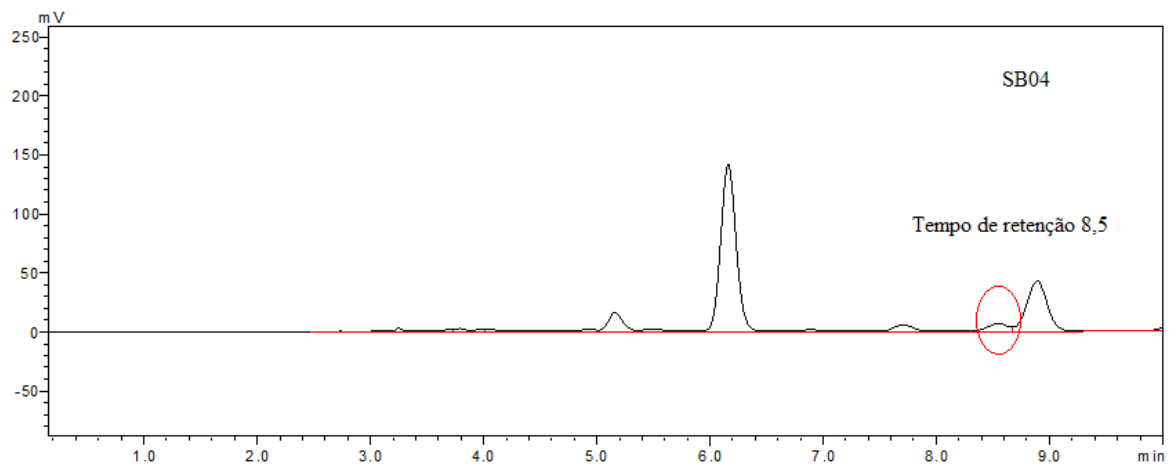
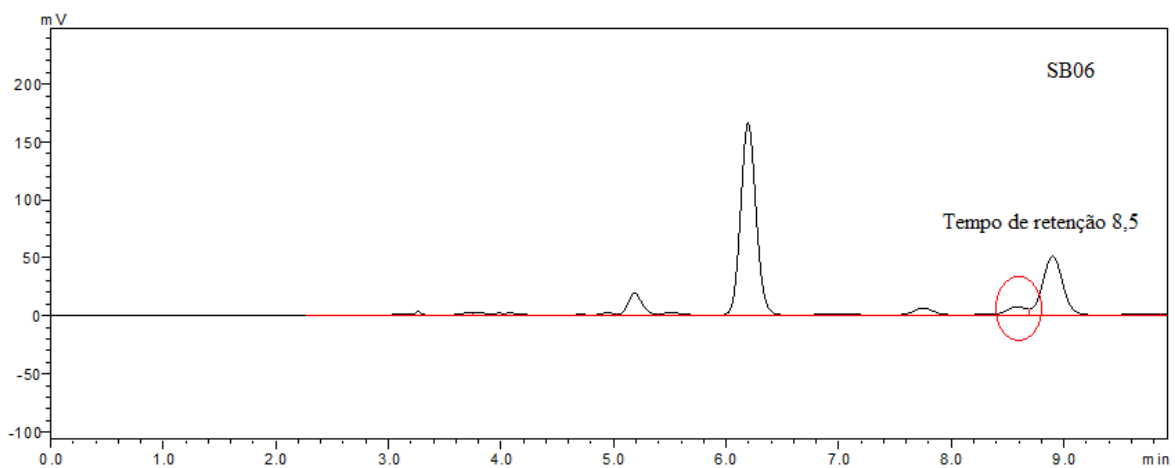
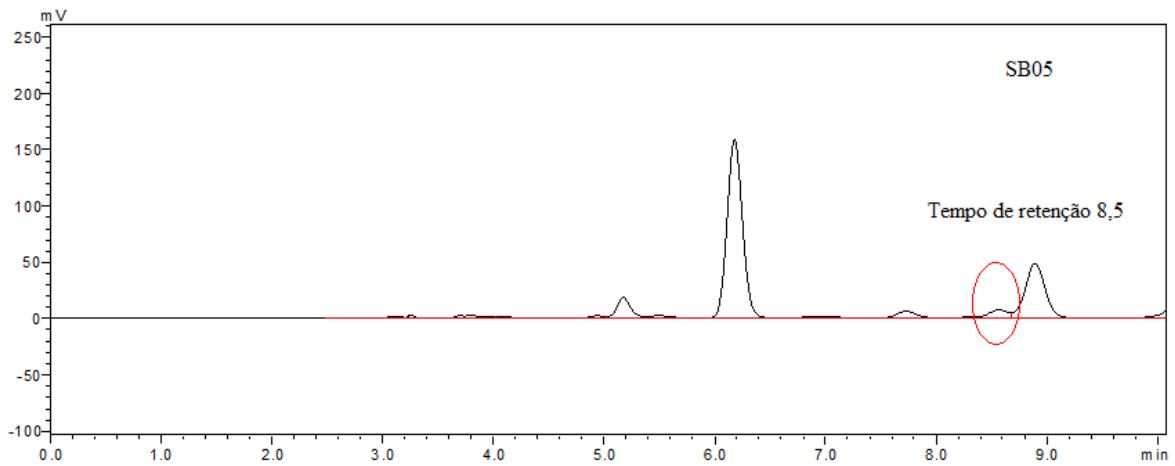


Figura 11- Cromatogramas da DVSb SB04, SB05 e SB06 em 271nm





Diferentes estudos presentes na literatura descrevem o ácido gálico como o marcador químico para a *S. brasiliensis* (FERNANDES et al, 2015; SOUZA, 2015; JOVITO, 2016; SANTOS et al, 2018).

O flavonoide ácido gálico (AG) é um importante polifenol encontrado em chás, uvas, vinho tinto, castanha entre outros produtos naturais. O grande valor desse ácido fitoquímico é bem conhecido. Na literatura é possível encontrar uma diversidade de atividades biológicas atribuídas a ele, como por exemplo, suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, antimutagênicas, anticarcinogênicas, antivirais e analgésicas (BIROSOVÁ; MIKULÁSOVÁ; VAVERKOVÁ, 2005; GIFTSON; JAYANTHI; NALINI, 2009; KANG et al., 2008; KIM et al., 2006; LOPES et al., 2011).

5.5 Prospecção da atividade biológica do CCSb

5.5.1 Determinação da atividade antioxidante

Atualmente, é crescente a busca por substâncias que possam reduzir o risco de se desenvolver doenças crônicas provocadas pelo o estresse oxidativo. As substâncias de origem vegetal (flavonoides, alcaloides, terpenos, dentre outras) estão entre as mais promissoras com essa atividade.

A capacidade de eliminação de espécies reativas do CCSb foi avaliada por sua capacidade de eliminar o radical DPPH. Os dados referentes a este teste encontram-se na Tabela 6, expressos em percentual de inibição do DPPH, IC₅₀ e EC₅₀. Ao observar o percentual de inibição do DPPH, constatou-se que o chá apresentou inibição de 28,30 % e o padrão (ácido gálico) 69, 81%. Levando-se em conta que a concentração do chá (20µg/mL) foi menos da metade utilizada para o padrão (50µg/mL), o chá demonstrou uma significativa inibição do DPPH. O valor de IC₅₀ (concentração capaz de inibir 50% do DPPH) obtido para o CCSb foi de 2,66 µg mL⁻¹, valor bem próximo ao encontrado para o ácido gálico (2,24µg mL⁻¹). A quantidade de antioxidante exigida para reduzir a concentração de DPPH em 50% (EC₅₀) para o chá foi de 0,34 U.A, enquanto que a do ácido gálico foi de 0,28 U.A, valores bem semelhantes, demonstrando boa capacidade do CCSb em sequestrar espécies reativas.

Tabela 7- Atividade antioxidante do chá de *S. brasiliensis*

CONCENTRAÇÃO		PADRÃO ÁCIDO GÁLICO	
(50µg/mL)		DPPH livre (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
		69,81	2,24
			EC ₅₀ (U.A)
			0,28
CONCENTRAÇÃO		CHÁ DE <i>S. brasiliensis</i>	
(20µg/mL)		DPPH livre (%)	IC ₅₀
		28,30	2,66
			EC ₅₀
			0,34

Fonte: dados da pesquisa, 2019

Vários estudos descritos na literatura, utilizando diferentes partes da braúna (folhas, caule) e extratos, demonstram a sua elevada atividade removedora de espécies reativas. Isso

pode ser atribuído a sua rica composição em compostos fenólicos, a exemplo do flavonoide ácido gálico, descrito como sendo seu marcador químico e que apresenta grande potencial antioxidante (SANTOS et al, 2017; SANTOS et al; LUZ et al, 2018; JÚNIOR et al, 2011; SARAIVA et al., 2011).

Também há relatos dessa atividade para outras espécies do mesmo gênero, como por exemplo, a excelente atividade antioxidante descrita para a *Schinopsis balansae*, que apresenta rica fonte de ácidos fenólicos, dentre eles o ácido gálico (MARTINEZ et al, 2009).

5.5.2 Citotoxicidade em eritrócitos humanos

A atividade hemolítica é empregada para avaliar o potencial do composto em causar lesões na membrana plasmática das hemácias, seja pela formação de poros ou pela ruptura total, uma vez que interações entre substâncias químicas com os eritrócitos, pode acelerar o envelhecimento ou levar a um processo prematuro de destruição dessas células, gerando a liberação de hemoglobina (SILVA, 2017).

A tabela 7 mostra que em todas as concentrações testadas, o poder hemolisante ficou abaixo de 10%, o que caracteriza baixa citotoxicidade do CCSb.

Tabela 8- Potencial hemolisante do CCSb preparado com a partícula SB06 em diferentes tipos sanguíneos (A, B e O)

CONCENTRAÇÃO (mg/mL)	% de hemólise tipo A	% de hemólise tipo B	% de hemólise tipo O
1,0	6,18	5,13	6,57
2,5	7,48	6,25	7,04
5,0	8,17	8,12	9,05

Dados da pesquisa, 2018

Estudos realizados por Assunção (2017) utilizando extrato hidroalcoólico seco das folhas de *S. brasiliensis* mostrou baixa citotoxicidade, corroborando com os resultados aqui encontrados.

Muitas plantas medicinais utilizadas pela população na forma de chá e infusões não são suficientemente estudadas quanto à presença de substâncias citotóxicas que podem causar

efeitos adversos e danos à saúde. A citotoxicidade de plantas medicinais deve ser considerada um problema de saúde pública, uma vez que comumente observamos intoxicações, interações com outras drogas e efeitos adversos causados pelo uso indiscriminado dessas plantas (BRANDÃO, 2014).

5.5.3 Toxicidade Aguda em camundongos

5.5.3.1 Avaliação comportamental dos camundongos

Após a administração de 2000 mg/kg, v.o, do *CCSb* ou solução salina no grupo controle, os animais observados durante o 5, 15, 30, 45 min, 1, 2, 24 e 48h até o 14º dia, não apresentaram alterações fisiológicas ou comportamentais e nenhum animal veio a óbito.

5.5.3.2 Consumo de água e ração e evolução ponderal

O supervisionamento do ganho de peso e consumo de alimentos e água em estudos com animais é de grande importância, uma vez que alterações nesses parâmetros podem ser um indicador do estado de saúde geral do animal. Alterações dos valores nesses parâmetros são indicadores de efeitos adversos de um produto teste (RAZA et al. 2002).

O consumo de ração dos camundongos tratados com o *CCSb* não sofreu alterações significativas quando comparado com o grupo controle. Quanto ao consumo de água, o grupo que recebeu o chá apresentou um consumo de água significativamente menor quando comparado ao grupo controle, no entanto esse dado por si só não indica toxicidade (Tabela 8).

Tabela 9- Efeito da administração oral do *CCSb* na evolução ponderal (alteração da massa corpórea) e no consumo de água e ração em camundongos Swiss durante 14 dias

Parâmetros	Grupo Salina	Chá 2000mg/kg
Peso inicial(g)	41.67 ± 0.66	36.67 ± 0.66
Peso final(g)	43.52 ± 1.05	39.32 ± 0.78
Ganho de peso (%)	6,44 ±	7, 23 ±
Consumo de ração (g)	17.19 ± 0.61	18.53 ± 0.49
Consumo de água (mL)	45.18 ± 2.32	35.54 ± 0.99**

Os resultados estão expressos como média ±d.(n=3). Foi utilizado o teste de hipótese Teste T de Student, A ausência de asteriscos demonstra que os dados não foram significativos ($p>0,05$), $p<0,05^*$, $p<.01^{**}$ e $p<.001^{***}$, significativamente diferentes ao grupo controle.

Não foram observadas mudanças significativas no peso corporal dos camundongos tratados com o CCSb quando comparados ao grupo controle, esse resultado já era esperado, uma vez que o consumo de ração entre os grupos também não apresentou diferença significativa.

5.5.3.3 Análise macroscópica e peso dos órgãos

É possível por meio do teste de toxicidade aguda avaliar alterações macroscópica nos órgãos como alterações morfológicas e de coloração, dessa forma é possível coletar informações preliminares sobre o modo de ação tóxica e possíveis alvos da substância. Os órgãos avaliados nesse teste foram o cérebro, pulmão, coração, rins, baço, fígado, ovários e estômago. Quanto a análise macroscópica dos órgãos avaliados, apenas os ovários apresentaram diferença significativa no peso, isso pode ter ocorrido devido a variações relacionadas ao período de ovulação. Esse dado por si só não configura toxicidade, é necessário a realização de análises mais aprofundadas, como o estudo histológico. Nenhum órgão apresentou alterações macroscópicas morfológicas ou de coloração (Tabela 9).

Tabela 10- Efeito da administração oral do CCSb sobre o peso relativo dos órgãos no ensaio de toxicidade aguda

Peso relativo dos órgãos (g/100g)	Salina	Chá 2.000mg/kg
Cérebro	1.10 ± 0.05	1.21 ± 0.07
Pulmão	0.22 ± 0.03	0.26 ± 0.02
Coração	0.44 ± 0.02	0.42 ± 0.02
Rins	1.37 ± 0.04	1.51 ± 0.09
Baço	0.60 ± 0.05	0.56 ± 0.07
Fígado	5.52 ± 0.20	5.89 ± 0.22
Ovário	0.25 ± 0.024	0.35 ± 0.12**
Estômago	0.84 ± 0.038	0.89 ± 0.04

Os resultados estão expressos como média ±d.(n=3). Foi utilizado o teste de hipótese Teste T de Student, A ausência de asteriscos demonstra que os dados não foram significativos ($p > 0,05$), $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$ e $p < 0,001^{***}$, significativamente diferentes ao grupo controle.

5.5.3.4 Determinação dos parâmetros hematológicos

Como observado na Tabela 11, os animais não apresentaram diferenças significativas nos parâmetros hematológicos avaliados entre o grupo tratado com o *CCSb* e o grupo controle.

Tabela 11- Determinação dos parâmetros hematológicos de camundongos Swis fêmeas tratadas com *CCSb* 2000mg/kg

Parâmetros	Grupo Salina	Chá 2000mg/kg
Hemácias ($\square \mu\text{l}$)	522.3 \pm 2.84	525.7 \pm 2.84
Hemoglobina (g \square dl)	15.17 \pm 0.97	14.83 \pm 0.39
Hematócrito (%)	45.67 \pm 2.96	44.67 \pm 1.20
VCM (fl)	92.60 \pm 0.61	92.27 \pm 0.14
HCM (pg)	29.67 \pm 0.33	30.07 \pm 0.06
CHCM (g \square dl)	0.60 \pm 0.05	0.56 \pm 0.06
Leucócitos totais ($\square \mu\text{l}$)	6.26 \pm 0.26	5.40 \pm 0.60
Eosinófilos ($\square \mu\text{l}$)	75.50 \pm 3.12	72.67 \pm 2.72
Leucotrienos ($\square \mu\text{l}$)	1.64 \pm 0.09	1.36 \pm 0.15
Monócitos ($\square \mu\text{l}$)	30.33 \pm 0.88	31.33 \pm 0.88
Plaquetas ($\square \mu\text{l}$)	218.3 \pm 1.45	221.7 \pm 2.33

Os resultados estão expressos como média \pm d.(n=3). Foi utilizado o teste de hipótese Teste T de Student. A ausência de asteriscos demonstra que os dados não foram significativos ($p > 0,05$), $p < .05^*$, $p < .01^{**}$ e $p < .001^{***}$, significativamente diferentes ao grupo controle.

A ausência de óbitos, de alterações comportamentais, fisiológicas, consumo de água e ração e no peso dos órgãos, sugere que o *CCSb* apresenta baixa toxicidade aguda.

Chaves et al. (2015) utilizando esse mesmo ensaio para o extrato etanólico das folhas de *S. brasiliensis* também não observou mortes, alterações comportamentais, nem no consumo de água e ração, indicando que a planta apresenta baixa toxicidade, corroborando com os resultados aqui encontrados.

5.5.4 Edema de pata induzido por zimosan

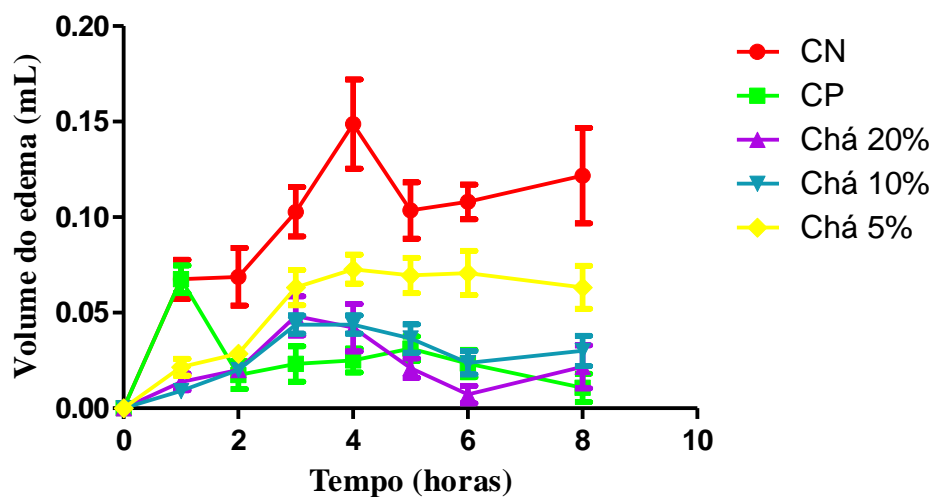
O edema consiste em uma das características principais da inflamação aguda e ocorre devido ao aumento da permeabilidade vascular, que gera o extravasamento transvascular de

exsudato, um fluido rico em proteínas de alto peso molecular. Nesse processo estão envolvidos vários mediadores químicos, como a histamina, bradicinina, leucotrieno, componentes do complemento, substância P e fator ativador de plaquetas (LINS, 2016).

No modelo de edema de pata induzido com zimosan, foi verificado que as três concentrações (20, 10 e 5 %) do CCSb reduziram significativamente o edema quando comparadas com o controle negativo. Na primeira hora, todas as concentrações (5, 10 e 20%) apresentaram redução significativa, de 68,15%, 86,66% e 75,51%, respectivamente, na formação do edema na pata. Foi observado, inclusive, que as doses de 10 e 20% apresentaram poder antiedematogênico superior ao do controle positivo que foi de 58,07%. Nessa etapa inicial do processo inflamatório é observada maior produção de mediadores químicos como prostaglandinas (SANTOS, 2015).

As doses 5, 10 e 20% mantiveram o poder antiedematogênico nas horas seguintes, com destaque para as doses 10 e 20% que apresentaram significância estatística semelhantes ao controle positivo em quase todas as horas observadas (1, 3, 4, 5, 6 e 8 horas). A dose de 5% apesar de ter apresentado significância estatística menor na capacidade de inibir a formação do edema, manteve-se ativa até a última leitura, realizada 8 horas após a indução com o agente flogístico (Figura 12).

Figura 12- Efeito da administração oral do CCSb (20, 10 e 5%) no edema de pata, induzido por zimosan a 2%, em camundongos *Swiss*



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %).

Observa-se que o chá em todas as doses apresenta um efeito tardio, demonstrando a capacidade de reduzir a inflamação aguda tanto na fase inicial, que ocorre em torno de 1 hora (fase rápida), em que estão envolvidos mediadores químicos como a histamina, serotonina e bradicinina, quanto numa segunda fase, que ocorre mais tardiamente, entre uma e seis horas após a indução da inflamação, em que mediadores como as cininas e prostaglandinas são liberados após duas e três horas, respectivamente, as últimas resultando da ativação da ciclooxigenase 2 (COX-2) (LIMA et al, 2013; SANTOS et al, 2015). Estes dados demonstram que o chá da casca da braúna pode ser um promissor agente anti-inflamatório, podendo estar agindo nas vias de diferentes mediadores inflamatórios.

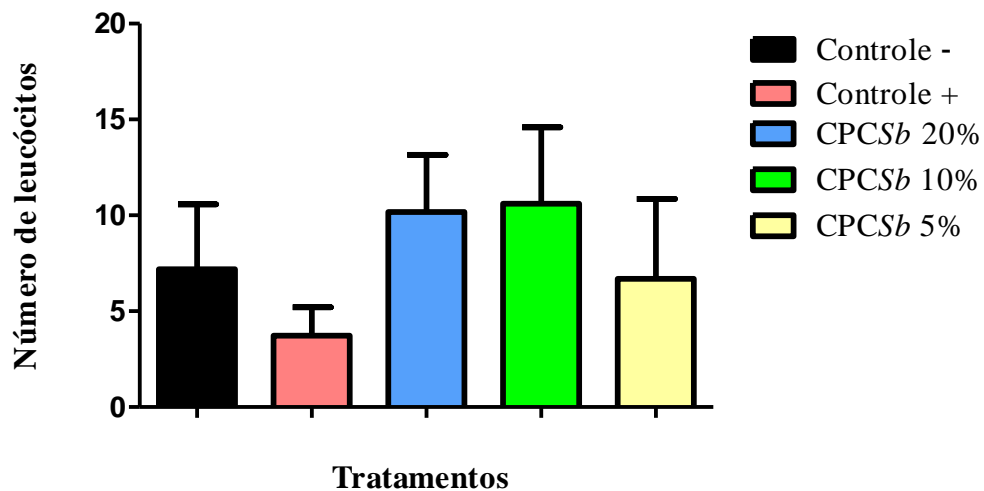
Com isso, possivelmente o perfil anti-inflamatório observado no chá da braúna está relacionado com a ativação dessa cascata, inibindo a liberação desses mediadores e consequentemente os efeitos vasculares da inflamação, que ocasionam a dilatação das pequenas arteríolas e o extravasamento de proteínas para os tecidos, gerando a formação do edema.

5.5.1 Bolsão de ar induzido por carragenina

O modelo de bolsa de ar induzida por carragenina apesar de não ser um modelo experimental de artrite, é sugestivo para este tipo de inflamação, uma vez que a carragenina quando administrada na cavidade da bolsa de ar em camundongo, promove uma resposta inflamatória caracterizada por um aumento significativo nas concentrações de exsudato e proliferação celular semelhante à observada no líquido sinovial (OLIVEIRA et al, 2018), dessa forma a bolsa de ar previamente inoculada no dorso do animal forma uma membrana semelhante à membrana sinovial inflamada dos pacientes com a doença (SANTOS et al, 2018; APOLINÁRIO, 2016).

Não foi possível observar resultados significativos do *CCSb* nesse modelo de inflamação, mesmo na maior concentração (20%) testada, como demonstrado na Figura 14.

Figura 13- Efeito da administração oral do CCSb em diferentes concentrações (20, 10 e 5%) na contagem de leucócitos no exsudato, induzido por carragenina, no modelo da bolsa de ar em camundongos.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %).

O teste experimental de bolsão de ar é um dos modelos indicados para avaliação do processo inflamatório em fase aguda bastante utilizado como *screening* para potenciais candidatos a fármacos no tratamento da artrite. A carragenina administrada na bolsa de ar induz uma rápida resposta inflamatória com elevados níveis de prostaglandinas e leucotrienos no exsudato produzidos pela transmigração de células para dentro da cavidade.

Santos et al (2018) utilizando o extrato hidroalcolólico da casca de *S. brasiliensis*, na dose de 100 mg/kg obteve uma supressão de 46% no número de leucócitos totais no bolsão de ar quando comparado ao grupo controle, indicando um potencial anti-inflamatório desse extrato. Essa diferenciação dos resultados pode estar relacionada a dose utilizada ou ao meio extrativo utilizado, uma vez que o etanol possui maior poder extrativo do que a água e consequentemente maior extração dos metabólitos secundários responsáveis pela inibição da migração leucocitária.

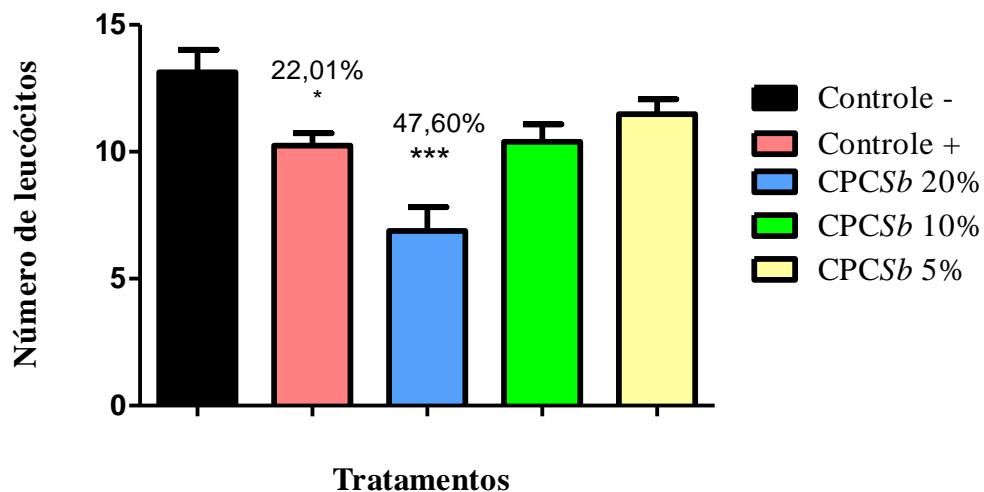
5.5.2 Peritonite induzido por zimosan

A peritonite induzida por zimosan em camundongos é caracterizada e largamente utilizada como modelo de inflamação. O zimosan quando aplicado na cavidade peritoneal promove a vasodilatação dos capilares na membrana peritoneal que leva a um aumento da

permeabilidade vascular, causando o aumento do extravasamento vascular de proteínas para o interstício em forma de exsudato inflamatório, sendo esse um dos sinais iniciais da inflamação. Desencadeia também o influxo de leucócitos e a liberação de mediadores inflamatórios (ROSSI et al, 2014). Todos esses mecanismos auxiliam na destruição de patógenos e cicatrização dos tecidos, porém a permanência destas no local inflamado ocasionam danos teciduais gerando doenças inflamatórias (PEREIRA, 2013).

O *CCSb* apenas na concentração de 20% mostrou ser capaz de reduzir a migração leucocitária, quatro horas após a administração do agente flogístico, em 47,60% (Figura 13).

Figura 14- Efeito antiquimiotático do *CCSb* sobre o número de leucócitos totais no exsudato da cavidade intraperitoneal de camundongos *Swiss* após peritonite induzida por zimosan a 2%.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9%), * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$

A migração de leucócitos para a cavidade peritoneal no momento da inflamação pode ser reduzida por substâncias anti-inflamatórias seguindo dois mecanismos: impedindo a migração, a síntese e/ou liberação de mediadores quimiotáticos ou inibindo a expressão de moléculas de adesão, já que é necessária a presença de substâncias quimiotáticas que facilitem sua migração para o local da injúria para que possam promover seus efeitos com o objetivo de destruir o agente agressor (APOLINÁRIO, 2016).

O resultado apresentado de *CCSb* sugere que o mesmo possui substâncias capazes de impedir a migração leucocitária ou de atuarem inibindo os mediadores químicos responsáveis pelo processo inflamatório, confirmando com isso, a atividade observada no teste de edema de pata.

Os ensaios realizados corroboram com o saber popular, o chá da casca da braúna pode constituir uma alternativa eficaz, segura e acessível para o tratamento de diversas doenças inflamatórias. No entanto, vale ressaltar que o preparo correto do material vegetal, a obtenção de um pó fino (SB06), influenciou de forma bastante significativa na extração dos metabólitos secundários e conseqüentemente nos resultados apresentados nos modelos animais para inflamação. Dessa forma, é importante que exista uma padronização no preparo desse chá, a fim de conseguir todos os benefícios que ele pode oferecer.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As metodologias utilizadas permitiram a realização da caracterização parcial da droga vegetal, bem como a análise do controle de qualidade. Os testes de dessecação, cinzas totais e cinzas resistentes a ácido, demonstram que a coleta, secagem, preparo dos pós e armazenamento foram realizadas de forma correta, garantindo a qualidade do produto.

Na TG foi possível observar dois eventos iniciais que são atribuídos possivelmente à volatilização de compostos, principalmente de água. A baixa perda de água observada nessas etapas iniciais indicam uma baixa umidade da droga vegetal, corroborando com os valores que foram encontrados na perda por dessecação. Na DTA foi observado inicialmente dois eventos endotérmicos, esses eventos correspondem a uma etapa de decomposição térmica, sugestiva para a desidratação, corroborando com o que foi observado na termogravimetria.

Utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência, foi possível determinar a presença do marcador químico ácido gálico, com tempo de retenção em torno de 8,5 minutos para todas as partículas (SB01, SB02, SB03, SB04, SB05 e SB06) da DV*Sb*.

O CCS*b* demonstrou capacidade de eliminar o radical DPPH, IC₅₀ e EC₅₀ semelhante ao padrão ácido gálico, demonstrando boa capacidade em sequestrar espécies reativas, corroborando o que vem sendo descrito na literatura.

A metatrigagem fitoquímica demonstrou que o tamanho da partícula da droga vegetal influencia diretamente na extração dos metabólitos secundários. Sendo assim, a partícula de menor tamanho (SB06) foi a que conseguiu extrair a maior quantidade de polifenóis totais, taninos totais e flavonoides totais.

A utilização do CCS*b* mostrou-se bastante promissor para o tratamento da inflamação, uma vez que no ensaio de edema de pata induzido por zimosan a 2%, foi observado que o CCS*b* nas doses de 20 e 10% apresentou a capacidade de reduzir a inflamação aguda tanto na fase inicial, quanto numa segunda fase, que ocorre mais tardiamente, agindo possivelmente em diferentes mediadores inflamatórios. No ensaio de peritonite induzida por zimosan, o CCS*b* apenas na concentração de 20% foi capaz de reduzir a migração leucocitária para a cavidade peritoneal indicando a presença de substâncias com atividade anti-inflamatórias, capazes de impedir a migração, a síntese e/ou liberação de mediadores quimiotáticos para o local da injúria. Já no modelo de inflamação bolsão de ar, o CCS*b* não apresentou resultado significativo em nenhuma das doses testadas (20, 10 e 5%). Isso pode ter ocorrido porque a

dose testada não foi suficiente para reduzir ou inibir a resposta inflamatória causada pelo agente flogístico.


Além da promissora capacidade anti-inflamatória, o *CCSb* mostrou-se seguro, uma vez que os ensaios de citotoxicidade em eritrócitos humanos apresentou baixo poder hemolisante e o ensaio de toxicidade aguda não causou morte ou alterações de comportamento, consumo de água, ração e peso dos órgãos.

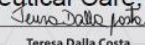
ANEXOS

- Apresentação do trabalho intitulado de “Physicochemical and Phytochemical Characterization of Bark Powder of *Schinopsis brasiliensis*”, no IV Congress of the Brazilian Association of Pharmaceutical Sciences.

CERTIFICATE

We certify that the work PHYSICOCHEMICAL AND PHYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF BARK POWDER OF SCHINOPSIS BRASILIENSIS, authorship of ÍTALA SAMARA DA SILVA DIAS , MARIA CRISLÂNDIA FREIRE DE ALMEIDA, RAIFF DOS SANTOS DANTAS, PABLO RAYFF SILVA, SIMONE ÂNGELA SOARES SILVA, NATÁLIA LIRA MESSIAS, NAARA FELIPE DA FONSECA, JHONATTA ALEXANDRE BRITO DIAS, ANA CLAUDIA DANTAS DE MEDEIROS, DILMA MARIA DE BRITO TROVÃO, RENALY IVYNA DE ARAÚJO RÊGO, VANDA LÚCIA DOS SANTOS, was presented as POSTER PRESENTION at the IV Congress of the Brazilian Association of Pharmaceutical Sciences - Biological Drugs: From Technology to Pharmaceutical Care, held in São Paulo (SP), Brazil, from September 6 to 8, 2018.


Maria José Soares Mendes Giannini
Presidente Congress


Teresa Dalla Costa
Presidente ABCF



ABCF - 2018
BRAZILIAN ASSOCIATION OF PHARMACEUTICAL SCIENCES
Biological Drugs: from Technologies to Pharmaceutical Care
September 06 to 08, 2018
CENTRO FECOMÉRCIO DE EVENTOS, SÃO PAULO, SP

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.
- ALVES, F.M; LEHN, C.R; DAMASCENO-JÚNIOR, G.A; SARTORI, A.L.B; POTT, A.; POTT, V.J; BORTOLOTTI, I.M; ISHII, I.H; SALIS, S.M; URBANETZ, C.; BUENO, M.L; SCIAMARELLI, A. Coleções Botânicas do estado de Mato Grosso do Sul: situação atual e perspectivas. **Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Museu de Ciências Naturais**, Porto Alegre, v. **73**, 2018.
- ALBUQUERQUE, U.P; MEDEIROS, P.M; ALMEIDA, A.L.S.; MONTEIRO, J.M.; LINS-NETO, E.M.F.; MELO, J.G.; SANTOS, J.P. Medicinal Plants of the Caatinga (semi-arid) Vegetation of NE Brazil: A quantitative Approach. **Journal OF Ethnopharmacology**, v. 114, p. 325-354, 2007.
- AQUINO, P.; FIGUEREDO F.G.; PEREIRA, N.; NASCIMENTO, E.; MARTIN, A.; VERAS, H. Avaliação da atividade anti-inflamatória Tópica e antibacteriana do extrato metanólico das folhas de *Sideroxylon obtusifolium*. **Acta biológica Colombiana**. v. 21, n.1, p. 131-140, 2016.
- BHATTACHARYA, S. **Reactive oxygen species and cellular defense system. In: Free Radicals in Human Health and Disease**. Springer India, 2015. p. 17-29.
- BIROSOVÁ, L.; MIKULÁSOVÁ, M.; VAVERKOVÁ, S. Antimutagenic effect of phenolic acids. **Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc. Czech. Repub.**, v.149, p.489-91, 2005.
- BRASIL. Decreto Presidencial nº 5813, de 22 de junho de 2006. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2006a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 971, de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**, n.84, p. 19, seção 1, 2006b.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portal da Saúde: Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. 2009. Disponível em: Acesso em: fev. 2018.
- BRASIL. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária. In RDC n.º10 de 10 de março de 2010. Brasília: Ministério da Saúde e Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2010.
- BUCKLEY, C.D.; GILROY, D.W.; SERHAN, C.N. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation. **Immunity**, v. 40, n. 3, p. 315-327, 2014.

BUSHMAN, B.S.; PHILLIPS, B.; ISBELL, T.; CRANE, J.M.; KNAPP, S.J. Chemical Composition of Caneberry (*Rubus spp.*) seeds and oil and their antioxidant potential. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 7982-7987, 2004.

CASTRO, R. A. **Avaliação do potencial analgésico e anti-inflamatório do composto pirazólico 1,5-difenil-3-hidrazinopirazol (a)**. 2011. 93 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

CARNEIRO, F. M; SILVA, M.F.P; BORGES, L.L; ALBERNAZ, L.C; COSTA5, J.D.P. Trends of studies for medicinal plants in Brazil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, Iporá, v.3, n. 2, p. 44-75, 2014.

CARVALHO, A.C.B; SILVEIRA, D. Drogas vegetais: Uma antiga forma de utilização de plantas medicinais. *BRASÍLIA MÉDICA*, n. 48, v.2, p. 219-237, 2010.

CARVALHO-NETO, F.G; SILVA, J.R; SANTOS, N.; ROHDE, C.; GARCIA, A.C.L.; MONTES, M. A. The heterogeneity of Caatinga biome: an overview of the bat fauna. **MAMMALIA BIOLOGY**, v. 3, n. 81, 2017.

CARDOSO, M.P.; LIMA, L.S.; DAVID, J. P.; MOREIRA, B. O.; SANTOS, E.O.; DAVID, J.M.; ALVES, C.Q. A New Biflavonoid from *Schinopsis brasiliensis* (Anacardiaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 26, n. 7, p. 1527-1531, 2015.

CHAVES, T.P.; SANTANA, C.P.; VÉRAS, G.; BRANDÃO, D.O.; FELISMINO, D.C.; MEDEIROS, A.C.D.; TROVÃO, D.M.M.. Seasonal variation in the production of secondary metabolites and antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine. **African Journal of Biotechnology**, v.12, n. 8, p. 847-853, 2013.

CHAVES, T.P.; DANTAS, I.C.; FELISMINO; D.C.; VIEIRA, K.V.M.; CLEMENTINO; E.L.C.; COSTA, L.S. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS FOLHAS DE *Schinopsis brasiliensis* Engler. **Revista de Biologia e Farmaca-Biofar**, v. 5, n. 2, 2011.

CLEMES, S.M.; BEIRITH, A.; ZENI, A.L.B. Avaliação de polifenóis e capacidade antioxidante de seis espécies da Mata Atlântica. **Scientia Plena**, v. 11, n. 5, 2015.

CRUVINEL, W. M.; MESQUITA-JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário – Parte I: Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, Rio de Janeiro, v. 50, n. 4, p. 434-461, 2010.

COUTO, R.O.; VALGAS, A.B.; BARA, M.T.F.; PAULA, J.R. Physico-chemical characterization of *Eugenia dysenterica* DC. (MYRTACEAE) leaves power. **Revista Eletronica de Farmacia**, v. 4, n.3, p. 59 - 69, 2009.

CORREIA, S.J.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1287-1300, 2006.

CORREIA, L.P. Obtenção e Padronização Química e Biológica de Pós de Plantas Medicinais de Diferentes Tamanhos de Partículas, Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

CORREIA, L.P, PROCOPIO, J.V.V, SANTANA, C.P, SANTOS, A.F.O, CAVALCANTE, H.M.M, MECÊDO, R.O. Characterization of herbal medicine with different particle sizes using Pyrolysis GC/MS, SEM and thermal techniques. **J Therm Anal Calorim**, v. 98, p. 111:1691, 2013.

CORREIA LP, PROCÓPIO JVV, SANTANA CP, PINTO MF, MOURA EA, SANTOS AFO, MACÊDO RO. Herbal medicine physical quality evaluation by thermal analysis using adapted Ozawa method. **J Therm Anal Calorim**, v. 14, p. 122-207, 2015.

DEJEAN C, RICHARD D. Mechanisms of action of glucocorticoids. **Revue de Medicine Interne**, v. 34, n. 5, p. 264-268, 2013.

ERRANTE, P. R.; MENEZES-RODRIGUES, F. S.; TAVARES, J. G. P.; REIS, M. C. M.; ICIMOTO, M. Y.; FERRAZ, R. R. N.; CARICATI-NETO, A. Mecanismos de ação e resistência ao uso de glicocorticóides. **Revista de Pesquisa e Inovação Farmacêutica**, São Paulo, v. 6, n. 2, p. 01-11, 2014.

ENDERLE, D.C.; PAVAN, E.O.; COSTTETI, G.A.; HICKMANN, S.; CARVALHO, A.C.G.; GHELLER, A.C.G.V. Controle de Qualidade do Fitoterápico (*Passiflora incarnata* L.). **FACIDER Revista Científica**, 2018.

FERNANDES, F.H.A.; BATISTA, R.S.A.; MEDEIROS, F.D.; SANTOS, F.; MEDEIROS, A.C.D. Development of a rapid and simple HPLC-UV method for determination of gallic acid in *Schinopsis brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 208–211, 2015.

FERNANDES, F.H.A.; SANTANA, C.P.; SANTOS, R.L.; CORREIA, L.P.; CONCEIÇÃO, M.M.; MACÊDO, R.O.; MEDEIROS, A.C.D. Thermal characterization of dried extract of medicinal plant by DSC and analytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2013. DOI: 10.1007/s10973-012-2807-3

GIL, M.I.; TOMAS-BARBERÁN, F.A.; HESS-PIERCE, B.; HOLCROFT, D.M.; KADER, A.A. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. **Journal of Agricultura and Food Chemistry**, v. 48, p. 4589-4589, 2000.

GIFTSON, J. S.; JAYANTHI, S.; NALINI, N. Chemopreventive efficacy of gallic acid, an antioxidant and anticarcinogenic polyphenol, against 1,2-dimethyl hydrazine induced rat colon carcinogenesis. **Invest. New. Drugs**, v. 28, p.251-59, 2009.

GOES, M. C.; JACOBS, J. W.; BIJLSMA, J. W. The value of glucocorticoid co-therapy in diferente rheumatic diseases–positive and adverse effects. **Arthritis Research Therapy**, v.16, n. 2, 2014.

GOODMAN, S. L.; GILMAN, G. A. **Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman e Gilman**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH, 2015.

GONZAGA, T. W. C.; MATA, M. E. R. M. C.; SILVA, H.; DUARTE, M. E. M. Crioconservação de sementes de aroeira (*astronium urundeuva* engl.) e baraúna (*schinopsis brasiliensis* engl.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 5, n. 2, p. 145-154, 2003.

HARRIS, E.; TIGANESCU, A.; TUBEUF, S.; MACKIE, S. L. The Prediction and Monitoring of Toxicity Associated with Long-Term Systemic Glucocorticoid Therapy. **Current Rheumatology Reports**, v. 17, n. 6, p. 513 – 522, 2015.

HILONGAA, S.; OTIENOA, J.N.; GHORBANIB, A.; PEREUSA, D.; KOCYANC, A.; BOERBD, H. Trade of wild-harvested medicinal plant species in local markets of Tanzania and its implications for conservation. **South African Journal of Botany**, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.08.012>

JÚNIOR, W.S.F.; LADIO, A.H.; ALBUQUERQUE, U.P. Resilience and adaptation in the use of medicinal plants with suspected anti-inflammatory activity in the Brazilian Northeast. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138, p. 238– 252, 2011.

JOVITO, V. C. **Atividade anti-Candida e análise da citotoxicidade do extrato da folha da *Schinopsis brasiliensis* Engl.** 2016. 47f. Dissertação (Mestrado em odontologia) –Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

JONES, D.P.; SIES, H. The redox code. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 23, n. 9, p. 734-746, 2015.

KANG, M. S.; OH, J. S.; KANG, I. C.; HONG, S. J.; CHOI, C. H. Inhibitory effect of methyl gallate and gallic acid on oral bacteria. *J. Microbiol.*, v.46, p.744-50, 2008.

KHARCHOUFA, L.; MERROUNI, I.A.; YAMANI, A.; ELACHOURI, M. Profile on medicinal plants used by the people of North Eastern Morocco: Toxicity Concerns. **Toxican**, 2018. DOI: 10.1016/j.toxicon.2018.09.003

KALIORA, A.C.; KOGIANNOU, D.A.A.; KEFALAS, P.; PAPASSIDERI, I.S.; KALOGEROPOULOS, N.; Phenolic profiles and antioxidant and anticarcinogenic activities of Greek herbal infusions; balancing delight and chemoprevention?. **Food Chemistry**, V. 142, P. 233–241, 2014.

KIM, S. H.; JUN, C. D.; SUK, K.; CHOI, B. J.; LIM, H.; PARK, S.; LEE, S. H.; SHIN, H. Y.; KIM, D. K.; SHINK, T. Y. Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells. *Toxicol. Sci.*, v.91, p.123-31, 2006.

LOPES, F. C. M.; ROCHA, A.; PIRRACO, A.; REGASINI, L. O.; SIQUEIRA, J. R.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; CARLOS, I. Z.; SOARES, R. Alchornea glandulosa ethyl acetate fraction exhibits antiangiogenic activity: preliminary findings from in vitro assays using human umbilical vein endothelial cells. *J. Med. Food*, v. 14, n. 10, p. 1244-53, 2011.

LOPEZ, L.; VILLALBA, R. An assessment of *Schinopsis brasiliensis* Engler (Anacardiaceae) for dendroclimatological applications in the tropical Cerrado and Chaco forests, Bolivia. **Dendrochronologia**, v. 40, p. 85–92, 2016

LUZ, L.R.; PORTO, D.D.; CASTRO, C.B.; SILVA, M.F.S.; FILHO, E.G.A.; CANUTO, K.M.; BRITO, E.S.; BECKER, H.; PESSOA, C.O.; ZOCOLO, G.J. Metabolomic profile of *Schinopsis brasiliensis* via UPLC-QTOFMS for identification of biomarkers and evaluation of its cytotoxic potential. **Journal of Chromatography B**, 2018.
Doi:10.1016/j.jchromb.2018.09.019

MARQUES, G.S; LEÃO, W.F; LYRA, M.A.A; PEIXOTO, M.S; MONTEIRO, R.P.M; ROLIM, L.A; XAVIER, H.S; ROLIM NETO, P.J; DOARES, L.A.L; Comparative evaluation of UV/VIS and HPLC analytical methodologies applied for quantification of flavonoids from leaves of *Bauhinia forficata*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n.1, p.51-57, 2013.

MARMITT, D.J.; REMPEL, C.; GOETTERT, M.I.; SILVA, A.C. Medicinal Plants RENISUS With Potential Anti-inflammatory: Systematic Review In Three Scientific Databases. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 2, p. 73-159, 2015.

MARTINEZ, R.M.; GARCÍA, R.V.; RODRÍGUEZ, R.V; MALDONADO, S.H.G.; PINAD, G.L.; MARTINEZ, A. C.; OLVERA, L.G.; LÓPEZ, R.M.; PACHECO, I.T.; PÉREZ, C.P.; HERNÁNDEZ, G.H.; ORTEGA, F.V.; CHAVIRA, M.G.; GONZALEZA, R.G.G. Antimutagenic and antioxidant activities of quebracho phenolics (*Schinopsis balansae*) recovered from tannery wastewaters. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 434-439, 2009.

MENDES, R. T.; STANCZYK, C. P.; SORDI, R.; OTUKI, M. F.; SANTOS, F. A.; FERNANDES, D. Inibição seletiva da ciclo-oxigenase-2: riscos e benefícios. **Revista Brasileira Reumatologia**. v. 52, n. 5, p. 767-782. 2012.

MOTA, F. V. B. **Estudo das atividades anti-inflamatória e antinociceptiva de novos derivados isoxazolinaacilhidrazonas**. 2013. 98 f. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

MULLEN, W.; MCGINN, J.; LEAN, M.E.J.; MACLEAN, M.R.; CARDNER, P.; DUTHIE, G.G.; CROZIER, A. Ellagitannins, flavonoids and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5191-5196, 2002.

NARAYANAN, B.A.; GEOFFROY, O.; WILLINGHAM, M.C.; RE, G.G.; NIXON, D.W. Expression and its possible role in G1 arrest and apoptosis in ellagic acid treated cancer cells. **Cancer Letters**, v. 136, p. 215-221, 1999.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. 2012. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, v.75, p.311-335.

OLIVEIRA, M. C. P.; OLIVEIRA, G. J. Superação da dormência de sementes de *Schinopsis brasiliensis*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 1, p. 251-254, 2008.

- PAIXÃO, J.A; SANTOS, U.S; CONCEIÇÃO, R.S; NETO, J.F.A; NETO, A.F.S. Levantamento Bibliográfico de Plantas Medicinais Comercializadas em feiras da Bahia e suas Interações Medicamentosas. **Electronic Journal of Pharmacy**, vol. 13, n. 2, p. 71-81, 2016.
- PEREIRA, C.K.S. Antinociceptiva e anti-inflamatória de *Herissantia crispa* (L.) Brizicky em camundongos. Tese (Pós-graduação em produtos naturais e sintéticos bioativos, Farmacologia) UFPB/CCS, João Pessoa-PB. 122p. 2013.
- PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; NOHYNEK, L.; HARTMANN-SCHMIDLIN, S.;KAHKONEN, M.; HEINONEN, M.; MAATTA-RIIHINEN, K.; OKSMAN-RANGKADILOK, K.M. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 18, p. 427-442, 2007.
- RAZA, M. M.; AL-SHABANAH, O. A.; EL-HADIYAH, T. M.; AL-MAJED, A. A. Effect of prolonged vigabatrin treatment of hematological and biochemical parameters in plasm, liver and kidney of Swis albino mice. **Journal of Scientia Pharmaceutica**, v. 70, p. 135-145, 2002.
- SAIGG, N. L.; SILVA, M. C. Efeitos da utilização do chá verde na saúde humana. **Ma Universitas: Ciências da Saúde**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 69-89, 2009.
- SANTOS, C.C.S.; GUILHON, C.C.; MORENO, D.S.A.; ALVIANO, C.S.; ESTEVAM, C.S.; BLANK, A.F.; FERNANDES, P.D. Anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidante properties of *Schinopsis brasiliensis* bark. **Jornal of Ethnopharmacology**, v. 213, p. 176-182, 2018.
- SANTOS, C.C.S.; MASULLO, M.; CERULLI, A.; MARI, A.; ESTEVAM, C.S.; PIZZA, C.; PIACENTE, S. Isolation of antioxidant phenolics from *Schinopsis brasiliensis* based on a preliminary LC-MS profiling. **Phytochemistry**, v.140, 2017.
- SANLIERA, N.; GOKCENB, B.B.; ALTUĞC, M. Tea consumption and disease correlations. **Trends in Food Science & Technology**, v. 78, p. 95–106, 2018.
- SARAIVA, A.M.; CASTRO, R.H.A; CORDEIRO, R.P.; SOBRINHO, T.J.S.P.; CASTRO, V.T.N.A.; AMORIM, E.L.C.; XAVIER, H.S.; PISCIOTTANO, M.N.C. In vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 14, p. 1724-1731, 2011.
- SCHULZE-KAYSERS, N.; FEUERERESEIN, M.M.; SCHIEBER, A. Phenolic compounds in edible species of the Anacardiaceae family – a review. **RCS Advances**, v. 89, n. 5, p. 73301-73314, 2015.
- SERHAN, C.N. Treating inflammation and infection in the 21st century: new hints from decoding resolution mediators and mechanisms. **The FASEB Journal**, v. 31, n.4, p.1273-1288, 2017.
- SILVA, M. S.P.; BRANDAO, D.O.; CHAVES, T.P.; FILHO, A.L.N.F.; COSTA, E.M.B.; SANTOS, V.L.; MEDEIROS, A.C.D. Study Bioprospecting of Medicinal Plant Extracts of

the Semi-arid Northeast: Contribution to the Control of Oral Microorganisms. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2012, doi:10.1155/2012/681207

SILVA, K.M.A.; CHAVES, T. P.; SANTOS, R.L.; BRANDÃO, D.O.; FERNANDES, F.H.A.; JÚNIOR, F.J.L.R.; SANTOS, V.L.; FELISMINO, D.C.; MEDEIROS, A.C.D. Modulación de la resistencia a la eritromicina en *Staphylococcus aureus* por extractos etanólicos de *Ximenia americana* L y *Schinopsis brasiliensis* Engl. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v.14, n. 2, p. 92 – 98, 2015.

SILVA-JÚNIOR, J.O.C. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo. São Paulo, p.127, 2006.

SOUZA, P.H.S. Potencial de extratos da *Schinopsis brasiliensis* ENGL. Para desenvolvimento de produtos odontológicos. Dissertação, Programa de Pós graduação em odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, 2015.

STENKEN, J. A.; POSCHENRIEDER, A. J. Bioanalytical chemistry of cytokines--a review. **Analytica chimica acta**, v. 853, p. 95–115, 2015.

SILVELLO, C. L.C. O uso de plantas medicinais e de fitoterápicos no SUS: uma revisão bibliográfica. [Monografia], p. 8-12, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

XIA, E.H.; ZHANG, H.H.; SHENG, J.; LI, K.; ZHANG, Q.J.; KIM, C.; ZHANG, Y.; LIU, Y.; ZHU, T.; LI, W.; HUANG, H.; TONG, Y.; NAN, H.; SHI, C.; SHI, C.; JIANG, J.J.; MAO, S.Y.; JIAO, J.Y.; ZHANG, D.; ZHAO, Y.; ZHAO, Y.J.; ZHANG, L.P.; LIU, Y.L.; LIU, B.Y.; YU, Y.; SHAO, S.F.; NI, D.J.; EICHLER, E. E.; GAO, L.Z. The Tea Tree Genome Provides Insights into Tea Flavor and Independent Evolution of Caffeine Biosynthesis. **Molecular Plant**, v. 10, p. 866–877, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cuidados de Saúde Primários: Agora mais do que nunca. Geneva, 2008. 156p. Disponível em: Acessado em: fev. 2018.

WYK, A.S.V.; PRINSLOO, G. Medicinal plant harvesting, sustainability and cultivation in South Africa. **Biological Conservation**, v. 227, p. 335-242, 2018.

ZHANG, X.; CAO, J.; ZHONG, L. Hydroxytyrosol inhibits pro-inflammatory cytokines, iNOS, and COX-2 expression in human monocytic cells Naunyn-Schmied. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 379, p. 581–586, 2009.