

REVISTA

Fitos[®]

Volume 15 - Número 1
Janeiro - Março 2021

e-ISSN: 2446-4775 | ISSN 1808-9569

Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Medicamentos da Biodiversidade

Foto de capa: *Smilanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob., yacon (Asteraceae)
Fonte: Wikipedia



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz





e-ISSN: 2446-4775 | ISSN: 1808-9569

Presidente da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ): Nísia Trindade Lima

Diretor do Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos): Jorge Souza Mendonça

Coordenador do Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde (CIBS): Glauco de Kruse Villas-Bôas

Editores

Editor de Pesquisa Maria Helena Durães Alves Monteiro, FIOCRUZ

Editor de Desenvolvimento e Inovação Glauco de Kruse Villas-Bôas, FIOCRUZ

Editores Associados

Emiliano de Oliveira Barreto, UFAL
Érica Speaglich, USP
Israel Felzenszwalb, UERJ
Ivanildes Vasconcelos Rodrigues, UFJF
João Paulo Viana Leite, UFV
Marcelo Neto Galvão, FIOCRUZ
Marcos Sorrentino, USP
Marisa Fernandes Mendes, UFRRJ
Paulo Rogério Lopes, UFPR
Rodolfo Santos Barboza, UFRJ

Editora Executiva Rosane de Albuquerque dos Santos Abreu, FIOCRUZ

Corpo Editorial:

Benjamin Gilbert, FIOCRUZ, Brasil
Cecília Veronica Nunez, INPA, Brasil
Edeltrudes de Oliveira Lima, UFPB, Brasil
Jan Carlo Delorenzi, Universidade Presbiteriana Mackenzie, Brasil
Jislaine de Fátima Guilhermino, FIOCRUZ, Brasil
João Marcos Hausmann Tavares, UFRJ, Brasil
José Maria Guzman Ferraz, UFSCar, Unicamp, Brasil
Katia Soares da Poça, INCA, Brasil
Maria Aparecida Medeiros Maciel, UFRN, Brasil
Maria Cecilia Tomassini Urti, Universidad de República Uruguay, Uruguai
Maria Cristina Marcucci Ribeiro, UNIBAN, Brasil
Nilson do Rosário Costa, FioCruz, Brasil
Norma Albarello, UERJ, Brasil
Sarita Albagli, IBIC, Brasil
Ulysses Paulino de Albuquerque, UFPE, Brasil

REVISTA FITOS

Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos

Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde - CIBS

Correspondência / Mail

Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde - CIBS

FIOCRUZ, Farmanguinhos, Complexo Tecnológico de Medicamentos - CTM

Av. Comandante Guarany, 447 Jacarepaguá - Rio de Janeiro, RJ, Brasil

CEP 22775-903

revistafitos@far.fiocruz.br

Tel.: +55 21 3348.5370 / +55 21 3348.5598

Informações para cadastro e submissão / Registration and submission information

www.revistafitos.far.fiocruz.br

Tel: +55 21 3348.5370 / +55 21 3348.5598

E-mail: revistafitos@far.fiocruz.br

Acesso online / Online access

Artigos disponíveis em formatos PDF e HTML no endereço eletrônico:

www.revistafitos.far.fiocruz.br

Classificação CAPES-Qualis

Qualis B4 – Interdisciplinar, Medicina Veterinária e Odontologia

Qualis B5 – Biotecnologia, Ciências Agrárias, Ciências Ambientais, Engenharia II e Saúde Coletiva

Qualis C – Biodiversidade, Ciências Biológicas II, Ciências Biológicas III, Farmácia e Química

Escritório Editorial - CIBS

Yolanda de Castro Arruda – Revisão textual e normativa

Eugênio Telles – Editoração digital

Apoio CIBS

Preciosa de Jesus Meireles de Oliveira – Assessoria de gestão

Denise Monteiro da Silva – Assessoria de comunicação e divulgação

Associada à ABEC

**Associação Brasileira
de Editores Científicos**



Ficha Catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

Revista Fitos: pesquisa, desenvolvimento e inovação em fitoterápicos. /
Fundação Oswaldo Cruz; Instituto de Tecnologia em Fármacos; Centro
de Inovação em Biodiversidade e Saúde. – v.1, n.1, (Jun. 2005), - .
Rio de Janeiro: CIBS, 2005 – v.: il.

Anual: 2007 e 2011

Interrompida: 2008, 2014

Quadrimestral: 2010, 2018

Trimestral: 2012, 2015, 2016, 2019, 2020

Semestral: 2005, 2006, 2009, 2013, 2017

ISSN 1808-9569

e-ISSN 2446-4775

1. Fitoterápicos. 2. Fitofármacos. 3. Medicamentos de origem vegetal.
4. Biodiversidade. 5. Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) I.
Fundação Oswaldo Cruz. II. Instituto de Tecnologia em Fármacos. Centro
de Inovação em Biodiversidade e Saúde.

CDD 615.32

Revista Fitos

e-ISSN 2446-4775 | ISSN 1808-9569

Volume 15, número 1

Janeiro - Março 2021

APRESENTAÇÃO

Yolanda de Castro Arruda 6-8

EDITORIAL

A importância dos periódicos científicos em tempos de *fake news* 9-10

Rosane de Albuquerque dos Santos Abreu, Eugênio Fernandes Telles, Yolanda de Castro Arruda.

ARTIGO DE PESQUISA

A preliminary study of the cytotoxicity of the protein extract of abajerú commercialized in markets 11-21

Pedrete, Thais de Almeida; Carmo, Julianderson de Oliveira dos Santos; Barreto, Emiliano de Oliveira; Moreira, Josino Costa.

Atividade antifúngica de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf frente à leveduras do gênero *Candida* sp. 22-31

Antifungal activity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf against yeasts of the genus *Candida* sp. Domingues, Sabrina de Alvarenga; Paiva, Luiz Francisley de.

Avaliação de diferentes métodos de extração e atividade antioxidante de compostos bioativos do resíduo madeireiro de maçaranduba (*Manilkara huberi* (Ducke) Standl.) 32-39

Evaluation of different extraction methods and antioxidant activity of bioactive compounds from the maçaranduba wood residue (*Manilkara huberi* (Ducke) Standl.)

Santos, Marcio Antônio Castanho dos; Viana, Alciene Ferreira da Silva; Silva, Bruno Alexandre da; Santos, Alessandra da Silva; Abreu, Alcicley da Silva; Moreira, Debora Kono Taketa.

Ethnobotany applied to the selection of medicinal plants for agroecological crops in rural communities in the Southern End of Bahia, Brazil 40-57

Neto Galvão, Marcelo; Villas Bôas, Glauco de Kruse; Machado, Marilza; Silva, Marcus Felipe Oliveira da; Boscolo, Odara Horta.

Fitoterapia na prática clínica odontológica: produtos de origem vegetal e fitoterápicos 58-77

Phytotherapy in Dentistry: plant products and phytotherapics

Monteiro, Maria Helena Duraes Alves; Fraga, Sandra Aparecida Padilha Magalhães.

Intoxicação por plantas no Estado do Pará, Brasil 78-83

Plant Poisoning in the State of Pará, Brazil

Santos, Bruno Fernando Barros dos; Souza, Lanna Zorah Farias de; Borges, Júlia Pereira Alexandre; Gadelha, Maria Apolonia da Costa; Pardal, Pedro Pereira de Oliveira.

Preparation of pellets containing a standardized *Artemisia annua* L. extract by extrusion-spheronization 84-92

Silva, Elviscley de Oliveira; Marreto, Ricardo Neves; Conceição, Edemilson Cardoso da; Bara, Maria Teresa Freitas.

Toxicidade oral aguda e avaliação dos efeitos pressóricos e renais causados pela oncocalyxona A 93-107

Acute oral toxicity and assessment of blood pressure and kidney effects caused by oncocalyxone A

Silva, Paula Letícia Braga e; Costa, Laura Lícia Marcos da; Nogueira Júnior, Francisco Assis; Jorge, Antônio Rafael Coelho; Pereira, Jeanine Moraes; Evangelista, Janaina Serra Azul Monteiro; Pessoa, Otília Deusdênia Loiola; Alves, Renata Sousa; Monteiro, Helena Serra Azul.

COMUNICAÇÃO BREVE

Atividade antimicrobiana das lactonas sesquiterpênicas da folha da yacon (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae) 108-114

Antimicrobial activity of sesquiterpene lactones from yacon leaves (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae)

Vieira, Perla Raquel Nogueira; Reis, Débora Raquel Mergen Lima; Oliveira, Cledes Teresinha de; Souza, Carolina Ribeiro Noronha de.

PERSPECTIVA

The trends on plants in the prevention and treatment of the COVID-19 115-119

Porto, Polliana Fernandes; Bragança, Maylla Luanna Barbosa Martins; Oliveira, Bianca Rodrigues de; Coelho, Carla Cristine Nascimento da Silva; Serra, Hellen Cristina Oliveira Amorim; Muniz, Alessandra Karla Oliveira Amorim; Santana, Karen das Graças Ferreira Passos.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Normas para submissão e apresentação do manuscrito 120-125

É com imensa satisfação que publicamos o número 1, volume 15 da revista Fitos em 2021. Este periódico tem como missão publicar trabalhos científicos originais e inéditos que contribuam para o pensamento crítico em pesquisa, desenvolvimento e inovação em Biodiversidade e Saúde, buscando promover a inter e a interdisciplinaridade necessárias para ampliar a compreensão das complexas interrelações entre biodiversidade e saúde humana, na perspectiva de fortalecer a colaboração entre os setores no cumprimento dos compromissos globais do desenvolvimento sustentável, na conservação dos recursos naturais e na redução das desigualdades sociais.

“Um estudo preliminar da citotoxicidade do extrato proteico de ‘abajerú’ comercializado em mercados”. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de extratos proteicos de duas plantas comercializadas como abajerú (*Chrysobalanus icaco* e *Eugenia astringens*), sendo *C. icaco* coletada em *habitats* naturais, e *E. astringens* adquirida em mercado no Rio de Janeiro. O estudo sobre a toxicidade dos extratos proteicos foi realizado através do ensaio de viabilidade e migração de fibroblastos. Os resultados demonstraram que são necessárias políticas integrativas para o uso racional de plantas medicinais e sua comercialização, visto a sua grande importância para a Saúde Pública.

“Avaliação de diferentes métodos de extração e atividade antioxidante de compostos bioativos do resíduo madeireiro de maçaranduba (*Manilkara huberi*)”. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes métodos de extração de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante do resíduo madeireiro de maçaranduba como forma de transformar um resíduo em matéria-prima. O método de extração por ultrassom assistida extraiu mais compostos fenólicos e flavonoides e, conseqüentemente, obteve maior capacidade antioxidante, quando comparado com os métodos por percolação, alta pressão e Soxhlet, demonstrando o potencial desse resíduo madeireiro.

“Etnobotânica aplicada à seleção de plantas medicinais para culturas agroecológicas em comunidades rurais do Sul da Bahia, Brasil”. Este trabalho teve como objetivo realizar um levantamento etnobotânico em comunidades rurais e assentamentos de reforma agrária do extremo sul da Bahia, visando a seleção de plantas medicinais para serem inseridas em sistemas de cultivo agroecológico como uma alternativa econômica e terapêutica para as populações locais. Utilizou-se metodologias: observação participante, “bola de neve”, “caminhada na mata”; questionários semiestruturados e cálculo do índice de concordância de usos principais (CUPc). Espera-se que esses resultados contribuam para a seleção de plantas medicinais que sirvam como alternativa econômica e terapêutica para comunidades vulneráveis, bem como no estímulo à preservação da sociobiodiversidade.

“Fitoterapia na prática clínica odontológica: produtos de origem vegetal e fitoterápicos”. A Fitoterapia é uma das práticas que fazem parte da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), do Ministério da Saúde do Brasil, fazendo parte da Atenção Básica do Sistema Único de Saúde (SUS), inclusive para a Odontologia. O objetivo geral do presente trabalho foi sistematizar os principais produtos de origem vegetal com potencial terapêutico para a Odontologia, através da revisão integrativa de documentos oficiais (monografias de farmacopeias) e artigos disponíveis nas bases de dados indexadas. Apesar das dificuldades da incorporação da Fitoterapia na prática clínica, a pesquisa, desenvolvimento e inovação, ampliam as possibilidades terapêuticas para a população. Esse trabalho visa

contribuir para a divulgação da possibilidade terapêutica de produtos de origem vegetal para odontologia na prática clínica pública e privada, a partir da organização sistemática dos principais dados disponíveis na literatura especializada, documentos oficiais e artigos.

“Intoxicação por plantas no Estado do Pará, Brasil”. O objetivo deste estudo foi traçar o perfil epidemiológico dos acidentes por plantas tóxicas no estado do Pará, Brasil. Realizou-se estudo descritivo, observacional e transversal de casos de intoxicações por plantas registradas no banco de dados do Centro de Informações Toxicológicas (CIT), do Hospital Universitário João de Barros Barreto de Belém-Pará, no período de janeiro de 2007 a maio de 2018. Os vegetais que mais causaram intoxicações foram: *Jatropha gossypifolia* L., *J. curcas* L., *Manihot esculenta* Crantz e *Dieffenbachia picta* Schott, sendo as sementes e as folhas (na forma de chá) as partes do vegetal mais usadas. Verificou-se que a maioria das intoxicações foi de origem doméstica, o que chama a atenção para a necessidade de orientação e prevenção dos pais e responsáveis no manuseio de plantas tóxicas.

“Preparação de pelotas contendo um extrato padronizado de *Artemisia annua* L. por extrusão-esferonização”. A artemisinina é a principal substância com atividade antimalárica da *Artemisia annua* (L.). Este trabalho teve como objetivo obter e caracterizar pellets de *Artemisia annua* utilizando a técnica de extrusão-esferonização. O extrato foi preparado por percolação e o teor de artemisinina foi determinado usando um método de HPLC validado. Os resultados permitem sugerir que a estratégia de pelletização utilizada possibilitou a obtenção da desejada dissolução da artemisinina e gera perspectivas para o futuro uso potencial dos pellets de *A. annua* como forma farmacêutica sólida para o tratamento da malária.

“Toxicidade oral aguda e avaliação dos efeitos pressóricos e renais causados pela oncoalyxona A”. Neste estudo propõe-se avaliar os efeitos toxicológicos, pressóricos e renais da onco-A em modelos animais *in vivo* e *ex vivo*. As fotomicrografias do tecido renal após a perfusão demonstraram alterações histológicas significativas induzidas pela onco-A. Pode-se inferir que, embora a onco-A tenha apresentado baixa letalidade em todos os protocolos experimentais realizados, mostrou evidências de toxicidade pulmonar, renal e cardíaca. A ausência de dados toxicológicos *in vivo*, a possibilidade de utilização da onco-A na terapêutica anticâncer, bem como o conhecimento sobre a toxicidade de compostos da mesma classe química, foram os fatos principais que motivaram a execução desse trabalho.

“Atividade antimicrobiana das lactonas sesquiterpênicas da folha da yacon (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae)”. A yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma planta originária dos Andes pertencente à família Asteraceae. Neste presente trabalho avaliou-se a atividade antimicrobiana das LST extraídas das folhas da yacon frente à cepas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* Typhimurium, pelo método de difusão em disco. Seus tubérculos e folhas são consumidos de forma medicinal, principalmente para o controle da hiperglicemia. Encontrou-se atividade antimicrobiana contra *S. aureus*. Seguiu-se com o teste de microdiluição, que determinou uma concentração inibitória mínima de 0,09 mg/ml contra *S. aureus*. Os resultados confirmam o potencial antimicrobiano das lactonas sesquiterpênicas, especialmente contra bactérias gram-positivas.

“As tendências das plantas na prevenção e tratamento da COVID-19”. O objetivo dessa perspectiva é apresentar a importância das espécies de *Camellia sinensis*, *Glycyrrhiza glabra*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Nicotiana tabacum* e *Nicotiana benthamiana*, que estão sendo amplamente estudadas e trouxeram grandes

promessas, para a prevenção e tratamento do coronavírus, principalmente do tipo COVID-19. O uso de plantas ou compostos isolados tem demonstrado capacidade de ação desde a entrada do vírus na célula, até a inibição de sua replicação. Assim, o desenvolvimento de uma vacina vegetal é uma possibilidade real e já está em fase de testes. Os fitoconstituintes fitoterápicos foram eficazes no passado, reduzindo as condições infecciosas por muitos anos, antes que os antibióticos fossem introduzidos. No entanto, mais estudos são necessários para estabelecer o quão eficaz, seguro de usar, dose individual e possíveis efeitos colaterais esperados desses compostos.

“Atividade antifúngica de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf frente à leveduras do gênero *Candida* sp.”

Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, popularmente conhecido no Brasil, frente a leveduras do gênero *Candida*. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação das folhas pelo método do arraste a vapor. A atividade antifúngica foi verificada pelas técnicas de disco-difusão, concentração inibitória mínima e concentração letal mínima. Foram utilizadas as cepas padrão ATCC de *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida utilis*. O óleo essencial apresentou atividade antifúngica frente a todas as espécies. De acordo com os autores, tais achados contribuem para um futuro emprego da planta *C. citratus* como fitoterápico em tratamento preventivo ou alternativo contra infecções fúngicas.

Finalizamos esta apresentação agradecendo a todos que tornaram possível essa publicação e com um convite à leitura dos artigos dessa edição.

Yolanda de Castro Arruda
Revisão Textual e Normativa

A importância dos periódicos científicos em tempos de *fake news*

A Revista Fitos inicia suas publicações, em 2021, com um breve comentário sobre a importância da publicação científica de acesso aberto e reafirma o seu compromisso na divulgação do conhecimento científico, com foco na inovação em medicamentos da biodiversidade, destacando o seu papel social na crise sanitária que se arrasta, desde 2020, com a pandemia da COVID-19.

Neste contexto, ficaram evidentes os avanços da ciência, em relação: ao aumento significativo na publicação de artigos em periódicos científicos no mundo; no desenvolvimento de vacinas; na identificação das características do vírus; nas propostas de protocolos de tratamento; na implementação de medidas protetivas, como o distanciamento social, o uso de máscaras e de álcool para higienização, dentre tantos outros.

No entanto, a sociedade brasileira tem sido refém de desinformações, como *fake News*, falta de transparência dos dados, afirmações contraditórias dos gestores públicos, além da intensa politização da vacinação, gerando um quadro caótico de desorganização e incertezas, fazendo emergir o avanço da mortalidade em proporções geométricas que contrasta com uma inatividade do poder público.

É nesse panorama que se evidencia o papel da publicação científica, especialmente aquelas de acesso aberto, em cumprir com a missão de fazer girar a roda do conhecimento, ampliando seu público para a sociedade como um todo. Para isso, além do ambiente digital da publicação, associa-se a utilização de “(...) redes e mídias sociais como dispositivos informacionais que possuem dupla função, ou seja, atuam como filtros para obtenção de informação relevante e são fontes para estabelecimento de contatos entre pesquisadores, cientistas e público em geral”^[1].

A Revista Fitos, cujo compromisso é com a divulgação do conhecimento científico sobre a inovação em medicamentos da biodiversidade e com o seu papel social, reafirma a importância do aparato tecnológico de mídias digitais que tem utilizado. O aprendizado constante para a melhoria do formato de divulgação do conhecimento científico, viabiliza a interação com os usuários das redes Facebook, Instagram, LinkedIn, Twitter, WhatsApp e Blog.

Delmazio e Valente^[2] elucidaram que o fenômeno das *fake news* não é novidade na história da humanidade, mas, considerando o ambiente das redes sociais digitais, onde a informação circula rapidamente e com grande capilaridade, apresenta um potencial nocivo de desinformação coletiva.

É nesse sentido que a Revista Fitos busca contribuir com a divulgação científica, através de sua presença em redes de grande popularidade. Assim, reconhecemos o tamanho do desafio para adequar o conteúdo científico à linguagem rápida, visual e breve, típica nesses espaços, mas não podemos, enquanto agentes sociais de ciência, nos omitir diante deste novo paradigma comunicacional.

Destaca-se, ainda, a amplitude de seu escopo, que busca acolher a complexidade da produção científica nas temáticas da inovação, da biodiversidade e da saúde, evidenciando o caráter inter e transdisciplinar do processo de construção do conhecimento científico.

Convidamos o leitor a seguir nossas publicações e divulgar os conteúdos produzidos, como forma de atingir um público mais diversificado.

Rosane de Albuquerque dos Santos Abreu
Editora Executiva

Eugênio Fernandes Telles
Designer e Administrador SEER

Yolanda de Castro Arruda
Revisão Textual e Normativa

Referências

1. Araújo RF, Furnival ACM. Comunicação científica e atenção online: em busca de colégios virtuais que sustentam métricas alternativas. **Rev Info Info**. Londrina, mai./ago. 2016; 21(2): 68-89. [[CrossRef](#)] [[Link](#)].
2. Delmazo C, Valente JCL. Fake news nas redes sociais online: propagação e reações à desinformação em busca de cliques. **Med Jorn**. 18 mai. 2018; 18(32): 155-69. [[CrossRef](#)]. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 17 mar. 2021.

A preliminary study of the cytotoxicity of the protein extract of “abajerú” commercialized in markets

DOI 10.32712/2446-4775.2021.897

Pedrete, Thais de Almeida^{1*}; Carmo, Julianderson de Oliveira dos Santos²; Barreto, Emiliano de Oliveira²; Moreira, Josino Costa³.

¹Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Pavilhão Haroldo Lisboa da Cunha, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Rua São Francisco Xavier, 524, Maracanã, CEP 20550-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

²Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Biologia Celular, *campus* A.C. Simões. Avenida Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro dos Martins, CEP 57072-970, Maceió, AL, Brasil.

³Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Escola Nacional de Saúde Pública, Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH), Rua Leopoldo Bulhões, 1480, Manguinhos, CEP 21041-210, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Correspondência: tha.pedrete@gmail.com.

Abstract

The use of plants and their products for medical treatment is a quite common procedure in Brazil, especially for treatment of diabetes. In fact, several plants can demonstrate hypoglycemic effects *in vitro* assays. However, the use for human treatment requires the knowledge of their toxicological properties. The aim of this study was to evaluate the effect of protein extracts of *Chrysobalanus icaco* collected from natural habitats and of *Eugenia astringens* acquired from the market in Rio de Janeiro on the viability and migration of fibroblasts. *E. astringens* has a similar morphology as *C. icaco* and it is sold as *Chrysobalanus* in a popular market. Being a different plant, *E. astringens* expresses different proteins, and its protein extract has proved to possess higher toxic properties than *C. icaco* does. Cytotoxicity assays indicated that, as the protein extract concentration increases, fibroblast viability decreases. Only the *E. astringens* extract displayed cytotoxicity at all concentrations, in addition to reduced fibroblast migration. The results obtained in this study demonstrates that it is necessary integrative policies for rational use of medicinal plants and their commercialization, since the current use of medicinal plants may be inadequate, and it is of great importance for Public Health.

Keywords: Cytotoxicity. Protein extract. Hypoglycemic plant. *Chrysobalanus icaco*. *Eugenia astringens*.

Introduction

Several plants are widely used for medical purposes by the population, but this use is most often made from a lay indication, without knowing the risks of toxic effects. Besides, there is no guarantee of the provenance and proper storage of these supposedly “medicinal plants”. It is clear that there is a lack of incentive and scientifically-based information to integrative and complementary practices and actions to promote the safe and rational use of medicinal plants, including information on how the species should be prepared and used by the population^[1].

The leaf extract (tea) of the plant *Chrysobalanus icaco* L. (Chrysobalanaceae), a species of restinga popularly known as “abajerú”, is used in folk medicine because it exerts biological activities, such as the decrease of blood sugar levels, being indicated for the treatment of diabetes, besides be diuretic and antioxidant^[2]. Another plant, *Eugenia astringens* Cambess. (Myrtaceae) which is morphologically similar to *C. icaco*, also is known by the same popular name of “abajerú” and is commercialized as *C icaco*^[1,3]. These two species may not possess the same therapeutic and toxicological properties, which are of concern to Public Health. The attribution of hypoglycemic activity to *E. astringens* may indicate a misconception since other species of Myrtaceae have hypoglycemic potential^[3]. So, in order to clarify the toxicological aspects of the extract obtained from these 2 plants, a cytotoxic assay was performed.

For cytotoxicity studies in animal cells several techniques, using distinct cell types as a target, are available. Cytotoxicity means the determination of any toxic effects at the cellular level, such as changes in membrane permeability, cell death or enzymatic inhibition resulted from exposure to a toxicant, in this case, the studied plants or plant products^[4].

Cell viability can be evaluated by several methods, among which the one which involves the conversion of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) to formazan by mitochondrial reactivation in active-living cells^[5]. The MTT assay is a standard colorimetric assay that estimates the cytotoxic potential of the samples, in addition to measuring the cellular proliferation of drug agents. Cell viability is expressed as a percentage of live cells from the tested material, comparing with the percentage of cells of the cytotoxicity positive control^[6].

Diabetic patients may develop different complications in the body. Hyperglycemia alters leukocyte function, especially chemotaxis and phagocytosis, increasing the risk of bleeding and impairing the inflammatory and healing processes. Wound healing is the process of repairing and regenerating the dermis and epidermis that accompanies the lesions^[7,8]. To measure the migration/motility of cells, distinctive of the healing process, the Scratch Wound Healing Assay is proposed. In this method, a crack imitates a wound in a monolayer of confluent cells so that the cells at the edge gradually move towards the crack ^[9]. The evaluation of the healing activity of plant extracts is scarce at the cellular level. Fibroblast cultures have been proposed as a method for the investigation of wound healing activity, since these cells are the main source of extracellular connective tissue matrix and the migration of fibroblasts is considered vital for rapid and effective skin repair damaged^[9].

The lack of data about the toxicity of the protein extract of these 2 plants commercialized as “abajerú” (*C. icaco* and *E. astringens*), protein extracts of *C. icaco* collected directly from its natural habitats and of *E. astringens* acquired from the market of Rio de Janeiro was performed using the viability and migration of fibroblasts assay.

Experimental

Plant sampling

Chrysobalanus icaco leaves were collected directly from its natural habitats, Praia Grande – Arraial do Cabo - RJ (PG; -22,9696606, -42,0302859), Restinga de Massambaba – RJ (RMA; -22,9337727, -42,4267012), Marechal Deodoro – AL (AL; -9,7823233, -35,852364), as shown in the map (**FIGURE 1**). *Eugenia*

astringens leaves were purchased on the market Mercadão de Madureira located in the North zone of Rio de Janeiro city.

FIGURE 1: Sampling sites. AL - Marechal Deodoro, MAD – Mercadão de Madureira, RMA - Restinga de Massambaba, PG - Praia Grande (PG).



Protein extraction

About 10 mg of each lyophilized sample were weighed into microtubes in triplicate. Samples were incubated in the presence of 400 μ l lysis buffer (4% SDS 0.1 M Tris-HCl buffer pH 7.6) at 95°C for 15 min in a thermomixer. The lysate extract was frozen at -80°C for further quantification of total proteins by the Lowry method^[10], using bovine serum albumin (2.0 mg/mL) as the standard for the analytical curve. Samples (2 μ L) and analytical curve (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 and 70 μ g/mL) were read in a Jasco V-530 spectrophotometer at the wavelength of 750 nm.

Cytotoxicity evaluation of protein extracts

This assay was performed as follows:

Cell culture

Fibroblasts (3T3 cell line) were kept in medium Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), containing 10% fetal bovine serum, L-glutamine (2 mM) and gentamicin (40 μ g/mL) in incubator at 37°C and 5% CO₂.

Cell viability assay

The effect of the protein extracts of *Eugenia astringens* (Mercadão de Madureira) and *Chrysobalanus icaco* (Restinga de Massambaba - RJ, Marechal Deodoro - AL, Praia Grande - RJ) on fibroblasts viability was evaluated through the MTT assay^[11].

The cells were seeded in a 96 well plates and placed in CO₂ incubator overnight. The cells were then treated with different sample solutions (1, 5, 10 and 20 μ g/mL) in four replicates. The control group was treated only with the medium (DMEM). After treatment, a solution of MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-

diphenyltetrazolium bromide) (5 mg/mL in phosphate buffered saline - 1X PBS pH 7.4) was added to each well and incubated for 4 hours. Subsequently, the supernatant was discarded and 150 µl of dimethyl sulfoxide were added for solubilization of the formazan crystals. The absorbance was measured using a microplate spectrophotometer (DTX 880 Multimode Detector, Beckman Coulter), adjusted to 595 nm, and the optical density was calculated (**EQUATION 1**).

EQUATION 1: Optical density of cells submitted to the cell viability assay.

$$A = \frac{DO_t}{DO_{nt}} \times 100$$

DO_t – optical density of treated cells

DO_{nt} – optical density of non-treated cells

Scratch wound healing assay

The effect of the protein extracts of *Eugenia astringens* (Mercadão de Madureira), *Chrysobalanus icaco* (Restinga de Massambaba - RJ, Marechal Deodoro - AL, Praia Grande - RJ - branch) on fibroblast migration was evaluated through cell migration technique, method described by Liang *et al.*^[7].

Cells (7 x 10⁴ cells / well, measured by the Neubauer's chamber) were seeded in 24-well plates and maintained overnight for cell adhesion and formation of a monolayer at approximately 80% confluency. A small part of the monolayer was removed in the middle of the plate with a 200 µL pipette tip (a scratch is placed on the monolayer and the part removed is discarded). Cells were washed with phosphate buffered saline and treated with 5 µg/mL of the samples or culture medium (control) in triplicate. This exposure concentration at which some effects started to be observed in the cell viability assay was chosen to perform the present assay. Cell migration was assessed by photomicrographs at 0- and 24-hours post-exposure using an inverted microscope (Olympus IX70) with digital camera to measure the area of wound closure. The photomicrographs were analyzed using Image J software and cell migration was expressed as the area in pixels, so that the percentage of closure of the initial area formed was determined quantitatively (**EQUATION 2**).

EQUATION 2: Migration rate of fibroblasts submitted to the cell migration assay.

$$\% \text{ migration} = \frac{(A_0 - A_t)}{A_0} \times 100$$

A₀ – original area (time = 0 h)

A_t – area after the scratch (time = 24 h)

Statistical analysis

The results of the cell viability and migration tests were expressed as mean ± standard error, performed in triplicate and analyzed statistically using analysis of variance (ANOVA), followed by Newman-Keuls post-test. The results were considered significant when p < 0.05. All results were analyzed using GraphPad Prism® software version 5.01 (GraphPad Software Inc, San Diego CA, USA).

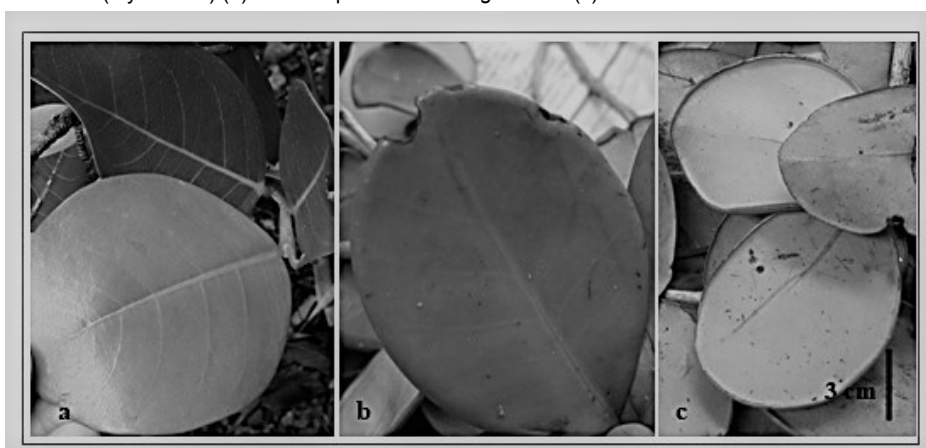
Results and Discussion

Plant identification and protein concentration

The identification of the studied plants was performed by a botanist from the Jardim Botânico do Rio de Janeiro. The plant purchased on the market (Mercadão de Madureira) was identified as *Eugenia astringens* Cambess., of family Myrtaceae, and the plants collected in Marechal Deodoro, Massambaba and Praia Grande as *Chrysobalanus icaco* L., plant from family Chrysobalanaceae.

Chrysobalanaceae can be morphologically differentiated from the Brazilian Myrtaceae species, by some characteristics, such as phyllotaxia, which is alternating (and opposite in Myrtaceae). Nevertheless, the similar form of the leaves of *C. icaco* and *E. astringens* can cause confusion (**FIGURE 2a, 2b, 2c**), the *E. astringens* leaf has a fold around it facing the abaxial part (**FIGURE 2c**) not found in *C. icaco*.

FIGURE 2: Comparison between the branches of *Chrysobalanus icaco* L. (Chrysobalanaceae) (a) and *Eugenia astringens* Cambess (Myrtaceae) (b). Abaxial part of *E. astringens* leaf (c).



Source: Photos by the author.

This misconception has been previously reported^[1,3], claiming that the trade of medicinal plants is not a safe source of sale, as it may be difficult for both the trader and the consumer to correctly identify a desirable plant. And yet there is the problem that different plants known by the same popular name are commercialized without proof of their pharmacological properties and toxicological safety^[1], besides the adulteration possibilities. Unfortunately, in Brazil, the supervision of trade of medicinal plants by regulatory agencies is still incipient.

Total protein concentrations ranged from 30.18 to 54.95 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ in *Eugenia astringens*, from 28.01 to 43.88 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ in *Chrysobalanus icaco*.

Cytotoxicity evaluation of protein extracts

Fibroblasts (3T3 cell line) were submitted to the cell viability assay, exposed to different concentrations of protein extract and to the cell migration assay, exposed to a determined concentration of this extract.

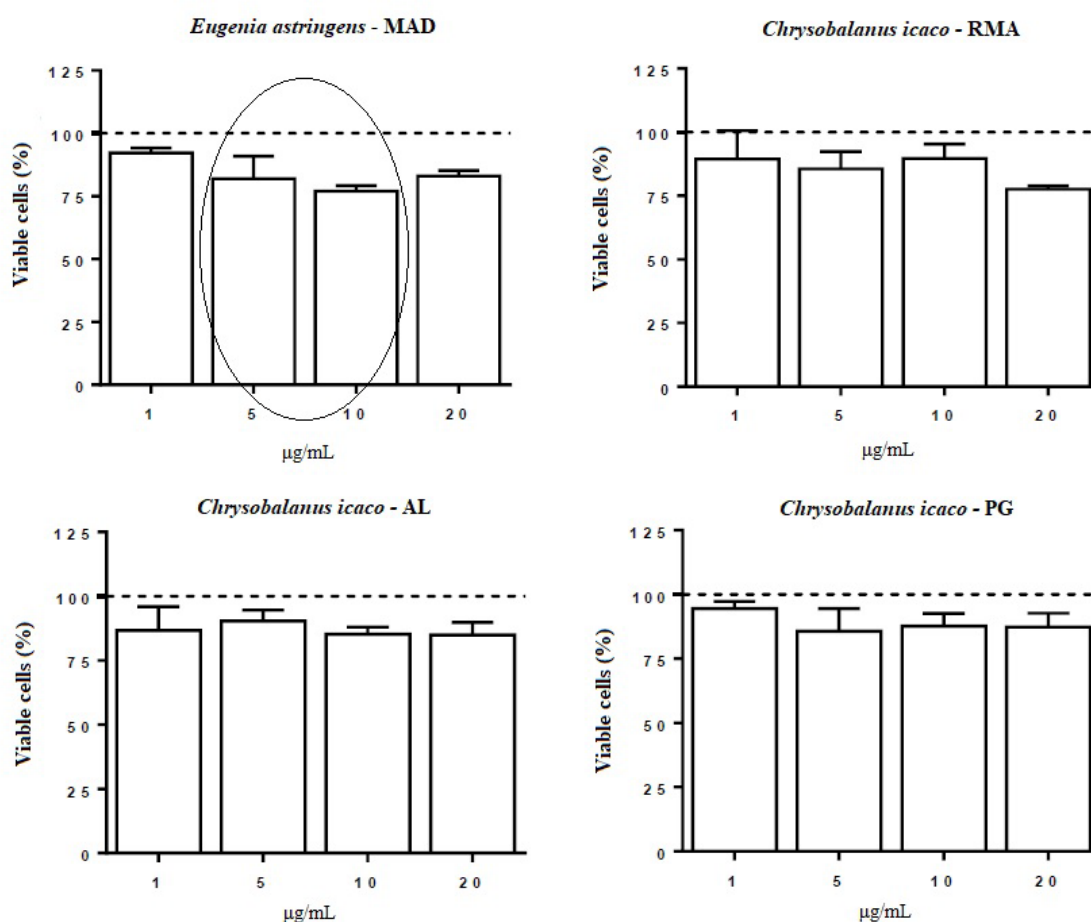
Cell viability assay

To evaluate the effects of extracts of *E. astringens* (MAD), *C. icaco* (RMA), *C. icaco* (AL) and *C. icaco* (PG) on fibroblast viability, the MTT assay was performed.

The results for the cell viability assay are shown in **FIGURE 3**, in which it can be observed and compared the reduction of fibroblasts viability among the species and protein extract concentration.

Treatment with *E. astringens* (MAD) at all concentrations tested, reduced cell viability, decreasing by 8.8% (1 µg/mL), 19.2% (5 µg/mL), 23% (10 µg/mL) and 17% (20 µg/mL) the percentage of viable cells. Exposure with *C. icaco* (RMA) at concentrations of 1, 5 and 10 µg/mL did not significantly alter the fibroblasts viability. On the other hand, the increase in concentration resulted in a decrease in the percentage of viable cells, leading to a reduction of 22.4% (P <0.001) in cell viability when the highest concentration (20 µg/mL) was used. Treatment with *C. icaco* (AL), in turn, induced a decrease in cell viability (8-16 %) at all concentrations tested, when compared to the control group. In addition, treatment with *C. icaco* (PG) at 1 µg/mL did not alter the viability of fibroblasts, whereas treatment with the other concentrations induced a decrease in cell viability (12-14%).

FIGURE 3: Effect of protein extracts of *Eugenia astringens* and *Chrysobalanus icaco* on fibroblasts viability. MAD – Mercado de Madureira, RMA - Restinga de Massambaba, AL - Marechal Deodoro, PG - Praia Grande (PG). The dashed line represents the control group (100%). The circle indicates high reduction on fibroblast viability for *E. astringens* treatment. Results are mean ± S.E.M. n = 4.



Scratch wound healing assay

To evaluate the effects of extracts of *E. astringens* (MAD), *C. icaco* (RMA), *C. icaco* (AL) and *C. icaco* (PG) on fibroblast migration, the cell migration assay (Scratch Wound Healing Assay) was performed.

As shown in **FIGURE 4**, treatment with *C. icaco* (RMA), *C. icaco* (AL) and *C. icaco* (PG) was not able to alter the migration rate of fibroblasts. On the other hand, it can be noted that the treatment with *E. astringens* led to a significant reduction in the migration of these cells by 26.04% ($p < 0.05$), comparing to the control.

The migration of fibroblast is illustrated in **FIGURE 5**, in which can be observed a lower migration of these cells when treated with *E. astringens* protein extract than the *C. icaco* treatments, slowing wound closure.

FIGURE 4: Effect of the extracts of *Eugenia astringens* and *Chrysobalanus icaco* on the migration of fibroblasts at times 0 and 24 hours. MAD – Mercado de Madureira, RMA - Restinga de Massambaba, AL - Marechal Deodoro, PG - Praia Grande (PG). Circle indicates significant reduction on fibroblast migration for *E. astringens* treatment. Results are mean \pm S.E.M. One-way Anova, followed by Newman-Keuls post-test, * $p < 0.05$. n = 3.

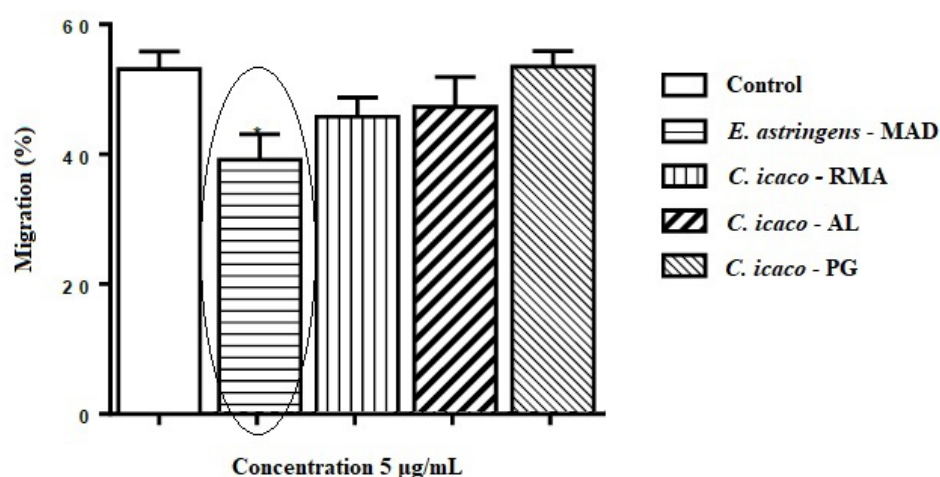
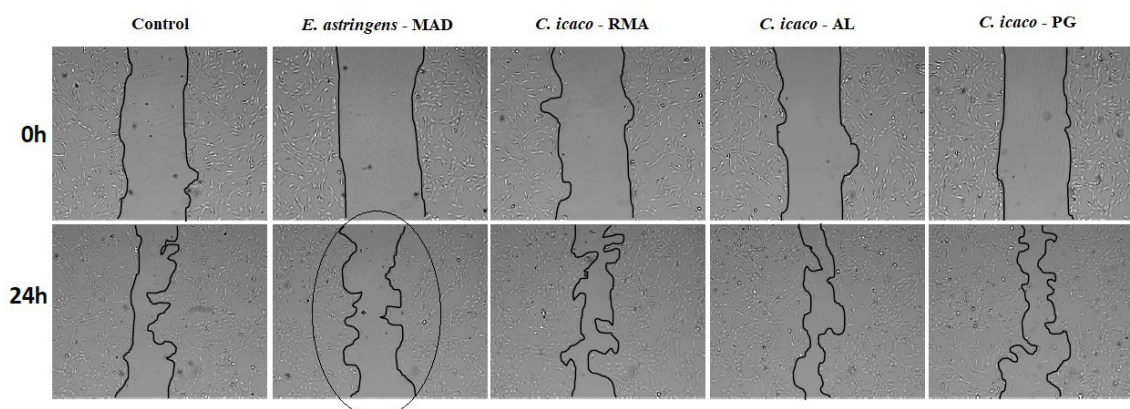


FIGURE 5: Effect of the extracts of *Eugenia astringens* and *Chrysobalanus icaco* on the migration of fibroblasts (3T3) at 0 h and 24 hours. MAD – Mercado de Madureira, RMA – Restinga de Massambaba, AL – Marechal Deodoro, PG - Praia Grande. Circle indicates significant reduction on fibroblast migration for *E. astringens* treatment. n=3.



There is a misunderstanding regarding the sale of "abajerú" in Mercado de Madureira, where *Eugenia astringens*, of the same popular name, is sold in place of *Chrysobalanus icaco*. This is of great concern to Public Health, because *C. icaco* is popularly used as medicinal plant for treating diabetes, due to its

hypoglycemic potential. Meanwhile the population consumes tea from the leaves of *E. astringens*, coming from these markets instead of *C. icaco*. Medicinal plants are widely used due to their easy accessibility, but they usually not have their efficacy and safety well established^[4]. This fact can become a risk to those who use them since they can cause more deleterious effects than bring health benefits. It is of prime importance to inspect qualified individuals, traders, distributors and producers for regularization of the sale of medicinal plants.

Silva *et al.*^[3] raised three hypotheses regarding the introduction of *E. astringens*, replacing *C. icaco* in popular marketing. First, it would be a strategy of the merchants to circumvent the competent oversight, by having the same popular name, but neither could it distinguish. A second hypothesis would be related to the difficulty in the recognition of the species by the collectors and sellers, as well as the consumers, due to the similar morphology. The last hypothesis would be the attribution of hypoglycemic activity to *E. astringens* by herbivores, since other species of Myrtaceae, such as pitanga (*Eugenia uniflora* L.), jambo (*Eugenia jambos* L.) and *Eucalyptus*, are used by the population for this purpose and have antioxidant, antifungal and antibacterial properties ^[12]. Also, the natural environments to which *C. icaco* occurs are restinga-type vegetation sites, which are usually areas of environmental protection, which makes it difficult to collect specimens of this species. Therefore, this could also be a hypothesis regarding the introduction of *E. astringens*, replacing *C. icaco* in popular marketing. This species is not hypoglycemic like *C. icaco*, which can lead to intoxication in those people who buy erroneously, thinking that they are acquiring the correct "abajerú" plant.

Since medicinal plants may also have unknown toxicological properties, the evaluation of toxicity, through *in vitro* tests, is required. Cytotoxicity of the extracts of medicinal plants, including those that are hypoglycemic, can affect cellular processes like healing that is crucial for diabetic patients. Hyperglycemia alters leukocyte function, increasing the risk of bleeding and impairing inflammatory and healing processes^[13,14]. This difficulty in healing occurs due to cardiovascular complications, which cause blockage or decrease of blood circulation, and due to excess glucose, which can impair the functioning of the immune system. That is, diseased vessels decrease blood flow, especially to the legs and feet, harming the healing process and high glycemic levels incapacitate the body's defense cells^[15].

Zandi *et al.*^[5] verified the viability of fibroblasts (ovine line) in extracts of different plants (*Aloe vera*, hena, camomile, licorice, myrtle, mint, cinnamon, ginger and cedar) and that at the minimum concentration (6.25 µg/mL), the viability of dermal fibroblasts by MTT assay increased significantly in cedar ($p < 0.05$). Combination of *Aloe vera*, mint extract and licorice significantly increased the viability of dermal fibroblasts ($p < 0.05$). *Aloe vera*, which is also known for its hypoglycemic activity, has the ability to stimulate proliferation of L929 fibroblasts^[9]. Calloni *et al.*^[16] tested the phenolic extract of *Plinia trunciflora* from the same family as *E. astringens* on human lung fibroblast cells in the presence and absence of amiodarone, a drug used to treat arrhythmia, but which causes toxicity in the lungs. The extract rich in polyphenols was able to prevent the decrease of cellular viability (MTT test) and the ATP biosynthesis.

There are no studies testing the viability of fibroblasts exposed to protein extracts of *Chrysobalanus icaco*, but ethanolic extracts of these species prove to be important in cellular processes. Silva *et al.*^[17] evaluated the antifungal activity of the *C. icaco* ethanolic extract, noting the inhibition of growth of *Candida albicans* and *C. parapsilosis*, strains exposed to this extract.

Pitz *et al.*^[8] evaluated the *in vitro* activity of ethanolic extract of *Plinia peruviana* bark, the same family as the *E. astringens*, in healing processes and antioxidant activity in urinary fibroblasts (L929 cell line). The cell migration assay (Scratch Wound Healing Assay) indicated that none of the tested shell concentrations (0.5, 5, 25, 50 and 100 µg/mL) was able to increase the migration rate after 12 hours of incubation. These results demonstrate a positive effect of the peel on the wound healing process in the L929 fibroblast cell line, probably due to the antioxidant activity exhibited by phytochemicals in the extract. Manoj *et al.*^[9] verified the effect of germplasm of *Aloe vera*, which is also hypoglycemic in L929 fibroblasts, through the cell migration assay, confirming the increase in fibroblast migration, which is important for regeneration and skin repair in case of injury.

There are no studies testing the viability and migration of fibroblasts exposed to protein extracts of *C. icaco* and *E. astringens*, however ethanolic extracts are used in studies to test toxicity of *Eugenia* species. The *in vitro* antioxidant activity of the ethanolic extract of *Eugenia uniflora* was determined by the inhibition of spontaneous autoxidation in brain homogenate, with the LD₅₀ of 5.93 g/kg in mice^[18]. In the phytotoxicity test of the *Eugenia catharinae* extract, it was observed that ethyl acetate and hexane fractions inhibited seed germination, while the hexane fraction showed higher inhibition of lettuce seedlings. *E. catharinae* demonstrated a considerable toxic activity, encouraging the search for the compounds responsible for this activity^[19].

Conclusion

The assays to evaluate the toxicity of the protein extracts of the plants studied served to make aware of the sale and use of the *Eugenia astringens* plant, sold in place of *Chrysobalanus icaco*, since it reduced cell viability at all concentrations of the extract and decreased the fibroblast migration rate. These results showed that *E. astringens* can cause cytotoxic effects if consumed in larger doses.

The present work demonstrated the importance of research in the area of Public Health and the dissemination and communication to society of the results of scientific works since, due to the confounding of the use of medicinal plants, diabetic patients may opt for natural products in therapeutic use for the treatment of diabetes, in the wrong way.

Acknowledgements

The authors are thankful to CAPES and to Dr^a Viviane Krueel from the Research Institute of Botanical Garden of Rio de Janeiro for the identification of the specimens collected. The cytotoxicity assays were performed at the Laboratory of Cell Biology of the Federal University of Alagoas under the supervision of Dr. Emiliano Barreto. This study was carried out with financial support from the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – Capes (Brasília, DF - Brazil), in the form of the first author's PhD grant (PROEX - 0487).

References

1. Bochner R, Fiszton JT, Assis MA, Avelar KES. Problems associated with the use of medicinal plants commercialized in "Mercadão de Madureira", Rio de Janeiro City, Brazil. **Rev Bras PI Med.** 2012; 14(3): 537-47. [\[CrossRef\]](#).

2. Venancio VP, Almeida MR, Maria L, Antunes G. Cocoplum (*Chrysobalanus icaco* L.) decreases doxorubicin-induced DNA damage and downregulates Gadd45a, Ii-1 β , and Tnf- α *in vivo*. **Food Res Int.** 2018; 105: 996-1002. [[CrossRef](#)].
3. Silva IM, Peixoto AL. O abajerú (*Chrysobalanus icaco* L. e *Eugenia rotundifolia* Casar.) comercializado na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. **Braz J Pharmacogn.** 2009; 19(1 B): 325-32. [[CrossRef](#)].
4. Stockert JC, Blázquez-Castro A, Cañete M, Horobin RW, Villanueva Á. MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. **Acta Histochem.** 2012; 114(8): 785-96. [[CrossRef](#)].
5. Zandi M, Masoumian M, Shariatinia A, Sanjabi MR. Optimal concentrations and synergistic effects of some herbal extracts on viability of dermal fibroblasts. **Gene, Cell Tissue** [Internet]. 2016; 3(4): Available from: [[Link](#)].
6. Stockert JC, Horobin RW, Colombo LL, Blázquez-Castro A. Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. **Acta Histochem.** 2018; 120(3): 159–67. [[CrossRef](#)].
7. Liang CC, Park AY, Guan JL. *In vitro* scratch assay: A convenient and inexpensive method for analysis of cell migration *in vitro*. **Nat Protoc.** 2007; 2(2): 329–33. [[CrossRef](#)].
8. Pitz HDS, Pereira A, Blasius MB, Voytena APL, Affonso RCL, Fanan S et al. *In vitro* evaluation of the antioxidant activity and wound healing properties of jaboticaba (*Plinia peruviana*) fruit peel hydroalcoholic extract. **Oxid Med Cell Longev.** 2016; 2016. [[CrossRef](#)].
9. Manoj K, Mishra D, Maity TK, Gupta SD. Screening wound-healing potential of different *Aloe vera* L. germplasm at the cellular level. **Med Aromat Plant Sci Biotechnol.** 2009; 3(1):62-4. Print ISSN 1752-3389.
10. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem.** 1951; 193(1): 265-275. Print ISSN 1083-351X.
11. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods.** 1983; 65(1-2): 55-63. [[CrossRef](#)].
12. Queiroz JMG, Suzuki MCM, Motta APR, Nogueira JMR, Carvalho EM. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. **Rev Fitos.** 2015; 9(2): 87-100. [[CrossRef](#)].
13. Negri G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Rev Bras Ciên Farm.** 2005; 41(2): 121-42. [[CrossRef](#)].
14. Aquino JA, Baldoni AO, Di Lorenzo OC, Cardoso CS, de Figueiredo RC, Sanches C. Pharmacotherapeutic empowerment and its effectiveness in glycemic control in patients with Diabetes Mellitus. **Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev.** 2019; 13(1): 137-42. [[CrossRef](#)].
15. Hu F, Stampfer M, Haffner S, Solomon C, Willett W, Manson J. Elevated risk of cardiovascular disease prior to clinical diagnosis of Type 2 diabetes. **Diabetes Care.** 2002; 25(7): 1129–34. [[CrossRef](#)].
16. Calloni C, Silva Santos LF, Martínez LS, Salvador M. Data on cell viability of human lung fibroblasts treated with polyphenols-rich extract from *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Data Br.** 2016; 6: 728-31. [[CrossRef](#)].
17. Silva JPB, Peres AR, Paixão T, Silva A, Baetas A, Barbosa W et al. Antifungal activity of hydroalcoholic extract of *Chrysobalanus icaco* against oral clinical isolates of *Candida* Species. **Pharmacogn Res.** 2017; 9(1): 96-100. [[CrossRef](#)].

18. Auricchio MT, Bugno A, Barros SBM, Bacchi EM. Atividades antimicrobiana e antioxidante e toxicidade de *Eugenia uniflora*. **Lat Am J Pharm.** 2007; 26(1): 76-81. ISSN 0326-2383.

19. Colla G, Brighente IMC. **Potencial tóxico dos extratos de *Eugenia catharinae***. In: 51º Congresso Brasileiro de Química. Meio Ambiente e Energia. São Luís, MA. 2011; 7(136). Acesso em: 27 jul. 2019. Disponível em: [[Link](#)].

Histórico do artigo | Submissão: 13/11/2019 | **Aceite:** 09/10/2020 | **Publicação:** 31/03/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Pedrete TA, Carmo JOS, Barreto EO, Moreira JC. A preliminary study of the cytotoxicity of the protein extract of "abajerú" commercialized in markets. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2021; 15(1): 11-21. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/897>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

Atividade antifúngica de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf frente à leveduras do gênero *Candida* sp.

Antifungal activity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf against yeasts of the genus *Candida* sp.

DOI 10.32712/2446-4775.2021.958

Domingues, Sabrina de Alvarenga¹; Paiva, Luiz Francisley de^{1*}.

¹Universidade do Vale do Sapucaí, Laboratório de Pesquisas. Avenida Alfredo Custódio de Paula, nº 320, CEP 37553-068, Pouso Alegre, MG, Brasil.

*Correspondência: francisleybiologo@yahoo.com.br.

Resumo

Candida sp. é um gênero de levedura que faz parte da microbiota do corpo humano e de animais. É considerado o principal grupo de fungos patógenos oportunistas. O uso de plantas medicinais é empregado cada vez mais nas diversas áreas. A planta *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf é popularmente conhecida no Brasil por Capim-cheiroso, Capim-cidreira, Capim-santo, Capim-limão, Capim-cidró, Capim-cidrão. Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* frente a leveduras do gênero *Candida* sp.. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação das folhas pelo método do arraste a vapor. A atividade antifúngica foi verificada pelas técnicas de disco-difusão, concentração inibitória mínima e concentração letal mínima. Foram utilizadas as cepas padrão ATCC de *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida Krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida utilis*. O óleo essencial apresentou atividade antifúngica frente a todas as espécies. A faixa de inibição varia de 0,281 µg/mL a 1,125 µg/mL e concentração letal varia de 0,562 µg/mL a 1,125 µg/mL. Esses achados contribuem para um futuro emprego da planta *C. citratus* como fitoterápico em tratamento preventivo ou alternativo contra infecções fúngicas.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Fitoterapia. *Cymbopogon*. *Candida* sp.

Abstract

Candida sp. is a genus of yeast that is part of the microbiota of the human body and of animals. It is considered the main group of opportunistic pathogenic fungi. The use of medicinal plants is increasingly used in the various areas. The *Cymbopogon citratus* (DC) plant. Stapf is popularly known in Brazil for Capim-cheiroso, Capim-cidreira, Capim-santo, Lemongrass, Capim-cidró, Capim-cidrão. This study aims to evaluate the antifungal activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* against yeasts of the genus *Candida* sp. The essential oil was obtained by hydrodistillation of the leaves by the steam-drag method. The antifungal activity was verified by disc diffusion techniques, minimal inhibitory concentration and minimal

lethal concentration. Standard strains ATCC of *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida Krusei*, *Candida parapsilosis* and *Candida utilis* were used. The essential oil showed antifungal activity against all species. The inhibition range ranges from 0.281 µg/mL to 1.125 µg/mL and lethal concentration ranges from 0.562 µg/mL to 1.125 µg/mL. These findings contribute to the future use of the *C. citratus* plant as a herbal remedy in preventive or alternative treatment against fungal infections.

Keywords: Medicinal plants. Phytotherapy. *Cymbopogon*. *Candida* sp.

Introdução

O gênero *Candida* sp. é constituído por aproximadamente 200 espécies e faz parte da microbiota do corpo humano e de animais, sendo pouco mais de vinte espécies responsáveis por infecções ao homem. É considerado o principal grupo de fungos patógenos oportunistas^[1-3]. Estas leveduras são agentes causadores de diferentes tipos de infecções na cavidade bucal onde a candidíase é a infecção fúngica mais comum neste sítio e apresenta-se como: candidíase oral atrófica, candidíase oral hiper-plástica e candidíase oral pseudomembranosa^[4,3,5]. Pacientes imunocomprometidos, portadores de HIV e diabéticos são mais susceptíveis a candidíase. Também são frequentemente encontrados em idosos, crianças na primeira infância e pacientes que fazem uso prolongado de antibióticos^[6,7]. Em pacientes portadores de HIV, o desenvolvimento da candidíase orofaríngea ocorre em mais de 90% dos pacientes em algum momento da evolução da doença^[8].

O tratamento de candidíase é realizado através da prescrição de antifúngicos entre os quais a nistatina e o miconazol aparecem como os mais utilizados em tratamento tópico. Em relação ao tratamento sistêmico, o fluconazol e o itraconazol são os fármacos de primeira escolha, porém, há muitos relatos de efeitos indesejados pelos pacientes^[5]. A maioria dos antifúngicos disponíveis no mercado e que são utilizados no tratamento da candidíase possui toxicidade grave, podendo incluir especialmente a nefrotoxicidade, que é o mais observado^[9]. Assim sendo, há uma grande urgência de novas substâncias menos nocivas e mais eficazes as quais, destacasse o emprego de fitoterápicos como uma alternativa terapêutica^[10].

A espécie de *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf pertencente à família Poaceae e é originária da Índia. É uma erva perene, ereta, medindo aproximadamente 0,60-2 metros de altura com folhas esverdeadas, aromáticas, estreitas, longas, paralelinérveas partindo da base (nervuras foliares paralelas entre si). Popularmente conhecida no Brasil, entre outras denominações, por Capim-cheiroso, Capim-cidreira, Capim-santo, Capim-limão, Capim-cidrô, Capim-cidrão^[11]. Tradicionalmente, suas folhas são consumidas pela população na forma de chá ou infusão devido aos seus efeitos antimicrobianos, anti-inflamatório, antiproliferativo de células tumorais e, também, pelo auxílio na cura de feridas, cólicas, má digestão, dentre outros. Essa espécie possui, também, efeitos: antitérmico, antiespasmódico e diurético, antiparasitário, antisséptico bucal, antitussígeno e até mesmo contra tuberculose. Ainda, estudos evidenciam que essa planta tem se mostrado como^[12,13] um eficiente bactericida e antifúngico para várias espécies de *Candida* sp.^[14-16]. Esta planta produz metabólitos secundários chamados de óleos essenciais (OE), que podem inibir ou retardar o crescimento de microrganismos, atenuando muitos dos efeitos colaterais encontrados em drogas sintéticas^[17]. Essas propriedades tornam *C. citratus* uma espécie potencialmente benéfica para uso na área de cuidados da saúde^[12,13].

Este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de *C. citratus* frente a leveduras do gênero *Candida* sp. pelos métodos de disco-difusão em ágar, concentração inibitória mínima e concentração letal mínima.

Materiais e Métodos

Obtenção do material botânico

As folhas de *C. citratus* foram coletadas de plantas adultas localizadas no viveiro de plantas do curso de Ciências Biológicas da Universidade do Vale do Sapucaí (Univás) (-22.219737, -45.914720), no período matutino do mês de setembro de 2018. A planta foi identificada utilizando critérios macroscópicos e organolépticos, como odor característico de citral e sabor cítrico, de acordo com a Farmacopeia Brasileira^[18], junto ao Herbário UNIVÁS da mesma universidade pelo curador F. S. Braz, e teve uma excisata depositada sob o número de tombo UNIVAS-002.

Imediatamente após a coleta do material vegetal, foram utilizados 25 g das folhas frescas em três repetições para determinar o teor de umidade pelo método gravimétrico de acordo com a metodologia proposta por Rocha et al.^[19]. As amostras foram pesadas antes e durante a incubação em estufa a temperatura de $103 \pm 2^\circ\text{C}$. O tempo de incubação foi interrompido após o peso da amostra não sofrer variação de até 0,001 g em balança analítica.

Extração do óleo essencial

O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação das folhas pelo método do arraste a vapor em aparelho do tipo Clevenger, conforme a Farmacopeia Brasileira^[18] no Laboratório de Pesquisas Básicas da UNIVÁS.

Inicialmente as folhas foram secas em temperatura ambiente por uma semana e em seguida moídas em um triturador. Após esse processo, 500 g do material vegetal seco foram colocados em um balão volumétrico de 6000 mL e acrescentado água destilada na proporção de 1:10. O tempo de extração foi de 4 horas.

A leitura do volume de óleo essencial extraído foi feita diretamente na escala volumétrica do tubo separador. Em seguida, o óleo foi coletado e seco com pequenas quantidades de sulfato de sódio anidro. Posteriormente, o óleo seco foi transferido para um picnômetro pré-calibrado o qual foi calculada a densidade relativa sendo a razão da massa da amostra pelo volume. O rendimento do óleo essencial foi calculado com base na matéria seca de acordo com Santos et al.^[20], pela seguinte fórmula: $RO (\%) = VO \times DR / (Bm - (Bm \times U / 100)) \times 100$, sendo RO = Rendimento do óleo (%), VO = Volume do óleo, DR = Densidade relativa, Bm = Biomassa vegetal, U = Teor de umidade (%).

O óleo foi armazenado para a realização dos testes em tubo estéril cor âmbar a temperatura de 4 a 8°C lugar sem a incidência direta de luz.

Microrganismos utilizados e padronização dos inóculos

Foram utilizadas cepas referências de: *Candida albicans* ATCC90028, *Candida dubliniensis* CBS7987, *Candida tropicalis* ATCC750, *Candida glabrata* MYA 2950, *Candida Krusei* ATCC6258, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *Candida utilis* ATCC9950.

As cepas foram reativadas em Ágar Sabouraud Dextrose, incubados a 37°C durante 24 horas. Em seguida, um pequeno fragmento das colônias foi colocado em uma solução de salina 0,9%. A suspensão resultante foi homogeneizada em agitador de vórtex durante cerca de 30 segundos. A turbidez foi ajustada ao tubo 0,5 da escala de McFarland com auxílio de um espectrofotômetro (CELM E-225 D) com absorvância de 625 nm. Este procedimento foi realizado de forma a fornecer uma suspensão-padrão de levedura contendo 1×10^6 a 5×10^6 CFC/mL (CLSI, 2009).

Avaliação da atividade antifúngica por disco-difusão

A atividade antifúngica do óleo essencial de *C. citratus* foi realizada pela técnica de disco-difusão de acordo com a metodologia de Kirby-Bauer seguindo o documento M44-A2^[21] com modificações. Foram utilizados discos de papel de filtro Whatman N° 1 de 6 mm de diâmetro estéreis. O meio de cultura utilizado foi o Ágar Mueller-Hinton (HIMEDIA) suplementado com 2% de glicose e 0,5 µg/mL de azul de metileno. Aproximadamente 25 mL do meio foram dispensados em placas de Petri de 90 mm de diâmetro com a finalidade de obter uma profundidade padronizada de aproximadamente 4 mm igualmente em todas as placas.

Com auxílio de um swab estéril embebido na suspensão fúngica, o inóculo foi espalhado sobre toda a superfície do meio. As placas ficaram 5 minutos entreabertas para a secagem e após esse período, foi colocado no centro de cada placa, um disco de papel de filtro estéril. Em seguida, foi dispensado sobre cada disco, um volume de 5 µL do óleo essencial.

A atividade do óleo essencial foi verificada em 5 concentrações diferentes diluídas em DMSO (v/v) em: 10%, 25%, 50%, 75% e sem diluição (100%). Cada placa recebeu um disco com uma amostra do óleo, e o teste foi realizado em sextuplicatas. As placas foram incubadas a 35°C por 24-48 horas e após esse período, os halos foram mensurados com auxílio de um paquímetro.

Determinação da concentração inibitória mínima – CIM

A concentração inibitória mínima do óleo essencial foi determinada de acordo com a norma M27-A2^[22] com modificações. O meio utilizado foi o RPMI-1640 com L-glutamina e glicose sem bicarbonato de sódio tamponado com 0,165 M de MOPS. O pH foi ajustado para 7.0 com NaOH 1 N.

Em um tubo de vidro estéril foram adicionados 0,8 mL do óleo essencial; 0,05 mL de polissorbato Tween® 80 e 4,2 mL do meio de cultura RPMI-1640, sendo, esta concentração correspondente a 16%. O tubo foi agitado durante 5 minutos em agitador tipo vórtex e em seguida, utilizando o procedimento de diluição seriada (1:1) realizou-se uma série de diluições em meio RPMI-1640 no qual foram obtidas 10 soluções com concentrações decrescentes. A faixa da concentração testada foi de 4% a 0,003%^[23].

A suspensão fúngica foi padronizada a 0,5 na escala de McFarland e, em seguida, diluída em 1:50 seguida de outra diluição de 1:20 em meio líquido RPMI-1640, correspondendo à 1×10^3 a 5×10^3 CFC/mL.

A CIM foi realizada em placas de microdiluição de 96 poços, com fundo em "U" (estéril), para onde foram transferidos para as colunas de 1 a 10, 100 µL das soluções de óleo essencial nas concentrações decrescente. Com exceção da coluna 11, foram adicionados 100 µL do inóculo em todos os poços. A coluna 11 recebeu 200 µL de meio sem óleo e sem inóculo sendo este o controle de esterilidade e a coluna 12 recebeu 100 µL de meio sem óleo e posteriormente os 100 µL do inóculo sendo estes o padrão de

crescimento positivo. O volume final na placa de microdiluição foi de 200 µL, resultando em uma concentração final do inóculo de $0,5 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^3$ CFC/m5 L. As placas foram vedadas com papel adesivo Contact® e incubadas a 35°C por 24-48 horas. Após esse período, foram adicionados 20 µL de Cloreto de Trifenil Tetrazólio (TTC) a 2% a cada poço, corante que promove a coloração das colônias sem comprometer sua viabilidade e as placas foram reincubadas por mais 2 horas. Os poços que apresentam atividade antifúngica permanecem incolores, enquanto os poços os quais houve crescimento microbiano coram-se em vermelho. A CIM foi determinada como a menor concentração do óleo essencial que não demonstra crescimento microbiano visível.

Determinação da concentração letal mínima – CLM

Antes da adição do indicador TTC nas microplacas, 10 µL de cada poço foram inoculados em meio Ágar Sabouraud Dextrose (HIMEDIA) e incubados a 35°C durante 24-48 horas. A concentração letal mínima é a concentração de um antimicrobiano que leva à morte de um microrganismo e será definida como a concentração de óleo mais baixa capaz de matar a totalidade das células^[24].

Análise estatística

Os dados obtidos nas avaliações de difusão em ágar foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias das medidas dos halos comparadas pelo teste Tukey, ambos a 5% de significância, utilizando-se o Software R. 2.5.1 e pela correlação de Pearson utilizando o software MiniTab 18.

Resultados e Discussão

Análise do óleo essencial de *C. citratus*

O óleo essencial extraído exibiu uma coloração amarelada com aparência límpida e apresentou uma densidade de 0,881 g/mL estando abaixo de 0,957 g/mL encontrados por Santos et al.^[25], porém, o rendimento da extração de 0,93% encontrada neste estudo está dentro da faixa de 0,465% a 1,18% encontrado por esses mesmos autores. Figueiredo et al.^[26], ao analisar a influências de diversos reguladores vegetais no rendimento dos óleos essenciais extraídos num período de um ano, observou uma variação de 0,21% (verão) à 0,40% (inverno). Nos trabalhos de Costa et al.^[27], o valor observado foi de 0,46%. Diversos fatores influenciam no seu rendimento. Essa diferença, ressaltada por Gomes e Negrelle^[28], pode ser explicada devido aos fatores tais como: temperatura, condições da colheita, método de extração, solo e material utilizado como folhas secas ou frescas. Sobre este assunto, Santos et al.^[20] chama a atenção para o método que utiliza biomassa livre de umidade (BLU). Trata-se de um método que utiliza material vegetal seco, desidratado. É um método que pode ser repetido a qualquer momento e sem que haja desvios significativos.

Análises microbiológicas

Neste estudo, as cepas testadas demonstraram-se susceptível ao óleo essencial de *C. citratus* pelo método de disco-difusão como mostra a **TABELA 1**. Por este método foi possível verificar a atividade antifúngica sobre todas as espécies testadas com valores de halos que variam de 25,33 mm a 44,5 mm.

TABELA 1: Diâmetro do halo de inibição do óleo essencial de *C. citratus* frente às leveduras.

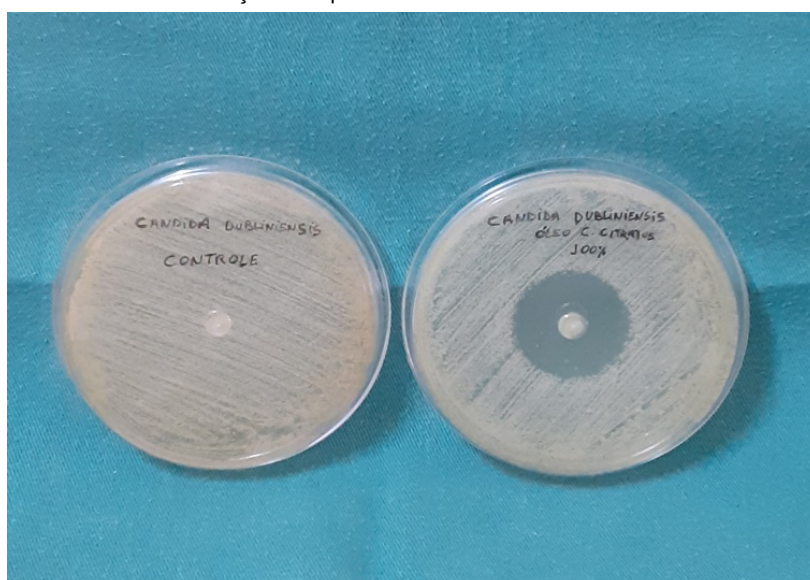
Microrganismo	Concentração do óleo essencial					Pearson
	100%	75%	50%	25%	10%	
<i>Candida dubliniensis</i>	44,5	32,08	25,5	13,5	10	0,98
<i>Candida utilis</i>	37,5	31,17	23,83	14	10,83	0,99
<i>Candida albicans</i>	33,5	27,16	21	13,58	11,17	0,99
<i>Candida glabrata</i>	32	26,83	21,75	16,67	12,08	0,99
<i>Candida tropicalis</i>	30,5	24,33	18,33	12,5	9,67	0,99
<i>Candida parapsilosis</i>	29,83	24,67	21,33	14,33	11	0,98
<i>Candida krusei</i>	25,33	22,67	18,67	14	10,33	0,98

*Diâmetros expressos em milímetros.

A correlação de Pearson nas 5 concentrações testadas em todos os microrganismos foi acima de 0,98. A linearidade é conceituada como a capacidade do método em produzir resultados proporcionais à concentração da solução testada dentro de um intervalo. Valores mais próximos de 1 significam uma correlação positiva perfeita entre as duas variáveis.

Embora o maior halo de inibição formado na presença de óleo essencial puro seja pertencente à espécie *C. dubliniensis* (**FIGURA 1**), ao analisar as médias pelo teste de Tukey, não houve diferença estatística entre outros halos com valor de $p = 0,108$. Na **FIGURA 2** estão apresentados os resultados das médias dos halos de inibição.

FIGURA 1: Halo de inibição da espécie *Candida dubliniensis* frente ao óleo essencial de *C. citratus*.



Nos testes de concentração inibitória mínima, a atividade inibitória do óleo essencial ocorreu em todas as cepas de leveduras testadas, como demonstrado na **TABELA 2**. A faixa de inibição ocorreu entre 0,281 µg/mL a 1,125 µg/mL enquanto que a concentração letal foi de 0,562 µg/mL a 1,125 µg/mL.

FIGURA 2: Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) de espécies de *Candida* sp. frente ao óleo essencial de *C. citratus*. ($p = 0,108$).

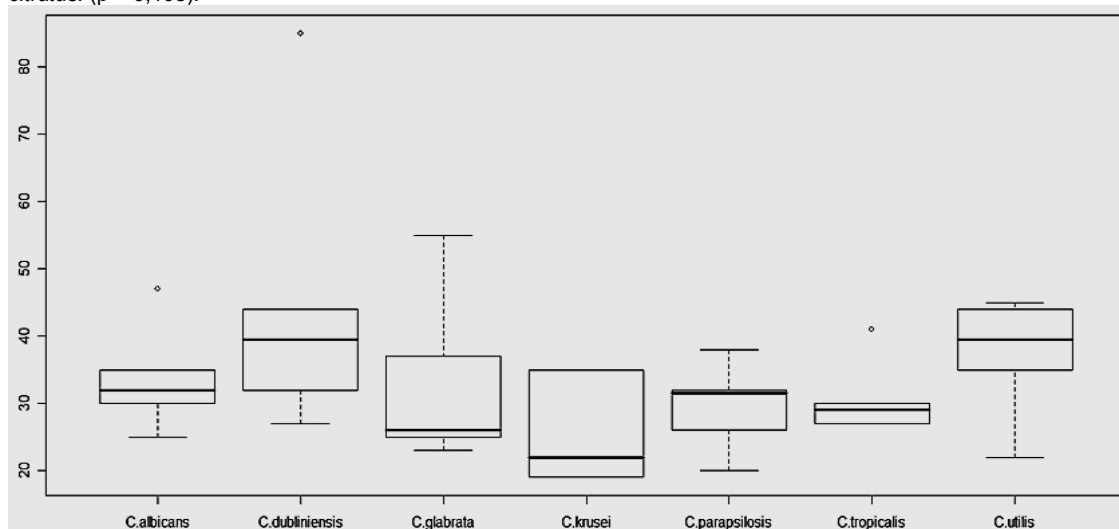


TABELA 2: Valores da concentração inibitória mínima e concentração letal mínima.

Microrganismos	CIM	CLM
<i>Candida krusei</i>	0,281 µg/mL	0,562 µg/mL
<i>Candida albicans</i>	0,562 µg/mL	1,125 µg/mL
<i>Candida dubliniensis</i>	0,562 µg/mL	1,125 µg/mL
<i>Candida tropicalis</i>	0,562 µg/mL	1,125 µg/mL
<i>Candida glabrata</i>	0,562 µg/mL	1,125 µg/mL
<i>Candida utilis</i>	0,562 µg/mL	1,125 µg/mL
<i>Candida parapsilosis</i>	1,125 µg/mL	1,125 µg/mL

Em um estudo realizado por Cortez et al. [29], a CIM foi igual 0,125 µg/mL para as cepas *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*. Valores inferiores aos encontrados neste estudo. Entretanto, Santos et al. [25] encontraram CIM de 0,640 mg/mL para *C. albicans* e 1,250 mg/mL para *C. tropicalis*, sendo o último um valor consideravelmente maior de inibição embora foram utilizadas cepas decorrentes de candidíase vulvovaginal.

A utilização do óleo essencial de *C. citratus* apresentou melhor resultado sob a cepa de *C. krusei* tendo essa o valor de CIM de 0,281 µg/mL e o menor resultado apresentado foi sob a cepa de *C. parapsilosis* com valor de 1,125 µg/mL.

No estudo de Leite et al. [30], os resultados obtidos apontaram para uma significativa ação antifúngica do óleo essencial de *C. citratus* contra espécies de *Candida* sp. Para Sookto et al. [31], os compostos terpênicos encontrados no óleo essencial de *C. citratus* interagem com os compostos lipídicos na estrutura celular interferindo assim na biossíntese da parede celular das células fúngicas.

O presente trabalho aponta uma alternativa à necessidade de novas opções terapêuticas para candidíase. Ainda há a necessidade de que novos estudos sejam realizados a fim de avaliar e garantir a eficácia do óleo essencial de *C. citratus* frente a cepas variáveis e a possível interação com diferentes antimicrobianos.

A fitoterapia representa a possibilidade de ampliação de opções terapêuticas. Para Hasenclever et al.^[32], constitui importante fonte de inovação em saúde e pode fortalecer ainda mais a inovação, a produção e exploração da rica biodiversidade brasileira. O estudo da fitoterapia vem sendo realizados nos mais diversos biomas brasileiros ressaltam Bettega et al.^[33]. O uso de plantas medicinais é empregado cada vez mais nas diversas áreas. Para Abílio et al.^[6], a fitoterapia é economicamente viável, diminui as reações adversas, apresenta eficácia e está se tornando um meio terapêutico promissor.

Conclusão

O método de extração de óleo essencial por arraste a vapor em aparelho tipo Clevenger utilizando biomassa seca demonstrou resultado de rendimento satisfatório. O óleo essencial de *C. citratus* possui propriedades inibitórias e letais aos fungos do gênero *Candida* sp. Esses achados contribuem para um futuro emprego da planta *C. citratus* como fitoterápico em tratamento preventivo ou alternativo contra infecções fúngicas.

Referências

1. Negri M, Martins M, Henriques M, Svidzinski TIE, Azeredo J, Oliveira R. Examination of potential virulence factor of *Candida tropicalis* clinical isolates from hospitalized patients. **Mycopathologia**. 2010; 169: 175-82. ISSN 1573-0832. [\[CrossRef\]](#).
2. Abrantes MR, Lima EO, Medeiros MAP, Menezes CP, Guerra FQS, Milan EP. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre leveduras *Candida* não *albicans*. **Rev Bras Farm**. 2013; 94(3): 227-33. ISSN 2176-0667. [\[Link\]](#).
3. Peixoto JV, Rocha MG, Nascimento RTL, Moreira VV, Kashiwabara TGB. Candidíase – Uma revisão de literatura. **BJSCR**. 2014; 8(2): 75-82. ISSN 2317-4404 [\[Link\]](#).
4. Hernández-Solís SE, Reuda-Gordillo F, Rojas-Herrera RA. Actividad de la proteinasa en cepas de *Candida albicans* aisladas de la cavidad oral de pacientes inmunodeprimidos, con candidiasis oral y sujetos sanos. **Rev Iberoamer Micol**. 2014; 31(2): 137-40. ISSN 1130-1406. [\[CrossRef\]](#).
5. Simões RJ, Fonseca P, Figueira MH. Infecções por *Candida* spp. na cavidade oral. **Rev Odont Clínico-Cient**. 2013; 12(1): 19-22. ISSN 1677-3888. [\[Link\]](#).
6. Abílio F, Maria V, Silva BM, Silva ED, Carvalho FVQ, Macêdo A et al. Actividad antifúngica de productos naturales indicados por vendedores de hierbas (raizeiros) para el tratamiento de la candidiasis oral. **Rev Cub Estomatol**. 2014; 51(3): 259-69. ISSN 0034-7507. [\[Link\]](#).
7. Gavanji S, Larki B. Comparative effect of propolis of honey bee and some herbal extracts on *Candida Albicans*. **Chi J Integ Med**. 2015; 23(3): 1-7. ISSN 1993-0402. [\[CrossRef\]](#).
8. Li X, Lei L, Tan D, Jiang L, Zeng X, Dan H et al. Oropharyngeal *Candida* colonization in human immunodeficiency virus infected patients. **Acta Path Microbiol Imm Scand**. 2013; 121(5): 375-402. ISSN 1600-0463. [\[CrossRef\]](#).
9. França FD, Ferreira AF, Lara RC, Rossoni JR, Costa DC, Moraes KC et al. Alteration in cellular viability, pro-inflammatory cytokines and nitric oxide production in nephrotoxicity generation by Amphotericin B:

involvement of PKA pathway signaling. **J Applied Toxicol.** 2014; 34(12): 1285-92. ISSN 1099-1263. [[CrossRef](#)].

10. Mesa-Arango AC, Bueno SJG, Betancur-Galvis LA. Productos naturales con actividad antimicótica. **Rev Esp Quimiot.** 2004; 17(4): 325-331. ISSN 0214-3429. [[Link](#)].

11. Lorenzi H, Matos FJA. **Plantas Medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2002, 544 pp. ISBN 8586714186.

12. Almeida RBA, Akisue G, Cardoso LML, Junqueira JC, Jorge AOC. Antimicrobial activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. on *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans* and *Candida* spp. **Rev Bras PI Med.** 2013; 15(4): 474-82. ISSN 1516-0572. [[Link](#)].

13. Boukhatem MN, Ferhat MA, Kameli A, Saidi F, Kebir HT. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. **Libyan J Medic.** 2014; 9(1): 25431. ISSN 1819-6357. [[CrossRef](#)].

14. Castro LO, Ramos RLD. **Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais: *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., capim-cidrô, *Cymbopogon martinii* (Rox.) J.F. Watson, palma-rosa, *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, citronela, *Elyonurus candidus* (Trin.) Hack., capim-limão, *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, vetiver.** Porto Alegre: FEPAGRO, 2002. 31 p. (Boletim FEPAGRO, 11). ISSN 0104-9089. [[Link](#)].

15. Mohamad S, Ismail NN, Parumasivam T, Ibrahim P, Osman H, A Wahab H. Antituberculosis activity, phytochemical identification of *Costus speciosus* (J. Koenig) Sm., *Cymbopogon citratus* (DC. Ex Nees) Stapf., and *Tabernaemontana coronaria* (L.) Willd. and their effects on the growth kinetics and cellular integrity of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. **BMC - Evidence-Based Compl Alter Medic.** 2018; 18(1): 5. ISSN 1472-6882. [[CrossRef](#)].

16. Khan MSA, Ahmad I. Biofilm inhibition by *Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum* essential oils in the strains of *Candida albicans*. **J Ethnopharmacol.** 2012; 140(2): 416-23. ISSN 1872-7573. [[CrossRef](#)].

17. Swamy MK, Akhtar MS, Sinniah UR. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. **Evidence-Based Compl Alter Medic.** 2016; Article ID 3012462, p.1-21. ISSN 1741-4288. [[CrossRef](#)].

18. Brasil. Agência Nacional de Vigilância sanitária - ANVISA. **Farmacopeia Brasileira:** vol. 2. 5ª ed. Brasília: Ed. MS, 2010. ISBN 978-85-88233-41-6.

19. Rocha RP, Melo EC, Demuner AJ, Radünz LL, Braun H. Effect of drying air velocity on the quality of essential oil From Lemon grass. **GI Sci Technol.** 2012; 5(1): 23-31. ISSN 1984 – 3801. [[Link](#)].

20. Santos AS, Alves SM, Baker D, Rocha Neto O. **Descrição de sistema e métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2004. 6p. ISSN 1517-2244. [[Link](#)].

21. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeast;** approved guideline - 2nd ed. CLSI document M44-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2009. ISBN: 1-56238-703-0.

22. National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts.** Approved standard, 2nd ed. NCCLS document M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA. 2002. ISBN 1-56238-469-4.

23. Lima IO, Oliveira RAG, Lima EO, Farias NMP, Souza EL. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Rev Bras Farmacogn.** 2006; 16(2):197-201. ISSN 0102-695X. [[Link](#)].

24. Cantón E, Penám J, Vludes A, Quindós G, Gobernado M. Minimum fungicidal concentrations of amphotericin B for bloodstream *Candida* species. **Diagn Microbiol Infec Dis**. 2003; 45: 203-206. ISSN 0732-8893. [[CrossRef](#)].
25. Santos A, Paduan RH, Gazin ZC, Jacomassi ED, Oliveira OS, Cortez DAG et al. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC). **Rev Bras Farmacog**. 2009; 19(2): 436-41. ISSN 1981-528X. [[CrossRef](#)].
26. Figueiredo RO, Delachiave MEA, Ming LC. Reguladores vegetais na produção de biomassa e teor de óleos essenciais em *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., em diferentes épocas do ano. **Rev Bras PI Med**. 2006; 8(3): 31-35. ISSN 1983-084X. [[Link](#)].
27. Costa CARA, Bidinotto LT, Takahira RK, Salvadori MFD, Barbisan LF, Costa M. Cholesterol reduction and lack of genotoxic or toxic effects in mice after repeated 21-day oral intake of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil. **Food Chem Toxicol**. 2011; 49: 2268-2272. ISSN 1873-6351. [[CrossRef](#)].
28. Gomes EC, Negrelle RRB. Análise da cadeia produtiva do capim limão: estudo de caso. **Rev Bras PI Med**. 2015; 17(2): 201-9. ISSN 1516-0572. [[CrossRef](#)].
29. Cortez LER, Yamaguchi MU, Cortez DAG, Pesco DCS. Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae) e *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Poaceae). **O Mundo da saúde**. 2015; 39(4): 433-40. ISSN 1980-3990. [[CrossRef](#)].
30. Leite MCA, Bezerra APB, Sousa JP, Guerra FQS, Lima EO. Evaluation of Antifungal Activity and Mechanism of Action of Citral against *Candida albicans*. **Evidence-Based Compl Alter Medic**. 2014; 11: 1-9. ISSN 1741427X. [[CrossRef](#)].
31. Sookto T, Srithavaj T, Thaweboon S, Thaweboon B, Shrestha B. *In vitro* effects of *Salvia officinalis* L. essential oil on *Candida albicans*. **Asian Pacific J Trop Biomed**. 2013; 3(5): 376-380. ISSN 2221-1691. [[CrossRef](#)].
32. Hasenclever L, Paranhos J, Costa CR, Cunha G, Vieira D. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciêns Saúde Colet**. 2017; 22(8): 2559-69. ISSN 1678-4561. [[CrossRef](#)].
33. Bettega PVC, Czulniak GR, Piva R, Namba EL, Ribas CR, Grégio AMT et al. Fitoterapia: dos canteiros ao balcão da farmácia. **Arch Oral Res**. 2011; 7(1): 89-97. ISSN 2236-8035 [[Link](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 28/01/2020 | **Aceite:** 09/10/2020 | **Publicação:** 31/03/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Domingues SA, Paiva LF. Atividade antifúngica de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf frente à leveduras do gênero *Candida* sp.. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2021; 15(1): 22-31. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/958>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

Avaliação de diferentes métodos de extração e atividade antioxidante de compostos bioativos do resíduo madeireiro de maçaranduba (*Manilkara huberi* (Ducke) Standl.)

Evaluation of different extraction methods and antioxidant activity of bioactive compounds from the maçaranduba wood residue (*Manilkara huberi* (Ducke) Standl.)

DOI 10.32712/2446-4775.2021.948

Santos, Marcio Antônio Castanho dos¹; Viana, Alciene Ferreira da Silva¹; Silva, Bruno Alexandre da¹; Santos, Alessandra da Silva²; Abreu, Alcicley da Silva¹; Moreira, Debora Kono Taketa^{3*}.

¹Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), Laboratório de Farmacognosia, Instituto de Saúde Coletiva, Unidade Tapajós, Rua Vera Paz, s/n, Salé, CEP 68040-255, Santarém, PA, Brasil.

²Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), Instituto de Biodiversidade e Florestas, Avenida Mendonça Furtado, 2946, Aldeia, CEP 68040-050, Santarém, PA, Brasil.

³Instituto Federal de Brasília (IFB/ Cam), campus Gama, Rodovia DF-480 SMA, Lote 1, Gama, CEP 72429-005, Brasília, DF, Brasil.

*Correspondência: deboraktmoreira@gmail.com.

Resumo

A preocupação com o meio ambiente tem sido constante nos últimos tempos, principalmente quando se trata de aproveitamento adequado de resíduos, pois são depositados de maneira inapropriada, podendo contribuir para efeitos nocivos ao meio ambiente. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes métodos de extração de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante do resíduo madeireiro de maçaranduba. A coleta da amostra foi cadastrada no ICMBio e a serragem da madeira foi doada e coletada a partir de seu desdobro secundário na indústria. Posteriormente, o material passou pelo processo de secagem, homogeneização e extração de compostos fenólicos por diferentes métodos. O método de extração por ultrassom assistida extraiu mais compostos fenólicos e flavonoides e conseqüentemente obteve maior capacidade antioxidante, quando comparado com os métodos por percolação, alta pressão e soxhlet, demonstrando o potencial desse resíduo madeireiro.

Palavras-chave: Resíduo. Madeira. Fenólicos. Amazônia.

Abstract

Concern about the environment has been constant in recent times, especially when it comes to the proper use of waste, as it is improperly deposited and may contribute to harmful effects on the environment. In this

sense, the objective of this work was to evaluate different phenolic compounds extraction methods and the antioxidant capacity of the maçaranduba wood residue. The sample collection was registered at ICMBio and the sawdust of wood was donated and collected from its secondary development in the industry. Subsequently, the material went through the process of drying, homogenization and extraction of phenolic compounds by different methods. The assisted ultrasound extraction method extracted more phenolic and flavonoid compounds and consequently obtained higher antioxidant capacity when compared to percolation, high pressure and soxhlet methods, demonstrating the potential of this wood residue.

Keywords: Waste. Wood. Phenolic. Amazon.

Introdução

A maçaranduba (*Manilkara huberi* (Ducke) Standl.) está inserida no reino Plantae, filo Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Ebenales, e família Sapotaceae a qual possui em torno de 58 gêneros e 1.250 espécies, e só no Brasil verifica-se a presença de 11 gêneros e 231 espécies desta família, sendo 2 gêneros e 104 espécies endêmicas^[1]. Essa árvore é uma das mais empregadas em estruturas de madeira, principalmente, nas regiões Centro Oeste, Sudeste e Sul do Brasil. De acordo com o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA^[2], a madeira de maçaranduba é valorizada economicamente por sua alta densidade (densidade aparente na direção das fibras de 1,143 Kg.m⁻³ e 82,9 MPa), resistência ao ataque de fungos apodrecedores e cupins subterrâneos e por ser uma das espécies mais abundantes da Amazônia, sendo utilizada em quase 90% das serrarias^[3,4].

No setor madeireiro, apesar dos avanços tecnológicos, o desperdício na obtenção de madeira ainda é muito expressivo. Segundo Fontes^[5], a definição de resíduo madeireiro é tudo aquilo que sobra de um processo de produção industrial ou exploração florestal. Assim, estima-se que apenas 40 a 60% do volume total de uma tora sejam aproveitados durante o seu processamento, sendo a serragem um tipo de resíduo, o qual é originado a partir do uso das serras, que pode chegar a 12% do volume total de matéria-prima, gerando uma grande perda residual^[6].

Além da perda econômica, os resíduos madeireiros geram um problema para o meio ambiente quando disposto de forma inadequada. Entretanto, segundo Melo^[7], esses resíduos são fontes imensuráveis de substâncias farmacologicamente ativas, como por exemplo, o gênero *Manilkara* apresenta atividade biológica, antibacteriana, antiparasitária, citotóxica, antitumoral e antioxidante, podendo auxiliar no tratamento de inflamações, febre, hemorragia pós-parto, dores de estômago, além de possuir ação cicatrizante^[8]. Portanto, o uso dos resíduos madeireiros como fontes alternativas para extração de compostos bioativos pode ser aplicado para a obtenção de fitoterápicos, fármacos (substâncias ativas isoladas), adjuvantes (produtos utilizados na formulação de medicamentos) e seu uso em cosméticos, como forma de aproveitamento e agregação de valor para esses resíduos^[9,10].

As pesquisas de bioprospecção dos biomas brasileiros vêm sendo incrementadas por conta da busca racional de bioprodutos de valor agregado, nas quais priorizam as descobertas e a criação de fármacos que proporcionam o avanço da pesquisa básica multidisciplinar, e o desenvolvimento tecnológico na realização de bioensaios e estudos fitoquímicos^[11]. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar diferentes métodos de extração de compostos bioativos e a capacidade antioxidante de resíduo madeireiro de maçaranduba, como forma de transformar um resíduo em matéria-prima.

Material e Métodos

Obtenção da matéria-prima

A coleta da amostra foi cadastrada no ICMBio e a serragem da madeira identificada como *Manilkara huberi* (Ducke) Standl.. A amostra foi coletada a partir de seu desdobro secundário na indústria de madeira Algimi Florestal Indústria de Pisos de Madeiras Ltda., em fevereiro de 2019. Posteriormente, o material passou pelo processo de secagem em estufa a 45°C durante 96 h, moído em moinho de facas, homogeneizado em peneiras de 26 mesh e armazenadas em sacos de polipropileno em freezer a - 40°C.

Obtenção dos extratos

Os compostos bioativos do resíduo de Maçaranduba foram extraídos por quatro diferentes métodos de extração:

Extração por alta pressão: O método de extração por alta pressão foi realizado em autoclave automática por 1 ciclo de 15 minutos, com pressão de 1 ATM. Em recipiente de vidro âmbar, com capacidade para 50 mL, foi pesado 1,25 g do resíduo, adicionado 25 mL de água destilada e levado para a autoclave. Em seguida a amostra foi filtrada em filtro de papel qualitativo, congelada em freezer e liofilizada em liofilizador Liotop L101.

Extração por Ultrassom assistida: A extração assistida por ultrassom foi realizada em erlenmeyer de vidro de 50 mL, onde foram adicionados 1,25 g de resíduo, 25 mL de etanol 80% e levado em banho ultrassom a 37°C por 60 minutos. Após esse período, o extrato foi filtrado em filtro de papel qualitativo; retirado o etanol com auxílio de rotaevaporador com pressão reduzida a 37°C; congelado em freezer e liofilizado em liofilizador Liotop L101.

Extração pelo método de Soxhlet: O extrato foi obtido utilizando 20 g de resíduo e etanol PA em aparelho extrator do tipo soxhlet acoplado em balão de fundo redondo, manta aquecedora, condensador e banho ultratermostático a 2°C. A extração total foi caracterizada pela observação da limpidez do solvente extrator, o que totalizou aproximadamente 8 horas de extração. Após esse período, o extrato foi filtrado em filtro de papel qualitativo; retirado o etanol com auxílio de rotaevaporador com pressão reduzida a 37°C; congelado em freezer e liofilizado em liofilizador Liotop L101.

Extração pelo método de Percolação: Para a obtenção do extrato por percolação foi utilizado 5 g de resíduo seco e etanol 80 % como líquido extrator. Foi empregado um percolador com velocidade de gotejamento de 10 gotas. min⁻¹, até o líquido percolado não apresentar mais coloração. Após este processo, o solvente foi retirado em aparelho rotaevaporador com pressão reduzida a 37°C e, em seguida congelado e liofilizado em liofilizador Liotop L101.

Análises fitoquímicas

Para a quantificação dos fenólicos totais foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu^[12] utilizando diferentes concentrações do extrato. O ensaio foi realizado adicionando 0,5 mL da amostra, 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu 5% e 2,0 mL de carbonato de sódio 4% em tubo de ensaio. Em seguida, as amostras foram agitadas em vortex e mantidas em ausência de luz durante 2 horas. Após este período foram realizadas as leituras a 740 nm em espectrofotômetro. Foi realizado um branco, utilizando água destilada no lugar da amostra. Os resultados foram calculados a partir de uma curva padrão de ácido gálico ($y = 83,532x - 0,5777$ e

$R^2 = 0,99$) e expresso em microgramas de equivalente de ácido gálico (EAG) por miligrama de extrato liofilizado.

Os flavonoides totais foram determinados usando o método de cloreto de alumínio^[13]. Para o ensaio foram adicionados 0,6 mL de amostra, 2,4 mL de solução cloreto de alumínio a 0,1% em tubo de ensaio e deixados por 30 min na ausência de luz. Após este período foram realizadas leituras a 420 nm em espectrofotômetro. Para o branco foi utilizado água destilada no lugar da amostra. Os resultados foram calculados a partir de uma curva padrão de rutina ($y = 189,87x - 3,5841$ e $R^2 = 0,99$) e expresso em microgramas de equivalente de rutina (ERT) por miligrama de amostra seca.

Avaliação da capacidade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada pelo método de sequestro do radical DPPH (2,2-difenilpicril-hidrazila) conforme estudos de Brand-Williams *et al.*^[14], com algumas modificações. A mistura reacional foi composta pela adição de 2,4 mL de solução etanólica de DPPH ($29 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) a 0,6 mL de amostra. Foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 516 nm até a absorbância se manter constante (80 min). Foram realizadas diferentes concentrações da amostra diluída em etanol, um branco apenas com etanol e um controle negativo usando etanol em substituição a amostra. A análise foi realizada em triplicata. O resultado foi expresso em EC50 (Concentração em $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ da amostra necessária para reduzir 50% do radical), o qual foi calculado por regressão linear da concentração dos extratos pela atividade antioxidante (%).

A capacidade antioxidante pelo método de sequestro do radical ABTS foi determinada conforme metodologia descrita por Re *et al.*^[15] modificada por Rufino *et al.*^[16]. A solução estoque do radical ABTS foi composta por 7 mM de ABTS com 140 mM de persulfato de potássio diluído em água, e a mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 16 h. Posteriormente, o radical foi diluído em etanol até obter uma absorbância de 0,80 no comprimento de onda de 734 nm. Para o ensaio, foram adicionados 15 μL do extrato e 1500 μL da solução radical ABTS, homogeneizados em agitador de tubos, e a leitura realizada em espectrofotômetro a 734 nm após 6 min de reação. Foi realizado um controle negativo substituindo o volume da amostra por solvente. O resultado foi expresso em EC50 (Concentração em $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ da amostra necessária para reduzir 50 % do radical), o qual foi calculada por regressão linear da concentração dos extratos pela atividade antioxidante (%).

Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como média seguida do desvio padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e para comparações entre as médias foi utilizado o teste de Tukey ($p < 0,05$) utilizando o software Minitab 16.

Resultados e Discussão

As análises descritas na **TABELA 1** resultaram em valores médios quanto ao teor de compostos fenólicos presentes no resíduo de Maçaranduba em diferentes métodos de extrações, sendo que o ultrassom apresentou a maior concentração de fenólicos totais $48,02 \pm 0,16 \mu\text{g}$ de EAG/ mg com diferença significativa, seguido do método de percolação, soxhlet e autoclave. Para o teor de flavonoides totais,

observou-se que o método por ultrassom assistida extraiu significativamente os flavonoides que os demais métodos, apresentando média de $55,47 \pm 0,15 \mu\text{g}$ de ERT/mg.

TABELA 1: Teor de fenólicos totais e Flavonoides Totais de extratos do resíduo de Maçaranduba (*Manilkara huberi* (Ducke) Standl.) por diferentes métodos de extrações.

Método de Extração	Fenólicos Totais (μg de EAG/ mg)	Flavonoides Totais (μg de ERT/mg)
Percolação	$43,53 \pm 0,27^b$	$6,16 \pm 0,61^c$
Ultrassom	$48,02 \pm 0,16^a$	$55,47 \pm 0,15^a$
Autoclave	$29,79 \pm 0,14^d$	$5,43 \pm 0,53^c$
Soxhlet	$36,96 \pm 0,50^c$	$12,9 \pm 10,95^b$

*Letras diferentes apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Ao analisar o cerne da madeira de *Manilkara huberi* (Ducke) Standl., proveniente do estado do Pará^[3], verificou-se a presença de esteroides, terpenóides, saponinas e flavonoides, onde foram identificados 12 compostos: ácido hexadecanoico (rendimento de 3,06%), ácido dodecanoico (1,43%), ácido decanoico (10,91%), hexadecanoato de metila (7,56), hexanoato de benzila (1,85%), benzoato de benzila (7,13%), benzoato de 2- metilfenila (6,05%), 2-fenil-dodecano (0,87), 4-fenil-dodecano (0,88%), benzaldeído (28,65%), 2,4-uncadecadienal (18,83%) e álcool benzílico (35,80%). Apresentando alguns desses compostos atividade antioxidante.

A determinação da atividade antioxidante pelo sequestro do radical dada em EC50 é a concentração mínima necessária, para o antioxidante reduzir em 50% a concentração inicial do radical. Desta forma, quanto menor o seu valor, maior é a capacidade antioxidante dos compostos presentes. De acordo com esta afirmativa, os resultados descritos na **TABELA 2** mostram que a melhor capacidade de redução do radical livre foi apresentada pelo método de extração Ultrassom e Soxhlet, com médias de 0,70 e 0,75 mg, respectivamente. Resultados com potencial antioxidante inferior aos descritos neste trabalho, foram encontrados em extratos de *Manilkara sapota* Van Royen apresentando médias entre 1,77 e 1,02 EC50 (mg)^[17].

A capacidade de redução do radical ABTS expressa em EC50 avaliada nos resíduos de Maçaranduba aponta que não houve diferenciação entre os resultados dos extratos autoclave e soxhlet com médias de 5,35 e 5,37 em EC50. O mesmo ocorreu com os extratos percolação e ultrassom apresentando médias entre 4,59 e 4,46 mg, sendo possível observar que os mesmos obtiveram os menores valores de EC50, demonstrando possuir a maior capacidade antioxidante com relação aos outros métodos extrativos.

TABELA 2: Atividade Antioxidante de extratos do resíduo de Maçaranduba em diferentes métodos de extração.

Método de Extração	ABTS (EC50 mg)	DPPH (EC50 mg)
Percolação	$4,59 \pm 0,18^b$	$0,81 \pm 0,04^b$
Ultrassom	$4,46 \pm 0,14^b$	$0,70 \pm 0,02^c$
Autoclave	$5,35 \pm 0,21^a$	$0,91 \pm 0,04^a$
Soxhlet	$5,37 \pm 0,32^a$	$0,75 \pm 0,02^{bc}$

*Letras diferentes apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Existem diversos fatores que interferem nos resultados das análises e estão estritamente correlacionados como, por exemplo, a polaridade do solvente, a temperatura de extração e o tipo de composto extraído^[18]. Portanto, quando são comparados diferentes métodos de extração é necessário considerar a composição de cada extrato obtido, pois cada método vai apresentar diferentes combinações de compostos no extrato obtendo, por conseguinte, diferentes bioatividades.

De acordo com os resultados obtidos, podemos afirmar que o método de extração por Ultrassom teve destaque positivo nas análises, e uma das hipóteses para essa relevância seria a de que no método ocorre um fenômeno de cavitação que é gerado através da formação e implosão de bolhas de gás dissolvido no meio, podendo atingir fortemente a matriz sólida e causar a desintegração de células vegetais, o que gera efeitos no processo de extração, melhorando a difusão do solvente e a transferência de massa dos compostos, diminuindo o tempo de extração e aumentando a eficiência do processo^[19]. Além disso, esse método possibilita o uso de pouca quantidade de solvente, temperatura branda, equipamento barato, procedimento simples e rápido.

O método de extração Soxhlet apresentou médias satisfatórias com relação aos compostos fenólicos e principalmente atividade antioxidante, demonstrando diferença em relação aos outros métodos que tiveram uma maior notoriedade devido ao etanol extrair tanto substâncias com caráter apolar quanto polar, além da influência do tempo de extração e a temperatura, pois muitas substâncias são termolábeis e outras podem sofrer modificações estruturais irreversíveis em exposição a altas temperaturas durante a extração^[20,21,22].

O método de Percolação apontou resultados abaixo do esperado para as análises de flavonoides, ABTS e DPPH. Este comportamento pode ser relativo à elevada quantidade de solvente evaporado durante a passagem do líquido extrator através da matriz vegetal^[23].

A extração feita pela metodologia de alta pressão utilizando a autoclave foi a menos eficiente, apresentando menores resultados para fenólicos, flavonoides e capacidade antioxidante dentre todas as amostras analisadas. Esses resultados podem estar relacionados com a alta temperatura empregada na extração, que foi de 121°C, o que levou à degradação térmica dos compostos fenólicos termossensíveis presentes na matriz vegetal das amostras de *Manilkara huberi* (Ducke) Standl.

Pesquisas relacionadas à presença de fenólicos totais, flavonoides totais, DPPH e ABTS, em diferentes métodos de extração do resíduo madeireiro de *Manilkara huberi* (Ducke) Standl., ainda são escassas na literatura. Outras espécies florestais do gênero *Manilkara* foram estudadas e comprovou-se a presença destes metabólitos secundários em partes dessas árvores como folhas, frutos, cerne e madeira ^[24,25].

Conclusão

Assim, o resíduo florestal de Maçaranduba (*Manilkara huberi* (Ducke) Standl.) apresentou compostos bioativos em sua matriz, sendo a extração assistida por ultrassom o melhor método para extrair os compostos fenólicos e flavonoides e obter uma maior capacidade antioxidante, quando comparado aos métodos de extração por Soxhlet, Percolação e Autoclave.

Agradecimentos

À Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, pelo financiamento da pesquisa.

Referências

1. Hirai EH, Carvalho JOP, Pinheiro KAO. Estrutura da população de maçaranduba (*Manilkara huberi* Standley), em 84 ha de floresta natural na fazenda Rio capim, Paragominas, PA. **Rev Ciên Agr.** 2008; 49(1): 65-76. ISSN 2177-8760.
2. Brasil. IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Banco de dados de madeiras brasileiras.** Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 14 nov. 2019.
3. Gomes, PB. **Química e atividade antimicrobiana de *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. (maçaranduba).** Recife, 2006. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial] - Universidade Federal de Pernambuco, UFPE. Recife-PE, 2006. [\[Link\]](#).
4. Molina JC, Neto CC, Christoforo AL. Resistência à tração de emendas dentadas de madeira de *Manilkara huberi* para o emprego em madeira laminada colada. **Amb Const.** 2016; 16 (1): 221-227. ISSN 1415-8876. [\[CrossRef\]](#).
5. Fontes PJP. **Auto-suficiência Energética em Serraria de Pinus e Aproveitamento dos Resíduos.** Curitiba, 1994. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal] - Universidade Federal do Paraná, UFPR. Curitiba-PR, 1994.
6. Mady FTM. **Conhecendo a madeira: informações sobre 90 espécies comerciais.** SEBRAE - Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico. Manaus-AM, 2000, 212 p.
7. Melo LES. **Estudo químico de resíduos madeireiros de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) G. Nicholson, *Acacia mangium* (Willd.) e *Dipteryx polyphylla* Huber.** Manaus, 2016. 224 f. Tese de Doutorado [Programa de Pós-Graduação em Química] - Universidade Federal do Amazonas, UFAM. Manaus-AM, 2016.
8. Fernandes CP. **Estudo fitoquímico e biológico da espécie vegetal *Manilkara subsericea* (Mart.) Dubard.** Niterói, 2011. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos Para Saúde] - Universidade Federal Fluminense, UFF. Niterói-RJ, 2011.
9. Rates SMK. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Rev Bras Farmacogn.** 2001; 11(2): 57-59. ISSN 0102-695. [\[CrossRef\]](#).
10. Schenkel LC, Gosmann G, Petrovick PR. **Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos.** In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. 2003; p. 371-400.
11. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, De Melo JCP, Mentz LA, Petrovick PR. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5ª ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. 2004.
12. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin- Ciocateau reagent. **Meth Enzymol.** 1999; 299: 152- 78. [\[CrossRef\]](#).
13. Schmidt e Ortega G. Passionsblumenkraut: Bestimmung des Gesamt flavonoid gehaltes on *Passiflorae herba.* **Deut Apoth Zeitung.** 1993; 47: 17-26. ISSN 0011-9857.

14. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol*. 1995; 28(1): 25-30. ISSN 0023-6438. [[CrossRef](#)].
15. Re R, Pelegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999; 26 (9-10): 1231-1237. ISSN 0891-5849. [[CrossRef](#)].
16. Rufino MSM *et al*. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Embrapa Agroindústria Tropical. **Comunicado Técnico 125**, 2006, 4 p. Disponível em: [[Link](#)].
17. Teixeira NL, Lima AM, Silva JM, Carvalho LFM. Screening fitoquímico e avaliação do potencial de captura do radical DPPH pelos extratos de *Manilkara sapota* L. In: **Anais do VII Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação**, Palmas-TO. 2012, 8 p.
18. Dai J *et al*. A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food Chem Toxicol*. 2009; 47(4): 837-847. ISSN 0278-6915. [[CrossRef](#)].
19. Esclapez MD, García-Pérez JV, Mulet A, Cárcel JA. Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. *Food Eng Reviews*. 2011; 3(2): 108-120. ISSN 18667910. [[CrossRef](#)].
20. Karabegović, IT, Stojičević SS, Veličković DT, Todorović ZB, Nikolić NČ, Lazić ML. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Ind Crops Prod*. 2014; 54: 142- 148. ISSN 0926-6690. [[CrossRef](#)].
21. Yamini, Y. Khajeh M, Ghasemi E, Mirza M, Javidnia K. Comparison of essential oil compositions of *Salvia mirzayanii* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chem*. 2008; 108(1): 341–346. ISSN 0308-8146. [[CrossRef](#)].
22. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internat Pharm Sci*. 2011; 1(1): 98-106. ISSN 2231-5896.
23. Takeuchi TM, Leal PF, Favareto R, Cardozo-Filho L, Corazza ML, Rosa PTV, Meireles MAM. Study of the phase equilibrium formed inside the flash tank used at the separation step of a supercritical fluid extraction unit. *J Supercr Fluids*. 2008; 43(3): 447-459. ISSN 0896-8446. [[CrossRef](#)].
24. Ma J, Luo XD, Protiva P, Yang H, Ma C, Brasile MJ. Bioactive novel polyphenols from the fruit of *Manilkara zapota*. *J Nat Prod*. 2003; 66(7): 983-986. ISSN 0972-7957. [[CrossRef](#)].
25. Silva SJ. **Estudo químico em resíduos madeireiros e florestais de espécies secretoras: Bursereaceae e *Manilkara huberi***. Manaus, 2015. 125 f. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Química] - Universidade Federal do Amazonas, UFAM. Manaus-AM, 2015.

Histórico do artigo | Submissão: 02/01/2020 | Aceite: 19/10/2020 | Publicação: 31/03/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Santos MAC, Viana AFS, Silva BA, Santos AS *et al*. Avaliação de diferentes métodos de extração e atividade antioxidante de compostos bioativos do resíduo madeireiro de maçaranduba (*Manilkara huberi* (Ducke) Standl.). *Rev Fitos*. Rio de Janeiro. 2021; 15(1): 32-39. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/948>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

Ethnobotany applied to the selection of medicinal plants for agroecological crops in rural communities in the Southern End of Bahia, Brazil

DOI 10.32712/2446-4775.2021.1091

Neto Galvão, Marcelo¹; Villas Bôas, Glauco de Kruse²; Machado, Marilza³; Silva, Marcus Felipe Oliveira da¹; Boscolo, Odara Horta⁴.

¹Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Instituto de Tecnologia em Fármacos- Farmanguinhos, Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde, Plataforma Agroecológica de Fitomedicamentos (CIBS/PAF), Coleção Botânica de Plantas Medicinais (CBPM), R. Sampaio Correa, s/n, Taquara, CEP 22713-560 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

²Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Instituto de Tecnologia em Fármacos- Farmanguinhos, Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde (CIBS), Av. Comandante Guarany, 447, Jacarepaguá, CEP 22775-903, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³Ministério Público do Estado da Bahia, Rua Sagrada Família, 154, Bela Vista, CEP 45990-903, Teixeira de Freitas, BA, Brasil.

⁴Universidade Federal Fluminense (UFF), Centro de Estudos Gerais, Instituto de Biologia, *campus* Valonguinho, Centro, CEP 20940-040, Niterói, RJ, Brasil.

*Correspondência: marcelo.galvao@far.fiocruz.br.

Abstract

The present work targeted the ethnobotanical survey of medicinal plants for introduction to agroecological crops in 9 rural communities in the southern end of the state of Bahia, Brazil, as an economic and therapeutic alternative for the local populations. Prior agreement from the communities was requested and the research was submitted to the ethics committee; the registration of access to genetic heritage and associated traditional knowledge was performed. The following methodologies were used: participant observation, “snowball”, “walking in the woods”; semi-structured questionnaires and calculation of the Main Uses Concordance index (CUPc). The species were evaluated according to their origin and degree of threat. 233 species, distributed in 73 families, were cited, with emphasis on Asteraceae (27 spp.), Fabaceae (18 spp.) and Lamiaceae (16 spp.). Among these, 48% are native, 52% are naturalized and/or exotic and one vulnerable species was found (*Euterpe edulis* Mart.) and one endangered (*Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze). The CUPc revealed 25 spp. with a value equal to or greater than 50% in at least one community. These results are expected to contribute to the selection of medicinal plants that serve as an economic and therapeutic alternative for vulnerable communities, as well as in stimulating the preservation of sociobiodiversity.

Keywords: Phytotherapy. Popular medicine. Sociobiodiversity. Traditional knowledge.

Introduction

Since the beginning of human civilization, medicinal plants have been used as resources in the treatment of diseases aiming at their prevention or even the cure. The empirical knowledge about the use of these plants has been passed down until today, becoming a common practice in popular medicine^[1,2].

Although the use of medicinal plants is recurrent in popular medicine, only recently the pharmaceutical area has turned its attention to the subject. Until the mid-1980's, the pharmaceutical industry produced medicines by means of the recognition, isolation and synthesis of molecules. However, starting in the 1990s, due to the high cost of producing these drugs and the discovery of phytocomplexes, a movement began for the valorization of the traditional use of medicinal plants, as well as the development of herbal medicines^[3-5].

This valorization process was strengthened in Brazil with the implementation of the National Policy on Medicinal Plants and Herbal Plants (PNPMF)^[6] which aims to promote actions, mainly focused on *Sistema Único de Saúde* (SUS) (Unified Health System), aimed at safe and rational use of medicinal plants and herbal medicines. Specific legal instruments have also been created, such as the Resolution of the Collegiate Board of ANVISA - RDC nº 26^[7] that defines the categories of herbal medicines and traditional herbal products in addition to establishing the minimum requirements for their registration.

Even with the advent of SUS, the use of medicinal plants represents, in several Brazilian communities, the role of a sole therapeutic resource. It is believed that this practice is beneficial to human health, as long as the user has prior knowledge of its purpose, risks and benefits^[8].

This scenario has been favoring ethnobotany research focused on the area of medicinal plants. According to Fonseca-Kruel et al.^[9], this discipline can subsidize works on the sustainable use of biodiversity, through the utilization and valorization of the popular knowledge of human societies. Almasy Jr.^[10] considers that ethnobotany, besides having a multi and interdisciplinary character, seeks, together with traditional communities, comprehension of human relations with the environment and can recover management strategies. The importance of these studies, in this context, allows the recording of information connected to ethnopharmacology, as well as the environmental preservation of the different medicinal species used^[11].

It is worth mentioning that, together with these conditions, rural settlements are areas whose populations are composed of people from different regions of the country and, therefore, rich in sociobiodiversity. Thus, ethnobotanical studies also allow an evaluation of how the residents gather information brought from their places of origin with that obtained in the place where they have settled in order to adapt, in this new environment, the plants that are useful to their needs^[12].

In the southern region of the state of Bahia, some of the last fragments of the remaining Brazilian Atlantic Rainforest are concentrated, in addition to several rural communities that live in isolation from the great urban centers, representing a space for research on the traditional knowledge focused on medicinal plants species.

Despite the ecological importance of the Atlantic Rainforest areas, associated with the rich sociobiodiversity, there is very little information about the potential and dynamics of these fragments. This knowledge gap is one of the causes of the slowness in the search for medicines that have long been part of the therapy of traditional communities, not to mention the fact that the value of medicinal resources derived from plants has significant potential as an alternative economic resource for the communities in the region^[13].

In view of the issues presented, the purpose of the present work was to carry out an ethnobotanical survey in rural communities and agrarian reform settlements in the southern end region of Bahia, aiming at the selection of medicinal plants to be inserted in agroecological cultivation systems as an economic and therapeutic alternative for the local populations.

Methods

Areas of study

The areas of study were chosen when the Center for Innovation in Biodiversity and Health (CIBS/Farmanguinhos/Fiocruz) was invited to participate in the Agroecological Settlements Project (PAA), articulated between the Landless Rural Workers Movement (MST) and the Support Center for Culture and Extension in Education and Environmental Conservation at the Luiz de Queiroz Superior School of Agriculture of the University of São Paulo (NACE PTECA – ESALQ/USP).

CIBS was responsible for selecting plant species of medicinal interest with the purpose of inserting them into productive systems of the MST agroecological settlements (Bela Manhã, José Martí, Antônio Araújo, Jaci Rocha, Herdeiros da Terra, Abril Vermelho e São João) and in two rural communities (Ribeirão and Pouso Alegre). These areas are distributed in four municipalities in the southern end of Bahia: Itamaraju, Alcobaca, Prado and Teixeira de Freitas.

The southern end of Bahia is a region that is classified by the State of Bahia both as an identity territory, due to its cultural diversity, and as one of the main economic regions of the state. The southern end is composed of twenty one municipalities and its borders are demarcated as follows: to the North, Southwest of Bahia and the South Coast of Bahia; to the South, with the State of Espírito Santo; to the West, with the State of Minas Gerais; and, to the East, with the Atlantic Ocean^[14].

This region is also known for its low Human Development Index (IDH), economies based on agriculture, monoculture of eucalyptus and problems with unemployment and violence. The monitoring of health conditions shows a large proportion of rural deaths without medical assistance, making clear the lack of inclusion of these communities in public health policies^[15].

Sampling and data analysis

The data were collected from June 2016 to June 2017. At the beginning of the work, a meeting was organized with each of the nine communities in order to present the project and its objectives. In these meetings, the statement of prior consent was presented, and the consent of the community was also requested for the development of the work.

The project was submitted to the Research Ethics Committee of the Oswaldo Cruz Institute (IOC) of Fiocruz (Resolution 196/96 of the National Health Council) through *Plataforma Brasil*, and was approved and registered as CAAE: 56440416.6.000.5248. Since the project accesses genetic patrimony (PG) and Associated Traditional Knowledge (TK), according to Law 13,123/2015, it was also registered in the National Management System for Genetic Patrimony and Associated Traditional Knowledge (SISGEN) of the Management Council for Genetic Patrimony, receiving the following registration: AA79350.

The selection of respondents to carry out the ethnobotanical survey began through indications from the communities in the first meetings and then proceeded with the snowball method^[16].

In the fieldwork, aiming to collect information on medicinal plants and socioeconomic aspects of the communities, direct observation^[17] was applied along with semi-structured interviews based on a form. The collection of plant species was carried out after the interviews, with the respondents follow-up, using the “walking in the woods” method ^[18,19]. The plant species were herborized, assembled, identified and incorporated into the herbarium: Fiocruz’s Botanical Collection of Medicinal Plants (CBPM). The botanic identifications were performed by comparison with the material deposited at CBPM; In the herbarium of the Botanical Garden of Rio de Janeiro (RB); by consulting the relevant literature and specialists.

The spelling of the scientific names was checked using the database of *Flora do Brasil 2020*^[20]. For the listing of the taxa, the APG IV (2016)^[21] was followed.

In order to understand the relationship between conservation and indication of medicinal plants, we sought to classify the species according to their origin and degrees of threat by consulting the database of *Flora do Brasil 2020*^[20] and of National Flora Conservation Center (CNCFlora), respectively^[22].

Aiming to select, among the total species of the survey, which should be indicated for insertion in agroecological productive systems, we chose to favor the ones that presented the highest rate of Main Uses Concordance index (CUPc)^[23]. The final selection included species with a CUPc equal to or greater than 50% in at least one of the communities studied and was later compared with the list of medicinal plants of interest to the Unified Health System (Rénisus)^[24].

Results and Discussion

Altogether, 180 people were interviewed, citing 233 species of medicinal plants distributed in 73 botanical families (**TABLE 1**), and the most representative ones were: Asteraceae (27 species); Fabaceae (18 species); Lamiaceae (16 species); Euphorbiaceae (9 species); Solanaceae (9 species) e Myrtaceae (8 species). According to Guarim Neto et al.^[25], the greater the number of species in a botanical family, the greater the possibility that they will be used by human populations using flora resources. Galvão et al.^[26], however, believe that this probability can increase according to the presence of a great number of species of economic importance or of easy harvesting of the parts used, mainly for medicinal purposes. Consequently, the tendency of the presence of the Asteraceae, Fabaceae and Lamiaceae families can be justified among the most cited families in a large part of the ethnobotany works involving medicinal plants.

TABLE 1: List of species cited by the respondents: Botanical Family/Scientific Names; Use Indication and Popular Name.

Botanical Family / Scientific Names	Use Indication	Popular Name
Acanthaceae		
<i>Justicia gendarussa</i> Burm.f.	body aches	abre-caminho
<i>Justicia pectoralis</i> Jacq.	fever, flu, body aches	anador, imburaninha
Adoxaceae		
<i>Sambucus nigra</i> L.	chickenpox, measles, bronchitis	sabugueiro
Alismataceae		

<i>Echinodorus grandiflorus</i> (Cham. &Schltdl.) Micheli	urinary tract problems	chapéu-de-couro
Amaranthaceae		
<i>Alternanthera brasiliana</i> (L.) Kuntze	anti-inflammatory, antibiotic, colic	novalgina
<i>Amaranthus viridis</i> L.	anemia	caruru
<i>Celosia argentea</i> L.	throat inflammation	crista-de-galo
<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clemants	vermifuga	mentruz
<i>Gomphrena globosa</i> L.	fever	perpétua
<i>Pfaffia glomerata</i> (Spreng.) Pedersen	fever, flu, headache	doril
Amaryllidaceae		
<i>Allium sativum</i> L.	expectorant	alho
<i>Allium cepa</i> L.	expectorant	cebola
Anacardiaceae		
<i>Anacardium occidentale</i> L.	anti-inflammatory, wound healing and gastric problems	cajú
<i>Mangifera indica</i> L.	expectorant, accelerate labor	manga
<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi	anti-inflammatory, wound healing and skin allergy	aroeira
<i>Spondias cf. tuberosa</i> Arruda	pains and bone fracture treatment	amesca
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	thrush (<i>Candida albicans</i>)	cupuba
Annonaceae		
<i>Annona muricata</i> L.	diuretic, control high blood pressure and, diabetes	graviola
<i>Annona squamosa</i> L.	snake poison remedy	pinha
<i>Xylopia frutescens</i> Aubl.	body aches	pindaíba
Apiaceae		
<i>Coriandrum sativum</i> L.	menstrual cramps, digestive	coentro
<i>Eryngium foetidum</i> L.	thrush (<i>Candida albicans</i>) inflammation of the uterus	coentro-maranhão
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	sedative, control high blood pressure, gastric problems	erva-doce, funcho
<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Fuss	inflammation of the uterus	salsinha
Apocynaceae		
<i>Geissospermum laeve</i> (Vell.) Miers	gastric problems	doutor-embira
<i>Thevetia peruviana</i> (Pers.) K.Schum.	contusion and muscular pains	bálsamo
Araceae		
<i>Xanthosoma sagittifolium</i> (L.) Schott	depurative of blood	taioaba
Arecaceae		
<i>Cocos nucifera</i> L.	gastric and kidney problems	coco
<i>Euterpe edulis</i> Mart.	snake poison remedy	jussara-branca
Aristolochiaceae		
<i>Aristolochia cymbifera</i> Mart. & Zucc.	hernia remedy	jarrinha-da-mata
Asparagaceae		
<i>Agave americana</i> L.	back problems	pita
<i>Sansevieria trifasciata</i> Prain	body aches	espada-de-são-de-jorge

Asteraceae		
<i>Acanthospermum australe</i> (Loefl.) Kuntze	vaginal discharge	lã-de-carneiro
<i>Acanthospermum hispidum</i> DC.	fever, flu, expectorant, pneumonia	maroto
<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.	sedative, control high blood pressure	marcela, macela
<i>Ageratum conyzoides</i> L.	inflammation of the uterus, gastric problems	mentraste
<i>Argemone mexicana</i> L.	expectorant, pneumonia, postpartum breathing problems	cardo-santo
<i>Artemisia absinthium</i> L.	(uterine cleansing), problems in the female reproductive system	losna
<i>Artemisia vulgaris</i> L.	menstrual cramps, problems in the female reproductive system	artemijo
<i>Baccharis crispa</i> Spreng.	gastrictract problems	carqueja
<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.	anti-inflammatory	alecrim-do-campo
<i>Bidens pilosa</i> L.	abortive, urinary tract problems,	picão, carrapicho-agulha, pico de mina
<i>Centratherum punctatum</i> Cass.	stomach ache	flor-roxa, balaio-de-velho
<i>Chaptalia nutans</i> (L.) Pol.	rheumatism	bem-me-quer
<i>Chromolaena odorata</i> (L.) R.M. King & H. Rob	swelling, anti-inflammatory	desinchadeira
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist	skin allergies	rabo-de-raposa
<i>Coreopsis grandiflora</i> Hogge x Sweet	sedative, laxative	camomila
<i>Cyrtocymura scorpioides</i> (Lam.) H.Rob.	skin allergies	peruguai
<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.	wound healing, contusions	arnica
<i>Gymnanthemum amygdalinum</i> (Delille) Sch.Bip. ex Walp.	gastric system problems	alumã
<i>Helianthus annuus</i> L.	vermifuge	girassol
<i>Lactuca sativa</i> L.	sedative	alface
<i>Pluchea sagittalis</i> (Lam.) Cabrera	erysipelas	quitoco
<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass.	eyepain, mycosis	escova-de-rato, cravinho, arrudinha
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	anemia	serralha
<i>Tagetes erecta</i> L.	bronchitis, body aches	cravo-de-defunto
<i>Tagetes minuta</i> L.	bronchitis, body aches	cravo-de-defunto
<i>Tithoniadiversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray	stomach ache	arnica, mão-de-Deus
<i>Vernonanthura polyanthes</i> (Sprengel) Vega & Dematteis	expectorant, flu	assa-peixe
Bignoniaceae		
Crescentia cujete L.		
<i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L. G. Lohmann	cough, fever	pitanga-do-mato
<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	rheumatism	ipê-amarelo
<i>Handroanthus heptaphyllus</i> (Vell.) Mattos	rheumatism, bronchitis, asthma	ipê-rosa
<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	skin allergies	cinco-folhas
<i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S.Grose	rheumatism	ipê-amarelo
<i>Mansoa alliacea</i> (Lam.) A.H.Gentry	expectorant	cipó-alho
Bixaceae		
<i>Bixa orellana</i> L.	cholesterol control	urucum, coloral
Boraginaceae		

<i>Cordia rufescens</i> A.DC.	kidney problems	baba-de-boi-árvore
<i>Symphytum officinale</i> L.	anti-inflammatory	confrei
<i>Varronia curassavica</i> Jacq.	anti-inflammatory, contusions	erva-baleeira, maria-preta
Brassicaceae		
<i>Lepidium virginicum</i> L.	cough, flu	agrião
Bromeliaceae		
<i>Ananas comosus</i> (L.) Merril	flu, asthma, bronchitis	abacaxi
<i>Tillandsia usneoides</i> (L.) L.	prostate problems	barba-de-timango
Cactaceae		
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.	anti-inflammatory	palma
<i>Pereskia grandifolia</i> Haw.	anti-inflammatory	ora-pro-nobis
Caricaceae		
<i>Carica papaya</i> L.	vermifuge	mamão
Cleomaceae		
<i>Tarenaya aculeata</i> (L.) Soares Neto & Roalson	urinary system problems	xixi-de-galinha
Combretaceae		
<i>Terminalia catappa</i> L.	backproblems, cholesterol control	amendoeira
Commelinaceae		
<i>Commelina benghalensis</i> L.	nervous system problems	marianinha-preta, emenda-nervos
Convolvulaceae		
<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	toothache, anemia	batata-doce
<i>Ipomoea carnea</i> Jacq.	asthma	zabumba
<i>Operculina macrocarpa</i> (L.) Urb.	vermifuge, depurative of blood	batata-de-purga
Costaceae		
<i>Costus scaber</i> Ruiz & Pav.	urinary system problems	cana-de-macaco
<i>Costus spicatus</i> (Jacq.) Sw.	urinary system problems	cana-de-macaco
<i>Costus spiralis</i> (Jacq.) Roscoe	urinary system problems	cana-de-macaco
Crassulaceae		
<i>Kalanchoe crenata</i> (Andrews) Haw.	flu, cough, bronchitis, respiratory system problems	saião
Cucurbitaceae		
<i>Cucurbita pepo</i> L.	laxative, vermifuge	abóbora
<i>Fevillea trilobata</i> L.	depurative of blood, gastric system problems	gindiróba
<i>Luffa cylindrica</i> (L.) M. Roem.	sinusitis	bucha
<i>Momordica charantia</i> L.	fever, flu, stomach ache	melão-de-são-caetano
<i>Sicyos edulis</i> Jacq.	control high blood pressure	chuchu
Cyperaceae		
<i>Rhynchospora speciosa</i> (Kunth) Boeckeler	pneumonia, urinary problems	capim-estrela
Dilleniaceae		
<i>Davilla rugosa</i> Poir.	swelling, skin allergies, expectorant	cipó-caboclo, mata-pasto
Dioscoreaceae		
<i>Dioscorea bulbifera</i> L.	depurative of blood	inhame

Euphorbiaceae		
<i>Cnidocolus pubescens</i> Pohl	toothache	cansação
<i>Euphorbia hirta</i> L.	diarrhea	tranca-rabo
<i>Euphorbia prostrata</i> Aiton	urinary system problems	quebra-pedra, quebra-pedra- rasteiro
<i>Euphorbia tirucalli</i> L.	wound healing, anti-inflammatory	pau-graveto, doutor- graveto
<i>Jatropha curcas</i> L.	wound healing, kidney problems	pinhão-branco
<i>Jatropha gossypifolia</i> L.	wound healing, injuries in the corner of the mouth	pinhão-roxo
<i>Jatropha multifida</i> L.	wound healing	mertiolate, rifocina
<i>Manihot esculenta</i> Crantz	wound healing, diarrhea	mandioca
<i>Ricinus communis</i> L.	cure new belly button	mamona
Fabaceae		
<i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A. C. Sm.	gastric system problems	imburana
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Bong.) Steud.	diabetes, kidney problems	pata-de-vaca-branca
<i>Bauhinia variegata</i> L.	diabetes, kidney problems	pata-de-vaca
<i>Cajanus cajan</i> (L.) Huth	flu, cold, headache	guandú, feijão-andú
<i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC.	appetit stimulant	feijão- de-porco
<i>Desmodium incanum</i> (Sw.) DC.	kidney problems	venta-de-vaca
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	kidney problems, depurative of blood	jatobá
<i>Indigofera cf. blanchetiana</i> Benth	body aches	bálsamo-do-mato
<i>Indigofera cf. suffruticosa</i> Mill.	flu, expectorant, vermifuge	sena
<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. exTul.) L. P. Queiroz	diabetes, sexual stimulant, wound healing	pau-ferro
<i>Machaerium cf. isadelphum</i> (E.Mey.) Standl.	diarrhea	sete-casaca
<i>Mimosa pudica</i> L.	whooping cough, hemorrhoid	onze-horas, mariquinha
<i>Mucuna pruriens</i> (L.) DC.	sinusitis, migraine	mucuna-preta
<i>Pterodone marginatus</i> Vogel	bronchitis, diabetes, ulcer gastritis	sucupira
<i>Senna alata</i> (L.) Roxb.	fever, flu, cough, sinusitis	fedegoso
<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link	fever, flu, cough, sinusitis	fedegoso
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.	toothache	feijão-de-corda
<i>Zornia sericea</i> Moric.	urinary system problems	arroizinho
Hernandiaceae		
<i>Sparattanthelium tupiniquinorum</i> Mart.	back problems	arco-de-barril
Lamiaceae		
<i>Aegiphila integrifolia</i> (Jacq.) B.D.Jacks.	headache	murula
<i>Leonotis nepetifolia</i> (L.) R.Br.	diabetes	cordão-de-frade, cordão-de-São- Francisco
<i>Leonurus sibiricus</i> L.	fever, flu, abortive	erva-macaé
<i>Mentha arvensis</i> L.	expectorant, post partum uterine cleansing	alevante, hortelã- miúdo
<i>Mentha piperita</i> L.	flu, expectorant and poor digestion	hortelazinho, hortelã- miúdo
<i>Mentha pulegium</i> L.	bronchitis, expectorant, gastric system problems	poejo
<i>Mentha spicata</i> L.	expectorant, post partum uterine cleansing	alevante

<i>Ocimum basilicum</i> L.		majericão, alfavaquinha-domato
<i>Ocimum carnosum</i> (Spreng.) Link & Otto ex Benth.	flu	alfavaquinha-degalinha
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	flu, poor digestion,	tiolô, alfavaca
<i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng.	anti-inflammatory, expectorant, respiratory system problems	hortelã-gordo, hortelã-grosso
<i>Plectranthus barbatus</i> Andr.	liver and stomach problems, hangover	boldo
<i>Plectranthus neochilus</i> Schltr.	liver problems, gastritis	rinzinho, boldo-do-chile
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	heart problems, control high blood pressure	alecrim
<i>Tetradenia riparia</i> (Hochst.) Codd	toothache	mirra
<i>Vitex agnus-castus</i> L.	sinusitis, sexual stimulant	pimenta-da-costa
Lauraceae		
<i>Cinnamomum verum</i> J. Presl	flu	canela
<i>Persea americana</i> Mill.	kidney problems, stomach problems	abacate
Lecythidaceae		
<i>Cariniana legalis</i> (Mart.) Kuntze	anti-inflammatory, body aches	jequitibá-rosa
<i>Eschweilera ovata</i> (Cambess.) Mart. ex Miers	diarrhea, asthma	biriba
Loranthaceae		
<i>Struthanthus flexicaulis</i> (Mart.) Mart.	cancer	agasalho-de-anú
Lythraceae		
<i>Punica granatum</i> L.	throat inflammation	romã
Malpighiaceae		
<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth	diabetes	murici-verdadeiro
<i>Byrsonima intermedia</i> A. Juss.	diabetes	murici
<i>Malpighia emarginata</i> DC.	fever, flu, control blood pressure	acerola
<i>Malpighia glabra</i> L.	fever, flu, control blood pressure	acerola
Malvaceae		
<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench	expectorant, asthma, furuncle	quiabo
<i>Abutilon</i> sp.	flu, expectorant	malva-lisa
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	anti-inflammatory, flu, expectorant	algodão
<i>Theobroma cacao</i> L.	hemorrhoids	cacau
Marantaceae		
<i>Maranta arundinacea</i> L.	diarrhea	araruta
Melastomataceae		
<i>Leandra australis</i> (Cham.) Cogn.	fever, diarrhea	remela-de-cachorro
Meliaceae		
<i>Melia azedarach</i> L.	repellent	neem
Menispermaceae		
<i>Abuta selloana</i> Eichler	fever, diarrhea and intestinal gas	buta
Moraceae		
<i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg	control high blood pressure and cholesterol	fruta-pão
<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	swelling	jaca-dura
<i>Ficus carica</i> L.	stomach ache and e liver pain	figo

<i>Ficus gomelleira</i> Kunth	stomach ache and e liver pain	figueira
<i>Maclura tinctoria</i> (L.) D. Don ex Steud.	heart problems, control high blood pressure and cholesterol	amoreira
<i>Morus nigra</i> L.	heart problems, control high blood pressure and cholesterol	amora
Musaceae		
<i>Musa paradisiaca</i> L.	diarrhea, wound healing, respiratory system problems	bananeira
Myristicaceae		
<i>Virola cf. gardneri</i> (A.DC.) Warb.	pain killer, back problems	bicuíba
Myrtaceae		
<i>Corymbia citriodora</i> (Hook.) K.D.Hil l & L.A.S. Johnson	sinusitis, rhinitis, nasal decongestant	eucalipto
<i>Eucalyptus globulus</i> Labil.	sinusitis, rhinitis, nasal decongestant	eucalipto
<i>Eugenia uniflora</i> L.	fever and flu	pitanga
<i>Plinia cauliflora</i> (Mart.) Kausel	kidney problems	jaboticaba
<i>Psidium cattleianum</i> Sabine	diarrhea	araçá
<i>Psidium guajava</i> L.	diarrhea, wound healing	goiaba
<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M.Perry	flu, cold, headache	cravo-da-índia
<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skells	diabetes, control high blood pressure and cholesterol	jamelão
Nyctaginaceae		
<i>Boerhavia diffusa</i> L.	urinary system problems	pega-pinto
<i>Bougainvillea glabra</i> Choisy	toothache	bouganville
Oxalidaceae		
<i>Averrhoa carambola</i> L.	diarrhea, control high blood pressure	carambola
Passifloraceae		
<i>Passiflora alata</i> Curtis	sedative, control high blood pressure	maracujá, maracujá-do-mato
<i>Passiflora edulis</i> Sims.	sedative, control high blood pressure	maracujá
Pedaliaceae		
<i>Sesamum indicum</i> L.	rheumatism, anemia, antitibiotic	gergelim
Phyllanthaceae		
<i>Phyllanthus amarus</i> Schumach. & Thonn.	kidney and urinary system problems	quebra-pedra
<i>Phyllanthus tenellus</i> Roxb.	kidney and urinary system problems	quebra-pedra
Phytolaccaceae		
<i>Gallesia integrifolia</i> (Spreng.) Harms	diabetes, rheumatism	pau-alho
<i>Petiveria alliacea</i> L.	rheumatism	guiné
Piperaceae		
<i>Piper aduncum</i> L.	toothache	jaborandi
<i>Piper arboreum</i> Aubl.	toothache	jaborandi
<i>Piper nigrum</i> L.	flu, cough, expectorant	pimenta-do-reino
<i>Piper umbellatum</i> L.	urinary system problems	capeba
Plantaginaceae		
<i>Plantago major</i> L.	anti-inflammatory, expectorant, problems in the female reproductive system	transagem, tansagem
<i>Scoparia dulcis</i> L.	vision problems and uterine problems	vassourinha, vassourinha-de-nossa-senhora

Poaceae		
<i>Coix lacryma-jobi</i> L.	kidney problems	milagre
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf.	sedative, control high blood pressure	capim-da-lapa, capim-de- aruanda, capim-santo
<i>Imperata brasiliensis</i> Trin.	help in child teething period	sapé
<i>Zea mays</i> L.	urinary system problems	milho
Portulacaceae		
<i>Portulaca oleracea</i> L.	toothache	onze-horas
Rosaceae		
<i>Fragaria ananassa</i> (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier	fever, gallstones	morango
<i>Rosa alba</i> L.	heart problems, control high blood pressure	rosa-branca, rosa-menina
Rubiaceae		
<i>Borreria verticillata</i> (L.) G. Mey.	diarrhea, help in child teething period	tapicuruzinho
<i>Genipa americana</i> L.	anemia	genipapo
<i>Morinda citrifolia</i> L.	diabetes, cancer	noni
Rutaceae		
<i>Citrus × latifolia</i> (Yu.Tanaka) Yu.Tanaka	flu, fever, expectorant	limão-tahiti
<i>Citrus aurantiifolia</i> (Christm.) Swingle	flu, fever, expectorant	limão-mirim
<i>Citrus aurantium</i> L.	flu, fever, headache	laranja, laranja-da-terra
<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck	flu, fever, expectorant	limão, limão-mirim
<i>Citrus reticulata</i> Blanco	fever and flu	tangerina
<i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack	mycosis	murta
<i>Ruta graveolens</i> L.	postpartum uterine cleansing and menstrual cramps	arruda
Sapotaceae		
<i>Mimus opscoriacea</i> (A. DC.) Miq.	diabetes	abricó
Simaroubaceae		
<i>Simarouba amara</i> Aubl.	prostate problems	gaxeta
Siparunaceae		
<i>Siparuna guianensis</i> Aubl.	fever, headache, rheumatism	negramina
Solanaceae		
<i>Capsicum baccatum</i> L.	hemorrhoids	pimenta-passarinho
<i>Capsicum frutescens</i> L.	erysipelas	pimenta-malagueta
<i>Nicotiana glauca</i> Graham	repellent, skinalergies	fumo
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	repellent, skinalergies	fumo
<i>Physalis angulata</i> L.	antibiotic	camapú, guanapú
<i>Solanum asperum</i> Rich.	bronchitis, flu	caçara
<i>Solanum lycocarpum</i> A. St.-Hil.	sexual stimulant	monocobil
<i>Solanum lycopersicum</i> L.	diarrhea, erysipelas	tomate
<i>Solanum paniculatum</i> L.	anti-inflammatory, diabetes, control high blood pressure	jurubeba
Talinaceae		
<i>Talinum fruticosum</i> (L.) Juss.	anemia	beldroega
<i>Talinum paniculatum</i> (Jacq.) Gaertn.	anemia	beldroega

Typhaceae		
<i>Typha domingensis</i> Pers.	hepatitis, gastritis, kidney problems	taboa
Urticaceae		
<i>Cecropia glaziovii</i> Sneath.	cough, whooping cough	embaúba-roxa
<i>Cecropia pachystachya</i> Trécul	control high blood pressure and cholesterol	embaúba-branca
<i>Pilea microphylla</i> (L.) Liebm.	control high blood pressure, uterine problems	brilhantina
Verbenaceae		
<i>Aloysia gratissima</i> (Gillies & Hook.) Tronc.	flu, fever, sedative	alfazema
<i>Lantana camara</i> L.	flu, bronchitis, expectorant	camará, chumbinho
<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson	sedative, gastric system problems	erva-cidreira, cidreira-miúda
<i>Stachytarpheta cayennensis</i> (Rich.) Vahl	gastric system problems, hepatitis and kidney problems	gervão, carqueja-do-campo
Violaceae		
<i>Pombalia calceolaria</i> (L.) Paula-Souza	vermifuge, laxative, reproductive system problems	batata-de-purga
Xanthorrhoeaceae		
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.	wound healing, burn injuries, stomach problems	babosa
Zingiberaceae		
<i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) B.L. Burt & R.M. Sm.	sedative, control high blood pressure	água-de-colônia
<i>Curcuma longa</i> L.	hepatitis, menstrual cramps	açafrão
<i>Hedychium coronarium</i> J. Koenig	labyrinthitis, control high blood pressure	lírio-branco
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	fever, flu, expectorant	gengibre

Among the respondents 114 are women and 66 are men, with ages varying between 15 to 94 years old, distributed among the following age groups: youngsters, up to 19 years old (1); adults, from 20 to 59 (100) and elderly, above 60 years old (79). Most of them declared being from the State of Bahia (77%), while 33% came from the states of Pernambuco, Ceará, Espírito Santo and Minas Gerais. Those who live in the communities of Ribeirão and Pouso Alegre claim to have lived in these localities for over 20 years, and the others have resided in the MST settlements since the date of its creation (on average 10 years at the time the survey was carried out). The predominance of women and elderly individuals may be related to the fact that, according to Viu et al. [27], women have historical and cultural value when considering the food tradition of a region and they are responsible for the health of the family and their food safety. Melo et al. [28], however, point out that elderly individuals in general are able to recognize a greater number of plants than younger ones and, therefore, they have more chances of being appointed as local specialists to be interviewed.

The respondents are primarily dedicated to agriculture as an economic activity (95%) and the average family income reaches up to one minimum wage for 91% of their families. As for the level of education, 53% claim to have elementary education, 7% secondary education and 37% did not have access to formal education. When asked about the origin of their knowledge about medicinal plants, 91% claim to have learned it with their own families and the remaining 8% with neighboring communities, including indigenous communities. Most of the respondents (88%) declare that they are regularly approached in order to indicate plants and their uses, however, this approach is restricted to relatives and neighbors who reside in the same community. Only 26% are approached by people outside their communities in order to indicate the use of medicinal

plants. According to Bandeira^[29], ethnobiological studies involving the process of knowledge transmission and acquisition are scarce, however, it may be inferred that this local knowledge is acquired and transmitted through practices and beliefs developed by adaptive processes, which are culturally transmitted between generations^[30], especially within family nuclei and among residents of a same community, as observed by Boscolo et al.^[31-33]. The transmission of the wealth of this knowledge still finds obstacles frequently cited in ethnobotany studies, such as Boscolo et al.^[31-33], in which the following are noted: the process of losing the tradition of transmitting knowledge to successor generations due to the lack of interest of children and grandchildren; the disarticulation of traditional life systems and geographical distance^[33].

Among the 233 species of medicinal plants surveyed in the 9 communities it was found, by consulting the *Flora Brasil 2020* list^[20] that 48% are considered native, 26% are naturalized and 26% are exotic. As to the level of threat consulted at the CNC Flora database^[22], it was observed that 94% of the species have no evaluation, while the others are distributed in: **Least concern** (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen; *Aristolochi acymbifera* Mart. & Zucc.; *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos; *Tillandsia usneoides* (L.) L.; *Pereskia grandifolia* Haw.; *Operculina macrocarpa* (L.) Urb.; *Hymenaea courbaril* L.; *Abuta selloana* Eichler e *Genipa americana* L.); **Near-threatened** (*Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos; *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.Sm.); **Vulnerable** (*Euterpe edulis* Mart.) and **Endangered** *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze).

The predominance of naturalized and cultivated exotic species found in the present study could be related to a trend described by Bortolotto^[33], in which human populations select plants mainly for subsistence, as in rural communities. It is also worth mentioning that many species of the medicinal plant pharmacopoeia in South America were introduced in the period of the European conquests Bennett et al.^[34] and are widely used until today. Another worrying factor in terms of conservation is the increasing anthropization of the southern end region of Bahia, where deforestation caused by large pulp and paper companies generates the loss of natural resources with the extensive eucalyptus culture^[35]. As a consequence, plant resources for medicinal use also become increasingly scarce and the production of home medicines falls into disuse, making the search for allopathic medicines grow^[25]. The presence of species at different degrees of threat observed in this study draws attention to the urgency of conducting research that values biodiversity and the traditional knowledge associated with it before these resources are lost. Thus, the importance of ethnobotany is evident for the development of sustainable exploitation of ecosystems, in contrast to the current forms of devastation^[36].

Diseases related to the gastric system, respiratory and genitourinary systems (**TABLE 1**) were the most cited. Diseases of the gastric system can be related to the lack of basic sanitation and treated water in the communities studied^[15]. The presence of a large number of citations related to the genitourinary system follows the same premise observed in Bortolotto^[33], where there was also a predominance of women in the sample and they cited species with uses related to the uterus, menstrual cramps and childbirth.

In the face of economic and infrastructure infeasibility to carry out the cultivation of the 233 species resulting from the survey, it was necessary to employ quantitative methods in order to select which would be most suitable for insertion in agroecological productive systems that could be used as therapeutic resources and also as an alternative source of income in the 9 communities studied. Therefore, it was decided to favor the ones which presented an index of concordance regarding the corrected main use (CUPc) equal to or greater than 50% in at least one of the communities in which they were mentioned (**TABLE 2**). According to Roque et al.^[37], the more respondents agree on a particular use, the greater is the probability of confirmation of this information which, in the future, may also serve as a basis for pharmacological studies.

TABLE 2: List of species with CUPc equal to or greater than 50% in at least one of the communities studied.

Scientific name	AV	AA	BM	HE	JR	JM	PA	RI	SJ
<i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) B. L. Burt & R. M. Sm.	-	-	-	-	-	-	-	54%	-
<i>Baccharis crispa</i> Spreng.	-	-	-	50%	-	-	-	-	-
<i>Borreria verticillata</i> (L.) G. Mey.	50%	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Citrus aurantium</i> L.	-	64%	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf.	50%	-	-	50%	-	57%	-	-	71%
<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clemants	-	-	53%	64%	63%	50%	50%	62%	57%
<i>Eugenia uniflora</i> L.	-	50%	-	71%	-	-	-	-	-
<i>Euphorbia prostrata</i> Aiton	-	-	67%	-	63%	-	-	-	-
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	-	78%	-	57%	56%	-	50%	-	-
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	-	57%	-	-	-	-	-	-	-
<i>Kalanchoe crenata</i> (Andrews) Haw.	-	-	-	57%	-	57%	-	-	50%
<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson	63%	50%	-	79%	81%	50%	50%	77%	57%
<i>Mentha piperita</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	54%	50%
<i>Ocimum carnosum</i> (Spreng.) Link & Otto ex Benth.	-	50%	-	-	-	-	-	54%	-
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	-	-	-	57%	-	57%	-	-	50%
<i>Operculina macrocarpa</i> (L.) Urb.	-	71%	-	-	-	-	-	62%	-
<i>Persea americana</i> Mill.	-	58%	-	79%	50%	-	-	77%	71%
<i>Phyllanthus tenellus</i> Roxb.	-	80%	-	-	-	85%	-	100%	-
<i>Plantago major</i> L.	-	-	-	57%	69%	-	50%	-	57%
<i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng.	-	-	-	-	-	50%	-	-	71%
<i>Plectranthus barbatus</i> Andr.	75%	57%	73%	79%	69%	64%	79%	69%	-
<i>Psidium guajava</i> L.	-	-	-	57%	-	-	-	-	-
<i>Punica granatum</i> L.	-	-	-	-	-	79%	-	-	-
<i>Sambucus nigra</i> L.	-	50%	-	57%	50%	-	-	-	-
<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi	-	79%	-	-	-	-	-	54%	-

AV (Abril Vermelho); AA (Antônio Araújo); BM (Bela Manhã); HE (Herdeiros da Terra); JR (Jaci Rocha); JM (Jose Marti); PA (Pouso Alegre); RI (Ribeirão) and SJ (São João).

The nine communities from the southern end of Bahia contemplated in this study live in a scenario of low income and isolation, in a region of socioenvironmental conflicts, and which until the moment of this study did not have any visibility with the local SUS. Some of these communities did not have a defined geographical delimitation or occupy the border region between two cities, creating difficulties in recognizing which municipality would be responsible for providing medical assistance to their residents. According to Pilla et al.^[38], despite the fact that SUS does reach the rural zones, it is not able to properly meet the demand of the population that seeks aid with medicinal plants. Therein resides the importance of ethnobotanical studies that revitalize and systematize the traditional knowledge associated with medicinal plants that may be used to improve the quality of these populations, since for Chaves et al.^[39], the healing properties of some plants are the only alternative that several communities have in order to treat diseases.

The introduction of the species (present on **TABLE 2**) in agroecological productive systems in the communities studied not only provides an alternative for the treatment of diseases, but it is also important for the conservation of socio-biodiversity and in the generation of income. Santilli^[40] states that agroecology is a tool for the preservation of sociobiodiversity, which in turn is an essential component of sustainable

agricultural systems. The diversification of crops in a particular ecosystem, associated with ecological factors, guarantee stability and less need for pesticides and nitrogen fertilizers. The use of knowledge and management practices of the medicinal plants held by the respondents constitute an asset of immense value for the marketing of these products [12], since according to Ethur et al. [41], there is a market for both the commercialization of teas and parts of medicinal plants *in natura* or dehydrated, as for the production of seedlings, substrates and utensils.

These products cited by Ethur et al. [41] can be sold in markets and free fairs as well as offered to municipal health departments in the southern end region of Bahia, since through the National Policy on Medicinal Plants and Herbal Plants (PNPMF), there are different political and financial actions that aim to directly stimulate Brazilian municipalities to offer medicinal plants and herbal medicines to SUS.

A result that strengthens this option for the communities studied is the fact that when comparing the selection of species with the higher CUPc with the list of medicinal plants of interest to the Unified Health System (Rénisus), it can be observed that 60% are included in the latter, namely: *Alpinia zerumbet* (Pers.) B. L. Burt & R. M. Sm.; *Baccharis crispa* Spreng.; *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants; *Eugenia uniflora* L.; *Foeniculum vulgare* Mill.; *Mentha piperita* L.; *Ocimum gratissimum* L.; *Persea americana* Mill.; *Phyllanthus tenellus* Roxb.; *Plantago major* L.; *Plectranthus barbatus* Andr.; *Psidium guajava* L.; *Punica granatum* L. and *Schinus terebinthifolia* Raddi.

It should be noted that the methodologies in ethnobotany can also help to update and improve the official lists of medicinal plants recommended by the PNPMF. In the present study we can consider the recognition of at least one species as an example of this case – *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson – that along with *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants and *Plectranthus barbatus* Andr., presented a CUPc greater than or equal to 50% simultaneously in 7 or more of the 9 communities mentioned, demonstrating its high probability of effectiveness, and however, unlike the other two, *L. alba* is not listed by Rénisus.

Conclusion

Methodologies used in ethnobotanical research, such as the concordance regarding the corrected main use (CUPc), prove to be useful in the selection of medicinal plants with a higher probability of effectiveness among the general scope of those observed in surveys. These methodologies can indicate species to be cultivated by rural communities that live in a scenario of socioeconomic vulnerability, respecting the traditional knowledge associated with them and acting as an economic and health alternative in line with the PNPMF. Other factors to be considered are the importance of these studies in stimulating the conservation and sustainable use of sociobiodiversity, as well as in updating and increasing the list of medicinal plant species that can be used by the Unified Health System.

Acknowledgements

We appreciate the contribution and support of all communities involved in the study, especially the partnership with the Landless Workers Movement (MST) of Brazil.

References

1. Dorgioni PA, Ghedini PC, Fróes LF, Baptista KC, Ethur ABM, Baldisserotto B et al. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no município de São João do Polêsine, RS, no período de agosto de 1997 a dezembro de 1998 I – Relação entre enfermidades e espécies utilizadas. **Rev Bras PI Med.** 2001; 4(1): 69-79. ISSN 1983-084X. [\[Link\]](#).
2. Moraes MEA, Santana GSM. Aroeira-do-sertão: um candidato promissor para o tratamento de úlceras gástricas. **Funcap** 2001; 3: 5-6.
3. Balbinot S, Velasquez PG, Düsman E. Reconhecimento e uso de plantas medicinais pelos idosos do Município de Marmeleiro - Paraná. **Rev Bras PI Med.** 2013; 15(4-Supl.1): 632-638. ISSN 1516-0572. [\[CrossRef\]](#).
4. Brasileiro BG, Pizzoiolo VR, Matos DS, Germano AM, Jamal CM. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no “Programa de Saúde da Família”, Governador Valadares, MG, Brasil. **Rev Bras Ciên Farmac.** 2008; 44(4): 629-636. ISSN 1516-9332. [\[CrossRef\]](#).
5. Galvão MN, Pereira ACM, Goncalves-Esteves V, Esteves RL. Palinologia de espécies de Asteraceae de utilidade medicinal para a comunidade da Vila Dois Rios, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ, Brasil. **Acta Bot Bras.** 2009; 23(1): 247-258. ISSN 0102-3306. [\[CrossRef\]](#).
6. Brasil. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.** Ministério da Saúde, Brasília. 2007. Available in: [\[Link\]](#). Accessed in: 20 Jun. 2020.
7. Brasil. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC Nº 26**, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. ANVISA, Brasília. 2014. Available in: [\[Link\]](#). Accessed in: 20 Jun. 2020.
8. Machado FRS, Pinheiro R, Guizardi FL. **As novas formas de cuidado integral nos espaços públicos de saúde.** In: Pinheiro R, Mattos RA, orgs. Cuidado: as fronteiras da integralidade. Rio de Janeiro: IMS/UERJ – CEPESC – ABRASCO, 2006. 320p. ISBN: 85-89737-24-1. [\[Link\]](#).
9. Fonseca-Kruel VS, Peixoto AL. Etnobotânica na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ, Brasil. **Acta Bot Bras.** 2004; 18(1): 177-90. ISSN 0102-3306. [\[CrossRef\]](#).
10. Almasy Jr AA. **Análise das características etnobotânicas e etnofarmacológicas de plantas medicinais na comunidade de Lavras Novas, Ouro Preto - MG.** Viçosa, 2004. Tese de Doutorado [Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia] - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2004. [\[Link\]](#).
11. Marodin SM, Baptista LRM. Plantas medicinais do Município de Dom Pedro de Alcântara, estado do Rio Grande do Sul, Brasil: espécies, famílias e usos em três grupos da população humana. **Rev Bras PI Med.** 2002; 5(1): 1-9.
12. Cunha, AS, Bortolotto IM. Etnobotânica de Plantas Medicinais no Assentamento Monjolinho, município de Anastácio, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Acta Bot Bras.** 2011; 25(3): 685-698. ISSN 0102-3306. [\[CrossRef\]](#).
13. Costa LCB, Moreira RCT, Costa RCS, Rocha EA. Abordagem Etnobotânica acerca do Uso de Plantas Medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farm Bonaer.** 2002; 21(3): 205-11. ISSN 03262383. [\[Link\]](#).
14. Cerqueira Neto SPG. **Do isolamento geográfico a globalização: contradições sobre o desenvolvimento do Extremo Sul da Bahia.** São Cristóvão, 2009. Tese de Doutorado [Programa de Pós-Graduação em Geografia] - Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão, 2009.

15. Villas-Bôas, GK, Galvão MN, Machado M, Magalhães-Fraga SAP. **Conhecimento popular de plantas medicinais do extremo sul da Bahia**. São Paulo: Expressão Popular; 2018. ISBN: 9788577433452.
16. Bernard HR. **Research Methods in Anthropology: Qualitative and Quantitative Approachs**. Oxford: AltaMira Press; 1995. ISBN 0759108684. [\[Link\]](#).
17. Marconi MA, Lakatos EM. **Fundamentos de Metodologia Científica**. São Paulo: Atlas; 2003. ISBN: 9788597010763.
18. Phillips O, Gentry AH. The Useful Plants of Tamboapata, Peru: II Additional Hypothesis Testing in Quantitative Ethnobotany. **Economic Bot**. 1993; 47(1): 33-43. ISSN-1874-9364. [\[Link\]](#).
19. Alexiades MN. **Collecting ethnobotanical data: An introduction to basic concepts and techniques**. In: Alexiades, M.N. editor. Selected guidelines for ethnobotanical research: a field manual. Nova York: New York Botanical Garden; 1996. p. 54-93. ISBN: 978-0893274047.
20. **Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Available in: [\[Link\]](#) Accessed in: 23 march 2020.
21. APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Bot J Linn Society**. 2016; 181(1): 1-20. ISSN 024-4074. [\[CrossRef\]](#).
22. **Base de Dados do Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFlora)**. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Available in: [\[Link\]](#). Accessed in: 23 march 2020.
23. Friedman J, Yaniv Z, Dafni A, Palewitch D. A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among bedouins in the Negev desert, Israel. **J Ethnopharmacol**. 1986; 16(2-3): 275-287. ISSN 0378-8741. [\[CrossRef\]](#).
24. Brasil. Ministério da Saúde. **Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (Renuis)**. Ministério da Saúde, Brasília. 2006. Available in: [\[Link\]](#). Accessed in: 20 Jun. 2020.
25. Guarim Neto G, Morais RG. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: Um estudo Bibliográfico. **Acta Bot Bras**. 2003; 17(4): 561-584. ISSN 0102-3306. [\[CrossRef\]](#).
26. Galvão MN, Esteves RL. Plantas Medicinais utilizadas pela Comunidade de Vila Dois Rios, Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil. **Bradea**. 2007; 12: 1-10. ISSN 0084-800X.
27. Viu AFM, Viu MAO, Campos LZO. Etnobotânica: uma questão de gênero? **Rev Bras Agroecol**. 2010; 5: 138-147. ISSN 1980-9735. [\[Link\]](#).
28. Melo S, Lacerda VD, Hanazaki N. Espécies de restinga conhecidas pela comunidade do Pântano do Sul, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Rodriguésia**. 2008; 59(4): 799-812. ISSN 2175-7860. [\[CrossRef\]](#).
29. Bandeira FP. Etnobotânica, educação e desenvolvimento local. In: **Anais do 59º Congresso Nacional de Botânica: Atualidades, desafios e perspectivas da botânica no Brasil**. Natal: SBB; 2008.
30. Alves EO, Mota JH, Soares TS, Vieira MC, Silva, CB. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de Dourados-MS. **Ciêñ Agrotec**. 2008; 32(2): 651-658. ISSN 1981-1829. [\[CrossRef\]](#).
31. Boscolo OH, Galvão MN. Levantamento etnobotânico de plantas ornamentais em duas comunidades da região serrana do Rio de Janeiro: implicações sobre conservação. **Divers Gest**. 2019; 3(1): 02-12. e-ISSN 2527-0044. [\[Link\]](#).
32. Boscolo OH, Galvão MN. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em duas comunidades da região serrana do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev Fitos**. 2019; 13(3): 212-231. ISSN 1808-9569. [\[CrossRef\]](#).

33. Bortolotto IM. **Plantas, Povos e Paisagens: Estudos de Casos no Pantanal Sul-Mato-Grossense**. In: Barbosa LM, Júnior NAS orgs. A botânica no Brasil: pesquisa, ensino e políticas públicas ambientais. São Paulo: Sociedade Botânica do Brasil. 2007; p. 23-227. ISBN: 9788560428014.
34. Bennett BC, Prance GT. Introduced plants in the indigenous pharmacopoeia of Northern South America. **Econ Bot**. 2000; 54: 90-102. ISSN-1874-9364. [\[CrossRef\]](#).
35. Dias, DNDL. Cultura do eucalipto na região extremo sul da Bahia e seus impactos. **Rev Cient Mult Núcleo Conhec**. 2019; Ano 4. Ed. 7. Vol. 3: 57-68. ISSN 2448-0959. [\[Link\]](#). [\[CrossRef\]](#).
36. Alves GSP, Povh JÁ. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade de Santa Rita, Ituitaba-MG. **Rev Biotemas**. 2013; 26(3): 232-242. eISSN 2175-7925. [\[CrossRef\]](#).
37. Roque AA, Rocha RM, Loiola MIB. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (Nordeste do Brasil). **Rev Bras PI Med**. 2010; 12(1): 31-42. ISSN 1516-0572. [\[CrossRef\]](#).
38. Pilla MAC, Amorozo MCM, Furlan A. Obtenção e uso das plantas medicinais no distrito de Martim Francisco, Município de Mogi Mirim, SP, Brasil. **Acta Bot Bras**. 2006; 20(4): 789-802. ISSN 1677-941X. [\[CrossRef\]](#).
39. Chaves MS, Dantas FM, Fontes LS, Chaves RS, Kinupp VF. Etnobotânica em uma comunidade ribeirinha do Careiro Castanho, AM, Brasil. **Cad Agroecol**. VII Congresso Brasileiro de Agroecologia – Fortaleza. 2011; 6(2). ISSN 2236-7934. [\[Link\]](#).
40. Santilli J. **Agrobiodiversidade e direitos dos agricultores**. 1ª ed. São Paulo: Editora Peirópolis; 2009. 520p. ISBN-13: 978-8575961575.
41. Ethur LZ, Jobim JC, Ritter JG, Oliveira G, Trindade BS. Comércio formal e perfil de consumidores de plantas medicinais e fitoterápicos no município de Itaqui – RS. **Rev Bras PI Med**. 2011; 13(2): 121-128. ISSN 1516-0572. [\[CrossRef\]](#).

Histórico do artigo | **Submissão:** 15/09/2020 | **Aceite:** 08/12/2020 | **Publicação:** 31/03/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Neto Galvão M, Villas Bôas GK, Machado M, Silva MFO, et al. Ethnobotany applied to the selection of medicinal plants for agroecological crops in rural communities in the Southern End of Bahia, Brazil. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2021; 15(1): 40-57. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1091>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

Fitoterapia na prática clínica odontológica: produtos de origem vegetal e fitoterápicos

Phytotherapy in Dentistry: plant products and phytotherapics

DOI 10.32712/2446-4775.2021.1102

Monteiro, Maria Helena Durães Alves^{1*}; Fraga, Sandra Aparecida Padilha Magalhães².

¹Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde (CIBS). Avenida Comandante Guarany, 447, prédio 10, Jacarepaguá, CEP 22775-903, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

²Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Estrada Rodrigues Caldas, 3400, Curicica, CEP 22713-731, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Correspondência: revistafitos@gmail.com.

Resumo

A Fitoterapia é uma das práticas que fazem parte da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), do Ministério da Saúde do Brasil, fazendo parte da Atenção Básica do Sistema Único de Saúde (SUS), inclusive para a Odontologia. Assim, o objetivo geral do presente trabalho foi sistematizar os principais produtos de origem vegetal com potencial terapêutico para a Odontologia, através da revisão integrativa de documentos oficiais (monografias de farmacopeias) e artigos disponíveis nas bases de dados indexadas. No total foram relacionadas 24 espécies vegetais em 35 preparações e cinco especialidades farmacêuticas, distribuídas pelas classes terapêuticas - anestésico tópico, ansiolítico, antifúngico, anti-inflamatório, antisséptico bucal, antiviral, hemostático, hidratante/protetor epidérmico e outros. Apesar das dificuldades da incorporação da Fitoterapia na prática clínica, a pesquisa, desenvolvimento e inovação, ampliam as possibilidades terapêuticas para a população, com a vantagem de apresentar baixo custo no processo de promoção da saúde, condizente com o momento atual da humanização da relação profissional/paciente, tanto nas políticas públicas quanto nas ações sociais.

Palavras-chave: Odontologia. Fitoterapia. Plantas medicinais. Saúde bucal.

Abstract

Phytotherapy is one of the practices that are part of the National Policy of Integrative and Complementary Practices (PNPIC), of the Brazilian Ministry of Health, being part of the Primary Care of the Unified Health System (SUS), including for Dentistry. Thus, the aim of this work was to systematize the main products of vegetal origin with therapeutic potential for Dentistry, through the integrative review of official documents (monographs of pharmacopoeias) and articles available in the indexed databases. In total, 24 plant species were listed in 35 preparations and five pharmaceutical specialties, distributed among the therapeutic classes - topical anesthetic, anxiolytic, antifungal, anti-inflammatory, oral antiseptic, antiviral, hemostatic,

hydrating/epidermal protector and others. Despite the difficulties of incorporating Phytotherapy into clinical practice, research, development and innovation expand the therapeutic possibilities for the population, with the advantage of presenting low cost in the health promotion process, consistent with the current moment of humanization of the professional relationship / patient, both in public policies and in social actions.

Keywords: Dentistry. Medicinal plants. Phytotherapy. Oral health.

Introdução

As plantas sempre estiveram ligadas ao cotidiano do homem que as utiliza para diversos fins, alimentício, ritualístico, ornamental e terapêutico, tanto que estima-se que aproximadamente 40% dos medicamentos atualmente disponíveis, incluindo drogas consideradas básicas e essenciais pela Organização Mundial da Saúde, foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de precursores naturais sendo 25% obtidos de espécies vegetais^[1,2].

No contexto das Práticas Integrativas e Complementares, a Fitoterapia é entendida como "terapêutica caracterizada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal"^[3,4]. Ainda, segundo esse documento, a Fitoterapia tem a vantagem de apresentar baixo custo no processo da promoção da saúde, condizente com o momento atual da humanização da relação profissional-usuário, tanto nas políticas públicas quanto nas ações sociais.

No Brasil, várias políticas públicas foram propostas e implantadas, destacando-se: a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos^[5], que inclui o estudo das plantas medicinais como uma das prioridades de investigação clínica, promovendo o desenvolvimento de uma terapêutica alternativa e complementar, com embasamento científico, pelo estabelecimento de medicamentos fitoterápicos, com base no real valor farmacológico de preparações de uso popular, à base de plantas medicinais; o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos^[6] e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde^[4].

A Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), do Ministério da Saúde, insere o uso das plantas medicinais e da Fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS)^[3, 4], mas, para Odontologia este recurso terapêutico ainda é pouco utilizado.

O reconhecimento do exercício da Fitoterapia pelo cirurgião-dentista foi regulamentado em 2008 pelo Conselho Federal de Odontologia-CFO^[7], em consonância com a Organização Mundial de Saúde^[8,9] as políticas públicas nacionais e o incremento às práticas integrativas e complementares nas áreas da saúde, que incorporam os conhecimentos técnicos, científicos e culturais necessários ao pleno desempenho do exercício profissional.

No entanto, à inclusão da Fitoterapia nos procedimentos odontológicos da Atenção Básica, no âmbito público e privado, constitui-se ainda de um desafio a ser superado, em parte, devido a falta de inserção das práticas integrativas nos cursos de graduação e escassez de treinamentos e capacitações em âmbito nacional, restringindo a sua visibilidade como terapêutica para a saúde bucal.

Ademais, as informações disponíveis sobre a utilização de plantas medicinais e produtos naturais, na maioria das vezes, não são direcionadas para a prática clínica odontológica, e tem ênfase na área médica ou nas características da espécie medicinal (monografias), o que dificulta ainda mais a sua incorporação na rotina clínica pública ou privada.

Assim, o presente trabalho visa contribuir para divulgar a possibilidade terapêutica de produtos de origem vegetal para Odontologia na prática clínica pública e/ou privada, a partir da organização sistemática dos principais dados disponíveis na literatura especializada, documentos oficiais e artigos.

Materiais e Método

No presente trabalho foi realizada uma revisão integrativa, não exaustiva, na qual foram relacionadas plantas medicinais, fitoterápicos e produtos de origem vegetal presentes em obras de referência que subsidiam a prática clínica e a prescrição (Farmacopeias, Formulários de Fitoterápicos e Mementos Terapêuticos) complementada por pesquisa de artigos científicos em bases de dados indexadas, tendo como questão norteadora o potencial terapêutico de produtos de origem vegetal (plantas medicinais e fitoterápicos) para a saúde bucal.

A revisão foi dividida em três etapas (**FIGURA 1**), a primeira etapa constituiu-se em busca pelas palavras-chave/termos (a saber: dentes, produtos para boca e garganta, sangramento gengival, cárie, placa dentária, gengivite, problemas de boca, estomatite, dor de dente entre outros) relativos à aplicação em Odontologia e/ou Saúde Bucal nas obras de referência relacionando todas as espécies vegetais citadas, na forma de planta fresca/fitoterápico/droga vegetal ou outro produto de origem vegetal. As obras de referência consultadas foram: as edições da Farmacopeia Brasileira^[10-13], o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira^[14,15], as monografias de plantas medicinais da Organização Mundial da Saúde^[16-19], Farmacopeia Portuguesa^[20], The Complete German Commission E Monographs^[21], Herbal Medicines – Expanded Commission E Monographs^[22], Monographs on the Medicinal Uses of Plant Drugs^[23, 24], PDR® for Herbal Medicines 2ª ed.^[25] e 4ª ed.^[26], Community Herbal Monographs of European Medicine Agency^[27].

Na segunda etapa, os nomes científicos das espécies citadas e as famílias botânicas foram atualizados a partir das bases de dados dos endereços eletrônicos da Lista de Espécies da Flora do Brasil^[28], Tropicos® do Missouri Botanic Garden^[29] e do The International Plant Names^[30]. A busca dos artigos e trabalhos, do período de janeiro de 2010 a dezembro de 2019, foi realizada nas seguintes bases: no portal PubMed, que engloba a MEDLINE, três bibliotecas digitais (Cochrane Library, LILACS e SciELO), e no Portal de Periódicos da CAPES, complementado pela busca manual nas citações dos estudos primários identificados quando necessário.

Na pesquisa, foram considerados todos os artigos/trabalhos científicos disponibilizados, como texto completo e gratuito nas bases, nos idiomas português, inglês e espanhol. Os descritores utilizados na consulta nessas bases de dados foram: o nome científico, em latim das espécies selecionadas, saúde bucal, oral health, a partir dos quais foram construídas as estratégias de busca.

Os critérios de inclusão para seleção dos artigos foram: (a) estudos teórico metodológicos, quantitativos ou qualitativos, que investigaram extratos ou componentes isolados das espécies; (b) os de acesso aberto e (c) com texto completo disponível. Quanto aos critérios de exclusão: (a) foram excluídos os estudos

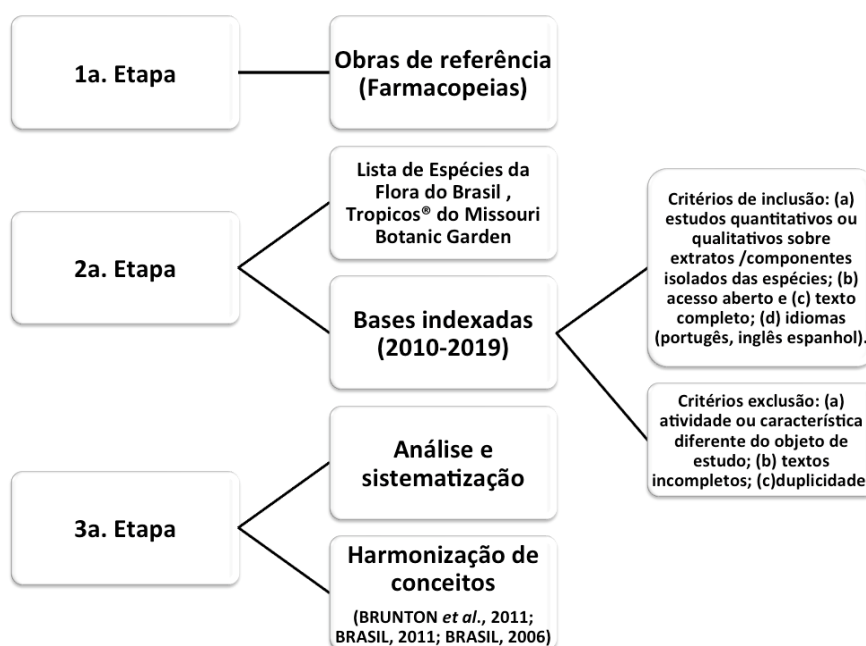
primários que citavam qualquer outra propriedade ou característica diferente da proposta do presente estudo e (b) editoriais, cartas dos autores. Os artigos em duplicidade foram eliminados.

A terceira etapa constituiu-se da análise dos dados obtidos, a fim de sistematizar as informações sobre as espécies selecionadas através da elaboração de uma planilha composta dos seguintes tópicos: espécie botânica; parte(s) da planta utilizada(s) para fins terapêuticos; perfil fitoquímico, principal(is) componente(s) isolado(s) e respectiva concentração; atividade farmacológica/toxicológica estudada e resultado(s) obtido(s).

As definições utilizadas no texto sobre classes terapêuticas^[31]; formas farmacêuticas, vias de administração, terminologia de plantas medicinais e fitoterápicos^[3] seguiram o proposto pelo Ministério da Saúde do Brasil e pela ANVISA^[32].

As especialidades odontológicas seguiram o estabelecido pelo Conselho Federal de Odontologia (CFO) no ano presente e as doenças classificadas conforme a Classificação Internacional de Doenças (CID) em Odontologia e Estomatologia (CID-OE)^[33] que se refere às doenças do aparelho digestivo, da cavidade oral, das glândulas salivares e dos maxilares.

FIGURA 1: Etapas da metodologia utilizada.



Resultados e discussão

Plantas Medicinais e Fitoterápicos

A relevância das plantas medicinais e das drogas vegetais para a saúde humana é indiscutivelmente reconhecida, sendo fonte de novos produtos e fármacos^[1,2], além da sua utilização desse recurso em terapias que constituem as variadas racionalidades médicas^[5], como a Medicina Tradicional Chinesa, Ayurveda, Homeopatia e as práticas de saúde das diferentes comunidades tradicionais e indígenas. No Brasil, em consonância com a Organização Mundial da Saúde, políticas públicas foram formuladas ao longo

dos anos^[6], e mais recentemente, com a Política e Programa de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF)^[5,6,19] e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC)^[3,4].

Demais documentos orientam o clínico nas diferentes aplicações da rotina, como, as farmacopeias oficiais: Farmacopeia Brasileira^[12-15]; Monografias de Plantas Medicinais da Organização Mundial da Saúde ^[16-19]; Farmacopeia Portuguesa^[20]; Commission E Monographs^[21,22], ESCOP^[23,24], EMA^[27], protocolos de fitoterapia^[28,29], mementos e manuais e formulários terapêuticos^[30-32] e guias de referência para prescrição^[25,26,34].

A análise dessas referências a partir do referencial teórico e com o enfoque clínico levou a organização apresentada, padronizando os nomes científicos, conceitos e definições através da consulta às bases de dados botânicas^[29,30,35] e adoção do proposto pela Farmacopeia Brasileira^[10-13], Formulário Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira^[14,15] e da bibliografia especializada^[25,32], a fim de facilitar o entendimento e harmonizar os dados obtidos.

Ao todo 24 espécies botânicas foram citadas para tratamento de problemas bucais distribuídas em 15 famílias, Asteraceae (cinco espécies); Lamiaceae (três espécies); Fabaceae, Passifloraceae e Rosaceae (duas espécies cada); Equisetaceae, Lythraceae, Malvaceae, Myrtaceae, Plantaginaceae, Poaceae, Rubiaceae, Salicaceae, Sterculiaceae e Verbenaceae (com uma espécie cada).

As espécies por família foram para: Asteraceae (arnica, *Arnica montana* L.; calendula, *Calendula officinalis* L.; camomila, *Matricaria chamomilla* L.; equinácea, *Echinacea purpurea* (L.) Moench; guaco, *Mikania glomerata* Spreng.), Equisetaceae (cavalinha, *Equisetum arvense* L.); Fabaceae (barbatimão, *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (= *Stryphnodendron barbatimam* (Vell.) Mart.); copaiba, *Copaifera* spp.), Lamiaceae (alecrim, *Rosmarinus officinalis* L.; Melissa, *Melissa officinalis* L.; salvia, *Salvia officinalis* L.); Lythraceae (romã, *Punica granatum* L.); Malvaceae (malva, *Malva sylvestris* L.); Myrtaceae (cravo-da-índia, *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry); Passifloraceae (maracujá, *Passiflora incarnata* L.; passiflora, *Passiflora edulis* Sims); Plantaginaceae (tanchagem, *Plantago major* L.); Poaceae (capim-limão, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf); Rosaceae (crataégus, *Crataegus curvisepala* Lindm.; rosa rubra, *Rosa gallica* L.); Rubiaceae (unha-de-gato, *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC., espécie nativa); Salicaceae (salgueiro branco, *Salix alba* L.); Sterculiaceae (cacao, *Theobroma cacao* L.) e Verbenaceae (alecrim-pimenta, *Lippia origanoides* Kunth (= *Lippia sidoides* Cham.).

Considerando-se as categorias citadas nas edições da Farmacopeia Brasileira^[10-13] e no Formulário Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira^[14,15], os produtos de origem vegetal usados para problemas bucais, podem ser enquadrados em plantas medicinais/droga vegetal, derivados de droga vegetal ou medicamentos fitoterápicos (TABELA 1).

TABELA 1: Plantas medicinais (nome popular e nome científico) e as referidas citações nas edições da Farmacopeia Brasileira^[10-13], e no Formulário Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira^[14].

Planta Medicinal	Referência
Alecrim <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Alecrim. Folhas. Droga vegetal, óleo essencial (FB 1ª ed.). Óleo essencial (FB 2ª ed.). Infusão (FFF1).
Alecrim-pimenta <i>Lippia origanoides</i> Kunth	Folhas. Infusão, tintura, sabonete líquido (FFF1).
Arnica <i>Arnica montana</i> L.	Raízes, flores. Extrato fluido, tintura (FB 1ª ed.). Droga vegetal (FB 3ª ed.). Infusão, gel, pomada (FFF1).

Barbatimão <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville (= <i>S. barbatimam</i> Mart.)	Barbatimão / Barba de timan / Uabatimó / Ybá timo. Casca. Extrato fluido, tintura (FB 1ª ed.). Droga vegetal (FB 2ª e 4ª ed.). Creme (FFFB1).
Cacau <i>Theobroma cacao</i> L.	Sementes. Extrato fluido, manteiga (FB 1ª ed.). Droga vegetal, droga em pó, manteiga (FB 2ª ed.).
Calêndula <i>Calendula officinalis</i> L.	Flores. Infusão, tintura, gel, creme (FFFB1).
Camomila <i>Matricaria chamomilla</i> L.	Camomila vulgar / Camomila dos alemães / Matricaria. Inflorescências, flores. Óleo essencial, extrato fluido (FB 1ª. Ed.). Droga vegetal, tintura (FB 2ª ed.). Droga vegetal (FB 4ª ed.). Infusão (FFFB1).
Capim-limão <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	Capim-limão. Folhas. Droga vegetal (FB 4ª ed.). Infusão (FFFB1).
Cavalinha <i>Equisetum arvense</i> L.	Não consta.
Copaíba, bálsamo <i>Copaifera</i> spp. (<i>Copaifera officinalis</i> (L.) Kuntze, <i>C. coriacea</i> (Mart.) Kuntze, <i>C. langsdorffii</i> (Desf.) Kuntze, <i>C. oblongifolia</i> (Mart.) Kuntze)	Bálsamo (FB 1ª ed.). Óleo essencial (FB 2ª ed.). Óleo resina (FFFB1). Pomada (FFFB1).
Crataégus <i>Crataegus curvisepala</i> Lindm.	Não consta.
Cravo-da-Índia <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M. Perry	Flores. Tintura, droga vegetal, óleo essencial, droga em pó (FB 1ª ed.). Droga vegetal, óleo essencial, droga em pó (FB 2ª ed.). Droga vegetal (FB 4ª ed.).
Equinácea <i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench	Não consta.
Guaco <i>Mikania glomerata</i> Spreng.	Guaco / Guaco liso / Guaco de cheiro / Cipó caatinga. Folhas. Tintura, extrato fluido (FB 1ª ed.). Droga Vegetal (FB 1ª e 4ª ed). Infusão, tintura, xarope (FFFB1).
Malva <i>Malva sylvestris</i> L.	Malva / Malva selavagem / Malva maior. Folhas. Droga vegetal (FB 1ª, 2ª e 4ª ed). Infusão (FFFB1).
Maracujá <i>Passiflora incarnata</i> L.	Partes aéreas secas. Infusão (FFFB1).
Melissa <i>Melissa officinalis</i> L.	Erva-cidreira / Melissa. Partes aéreas. Droga vegetal, extrato fluido, óleo essencial (FB 1ª ed.). Infusão (FFFB1).
Passiflora <i>Passiflora edulis</i> Sims	Folhas secas. Infusão, tintura. (FFFB1).
Romã <i>Punica granatum</i> L.	Romeira / Romãzeira. Madeira, raízes (FB 1ª ed.). Cascas do fruto (pericarpo) secas (FFFB1). Droga vegetal, extrato seco, droga em pó, extrato fluido (FB 1ª ed.). Infusão, tintura (FFFB1).
Rosa rubra <i>Rosa gallica</i> L.	<i>Rosa gallica</i> L. / <i>R. damascena</i> Mill. Rosa rubra / Rosa vermelha / Rosa francesa. Flores. Droga vegetal, extrato fluido, óleo essencial (FB 1ª ed.).
Salgueiro branco <i>Salix alba</i> L.	Cascas do caule secas. Decocção (FFFB1).
Salvia <i>Salvia officinalis</i> L.	Sálvia / Salva. Folhas. Droga vegetal (FB 1ª ed.). Infusão (FFFB1).
Tanchagem <i>Plantago major</i> L.	Folhas secas. Infusão, tintura (FFFB1).
Unha-de-gato <i>Uncaria tomentosa</i> (Willd.) DC.	Não consta.

Legenda: FB: Farmacopeia Brasileira^[10-13]; FFFB1: Formulário Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira^[14]. ^aOs nomes científicos foram atualizados pelo TROPICOS® (MoBot)^[29].

Do total, cinco espécies (20,83%) foram citadas apenas em formulação de fitoterápicos industrializados, cacau, crataégus, rosa rubra, salgueiro branco e a unha-de-gato.

As preparações à base de plantas, 35 no total, foram distribuídas em nove classes terapêuticas: anestésico tópico (uma preparação), ansiolítico (duas preparações), antifúngico (duas preparações), anti-inflamatório (20 preparações), antisséptico bucal (uma preparação), antiviral (quatro preparações), hemostático (uma preparação), hidratante/protetor epidérmico (três preparações) e outros (uma preparação) (**TABELA 2**).

Quanto ao número de espécies das preparações, 23 contém apenas uma, enquanto que 12 são associações de duas ou três espécies. As especialidades farmacêuticas, em cinco categorias: anti-inflamatório, antifúngico, ansiolítico, antiviral, hidratante/protetor epidérmico, com um produto cada, sendo que quatro contém apenas uma espécie vegetal, e um, associação de três espécies. O uso externo (bucal e dermatológico) prevaleceu sobre o uso interno (oral). As formas de uso dos produtos foram pomada em orabase, infusão, tintura, creme dermatológico, loção gel (**TABELA 2**).

Das relações de espécies publicadas pela ANVISA, referência para o registro de novos produtos, em um total de 18 espécies (18/65; 27,7%) constam da relação de drogas vegetais (Resolução RDC nº 10/2010, Anexo I)^[36], são elas: arnica (flores), calêndula (flores), capim-limão (folhas), cavalinha (partes aéreas), alecrim-pimenta (folhas), malva (folhas e flores), camomila (flores), melissa (sumidades floridas), guaco (folhas), maracujá-azedo (*Passiflora edulis*, folhas), maracujá (*P. incarnata*, partes aéreas), tanchagem (folhas), romã (pericarpo), alecrim (folhas), salgueiro (casca do caule), sálvia (folhas), barbatimão (casca) e unha-de-gato (entrecasca).

Na relação de medicamentos fitoterápicos constam 7 espécies (7/36; 19,4%) (Instrução Normativa nº 05/2008)^[37], arnica, calêndula, camomila, melissa, guaco, passiflora (*P. incarnata*) e salgueiro branco, a última apenas como extratos e as demais como extratos ou tintura.

Enquanto na Instrução Normativa nº 02/2014^[38] encontram-se entre os medicamentos fitoterápicos de registro simplificado, três espécies (3/27; 11,1%), equinácea (extratos), plantago (droga vegetal, casca da semente), salgueiro branco – *Salix* spp. (extratos), e nos produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado, sete espécies (7/16; 43,7%), arnica, calêndula, camomila, melissa, guaco, maracujá (*P. edulis*) e unha de gato, todas como extrato.

Considerando-se as indicações atribuídas às plantas, as que apresentaram maior número foram: a tanchagem (*Plantago major*, com seis no total); seguida por barbatimão (*Stryphnodendron barbatimam*) e calêndula (*Calendula officinalis*), com cinco indicações; copaíba (*Copaifera* spp.) e romã (*Punica granatum*), com três indicações; camomila (*Matricaria chamomilla*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), cavalinha (*Equisetum arvense*), melissa (*Melissa officinalis*) e salvia (*Salvia officinalis*), com duas indicações; e as demais plantas, com uma indicação cada (**TABELA 2**).

Esse dado concorda parcialmente com a revisão de literatura realizada por Oliveira e colaboradores^[39] sobre indicações e plantas medicinais mais utilizadas na odontologia, relacionando romã (*Punica granatum* L., dez citações), altéia (*Althaea officinalis* L., oito citações), sálvia (*Salvia officinalis* L., oito citações), calêndula (*Calendula officinalis* L., oito citações), malva (*Malva sylvestris* L., sete citações) e tanchagem (*Plantago major* L., seis citações) (**TABELA 2**).

TABELA 2: Resumo das plantas medicinais e fitoterápicos citados relacionando a(s) indicação(ões) e função(ões) para Odontologia.

	Nome Popular	Nome Científico ^a	Indicações e Funções
1.	Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Lamiaceae)	Candidíase e ardência bucal. Pomada orabase (associada ao capim-limão, 5% cada). Uso externo.
2.	Alecrim-pimenta	<i>Lippia origanoides</i> Kunth (= <i>Lippia sidoides</i> Cham.) (Verbenaceae)	Anti-inflamatório. Infusão ou tintura 20% como colutório para uso externo.
3.	Arnica	<i>Arnica montana</i> L. (Asteraceae)	Edema na face. Creme a 10% para uso externo.
4.	Barbatimão	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville (= <i>Stryphnodendron barbatimam</i> (Vell.) Mart.) (Fabaceae)	Alveolite maxilar. Tintura a 20% para uso externo (lavagem local). Úlcera aftosa recidivante e úlceras traumáticas. Pomada em orabase (em associação com tanchagem, 5% cada). Hiperplasia fibrosa inflamatória (pré e pós-operatório), anti-inflamatório na gengivite e nas doenças periodontais. Tintura (em associação com tanchagem e calêndula). Hemostático, cicatrizante. Tintura (em associação com tanchagem e cavalinha). Hidratante e protetor epidérmico. Pomada em orabase (em associação a calêndula, 5% cada). Todas as preparações para uso externo.
5.	Calêndula	<i>Calendula officinalis</i> L. (Asteraceae)	Anti-inflamatório. Infusão ou tintura 10% como colutório. Fístula na pele e processos inflamatórios da face. Creme a 10%. Hiperplasia fibrosa inflamatória (pré e pós-operatório), anti-inflamatório na gengivite e nas doenças periodontais. Tintura (em associação com tanchagem e barbatimão). Hidratante e protetor epidérmico. Pomada em orabase (em associação ao barbatimão, 5% cada) e em loção gel (em associação à camomila, 5% cada). Hidratante labial e na queilite (actínica e angular) em associação à cavalinha (5% cada). Todas as preparações para uso externo.
6.	Camomila	<i>Matricaria chamomilla</i> L. (Asteraceae)	Candidíase. Tintura 20%. Exfoliação dentária em crianças. Pomada em orabase à 5%. Hidratante, protetor epidérmico. Loção gel (em associação à calêndula, 5% cada). Todas as preparações para uso externo.
7.	Capim-limão	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf (Poaceae)	Tratamento da ansiedade. Tintura a 20% para uso interno. Candidíase e ardência bucal. Pomada orabase (associada ao alecrim, 5% cada) para uso externo.
8.	Cavalinha	<i>Equisetum arvense</i> L. (Equisetaceae)	Hemostático, cicatrizante. Tintura (em associação com tanchagem e barbatimão). Hidratante labial e na queilite (actínica e angular). Hidratante (em associação à calêndula, 5% cada). Todas as preparações para uso externo.
9.	Copaíba	<i>Copaifera</i> spp. (Fabaceae)	Fístula na pele sem secreção. Creme (em associação com calêndula e barbatimão) para uso externo. Anti-inflamatório em processos agudos e procedimentos cirúrgicos. Cápsula do óleo 250 mg para uso interno. Curativo endodôntico e alveolite maxilar. Associado ao hidróxido de cálcio.
10.	Cravo-da-Índia	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M. Perry (Myrtaceae)	Anestésico local e antisséptico bucal. Óleo essencial em solução aquosa (1-5%) como colutório. Para uso externo.

11.	Equinácea	<i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench (Asteraceae)	Herpes labial recorrente. Tintura a 20% para bochecho. Gel (em associação à melissa, 5% cada). Todas as preparações para uso externo.
12.	Guaco	<i>Mikania glomerata</i> Spreng. (Asteraceae)	Antisséptico bucal, controle da placa bacteriana. Tintura a 20% para bochecho, uso externo.
13.	Malva	<i>Malva sylvestris</i> L. (Malvaceae)	Anti-inflamatório e antisséptico. Infusão (flores e folhas) como colutório para uso externo.
14.	Melissa	<i>Melissa officinalis</i> L. (Lamiaceae)	Tratamento da ansiedade. Tintura para uso interno (associada à passiflora, 5% cada). Herpes labial. Creme a 10% ou gel (em associação à equinácea, 5% cada) para uso externo.
15.	Passiflora	<i>Passiflora edulis</i> Sims (Passifloraceae)	Tratamento da ansiedade. Tintura para uso interno (associada à melissa, 5% cada).
16.	Romã	<i>Punica granatum</i> L. (Lythraceae)	Anti-inflamatório e antisséptico. Infusão (cascas) como colutório. Úlcera traumática; estomatite, pericoronarite leve, abscesso periodontal, gengivite. Tintura (em associação à tanchagem). Gengivo-estomatite herpética aguda primária e manifestações bucais de viroses. Spray (em associação à tanchagem) Todas as preparações para uso externo.
17.	Salvia	<i>Salvia officinalis</i> L. (Lamiaceae)	Anti-inflamatório e antisséptico. Infusão (folhas) como colutório para uso externo.
18.	Tanchagem	<i>Plantago major</i> L. (Plantaginaceae)	Anti-inflamatório e antisséptico. Infusão (partes aéreas) ou tintura a 10% (folhas) como colutório. Doenças periodontais agudas e crônicas, abscessos periapicais, aftas bucais e herpes, preparação para cirurgias e dor de dente. Tintura a 10% (folhas) como colutório. Úlcera aftosa recidivante e úlceras traumáticas. Pomada em orabase (em associação com barbatimão, 5% cada) e tintura (em associação com romã). Hiperplasia fibrosa inflamatória (pré e pós-operatório), anti-inflamatório na gengivite e nas doenças periodontais. Tintura (em associação com barbatimão e calêndula). Gengivo-estomatite herpética aguda primária (GEHAP) e quadros bucais de viroses. Spray (em associação à romã). Hemostático, cicatrizante. Tintura (em associação com barbatimão e cavalinha). Todas as preparações para uso externo.

^aOs nomes científicos foram atualizados pelo TROPICOS® (MoBot)^[29].

Das 24 espécies, cinco (20,83%) são nativas como: guaco, copaíba, passiflora, alecrim-pimenta e barbatimão, esta última também endêmica do Brasil. A tanchagem e o capim-limão são naturalizados (duas espécies, 8,3%), representando a importância de ampliar o estudo do potencial de espécies brasileiras em seus Biomas. No entanto, é importante ressaltar que se fossem considerados estudos apenas de enfoque etnobotânico esse número poderia ser maior.

Todas as plantas encontram-se citadas e referidas em pelo menos uma das farmacopeias oficiais, portanto, são passíveis para prescrição odontológica como o respaldado pela legislação (**TABELA 3**). Na Farmacopeia Brasileira, quatro espécies não constam de nenhuma das suas edições, cavalinha, crataégus, equinácea e unha-de-gato (**TABELA 1**). Nas demais farmacopeias e referências (**TABELA 3**), todas as espécies foram citadas em mais de uma, sendo o maior número encontrado na Comissão E^[21, 22], 16 plantas, e o menor número no PDR^[25], com 6 plantas.

TABELA 3: Plantas medicinais (nome popular, nome científico e família) e monografias de farmacopeias oficiais.

Espécie (Nome Popular/ Nome científico^a)	ComE	EMA	ESCOP	FB	FFFB1	FP	PDR	WHO	TOTAL^a
Alecrim <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Lamiaceae)	+	+	+	+	+	+	-	+	7
Alecrim-pimenta <i>Lippia origanoides</i> Kunth (Verbenaceae)	-	-	-	-	+	-	-	-	1
Arnica <i>Arnica montana</i> L. (Asteraceae)	+	-	+	+	+	+	+	+	7
Barbatimão <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville (Fabaceae)	-	-	-	+	+	-	-	-	2
Calêndula <i>Calendula officinalis</i> L. (Asteraceae)	+	+	+	-	+	+	-	+	6
Camomila <i>Matricaria chamomilla</i> L. (Asteraceae)	+	+	+	+	+	+	+	+	8
Cacau <i>Theobroma cacao</i> L. (Sterculiaceae)	-	-	-	+	-	-	-	-	1
Capim-limão <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf (Poaceae)	+	-	-	+	+	-	-	-	3
Cavalinha <i>Equisetum arvense</i> L. (Equisetaceae)	+	+	-	-	-	+	-	-	3
Copaiba <i>Copaifera</i> spp. (Fabaceae)	-	-	-	+	+	-	-	-	2
Crataégus <i>Crataegus curvisepala</i> Lindm. (Rosaceae)	+	-	+	-	-	+	-	+	4
Cravo-da-Índia <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M. Perry (Myrtaceae)	+	+	-	+	-	+	+	+	6
Equinácea <i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench (Asteraceae)	+	+	+	-	-	+	-	+	5
Guaco <i>Mikania glomerata</i> Spreng. (Asteraceae)	-	-	-	+	+	-	-	-	2
Malva <i>Malva sylvestris</i> L. (Malvaceae)	+	-	+	+	+	+	+	-	6
Maracujá <i>Passiflora incarnata</i> L. (Passifloraceae)	+	+	+	-	+	+	-	+	6
Melissa <i>Melissa officinalis</i> L. (Lamiaceae)	+	+	+	+	+	+	+	+	8
Passiflora <i>Passiflora edulis</i> Sims (Passifloraceae)	-	-	+	-	+	-	-	-	2
Romã <i>Punica granatum</i> L. (Lythraceae)	-	-	-	+	+	-	-	-	2
Rosa rubra <i>Rosa gallica</i> L. (Rosaceae)	+	+	+	+	-	-	-	-	4
Salgueiro branco <i>Salix alba</i> L. (Salicaceae)	+	+	-	-	+	-	-	+	4
Salvia <i>Salvia officinalis</i> L. (Lamiaceae)	+	+	+	+	+	+	+	-	7
Tanchagem <i>Plantago major</i> L. (Plantaginaceae)	-	-	+	-	+	-	-	-	2

Unha-de-gato <i>Uncaria tomentosa</i> (Willd.) DC. (Rubiaceae)	+	+	-	-	-	-	-	+	3
TOTAL ^b : 24	16	13	13	14	17	12	6	11	-

Legenda: (+) Citada (-) Não citada.

Com E, The Complete German Commission E Monographs^[21,22]; EMA, Community Herbal Monographs of European Medicine Agency^[27]; ESCOP, Monographs on the Medicinal Uses of Plant Drugs^[23,24]; FB, Farmacopeia Brasileira^[10-13]; FFFB1, Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira^[14]; FP, Farmacopeia Portuguesa^[20]; PDR, PDR[®] for Herbal Medicines 2^a ed.^[25]; WHO, Monographs on Selected Medicinal Plants^[16-19]. Total^a, número total de monografias da espécie vegetal nas referências indicadas; Total^b, número total de monografias / referência.

^aOs nomes científicos foram atualizados pelo TROPICOS[®] (MoBot)^[29].

Considerando o fornecimento dos fitoterápicos, nas unidades da rede do SUS que oferecem Atenção Básica, aqueles relacionados no RENAME (Relação Nacional de Medicamentos Essenciais)^[40] são garantidos nas unidades tem a Fitoterapia como Prática Integrativa e Complementar. No entanto, na listagem publicada em 2014, nenhuma das espécies tem indicação para Odontologia, e apesar de três delas (guaco, salgueiro e unha-de-gato) poderem ser usadas para problemas bucais, a especialidade farmacêutica é distinta.

Naquelas que possuem Farmácias Vivas a realidade é um pouco diferente, visto que os profissionais têm acesso a uma variedade maior de produtos de origem vegetal, facilitando a prescrição e acesso do usuário.

Especialidades Farmacêuticas

As especialidades farmacêuticas (EF), cujas espécies estão relacionadas nas **TABELAS 4 e 5**, medicamentos fitoterápicos industrializados e comercializados em farmácias e drogarias têm registro na ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) como: fitoterápico simples (EF-1^[41]), medicamento fitoterápico (EF-2^[42], EF-3^[43] e EF-4^[44]) e medicamento de notificação simplificada (EF-5, Mel-rosado^[45]), e a manteiga de cacau isenta de registro (EF-6).

TABELA 4: Relação das especialidades farmacêuticas registradas, citadas relacionando o(s) respectivo(s) nome(s) científico(s) da(s) planta(s) utilizada(s).

	Especialidade / Laboratório	Categoria ANVISA / Registro	Espécie (Nome Popular/ Nome científico ^a)
1.	EF 1	Fitoterápico simples	Camomila (<i>Matricaria chamomilla</i> L.)
2.	EF 2	Medicamento Fitoterápico	Maracujá (<i>Passiflora incarnata</i> L.) + Salgueiro branco (<i>Salix alba</i> L.) + Crataégus (<i>Crataegus curvisepala</i> Lindm.)
3.	EF 3	Medicamento Fitoterápico	Unha de gato (<i>Uncaria tomentosa</i> (Willd.) DC.)
4.	EF 4	Medicamento Fitoterápico	Camomila (<i>Matricaria chamomilla</i> L.)
5.	EF 5	Medicamento de Notificação Simplificada	Flores rubras (<i>Rosa gallica</i> L.)
6.	EF 6	Isento	Manteiga de cacau (<i>Theobroma cacao</i> L.)

^aOs nomes científicos foram atualizados pelo TROPICOS[®] (MoBot)^[29].

Tabela 5: Resumo das plantas medicinais das especialidades farmacêuticas registradas, citadas relacionando a(s) indicação(ões) e função(ões) para Odontologia.

	Espécie (Nome Popular/ Nome científico^a)	Especialidade	Indicação
1.	Cacau, mateiga de (<i>Theobroma cacao</i> L., Sterculiaceae)	EF-6	Cicatrização e hidratação labial. Bastão semi-sólido. Uso externo.
2.	Camomila (<i>Matricaria chamomilla</i> L., Asteraceae)	EF-1	Anti-inflamatório (gingivite, estomatite) e cicatrizante da mucosa bucal. Pomada bucal. Uso externo.
		E F-4	Dermatite de contato, eczemas (de contato, vulgar, profissional e em crianças) e dermatite atópica. Creme. Uso externo.
3.	Unha de gato (<i>Uncaria tomentosa</i> (Willd.) DC., Rubiaceae)	EF-3	Herpes labial. Gel-creme. Uso externo.
4.	Rosas rubras (<i>Rosa gallica</i> , Rosaceae)	EF-5	Estomatites, candidíase, antisséptico bucal. Solução líquida. Uso externo.
5.	Associação de – Maracujá (<i>Passiflora incarnata</i> L., Passifloraceae) Salgueiro branco (<i>Salix alba</i> L., Salicaceae) Crataégus (<i>Crataegus curvisepala</i> Lindm., Rosaceae)	EF-2	Ansiolítico leve. Adjuvante às intervenções e tratamento odontológico. Drágeas ou solução oral. Uso interno.

^aOs nomes científicos foram atualizados pelo TRÓPICOS® (MoBot)^[29].

As formas de apresentação foram: as sólidas (bastão, drágeas), semi-sólidas (creme, pomada, gel-creme) e líquida (solução oral), todas para uso externo.

Quanto às indicações terapêuticas a maioria, quatro, tem apenas uma indicação terapêutica e a EF-5, três indicações.

As especialidades EF-1 e a EF-4 tem como constituinte principal a camomila.

Indicações Terapêuticas

No que se refere às patologias, utilizando-se a Classificação CID-10 Odontológica^[33] (TABELA 6), totalizaram 24 indicações terapêuticas e 8 não enquadradas nas descrições da classificação. No primeiro grupo destacam-se as indicações para dermatite vesicular pelo vírus do herpes simples e para gengivite e doenças periodontais, e no segundo grupo, a inflamação da mucosa bucal e os antissépticos bucais com maior número de opções terapêuticas.

TABELA 6: Resumo da(s) indicação(ões) terapêuticas de acordo com a classificação da CID-10 Odontológico^[33], plantas medicinais e especialidades farmacêuticas respectivas.

Indicação terapêutica (código CID-10)	Planta medicinal/ Especialidade farmacêutica
Abscesso periapical (CÓD. K04.7)	Tintura de tanchagem (folhas) a 10% como colutório.
Abscesso periodontal (CÓD. K05.21)	Tintura de romã em associação à tanchagem.
Aftas bucais (CÓD. K12.0)	Tintura de tanchagem (folhas) a 10% como colutório.
Alterações da pele devidas a exposição crônica à radiação não-ionizante (Ressecamento labial) (CÓD. L57)	Hidratante labial de calêndula em associação à cavalinha (5% cada). Manteiga de cacau, bastão.
Alveolite maxilar (CÓD. K10.3)	Tintura de barbatimão a 20% para uso externo (lavagem local). Óleo de copaíba associado ao hidróxido de cálcio.
Inflamação da mucosa bucal ¹	Infusão ou tintura de alecrim-pimenta 20% como colutório para uso externo.

	<p>Infusão ou tintura de calêndula 10% como colutório. Cápsula do óleo de copaíba, 250 mg para uso interno, em processos agudos e nos procedimentos cirúrgicos. Infusão de malva (flores e folhas) como colutório. Uso externo. Infusão (cascas) de romã como colutório. Infusão (folhas) de sálvia como colutório para uso externo. Infusão (partes aéreas) ou tintura de tanchagem a 10% (folhas) como colutório.</p>
Antisséptico bucal ¹	<p>Óleo essencial de cravo em solução aquosa (1-5%) como colutório. Uso externo. Tintura de guaco a 20% para bochecho. Uso externo. Infusão de malva (flores e folhas) como colutório. Uso externo. Infusão (cascas) de romã como colutório. Infusão (folhas) de sálvia como colutório para uso externo. Infusão (partes aéreas) ou tintura de tanchagem a 10% (folhas) como colutório.</p>
Ardência bucal ¹	<p>Pomada em orabase de capim-limão associada ao alecrim (5% cada) para uso externo.</p>
Candidíase (CÓD. 837.0)	<p>Pomada orabase (alecrim associado ao capim-limão, 5% cada). Uso externo. Tintura de camomila 20%. Mel Rosado (Rioquímica). Pediátrico.</p>
Cicatrizante ¹	<p>Tintura de tanchagem associada ao barbatimão e a cavalinha. Pomada de extrato fluido de camomila⁴⁰. Uso externo.</p>
Curativo endodôntico ¹	<p>Óleo de copaíba associado ao hidróxido de cálcio.</p>
Dermatite vesicular devido ao vírus do herpes simples (Face, lábio) (CÓD. B00.1)	<p>Tintura de equinácea a 20% para bochecho (lesões recorrentes). Uso externo. Gel de equinácea em associação à melissa (5% cada) (lesões recorrentes). Uso externo. Creme a 10% ou gel de melissa em associação à equinácea (5% cada). Uso externo. Gel-creme de extrato das cascas de <i>Uncaria tomentosa</i>⁴³. Uso externo.</p>
Dor de dente (COD. K08.80)	<p>Óleo essencial de cravo em solução aquosa (1-5%) como colutório. Uso externo. Tintura de tanchagem (folhas) a 10% como colutório.</p>
Edema na face	<p>Creme de arnica a 10% para uso externo.</p>
Estomatite (CÓD. K12)	<p>Tintura de romã em associação à tanchagem. Pomada de extrato fluido de camomila⁴¹. Uso externo.</p>
Exfoliação de dentes (CÓD. K00.69)	<p>Pomada em orabase de camomila a 5%.</p>
Exposição a radiação ionizante	<p>Loção gel de camomila em associação à calêndula (5% cada). Creme de calêndula a 10%. Creme de copaíba em associação com calêndula e barbatimão (fistulas sem secreção). Todas para uso externo.</p>
Fístula cutânea (de origem odontogênica) (CÓD. K04.63)	<p>Tintura de capim-limão a 20%. Uso interno. Tintura de melissa associada à passiflora (5% cada). Uso interno. Drágeas/xarope de associação (maracujá, salgueiro, crataégus)⁴². Uso interno</p>
Fobia (Cuidados Odontológicos) Ranger de Dentes e bruxismo (CÓD. F45.8)	<p>Tintura de romã em associação à tanchagem. Pomada de extrato fluido de camomila⁴¹. Uso externo.</p>
Gengivite aguda (CÓD. K05.0)	<p>Tintura de barbatimão em associação com tanchagem e calêndula. Tintura de calêndula associada à tanchagem e ao barbatimão.</p>

	Tintura de tanchagem (folhas) a 10% como colutório. Pomada de extrato fluido de camomila ^[41] . Uso externo.
Gengivostomatite herpética (herpes simples) (CÓD. 800.2X)	Spray de romã em associação à tanchagem (na manifestação aguda primária). Tintura de tanchagem (folhas) a 10% como colutório.
Hemostático ¹	Tintura de tanchagem associada ao barbatimão e a cavalinha.
Edema na face	Creme de arnica a 10% para uso externo.
Hiperplasia irritativa do rebordo alveolar (pré e pós-operatório) (CÓD. K06.1)	Tintura de barbatimão em associação com tanchagem e calêndula. Tintura de calêndula associada a tanchagem e ao barbatimão.
Manifestações bucais de viroses ¹ (CÓD. K13.79)	Spray de romã em associação à tanchagem.
Pericoronarite (CÓD. K05.22)	Tintura de romã em associação à tanchagem.
Placa dentária (controle) (CÓD. K03.66)	Tintura de guaco a 20% para bochecho, uso externo.
Processos inflamatórios da face ¹	Creme de calêndula a 10%. Creme de extrato de camomila ^[44] . Uso externo
Queilite actínica (CÓD. L56.8X)	Hidratante labial de calêndula em associação à cavalinha (5% cada).
Traumatismo superficial dos lábios (CÓD. K13.09, K13.1)	Pomada em orabase de barbatimão em associação à calêndula (5% cada). Pomada em orabase de calêndula associada ao barbatimão (5% cada) e em loção gel (em associação à camomila, 5% cada).
Úlcera aftosa recidivante (COD. K12.0)	Pomada de tanchagem em orabase associada ao barbatimão (5% cada). Tintura de tanchagem associada a romã.
Úlcera traumática (CÓD. K12.04)	Pomada de tanchagem em orabase associada ao barbatimão (5% cada). Tintura de tanchagem associada a romã.

¹Indicações que não constam das descrições da CD-10^[33].

^aOs nomes científicos foram atualizados pelo TROPICOS® (MoBot^[29]).

Interações Medicamentosas e Contraindicações

De forma geral, independentemente da substância, fármaco sintético ou planta medicinal, as interações medicamentosas podem ser agrupadas em interações farmacocinéticas e farmacodinâmicas, que interferem respectivamente, nas etapas (absorção, distribuição, biotransformação ou excreção) e mecanismo de ação dos fármacos. As interações interferem e ou/comprometem alguma dessas fases ou ainda, atuam potencializando os efeitos (sinergismo), terapêuticos ou colaterais, ou resultam em efeitos opostos (antagonismo). Assim, quando dois fármacos atuam em um mesmo receptor no organismo e são administrados simultaneamente, pode ocorrer competição pelo receptor, comprometendo a ação terapêutica^[31,46].

No que diz respeito ao conhecimento sobre as interações de medicamentos fitoterápicos e plantas com drogas convencionais, ainda é relativamente recente e pouco compreendida e ainda mais escassa no âmbito da Odontologia.

No entanto, há relatos de casos clínicos controlados e estudos *in vitro* sobre o tema, dentre os quais, estudos que mostram que alguns medicamentos à base de plantas têm a capacidade de influenciar os níveis plasmáticos de drogas^[46,47], dando origem a problemas clínicos de toxicidade inesperados e subtratamento observado em diferentes grupos de pacientes.

Além disso, do ponto de vista da prática clínica são várias as informações que precisam colhidas durante a anamnese e avaliadas, a fim de antecipar a ocorrência de possíveis interações medicamentosas, como o

uso concomitante de outros medicamentos (dose, regime de dosagem, via de administração, farmacocinéticos e faixa terapêutica), utilização de outras plantas e ou fitoterápicos (espécies, dose, regime de dosagem e via de administração) e as características dos indivíduos (polimorfismo genético, idade, gênero e condições patológicas)^[47].

Em termos gerais, o aparecimento de efeitos de potencialização da ação de fármacos e/ou efeitos adversos é normalmente associada com um aumento na concentração do fármaco no plasma de duas vezes ou mais^[47].

Os fatores de risco para interações com fitomedicamentos e plantas medicinais é baseado em uma variedade de fatores relacionados ao paciente, regime de administração, administração concomitante de fármacos sintéticos e plantas, e não apenas com base nas características farmacológicas e farmacocinéticas da planta^[48].

Fármacos que possuem índice terapêutico estreito têm maior probabilidade da ocorrência de interação, porque a alteração na concentração plasmática do fármaco tem o potencial para modificar os efeitos do fármaco, potencializando o seu efeito ou aumentando a ocorrência de efeitos adversos, como por exemplo, a digoxina, drogas antiepilépticas, agentes antineoplásicos, imunossuppressores e a varfarina^[48,49].

Na população alguns indivíduos tem risco aumentado para apresentar interações planta-fármaco, como os idosos, diabéticos, hipertensos, cardiopatas, pacientes de cuidados críticos, pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos, os pacientes com doença hepática ou renal e, pacientes que tomam diversos medicamentos. Na maioria dos casos, o grau de interações medicamentosas com plantas varia consideravelmente entre os indivíduos, com gênero e polimorfismo genético como fatores adicionais para as diferenças entre indivíduos^[48].

Além destes grupos, no caso de crianças, deve-se atentar para o ajuste das doses por via oral e ter cuidado especial no uso de plantas medicinais/drogas vegetais com alto teor de óleos essenciais devido a possível ocorrência de broncoespasmos^[31], reações alérgicas cutâneas e respiratórias mesmo na aplicação tópica, sendo importante evitar a área dos olhos e do nariz. Para indicação em crianças foram citadas para uso externo: arnica, calêndula, camomila, guaco, sálvia, cravo da Índia, cacau, Mel-rosado e para uso interno, o capim-limão e a passiflora (**TABELA 3**).

Na gravidez, lactação e amamentação algumas plantas são contraindicadas para uso interno (oral), como, arnica, calêndula, copaiba, capim-limão, cavalinha, camomila, guaco, romã, alecrim, sálvia a partir de investigações realizadas *in-vivo* ou ainda pela ausência de estudos sobre toxicologia reprodutiva conclusivos^[31,35].

O cuidado na prescrição, de plantas medicinais e fitoterápicos, deve estender-se aos demais indivíduos, em especial aqueles que fazem uso rotineiro de fármacos sintéticos ou apresentam alguma co-morbidade sistêmica pelo risco de ocorrência de interações medicamentosas, área ainda pouco entendida^[49-52].

As investigações na área de toxicologia (avaliando toxicidade aguda, sub-crônica/crônica, mutagenicidade, genotoxicidade, embriotoxicidade) e a existência de ensaios clínicos com metodologia adequada são imprescindíveis para garantir a eficácia e a segurança de fitoterápicos, no entanto, muitas plantas medicinais e demais produtos de origem vegetal carecem desses dados, resultando na ausência de contra-

indicações, uma vez que os mesmos compostos secundários e fitocomplexos, responsáveis pelos efeitos terapêuticos, também podem produzir efeitos tóxicos agudos e/ou crônicos.

Logo, mesmo que na Odontologia predomine o uso externo (tópico) é fundamental que o cirurgião-dentista tenha conhecimento de tais efeitos, a fim de indicar de maneira correta a planta medicinal ou o fitoterápico, ou ainda, orientar a paciente a descontinuar o uso, caso seja necessário.

O Programa de Fitoterapia no município de Londrina disponibiliza plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à Fitoterapia na Atenção Básica, trazendo em seu protocolo uma relação de plantas contraindicadas para os períodos de gestação, lactação e amamentação para uso por via oral [\[31,35\]](#).

Dessa forma, a fim de considerar o maior número de aspectos relevantes, para que os ensaios clínicos com fitoterápicos sejam bem executados, alguns requisitos devem estar presentes: (1) ser conduzidos com extratos padronizados, ou seja, com caracterização qualitativa e quantitativa dos constituintes químicos; (2) ter diagnóstico preciso dos pacientes incluídos no ensaio; (3) adequação da população de estudo para que os resultados permitam extrapolação para a população total; (4) randomização e cegamento para minimizar vieses e a superestimativa dos resultados [\[52\]](#).

Conclusão

A presença da Fitoterapia em prática clínica odontológica ainda ocorre de maneira modesta apesar de estar devidamente regulamentada e do aumento de pesquisas sobre o potencial das plantas medicinais enquanto recurso terapêutico. Em Odontologia a terapêutica está centrada nos medicamentos alopáticos, no tratamento restaurador e protético, nos procedimentos estéticos e nas técnicas cirúrgicas (p. ex. Implantes), tendo incorporado mais recentemente as práticas integrativas e complementares.

No presente trabalho pode-se verificar que há um número representativo de plantas medicinais e produtos à base de matéria prima vegetal, nas farmacopeias e documentos oficiais, passíveis de ser utilizados para diversas condições patológicas e alterações do sistema estomatognático pelo cirurgião-dentista.

Associada a esta sistematização, a atualização da nomenclatura botânica e a harmonização da terminologia com indicações especificadas, foram elaboradas a fim de facilitar a consulta pelo profissional e informar sobre as possibilidades desse recurso terapêutico. Além disso, para cada espécie vegetal e/ou condição patológica, forneceu-se referências das publicações respectivas, nas quais podem ser localizadas as informações detalhadas.

Enfatizamos que, embora tenha sido elaborado de forma geral para abranger amplamente a prática clínica odontológica, tem um foco específico nos documentos oficiais, que representam parcialmente as opções disponíveis, uma vez que a sua atualização é periódica, além do fato de que o número de protocolos clínicos é reduzido.

As farmacopeias, mementos e protocolos terapêuticos constituem uma referência importante sobre as plantas medicinais e fitoterápicos, no entanto, nem sempre estão acessíveis aos profissionais, seja quanto à consulta, ou quanto às informações, sendo este um dos fatores que poderia explicar a falta de prescrição pelo cirurgião-dentista. Dentre outros possíveis fatores, pode-se mencionar o desconhecimento sobre

plantas medicinais / produtos de origem vegetal, falta de capacitação dos profissionais da área de saúde, dificuldade de acesso aos fitoterápicos, descontinuidade de fornecimento e falta de credibilidade nos produtos de origem vegetal por parte dos profissionais, cujo entendimento será possível com estudos futuros que abordem os referidos temas.

Como perspectivas futuras, a inclusão de disciplinas sobre práticas integrativas, em especial a Fitoterapia, nos cursos de graduação e capacitação permanente de profissionais em serviço, pode ser o ponto inicial de mudança de paradigma que propiciará aos profissionais a segurança suficiente para incorporar essa terapêutica na sua prática clínica diária.

Para tanto, conhecer aspectos inerentes às plantas medicinais e fitoterápicos, abrangendo noções básicas de botânica, fitoquímica, farmacologia, toxicologia, aspectos clínicos e indicações precisas são fundamentais na formação dos profissionais.

É importante ressaltar também que a elaboração de protocolos é fundamental para a capacitação dos profissionais, uma vez que saber o que e de que forma utilizar é condição *sine qua non* para o aumento de demanda entre os profissionais de saúde quando à disponibilidade dos fitoterápicos nos serviços de saúde. Os protocolos podem servir para motivar a classe, ampliando a incorporação desse recurso terapêutico à prática.

Esperamos ter na presente revisão atendido ao objetivo de informar sobre as possibilidades terapêuticas da Fitoterapia na prática odontológica.

Referências

1. Calixto JB. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciênc Cult**. [online] 2003; 55(3): 37-39. [\[Link\]](#). Acesso em: 10 jan. 2020.
2. Rates SMK. Plants as source of drugs. **Toxicon**. 2001; 39(N): 603-613. ISSN 0041-0101. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#). Acesso em: 10 jan. 2020.
3. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS**. Brasília, DF: MS. 2006. 92 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde). [\[Link\]](#). Acesso em: 29 jan. 2020.
4. Brasil. Ministério da Saúde. **Portaria n.º 971**, de 03 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, DF: MS. [\[Link\]](#). Acesso em: 29 jan. 2020.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília. DF: MS. 2006. 60 p. (Série B, Textos Básicos de Saúde). [\[Link\]](#). Acesso em: 29 jan. 2020.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, DF: MS. 2009. 136 p. il. (Série C. Projetos, Programas e Relatórios). [\[Link\]](#).
7. Conselho Federal de Odontologia (CFO). **Resolução nº 82**, de 19 de setembro de 2008. Reconhece e regulamenta o uso pelo cirurgião-dentista de práticas integrativas e complementares à saúde bucal. 2008. [\[Link\]](#). Acesso em: 10 Jun. 2013.

8. World Health Organization/UNICEF. **Primary health care: report of the International Conference on Primary Health Care**, Alma-Ata, URSS. Geneva, Switzerland: 1978. 61 p. [\[Link\]](#).
9. World Health Organization (WHO). **WHO traditional medicine strategy: 2014-2023**. Geneva, Switzerland: 2013. 72 p. [\[Link\]](#).
10. **Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil**. 1ª ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional. 1929.
11. **Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil**. 2ª ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira. 1959.
12. **Farmacopeia Brasileira**. 3ª ed. São Paulo: Organização Andrei. 1977. ISBN: 85-7476-068-4.
13. **Farmacopeia Brasileira**. 4ª ed. [livro online]. São Paulo: Atheneu. 1988-1996. [\[Link\]](#).
14. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. Brasília, DF: MS. 2011. 126p. [\[Link\]](#).
15. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira. 1º Suplemento**. Brasília, DF: MS. 2018. 160p. [\[Link\]](#).
16. World Health Organization. **WHO monographs on selected medicinal plants**. Geneva, Switzerland: World Health Organization. 1999. Vol. 1. 295 p. [\[Link\]](#).
17. World Health Organization (WHO). **WHO monographs on selected medicinal plants**. Geneva, Switzerland: World Health Organization. 2004. Vol. 2. 358 p.
18. World Health Organization (WHO). **WHO monographs on selected medicinal plants**. Geneva, Switzerland: World Health Organization. 2007. Vol. 3. 390 p.
19. World Health Organization (WHO). **WHO monographs on selected medicinal plants**. Geneva, Switzerland: World Health Organization. 2009. Vol. 4. 456 p.
20. **Farmacopeia Portuguesa VIII**. Lisboa: Ministério da Saúde, Infarmed; 2005.
21. Blumenthal M, Busse WR, Goldberg A, Gruenwald J, Hall T, Riggins CW et al. (eds.). **The Complete Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines**. 1st edition. Boston, MA: American Botanical Council. 1998. 684 p. ISBN: 096555550X.
22. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. (eds.). **Expanded Commission E Monographs**. Newton, MA: American Botanical Council. Integrative Medicine Communications. 2000. 519 p. ISBN 0967077214.
23. ESCOP - European Scientific Cooperative on Phytotherapy. **Monographs on the medicinal uses of plant drugs**. 1996. ISBN: 1901964019 (fasc. 2); 1901964035 (fasc. 4); 1901964043 (fasc. 5); 1901964051 (binder); 1901964027 (fasc. 3); 1901964000 (fasc. 1); 190196406X (fasc. 6)
24. ESCOP - European Scientific Cooperative on Phytotherapy. **Monographs on the medicinal uses of plant drugs**. 2003.
25. Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C. **PDR® for Herbal Medicines TM**. Montvale, NJ: Medical Economics Company Inc. 2000. 858 p.
26. Brendler T, Gruenwald J, Jaenicke C. **PDR® for herbal medicines**. 4th ed. Montvale (NJ): Thomson Healthcare Inc. 2007. 909 p. ISBN 1563636786.
27. **European Medicines Agency (EMA)**. [homepage na internet]. [\[Link\]](#).
28. **Flora do Brasil 2020 em construção** [homepage na internet]. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [\[Link\]](#).

29. **Missouri Botanical Garden** [homepage na internet]. TROPICOS®. [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.
30. **The Plant List** [homepage na internet]. Version 1. [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.
31. Londrina. Prefeitura do Município. **Fitoterapia: Protocolo**. 3ª ed. Londrina, PR: Autarquia Municipal de Saúde. 2012. 99 p. il. color. [\[Link\]](#).
32. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Vocabulário controlado de formas farmacêuticas, vias de administração e embalagens de medicamentos**. 1ª ed. Brasília, DF: MS. 2011. 56 p. [\[Link\]](#).
33. Oppido T. **CID-OE: Classificação Internacional de Doenças em Odontologia e em Estomatologia**. Ed. Santos: São Paulo. 1996. 230 p.
34. Viana GSB, Bandeira MAM, Matos FJA. **Guia fitoterápico**. Fortaleza: Editora da UFC. 1998.
35. Londrina. Prefeitura do Município. **Fitoterapia: Protocolo**. 1ª ed. Londrina, PR: Prefeitura do Município. Autarquia Municipal de Saúde. 2006. [\[Link\]](#).
36. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **RDC nº 10**, de 09 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF. [\[Link\]](#).
37. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **IN nº 05**, de 11 de dezembro. Determina a publicação da "Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado". Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF. [\[Link\]](#). Acesso em: 29 jan. 2020.
38. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **IN nº 2**, de 13 de maio de 2014. Publica a "Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado" e a "Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado". Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF. [\[Link\]](#).
39. Oliveira FQ, Gobira B, Guimarães C, Batista J, Barreto M, Souza M. Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Rev Bras Farmacogn**. 2007; 17(3, jul./set.): 466-476. ISSN 0102-695X. [\[Link\]](#).
40. Brasil. Ministério da Saúde. **Portaria nº 389**, de 13 de março de 2014. Estabelece o elenco de medicamentos e insumos da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais-RENAME. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF. [\[Link\]](#).
41. AD MUC®. **Extrato fluido de Chamomilla recutita (L.) Rauschert**. São Paulo: Biolab Sanus Farmacêutica Ltda., [s.d.]. Bula de remédio.
42. PASSIFLORINE®. **Passiflora incarnata L. + Salix alba L. + Crataegus oxyacantha L.**. Rio de Janeiro: Millet Roux Ltda., [s.d.]. Bula de remédio.
43. IMUNOMAX®. **Gel-creme, extrato das cascas de Uncaria tomentosa**. Colombo, PR: Herbarium Laboratório Botânico Ltda., [s.d.]. Bula de remédio.
44. KAMILOSAN®. **Extrato de Matricaria recutita L.**. Guarulhos, SP: Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., [s.d.]. Bula de remédio.
45. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução **RDC Nº 199**, de 26 de outubro de 2006. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF. DOU-208, 30-out-2006; Seção 1, v.XXX, n.XXX, p.167. [\[Link\]](#).

46. Wannmacher L, Ferreira MBC. **Farmacologia Clínica para Dentistas**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2007. 545 p. ISBN: 8527713268.
47. Hu Z, Yang X, Ho PC, Chan SY et al. Herb–drug interactions: a literature review. **Drugs**. 2005; 65(9): 1239–1282. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)].
48. Alexandre RF, Garcia FN, Simões CMO. Fitoterapia Baseada em Evidências. Parte 1. Medicamentos Fitoterápicos Elaborados com Ginkgo, Hipérico, Kava e Valeriana. **Acta Farm Bonaerense**. 2005; 24(2): 300-9. ISSN 0326-2383 [[Link](#)].
49. Dresser GK, Spence JD, Bailey DG. Pharmacokinetic-pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition. **Clin Pharmacokinet**. 2000; 38(1): 41–57. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
50. Fugh-Berman A. Herb–drug interactions. **The Lancet**. 2000; 355(9198): 134–138. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
51. Delgoda R, Westlake AC. Herbal interactions involving cytochrome p 450 enzymes: a mini review. **Toxicol Rev**. 2004; 23(4): 239–249. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
52. Obodozie OO. Pharmacokinetics and Drug Interactions of Herbal Medicines: A Missing Critical Step in the Phytomedicine/Drug Development Process. Cap. 7. p. 127-156. In: Noreddin A. (ed.). **Readings in advanced pharmacokinetics – theory, methods and applications**. Published by InTech: Croatia. 2012. 378 p. [[CrossRef](#)] [[Link](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 13/10/2020 | **Aceite:** 01/12/2020 | **Publicação:** 31/03/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Monteiro MHDA, Fraga SAPM. Fitoterapia na prática clínica odontológica: produtos de origem vegetal e fitoterápicos. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2021; 15(1): 58-77. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1102>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

Intoxicação por plantas no Estado do Pará, Brasil

Plant Poisoning in the State of Pará, Brazil

DOI 10.32712/2446-4775.2021.857

Santos, Bruno Fernando Barros dos¹; Souza, Lanna Zorah Farias de¹; Borges, Júlia Pereira Alexandre¹; Gadelha, Maria Apolonia da Costa¹; Pardal, Pedro Pereira de Oliveira^{1*}.

¹Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde - UFPA/ICS, Av. Generalíssimo Deodoro, 01, Umarizal, CEP 66050-160, Belém, PA, Brasil.

*Correspondência: pepardal@ufpa.br.

Resumo

O objetivo deste estudo foi traçar o perfil epidemiológico dos acidentes por plantas tóxicas no Estado do Pará, Brasil. Para isso, foi realizado um estudo descritivo, observacional e transversal de casos de intoxicações por plantas registradas no banco de dados do Centro de Informações Toxicológicas (CIT), do Hospital Universitário João de Barros Barreto de Belém-Pará, no período de janeiro de 2007 a maio de 2018. Os resultados revelaram 14.952 casos notificados de intoxicação por vários agentes químicos e envenenamentos por animais peçonhentos, dos quais 143 (0,95%) por plantas. A faixa etária de 0 a 9 anos, o gênero feminino, a cidade de Belém, em circunstância individual e a exposição oral foram as variáveis mais frequentes. Os vegetais que mais causaram intoxicações foram a *Jatropha gossypifolia* L., *J. curcas* L., *Manihot esculenta* Crantz e *Dieffenbachia picta* Schott, sendo as sementes e folhas (na forma de chá) as partes do vegetal mais usadas. Neste estudo, verificou-se que a maioria das intoxicações foi de origem doméstica, o que chama a atenção para a necessidade de orientação e prevenção dos pais e responsáveis no manuseio de plantas tóxicas.

Palavras-chave: Epidemiologia. *Manihot esculenta*. *Jatropha gossypifolia*. *Jatropha curcas*. *Dieffenbachia picta*.

Abstract

This study intended to trace the epidemiological profile of accidents caused by toxic plants in the State of Pará, Brazil. For this, it was made a descriptive, observational and cross-sectional study of registered cases of plant poisoning, utilizing the database of the Toxicological Information Center (CIT), at João de Barros Barreto University Hospital in Belém-Pará, from the period of January 2007 to May 2018. The results reveal 14,952 reported cases of poisoning by various chemical agents and poisoning by poisonous animals, of which 143 (0.95%) by plants. The 0-9 age group, the female gender, the city of Belém, in individual circumstances and oral exposure were the most frequent variables. The vegetables that most caused poisoning were *Jatropha gossypifolia* L., *J. curcas* L., *Manihot esculenta* Crantz and *Dieffenbachia picta* Schott, being as seeds and leaves (in the form of tea) as parts of the vegetable most used. In this study it was found that the majority of

intoxications were of domestic origin, which calls attention to the need for guidance and prevention of parents and guardians in the handling of toxic plants.

Keywords: Epidemiology. *Manihot esculenta*. *Jatropha gossypifolia*. *Jatropha curcas*. *Dieffenbachia picta*.

Introdução

Estima-se que 80% da população mundial e 37% da população brasileira lançam mão do uso de vegetais como recurso terapêutico, ao invés da terapia alopática, seguindo uma tendência mundial ao consumo de medicina alternativa^[1,2]. Ao mesmo tempo, o controle de qualidade e o conhecimento científico acerca das plantas medicinais ainda são precários. Os fitoterápicos, por exemplo, podem apresentar alguma forma de irregularidade, seja pela presença de impurezas ou problemas de identificação botânica, o que pode ampliar um perfil tóxico^[2,3].

Outro ponto importante na intoxicação por plantas é o consumo acidental por crianças. Devido à imaturidade física e mental e a vulnerabilidade, acidentes por negligência são comuns. De acordo com Tavares et al.^[4], no Brasil, traumas, afogamento, queimaduras e intoxicação são as principais causas de morte de crianças até 14 anos. Quanto à intoxicação por plantas, os acidentes ocorrem, comumente, em brincadeiras e em grupos de crianças, aumentando a gravidade do episódio. Além disso, ao chegar aos serviços de urgência, raramente a sintomatologia é relacionada ao produto ingerido, dificultando o diagnóstico e manejo clínico^[3].

De um modo geral, é preferível definir o processo de intoxicação por plantas como o contato com substâncias de origem vegetal que causam danos à saúde humana^[3]. Acidentes dessa natureza apresentam variados graus de nocividade, dependentes tanto da substância quanto do indivíduo, podendo ser agudos, crônicos ou fulminantes, levando à morte. E ainda assim, o tema ainda é pouco abordado, uma vez que, a toxicidade e atividade fisiológica de muitas plantas permanecem desconhecidas^[5]. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi traçar o perfil epidemiológico das intoxicações por plantas no Estado do Pará, Brasil.

Materiais e Métodos

O estudo foi realizado tendo por base o banco de dados do Centro de Informações Toxicológicas de Belém (CIT-Belém), no Hospital Universitário João de Barros Barreto, Belém-Pará, no período de janeiro de 2007 e maio de 2018, levando em conta informações dos prontuários de atendimento de pacientes orientados por telefone pelos profissionais de saúde, nos casos de envenenamentos humanos no estado do Pará, por plantas tóxicas. Posteriormente, esses dados foram tabulados e analisados no programa Excell para obtenção da frequência absoluta e relativa.

As variáveis estudadas foram: faixa etária, gênero, município da ocorrência, via da intoxicação, circunstância, evolução clínica, planta e parte do vegetal associada à intoxicação.

O estudo não recebeu financiamento público ou privado, e foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica, número 97930818.1.0000.0017.

Resultados e Discussões

No período do estudo notificou-se ao CIT-Belém, 14.952 intoxicações por vários agentes químicos e envenenamentos por animais peçonhentos, dos quais 143 (0,95%) por plantas tóxicas. Destes, a faixa etária de 0 a 9 anos, gênero feminino, município de Belém, na circunstância individual, via oral e evolução para cura foram as mais frequentes, havendo óbito em 1,4% (TABELA 1). As plantas que predominaram nas citações foram pinhão roxo (*Jatropha gossypifolia*), pinhão branco (*J. curcas*), mandioca (*Manihot esculenta*) e comigo-ninguém-pode (*Dieffenbachia picta*) (TABELA 2), principalmente na forma de sementes e ingestão de chá das folhas (TABELA 3).

TABELA 1: Frequência de acidentes com plantas tóxicas no Estado do Pará, Brasil.

Parâmetros	n	%
Faixa etária	n=142	100
0 a 9	89	62,6
10 a 19	17	11,9
20 a 29	11	7,7
30 a 39	8	5,5
40 a 49	5	3,4
50 a 59	8	5,5
60 a 69	4	2,7
70 a 79	1	0,7
Gênero	n=139	
Feminino	78	56,1
Masculino	61	43,9
Municípios	n=143	
Belém	44	30,7
Ananindeua	22	15,4
Salinópolis	6	4,2
Tomé Açu	6	4,2
Conceição do Araguaia	5	3,5
Marabá	5	3,5
Soure	5	3,5
Outros	48	33,6
Ignorado	2	1,4
Via da intoxicação	n=143	
Oral	118	82,5
Cutâneo/Mucosa	12	8,4
Ocular	6	4,2
Respiratória	2	1,4
Cutâneo/Mucosa e Ocular	1	0,7
Cutâneo/Mucosa e Oral	3	2,1
Ignorado	1	0,7
Circunstâncias	n=143	
Acidente individual	92	64,3
Acidente coletivo	40	28
Tentativa de aborto	2	1,4
Tentativa de suicídio	1	0,7
Abuso	1	0,7
Uso medicinal	7	4,9
Evolução	n= 143	
Cura	82	57,3

Óbito*	2	1,4
Ignorado	59	41,3

Fonte: CIT Belém. *Plantas relacionadas aos óbitos: *Ricinus communis* L e *Manihot esculenta* Crantz.

TABELA 2: Frequência das plantas nos acidentes no Estado do Pará, Brasil.

Nome Popular	Nome científico	n.	%
Pinhão roxo/branco	<i>Jatropha gossypifolia</i> L / <i>J. curcas</i> L	36	25,1
Mandioca	<i>Manihot esculenta</i> Crantz	21	14,7
Comigo-ninguém-pode	<i>Dieffenbachia picta</i> Schott	16	11,2
Tajá/ Aninga	<i>Caladium bicolor</i> (Aiton) Vent. / <i>Colocasia antiquorum</i> Schott	5	3,5
Cabacinha	<i>Luffa operculata</i> (L.) Cogn.	4	2,8
Saia-branca	<i>Brugmansia suaveolens</i> (Willd.) Sweet	3	2,1
Mamona	<i>Ricinus communis</i> L	3	2,1
Urtiga	<i>Urtica dioica</i> L.	3	2,1
Avelós	<i>Euphorbia tirucalli</i> L.	3	2,1
Outros*		37	25,9
Não informados		12	8,4
Total		143	100

Fonte: CIT Belém. *Nomes populares. Ocorrendo dois casos: Hera, ioioca, mucuracaá, bromélia, mastruz e papoula; ocorrendo um caso: Agave, agoniada, dedal-de-dama, arnica, babosa, boldo, barbatimão, capim, carqueja, carrapicho, copaíba, cumaru, espada-de-são-jorge, ginko biloba, hortênciã, jambrezinho, maconha, mangaba, sucuba, pimenteira, sacaca, salsaparrilha, sucuriçu e urucum.

TABELA 3: Frequência das partes e preparo do vegetal nos acidentes no Estado do Pará, Brasil.

Parte do vegetal	n = 102	%
Semente	42	41,2
Folha	31	30,4
Raiz	17	16,6
Flor	5	4,9
Seiva	5	4,9
Fruta	1	1,0
Casca	1	1,0
Preparo do vegetal	n = 18	
Chá	11	61,1
Pó	3	16,7
Óleo	2	11,1
Xarope	2	11,1

Fonte: CIT Belém.

A baixa taxa de intoxicação por plantas (143 ou 0,95%) no Estado do Pará, em relação às demais causas (14.952) se assemelha a outros dados encontrados na região norte^[6]. Os dados obtidos também são inferiores quando comparados em nível de Brasil, onde se obteve uma frequência de 1,14% de acidentes por plantas^[7]. É possível que os achados no presente estudo estejam subnotificados.

Plantas tóxicas são comumente utilizadas em arquitetura de interiores e paisagismo, tornando-se presentes em residências e ambientes externos como jardins e praças devido a sua cor, forma, textura ou outro elemento que pode despertar interesse visual das crianças, tornando os acidentes possíveis. No presente estudo 62,6% dos casos ocorreram com crianças entre 0 e 9 anos. Essa faixa etária também foi a mais representativa em outro estudo de Campos et al.^[1]. Número que aumenta para 74,67% quando se inclui também a faixa etária

de 10 a 19 anos. Em relação ao gênero, 56,1% das ocorrências foram no gênero feminino e 43,9% no masculino. Tavares et al.^[4] demonstraram não haver tendência entre gêneros, enquanto Mota et al.^[8] e Toscano et al.^[9], relataram predomínio do gênero feminino em 63% e 68,8%, respectivamente.

A frequência de casos registrados foi maior nos municípios de Belém e Ananindeua (46,1%), as cidades mais populosas do Estado. Estudos têm demonstrado que a maioria dos acidentes ocorre na zona urbana e são, predominantemente, residenciais, o que provavelmente se deve a utilização de tais plantas como ornamentais e a falta de ação educativa que visem à prevenção de intoxicações, conforme alguns relatos^[10].

As espécies que se destacaram no levantamento [*Jatropha gossypifolia*, *J. curcas* (25,1%); *Manihot esculenta* (14,7%); *Dieffenbachia picta* (11,2%)] foram as mesmas notificadas no período de 1998 a 2006, com utilização de dados também do CIT-Belém, segundo Vasconcelos et al.^[11], diferente do que foi encontrado no Centro de Assistência Toxicológica (CEATOX), estado de Pernambuco, revelando a preponderância de *Dieffenbachia picta* (58,46%), *Nerium oleander* L. (8,54%), *Manihot esculenta* (8,45%), e *Jatropha curcas* (7,20%)^[12]. Com relação a partes do vegetal envolvidas nos acidentes, as sementes se sobressaíram em relação as folhas e raízes, conforme observado na **TABELA 3**. Em relação aos acidentes provocados por aráceas e mandioca podem estar associados a qualquer parte do vegetal, embora seja mais comum ocorrer por contato^[11,13]. A respeito das espécies de pinhão e da mamona, plantas de incidência importante no estudo, a toxicidade está relacionada às sementes^[14].

As circunstâncias dos acidentes individuais foram semelhantes às encontradas em Pernambuco por Baltar et al.^[12], porém, as com aplicabilidade visando suicídio e aborto foram menores do que os observados pelos referidos autores.

A evolução dos casos do estudo foi majoritariamente para cura (57,3%). Esse resultado foi semelhante aos encontrados em Pernambuco^[12], porém, divergentes aos encontrados para a região norte do Brasil^[6].

A intoxicação por via oral foi a mais comum, semelhante aos resultados encontrados por Baltar et al.^[12] em Pernambuco e por Toscano et al.^[9], na Paraíba.

Conclusão

A intoxicação por plantas no Estado do Pará é causada principalmente por *Jatropha gossypifolia* L., *J. curcas* L., *Manihot esculenta* Crantz e *Dieffenbachia picta* Schott, entre crianças e adolescentes, do gênero feminino, em circunstância individual, por via oral, tendo a maioria evoluído para cura. O óbito foi menos frequente e causado pelas espécies *Manihot esculenta* Crantz e *Ricinus communis* L.

A realização do presente estudo permitiu verificar que a maioria das intoxicações foi de origem doméstica, o que chama a atenção para a necessidade de orientação e prevenção dos pais e responsáveis no manuseio de plantas tóxicas.

Referências

1. Campos SC, Silva CG, Campana PRV, Almeida VL. Toxicidade de espécies vegetais. **Rev Bras PI Med.** 2016; 18(1) supl. 1: 373-82. ISSN 1983-084X. [[CrossRef](#)].

2. Souza Maria NCV, Tangerina MMP, Silva VC, Vilegas W, Sannomiya M. Plantas medicinais abortivas utilizadas por mulheres de UBS: etnofarmacologia e análises cromatográficas por CCD e CLAE. **Rev Bras PI Med.** 2013; 15(4 supl.1): 763-73. ISSN 1516-0572. [[CrossRef](#)].
3. Pinillos MA, Gómez J, Elizalde J, Dueñas A. Intoxicación por alimentos, plantas y setas. **Anales Sis San Navarra.** 2003; 26(Suppl 1): 243-63. [[Link](#)].
4. Tavares ÉO, Buriola AA, Santos JAT, Ballani TSL, Oliveira MLF. Fatores associados à intoxicação infantil. **Esc Anna Nery.** 2013; 17(1): 31-7. ISSN 1414-8145. [[CrossRef](#)].
5. Lima RMS, Santos AMN, Jardim MAG. Levantamento de plantas venenosas em duas comunidades caboclas do estuário amazônico. **Bol Mus Para Emílio Goeldi.** 1995; 11(2): 255-63. [[Link](#)].
6. Getter CJ, Nunes JRS. Ocorrência por intoxicações por plantas tóxicas no Brasil. **Eng Amb Pesq Tecnol.** 2011; 8(1): 79-100. [[Link](#)].
7. Bochner R. Perfil das intoxicações em adolescentes no Brasil no período de 1999 a 2001. **Cad Saúde Publ.** 2006; 22(3): 587-95. ISSN 1678-4464. [[CrossRef](#)].
8. Mota AND, Pereira RR, Franck JG, Polise, CG. Caracterização das intoxicações agudas registradas em São Luís/MA: a importância das instituições hospitalares como centros notificadores. **Rev Bras Farm Hosp Serv Saúde.** 2015; 6(2): 6-11. [[Link](#)].
9. Toscano MM, Landin JTA, Rocha AB, Souza-Muñoz RL. Intoxicações exógenas agudas registradas em centro de assistência toxicológica. **Rev Saú Pesq.** 2016; 9(3): 425-32. ISSN 1983-1870. [[CrossRef](#)].
10. Assis ALBP, Pontes RL, Figueiredo GS, Medeiros CLC, Dias JCV, Albuquerque MP et al. Estudo epidemiológico dos acidentes por plantas tóxicas no estado da Paraíba–Brasil. **Rev Bras Toxicol.** 2000; 13(1): 42-132. ISSN 1415-2983.
11. Vasconcelos J, Pontes Vieira JG, Pontes Vieira EP. Plantas Tóxicas: Conhecer para Prevenir. **Rev Cient UFPA.** 2009; 7(1): 1-10. [[Link](#)].
12. Baltar SLSMA, Franco ES, Souza AA, Amorim MLP, Pereira RCA, Maia MBS. Epidemiologia das intoxicações por plantas notificadas pelo Centro de Assistência Toxicológica de Pernambuco (CEATOX-PE) de 1992 a 2009. **Rev Fitos.** 2016; 10(4): 375-547. e-ISSN: 2446-4775. [[CrossRef](#)].
13. Silva IGRS, Takemura OS. Aspectos de intoxicações por *Dieffenbachia ssp* (Comigo-ninguém-pode) – Araceae. **Rev Ciên Méd Biol-CMBIO.** 2006; 5(2): 151-159. ISSN 2236-5222 [[CrossRef](#)]
14. Martins TD, Geron VLMG. Plantas ornamentais tóxicas: conhecer para prevenir acidentes domésticos. **Rev Cient Fac Educ Meio Amb.** 2014; 5(1): 79-98. ISSN 2178-4200 [[Link](#)].

Histórico do artigo | Submissão: 02/10/2019 | Aceite: 09/10/2020 | Publicação: 31/03/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Santos BFB, Souza LZF, Borges JPA, Gadelha MAC et al. Intoxicação por plantas no Estado do Pará, Brasil. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2020; 15(1): 78-83. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/857>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

Preparation of pellets containing a standardized *Artemisia annua* L. extract by extrusion-spheronization

DOI 10.32712/2446-4775.2021.1063

Silva, Elviscley de Oliveira¹; Marreto, Ricardo Neves¹; Conceição, Edemilson Cardoso da¹; Bara, Maria Teresa Freitas^{1*}.

¹Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, Rua 240, esquina com 5ª Avenida, s/nº. Setor Universitário, CEP 74605-170, Goiânia, GO, Brasil.

*Correspondência: mtbara@gmail.com.

Abstract

Artemisinin, the major substance with antimalarial activity of *Artemisia annua* L., is a poorly water-soluble drug. The development of pellets containing a standardized hydroethanolic extract of *A. annua* may overcome these drawbacks while offer an intermediate product with good technological properties for subsequent tablet manufacture. This work aimed to obtain and characterize *A. annua* pellets using the extrusion-spheronization technique. The extract was prepared by percolation and artemisinin content was determined using a validated HPLC method. The standardized extract was then used as a liquid binder in the preparation of pellets with different liquid: solid ratio. The formulation PF5 containing microcrystalline cellulose: *A. annua* extract (40:58) resulted in pellets with 1.49 ± 0.02 % (w/w) artemisinin, average size of approximately 500 μm and sphericity of 0.82 ± 0.08 . These pellets were encapsulated in hard gelatin capsules and the percentage released was higher than 80% in 10 min using 0.1N HCl and phosphate buffer media. These data allow to suggest that the pelletizing strategy used made it possible to achieve the desired artemisinin dissolution and generates perspectives for the potential further use of the *A. annua* pellets as a solid dosage form for malaria treatment.

Keywords: Herbal medicinal. Artemisinin. Multiparticulate solid dosage form. Phytopharmaceutical technology.

Introduction

Artemisia annua L. (Asteraceae) is an herb widely used in traditional medicine to treat malaria with a relatively safe toxicity profile^[1-3]. Artemisinin is a sesquiterpene lactone isolated from the aerial parts of *A. annua*. This compound has an endoperoxide bridge crucial for its potent antimalarial activity at nanomolar concentrations^[3,4]. The flavonoid content of the leaf powder can vary between 9% and 11% (w/w) and has already been shown to exert antimalarial and antioxidant activity^[5] and enhance the activity of artemisinin^[6]. Other phytochemicals in this genus are therapeutically active^[2] denoting the relevance of administering the phytotherapeutic complex for treating malaria and other diseases. Additionally, artemisinin is a poorly water-soluble compound with low oral bioavailability^[7] when administered alone, however, its use from *A. annua* extracts is related to an improvement in bioavailability^[2].

However, the use of *A. annua* in the form of infusion as self-medication, prepared with plants from different sources can result in treatment failure and the occurrence of high recrudescence of malaria. This may occur due to high variation of artemisinin content between different cultivars ranging from 0.01 % to 1.5 % (dry mass), because it depends on the altitude conditions, climate, nutrients, soil pH, among other factors^[8]. In addition, storage in inappropriate conditions can also reduce artemisinin content of the vegetable drug. For these reasons, in 2012, the World Health Organization took a cautious approach to the use of home-grown plants to treat and prevent malaria as an infusion^[9].

Accordingly, the best approach seems to be the use of phytotherapeutic products prepared from standardized vegetable extracts which should present an appropriate content of the active ingredient, as well as adequate flowability, density and hygroscopicity^[10,11]. Industrial production of pellets is a promising strategy to improve the technological properties of vegetable extracts^[11-14]. Additionally, pellets can ensure a proper drug dissolution rate with less irritation of the gastrointestinal tract^[15]. Lastly, pellets are especially advantageous when the active component is in great amounts in the formulation, because of its high density^[16]. Among the technologies available for pelletization, the extrusion-spheronization technique is one of the most commonly used and has been successfully applied to herbal products^[11-13].

With a view of producing *A. annua* intermediate products with good technological properties and physicochemical properties, pellets were developed and characterized using the extrusion-spheronization technique. To do so, a standardized extract of *A. annua* was used as granulation liquid and the resulting pellets were characterized.

Materials and methods

The anhydrous artemisinin (98%) was purchased from Sigma Aldrich (São Paulo, Brazil). Desiccated aerial parts of *Artemisia annua* L. (Asteraceae) were kindly provided by Divisão de Agrotecnologia do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) of the Universidade de Campinas (UNICAMP), Brazil, in march 12, 2012 (block F1). Identification of the botanical material was done by Pedro Melillo de Magalhães (CPQBA). The plant material was grounded in a crusher with a helix (Siemens, Brazil). Particle size analysis was carried out by sieving (BecTel Granulometer, Brazil). The volatile content was determined on the Ohaus MB35 infrared balance (NJ, USA). Solvents were of analytical grade (for extraction purposes) or HPLC grade (for chromatographic analysis). Microcrystalline cellulose PH 101 (Blanver, São Paulo, Brazil), lactose monohydrate (Milkaut, Santa Fé, Argentina), polyvinylpyrrolidone K30 (Ashland, São Paulo, Brazil) and Kollicoat[®] (BASF, Ludwigshafen, Germany) were used for pellet preparation.

Extraction of *A. annua* leaves and extract characterization

Grounded *A. annua* leaves were extracted with ethanol 95% (v/v) using a percolation procedure at 1:10 drug: solvent ratio. The solvent was added in four steps to a 10 L percolator containing the plant material. The total extraction time was 72 h. The four fractions obtained were combined and the solvent was evaporated under reduced pressure in a rotary vacuum evaporator (Buchi[®] R-220 SE, Flawil, Switzerland) at 40°C and 70 rpm. The concentration step was performed until a small precipitation was observed (1.25: 1 extract: plant ratio).

The total solid content of the percolate and concentrate was then determined, as well as the ethanol content, relative density, pH and viscosity^[17]. The content of artemisinin was determined by HPLC using a Waters HPLC (Massachusetts, USA) system equipped with a separation module (e2695), a PDA absorbance detector (Waters 2998), and the software Empower®. Separations were performed on a Zorbax Eclipse XDB-C18 reverse phase column (Agilent, Santa Clara, USA) (150 x 4.6 mm, 5 µm) and guard column RP18 Security Guard Phenomenex (California, USA). The mobile phase consisted of a mixture of acetonitrile: 0.2% formic acid (v/v) followed a gradient of 35:65 for 8 min, then changed to 60:40 for 5 min, returning to 35:65 and ending with a 20 min run. The flow rate was 1.2 mL/min and the detection wavelength was 255 nm. The column temperature was 30°C. The analytical validation was reported elsewhere^[18].

Preparation of *A. annua* pellets by extrusion-spheronization

Polyvinylpyrrolidone (PVP) was slowly dispersed in the *A. annua* extract, under constant mechanical stirring at 750 rpm for 10 min. Next, the PVP-containing extract was used as liquid binder by adding it to the microcrystalline cellulose at different liquid: solid ratios (**TABLE 1**). For some formulations (PF1 and PF5, **TABLE 1**) no PVP was added. The wet mass was formed using a planetary mixer Stinfer® (São Paulo, Brazil). Extrusion was performed with a Caleva® Extruder 20 (Caleva Process Solutions Limited, United Kingdom). The wet mass was fed into the extruder set at 30 rpm. The wet mass was forced through a plate containing 0.8 mm diameter holes. The extrudates were then spheronized in a Caleva Multi Bowl Spheronizer MBS 250 (Caleva Process Solutions Limited, United Kingdom) set at 1500 rpm for 60 s. Pellets were then dried in a Hüttlin® Mycrolab fluidized bed, with air inlet temperature of 60°C.

TABLE 1: Composition of *A. annua* pellets.

Formulation code	MCC: <i>A. annua</i> extract ratio (w/w)	Mass of PVP K30 % (w/w)
PF1	0.88:1	-
PF2	0.57:1	8
PF3	0.57:1	5
PF4	0.57:1	2
PF5	0.69:1	-

Pellet characterization

Pellets containing *A. annua* extract had their projected sphericity (PS) determined using the ImageJ software, version 1.47v (NIH, Maryland, USA)^[19]. Their residual moisture content was evaluated in an infrared balance (Ohaus MB35, NJ, USA) at 105°C up to constant weight. The size distribution analysis was performed on a Beckman Coulter® LS I3 320 diffraction particle size analyzer (Indianapolis, USA). The pellet size amplitude (d90/d10) was calculated^[20]. Artemisinin content was determined by HPLC, as previously reported^[18]. The analyses were performed in triplicate.

Preparation and characterization of the pellet-containing capsules

Gelatin capsules (size 00) containing *A. annua* pellets were prepared using a manual capsule filler. The capsules were evaluated for disintegration (Nova Etica 301 AC disintegrator, São Paulo, Brazil), mean weight, artemisinin content (HPLC) and *in vitro* dissolution profile. Dissolution study was performed on a

Vankel VK 7000 dissolutor (Varian, USA) with an USP apparatus II kept at 100 rpm. Dissolution tests were performed in 0.1N HCl solution (pH 1.2) and 0.05M potassium phosphate buffer (pH 6.8) which were prepared according to the United States Pharmacopoeia^[21].

Results and Discussion

The proper control of neglected diseases can significantly reduce morbidity, social exclusion and mortality rates^[22]. Among the neglected diseases, malaria stands out in the Brazilian Legal Amazon region, as it is one of the most common diseases^[23]. Similarly, malaria has great relevance in Africa and others tropical countries^[24].

The use of *Artemisia annua* is an important therapeutic option for the treatment of malaria; however, an adequate control of the artemisinin content should be performed because it is affected by geographical, seasonal and growth conditions^[4,25,26]. Selection of hybrids with good artemisinin production^[27] has been performed to overcome these drawbacks. In the present study, a hybrid specimen was collected and submitted to a standard extraction process with a view of obtaining a standardized extract of *A. annua* which was further used in developing *A. annua* containing-pellets.

The artemisinin content in the non-concentrated percolate was $0.084 \pm 0.01\%$ and dry residue was $2.09 \pm 0.05\%$. Artemisinin is a poorly water-soluble drug^[7], therefore, to avoid its precipitation during ethanol removal, the concentration step was interrupted at the first signal of precipitation. The final *A. annua* extract obtained had $1.47 \pm 0.05\%$ of artemisinin, and $30.78 \pm 0.43\%$ of dry residue. The relative density of this extract was 0.93 ± 0.00 g/mL, pH 6.3, viscosity of 3.13 ± 0.06 cP and 23.5% (v/v) ethanol content.

The use of *A. annua* extract instead neat artemisinin may be therapeutically beneficial, because the plant extract may increase the antimalarial effect, since it has other phytochemicals that could act synergistically. For instance, flavonoids of *A. annua* have proven antimalarial activity^[5] and can improve the solubility of artemisinin, together with glycosides, saponins and other phenolic compounds^[8,28,29]. In this context, Meshnick *et al.*^[4] showed that patients receiving 600 mg/day neat artemisinin reached a degree of upsurge equal to or less than 10%, whereas a dose of only 11.1 mg of artemisinin (from *A. annua* extract) plus 7.4 mg of neat artemisinin, led to a 9.1% recrudescence rate^[30].

With a view of improving the technological properties of the standardized *A. annua* extract, pellets were prepared using the extrusion-spheronization technique. To do so, the extract of *A. annua* was used as the granulation liquid at different solid: liquid ratios. The characterization data are shown in **TABLE 2**. The dried pellets had sphericity from 0.77 to 0.82, average diameter and size amplitude from 551 to 1465 μm and from 1.8 to 2.8, respectively. The artemisinin content was from 1.49 to 1.89% (**TABLE 2**).

PF1 formulation did not form pellets because the amount of liquid binder was not enough to achieve a minimum powder agglomeration. Consequently, the amount of liquid binder was increased (PF2 to PF5 pellets, **TABLE 1**). PVP was used as a binder and when it was present at high concentration (PF2, **TABLE 1**) an excessive growth was observed preventing pellet formation. Lower PVP concentrations were then used (PF3 and PF4, 2.86 and 1.15% PVP, respectively) which allow pellet production, however, average size was too high for a subsequent tablet production. In the PF5 formulation, the amount of liquid was slight reduced and PVP was suppressed. As a result, pellets with the highest sphericity value and average size of approximately 500 μm were obtained. This formulation was then encapsulated in hard gelatin capsules. We emphasize that the pellets

of *A. annua* achieved through PF5 formulation presented an artemisinin content close to that of the standardized extract used, making both interesting for future studies of antimalarial activity.

TABLE 2: *A. annua* pellets obtained by extrusion-spheronization technique.

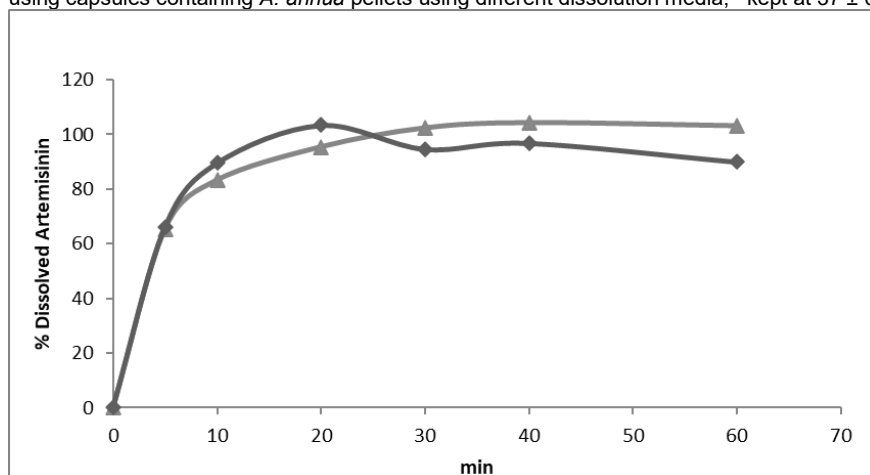
Formulation code	Residual moisture (%)	Sphericity	Average diameter (μm)	Size amplitude (d90/d10)	Artemisinin content (%)
PF1 ¹	-	-	-	-	-
PF2 ¹	-	-	-	-	-
PF3	2.57 \pm 0.05	0.79 \pm 0.09	1340	1.9	1.89 \pm 0.03
PF4	2.49 \pm 0.11	0.77 \pm 0.09	1465	1.8	1.86 \pm 0.09
PF5	2.28 \pm 0.13	0.82 \pm 0.08	551	2.8	1.49 \pm 0.02

¹not characterized

There are herbal medicines with *A. annua* extract available in the market (tablets, capsules and suppositories), however, they are comprised by non-standardized plant drug^[4]. Diawara *et al.*^[24] prepared granules from the hydroalcoholic extract of *A. annua* containing 0.23% (w/w) of artemisinin. These authors reported adequate weight and content uniformity, but other tests were not performed. On the other hand, we used standardized raw material for developing pellets, which were not yet described for this medicinal plant. The use of a multiparticulate solid dosage form may improve technological properties of the herbal extract. Additionally, pellet administration can improve dissolution rate and decrease tissue irritation^[11] and contributes to improving the drug bioavailability due to the control or modification of their release rate^[31]. The low flowability and high hygroscopicity of the herbal extracts can also be overcome by their incorporation into pellets^[10,32] allowing the development of other solid dosage forms, like capsules and tablets^[33].

Capsules containing *A. annua* pellets were characterized. These capsules had 605.6 mg average weight and showed acceptable weight variation (lower than $\pm 7.5\%$). Capsules containing pellets were fully disintegrated in less than 5 min in both purified water and 0.1N HCl (pH 1.2). The mean artemisinin content was 95.8% of the predicted amount. The uniformity of content test resulted in an acceptance value of 14.0 (that is, 8.64 ± 0.4 mg per capsule), below the limit recommended by the US pharmacopoeia^[21]. Artemisinin release from the *A. annua* capsules was very rapid in both media, reaching more than 80% up to 10 min (**FIGURE 1**).

FIGURE 1: *In vitro* artemisinin dissolution at pH 6.8 (gray color) and 1.2 (black color). The dissolution test was performed using capsules containing *A. annua* pellets using different dissolution media, kept at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.



After 60 min of dissolution the amount of released artemisinin was significantly lower in HCl solution pH 1.2 ($89.9 \pm 5.9\%$) ($p = 0.014$) than in phosphate buffer (pH 6.8) ($103.2 \pm 3.4\%$). This difference may be explained by the deposition of a resinous material in the dissolution vessel containing acidic medium. This insoluble material may containing a certain amount of artemisinin. Despite the differences in artemisinin, the dissolution efficiency (ED) did not show a significant difference ($p = 0.26$) between the dissolution media.

Artemisinin solubility in water is very low^[7] and values of $49.7 \mu\text{g/mL}$,^[29] $44.7 \mu\text{g/mL}$ ^[34] and $30.1 \mu\text{g/mL}$ ^[35] were reported. Despite this, artemisinin release from cellulose pellets was very fast, which can be explained by the presence of the other plant compounds, mainly the phenolic ones^[29].

The dissolution studies were carried out with 900 mL of dissolution medium (pH 1.2 and 6.8) using 100 rpm paddle speed under sink conditions. The paddle speed were in accordance to Hoa *et al.*^[36] and Balducci *et al.*^[34] whose performed studies on pure artemisinin, although these authors used water as dissolution medium. To the best of our knowledge, no *in vitro* dissolution studies have been reported with *A. annua* extract.

Nijlen *et al.*^[37] studied the dissolution of 20 mg neat artemisinin in water: ethanol: sodium dodecyl sulfate medium (90:10:0.1, v/v/v). Even using a dissolution medium capable to increase the solubility of artemisinin, less than 7 mg were dissolved after 60 min. Capsules containing pellets of standardized extract of *A. annua* prepared in this study released all of the artemisinin content after 30 min. These results reinforce the effect of other substances present in *A. annua* hydroalcoholic extract on artemisinin dissolution.

A proper dosage form development can circumvent the poor technological properties of herbal extracts allowing to explore the unique advantages of these products, mostly representing by the synergistic action of their constituents. In this sense, the *A. annua* pellets developed here have potential to be used as an herbal platform for the treatment of malaria.

Conclusion

The incorporation of *A. annua* L. extract into microcrystalline cellulose allowed the obtention of uniform pellets by extrusion-spheronization technique. The pellets showed high sphericity, and average size adequate for subsequent tableting. Additionally, the artemisinin dissolution from pellets was rapid in acidic and neutral media suggesting its potential for further studies.

Acknowledgments

The authors thank Pedro Melillo de Magalhães from CPQBA / UNICAMP for providing the plant material used in this work. Financial support was obtained from CNPq. The authors acknowledge the coordinator of the FARMATEC-UFG, Prof. Eliana M. Lima, for the necessary facilities.

References

1. Van Der Kooy F, Sullivan SE. The complexity of medicinal plants: the traditional *Artemisia annua* formulation, current status and future perspectives. *J Ethnopharmacol.* 2013; 150(1): 1-13. [\[Crossref\]](#).

2. Gruessner BM, Cornet-Vernet L, Desrosiers MR, Lutgen P, Towler MJ, Weathers PJ. It is not just artemisinin: *Artemisia* sp. for treating diseases including malaria and schistosomiasis. **Phytochem Rev.** 2019; 18(6): 1509-27. [[Crossref](#)].
3. Cheong DHJ, Tan DWS, Wong FWS, Tran T. Anti-malarial drug, artemisinin and its derivatives for the treatment of respiratory diseases. **Pharmacol Res.** 2020; 158: 104901. [[Crossref](#)].
4. Meshnick SR, Taylor TE, Kamchonwongpaisan S. Artemisinin and the antimalarial endoperoxides: from herbal remedy to targeted chemotherapy. **Microbiol Rev.** 1996; 60(2): 301-15. [[Crossref](#)].
5. Ogwang PE, Ogwal JO, Kasasa S, Ejobi F, Kabasa D, Obua C. Use of *Artemisia annua* L. infusion for Malaria prevention: mode of action and benefits in a Ugandan community. **Brit J Pharm Res.** 2011; 1(4): 124-32. [[Crossref](#)].
6. Bilia AR, Magalhaes PM, Bergonzi MC, Vincieri FF. Simultaneous analysis of artemisinin and flavonoids of several extracts of *Artemisia annua* L. obtained from a commercial sample and a selected cultivar. **Phytomedicine** 2006; 13(7): 487-93. [[Crossref](#)].
7. Van Der Kooy F, Verpoorte R. The content of artemisinin in the *Artemisia annua* tea infusion. **PI Med.** 2011; 77(15): 1754-6. [[Crossref](#)].
8. Atemnkeng MA, Chimnuka B, Dejaegher B, Heyden YV, Plaizier-Vercammen J. Evaluation of *Artemisia annua* L. infusion efficacy for the treatment of malaria in *Plasmodium chabaudi chabaudi* infected mice. **Exp Parasitol.** 2009; 122(4): 344-8. [[Crossref](#)].
9. World Health Organization (WHO). Global Malaria Programme. WHO Position Statement 2012. **Effectiveness of non-pharmaceutical forms of *Artemisia annua* L. against malaria.** 4p. Available in: [[Link](#)]. Accessed in: 4 mar. 2014.
10. Petrovick GF, Petrovick PR, Bassani VL. *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Asteraceae: development of granules from spray dried powder. **Braz J Pharmacogn.** 2010; 20(5): 803-11. [[Crossref](#)].
11. Beringhs AO, Souza FM, Campos AM, Ferraz HG, Sonaglio D. Technological development of *Cecropia glaziovii* extract pellets by extrusion-spheronization. **Braz J Pharmacogn.** 2013; 23(1): 160-8. [[Crossref](#)].
12. Araújo Júnior CA, Costa FSO, Taveira SF, Marreto RN, Valadares MC, Lima EM. Preparation of pellets containing *Pothomorphe umbellata* extracts by extrusion-spheronization: improvement of 4-norolidylcatechol photostability. **Braz J Pharmacogn.** 2013; 23(1): 169-74. [[Crossref](#)].
13. Silva Filho OP, Oliveira LAR, Martins FS, Borges LL, Freitas O, Conceição EC. Obtainment of pellets using the standardized liquid extract of *Brosimum gaudichaudii* Trecul (Moraceae). **Pharmacogn Mag.** 2015; 11(41): 170-5. [[Crossref](#)].
14. Francini KJ, Yatsu GS, Borghetti FM, Ferraz HG, Schenkel EP, Bassani VL. *Ilex paraguariensis* pellets from a spray-dried extract: development, characterization, and stability. **AAPS PharmSciTech.** 2016; 17(2): 358-67. [[Crossref](#)].
15. Aguilar-de-Leyva A, Sharkawi T, Bataille B, Baylac G, Caraballo I. Release behaviour of clozapine matrix pellets based on percolation theory. **Int J Pharm.** 2011; 404(1-2): 133-41. [[Crossref](#)].
16. Di Pretoro G, Zema L, Gazzaniga A, Rough SL, Wilson DI. Extrusion-spheronisation of highly loaded 5-ASA multiparticulate dosage forms. **Int J Pharm.** 2010; 402(1-2): 153-64. [[Crossref](#)].
17. Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA, Farmacopeia Brasileira, vol.1. 5ª ed. 2010. 548p. ISBN: 9788588233409. [[Link](#)].

18. Silva EO, Borges LL, Conceição EC, Bara MTF. Box-Behnken experimental design for extraction of artemisinin from *Artemisia annua* and validation of the assay method. **Braz J Pharmacogn.** 2017; 27 (4): 519-24. [[Crossref](#)].
19. Santos HMM, Veiga FJB, Pina MET, Sousa JJMS. Production of pellets by pharmaceutical extrusion and spheronisation, Part I. Evaluation of technological and formulation variables. **Braz J Pharm Sci.** 2004; 40 (4): 455-70. [[Crossref](#)].
20. Lüpke M, Leuchner M, Levia D, Nanko K, Iida S, Menzel A. Characterization of differential through fall drop size distributions beneath European beech and Norway spruce. **Hydrol Process.** 2019; 33 (26): 3391-406. [[Crossref](#)].
21. United States Pharmacopeia (USP). 33rd ed. Rockville: U.S. **Pharmacopeia**; 2010. p. 1164-70. ISBN-10: 1889788813.
22. World Health Organization (WHO). **Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases 2011**. First WHO report on neglected tropical diseases. 184p. Available in: [[Link](#)]. Accessed in: 18 dec. 2013
23. OPAS, Organização Panamericana de Saúde. **Malária**, 2016. Available in: [[Link](#)]. Accessed in: 12 oct. 2019.
24. Diawara HZ, Gbaguidi F, Gbenou J, Laleye A, Semde R, Some I *et al.* Formulation of oral pharmaceutical dosage forms containing crude extracts of *Artemisia annua* L. **Pharm Méd Trad Afr.** 2012; 16: 1-20. ISSN 0796-7837.
25. Abolaji AO, Eteng MU, Ebong PE, Brisibe A, Ahmed S, Erun S *et al.* Standardisation of *Artemisia annua* using reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). **Pharmacogn J.** 2010; 2(7): 141-7. [[Crossref](#)].
26. Adjogblé MK, Bakoma B, Metowogo K, Amouzou DK, Potchoo Y, Eklugadegbekuk *et al.* Pharmacognostic studies and artemisinin content of *Artemisia annua* L. grown in Togo. **Pharmacogn J.** 2019; 11(6): 1331-5. [[Crossref](#)].
27. Magalhães PM, Pereira B, Sartoratto A. Yields of antimalarial *Artemisia annua* species. **Acta Hortic.** 2004; 629: 421-424. [[Crossref](#)].
28. Elford BC, Roberts MF, Phillipson D, Wilson RJM. Potentiation of the antimalarial activity of qinghaosu by methoxylated flavones. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** 1987; 81(3): 434-6. [[Crossref](#)].
29. Carbonara T, Paucale R, Artentieri MP, Papadia P, Fanizzi FP, Villanova L *et al.* Phytochemical analysis of a herbal tea from *Artemisia annua* L. **J Pharm Biomed Anal.** 2012; 62: 79-86. [[Crossref](#)].
30. ICIPE (International Centre of Insect Physiology and Ecology). **Whole-leaf *Artemisia annua*-based Antimalarial Drug: Report on Proof-of-concept Studies**. A collaborative project. 2005. Available in: [[Link](#)]. Accessed in: 18 ago. 2014.
31. Bhaskaran S, Lakshmi PK. Extrusion Spheronization - A Review. **Int J Pharm Technol Res.** 2010; 2(4): 2429-33. ISSN 09744304.
32. List PH, Schmidt PC. **Phytopharmaceutical Technology**, Boca Raton, Florida: CRC Press. 374 p. 1989. ISBN 0849377099.
33. Allenki V, Kandukuri JM, Eaga CM, Keshetty V, Jannu KK. Pelletization techniques for oral drug delivery. **Int J Pharm Sci Drug Res.** 2009; 1(2): 63-70. ISSN 0975-248x.

34. Balducci AG, Magosso E, Colombo G, Sonvico F, Nak K, Yuen KH *et al.* Agglomerated oral dosage forms of Artemisinin/ β -Cyclodextrin spray-dried primary microparticles showing increased dissolution rate and bioavailability. **AAPS PharmSciTech**. 2013; 14(3): 911-8. [[Crossref](#)].
35. Sahoo NG, Kakran M, Abbas ALI, Judeh Z, Li L. Preparation, characterization and dissolution behavior of artemisinin microparticles. **Adv Powder Technol**. 2011; 22(4): 458-63. [[Crossref](#)].
36. Hoa NT, Armand M, Renaat K. Dissolution testing of artemisinin solid oral dosage forms. **Int J Pharmac**. 1996; 138(2): 185-90. [[Crossref](#)].
37. Nijlen TV, Brennan K, Den Mooter GV, Blaton N, Kinget R, Augustijns P. Improvement of the dissolution rate of artemisinin by means of supercritical fluid technology and solid dispersions. **Int J Pharm**. 2003; 254(2): 173-81. [[Crossref](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 30/07/2020 | **Aceite:** 21/08/2020 | **Publicação:** 31/03/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Silva EO, Marreto RN, Conceição EC, Bara MTF. Preparation of pellets containing a standardized *Artemisia annua* L. extract by extrusion-spheronization. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2021; 15(1): 84-92. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1063>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.



Toxicidade oral aguda e avaliação dos efeitos pressóricos e renais causados pela oncocalyxona A

Acute oral toxicity and assessment of blood pressure and kidney effects caused by oncocalyxone A

DOI 10.32712/2446-4775.2021.973

Silva, Paula Letícia Braga e¹; Costa, Laura Lícia Marcos da¹; Nogueira Júnior, Francisco Assis¹; Jorge, Antônio Rafael Coelho¹; Pereira, Jeanine Morais¹; Evangelista, Janaina Serra Azul Monteiro¹; Pessoa, Otília Deusdênia Loiola¹; Alves, Renata Sousa²; Monteiro, Helena Serra Azul³.

¹Universidade Federal do Ceará, Departamento de Farmacologia e Fisiologia, Laboratório de Toxicologia, Rua Coronel Nunes de Melo, 1000, Rodolfo Teófilo, CEP 60416-000, Fortaleza, CE, Brasil.

²Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas. Rua Capitão Francisco Pedro 1210, Rodolfo Teófilo, CEP 60430-370, Fortaleza, CE, Brasil.

³Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia Unidade de Pesquisas Clínicas. Coronel Nunes de Melo, 1127, Porangabussu, CEP 60430-970, Fortaleza, CE, Brasil.

*Correspondência: paulaleticia@alu.ufc.br.

Resumo

Neste estudo propõe-se avaliar os efeitos toxicológicos, pressóricos e renais da onco-A em modelos animais *in vivo* e *ex vivo*. A Oncocalyxona A (onco-A) isolada de *Auxemma oncocalyx* foi estudada nas doses 1, 3, e 10 µg/mL. Utilizou-se camundongos Swiss fêmeas (20-25g) para o teste de toxicidade oral aguda. Os dados foram comparados por teste t de Student, Two-Way ANOVA e pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Foi estimado uma $DL_{50} > 2000$ mg/kg, os tecidos pulmonar, renal e cardíaco demonstraram alterações histológicas. Sobre os níveis pressóricos de ratos, a onco-A ocasionou redução significativa da pressão arterial média, alterou os níveis de creatinina e, observou-se alterações histológicas nos tecidos cardíaco e renal. Em perfusão de rim isolado a onco-A causou aumento na pressão de perfusão, fluxo urinário e resistência vascular renal. O ritmo de filtração glomerular encontrou-se reduzido nas concentrações de 1 µg/mL e 10 µg/mL e aumentado para a dose de 3 µg/mL. As fotomicrografias do tecido renal após a perfusão demonstraram alterações histológicas significativas induzidas pela onco-A. Pode-se inferir que, embora a onco-A tenha apresentado baixa letalidade em todos os protocolos experimentais realizados, mostrou evidências de toxicidade pulmonar, renal e cardíaca.

Palavras-chave: Oncocalyxona A. Toxicidade oral aguda. Perfusão renal. Alterações histológicas.

Abstract

This study proposes to evaluate the toxicological, pressure and renal effects of onco-A in animal models in vivo and ex vivo. The Oncocalyxone-A (onco-A), isolated of *Auxemma oncocalyx*, was studied in doses of 1, 3 and 10 µg/mL. Female Swiss mice were used (20-25g) for the acute oral toxicity test. The data were compared by test t de Student, Two-Way ANOVA and post-test Bonferroni ($p < 0,05$). The oral toxicity was considered low since it showed a $DL_{50} > 2000$ mg/kg. Histological alterations on lung, renal and cardiac tissues were observed. About levels blood pressure of rats, the onco-A caused a significant reduction of mean arterial pressure, altered creatinine levels and, histological changes in cardiac and renal tissues. In isolated kidney perfusion onco-A caused an increase in perfusion pressure urinary flow and renal vascular resistance. The rate of glomerular filtration was reduced in concentrations 1 µg /mL and 10 µg/mL increasing the dose to 3 µg / mL. Photomicrographs of renal tissue after perfusion demonstrated significant histological changes induced by onco-A. It can be inferred that, although onco-A has presented low lethality in all experimental protocols performed, showed evidence of pulmonary, renal and cardiac toxicity.

Keywords: Oncocalyxone-A. Acute oral toxicity. Renal perfusion. Histological changes.

Introdução

O interesse em substâncias naturais para o tratamento de enfermidades vem crescendo com o passar dos anos, mesmo com a existência de propriedades tóxicas de muitas dessas substâncias^[1], dada a diversidade e potencialidade delas em diversos relatos de uso popular, como doenças dos sistemas cardiovascular e renal.

Neste sentido, a mensuração da pressão arterial é de extrema importância para uma avaliação inicial e estimativa útil do estado cardiovascular^[2]. Algumas classes de fármacos atualmente disponíveis no mercado, como alguns agentes quimioterápicos, apresentam como efeito adverso cardiotoxicidade e, por vezes, seu uso tem restrição em pacientes com desordens pressóricas^[3].

Em relação ao sistema renal, uma das manifestações mais comuns de dano nefrotóxico é a Lesão Renal Aguda (LRA), caracterizada por um abrupto declínio da função renal por redução da taxa de filtração glomerular (TFG), levando a um aumento dos níveis séricos de compostos nitrogenados, como ureia e creatinina, e de resíduos de hidrogênio^[4].

Na busca por substâncias que possam ser utilizadas para estas duas situações e, tendo em vista, que a química dos produtos naturais tem ganhado grande notoriedade nos últimos anos^[5], optou-se pelo estudo da ação de quinonas em um modelo animal que pudesse prever a ação destes compostos.

As quinonas são consideradas uma importante classe de produtos naturais, sendo encontradas abundantemente na natureza, como em plantas, fungos, bactérias e artrópodes^[6,7]. As cadeias hidrofóbicas desses compostos permitem sua ligação a membranas celulares e proteínas, e suas estruturas de anéis conjugados precisam ser reduzidas para se tornarem mais estáveis, funcionando como moléculasceptoras de elétrons^[8].

Ao longo da história, vários outros benefícios medicinais têm sido acrescidos à classe, como propriedades antibiótica, antitumoral, antiparasitária, anticoagulante, dentre outras^[7]. Dentre os fármacos com propriedades anticâncer, as quinonas representam uma das maiores classes de agentes antitumorais com

fortes candidatas para uso clínico^[9]. Entretanto, o grande inconveniente destes compostos, como a maioria dos quimioterápicos, está relacionado a citotoxicidade direcionada apenas às células cancerígenas, o que limita o avanço de muitas pesquisas^[10].

Auxemma oncocalyx TAUB. (onco-A) pertencente à família Boraginaceae e apresenta, em sua composição, diversas quinonas. Conhecida popularmente como pau branco, a árvore é característica da Caatinga, no nordeste brasileiro, onde apresenta distribuição mais expressiva no estado do Ceará^[11]. Os efeitos biológicos dessas quinonas têm sido extensivamente estudados, e descritos em atividades antiedematogênica e analgésica^[12], antidiabética^[13] e antiagregante plaquetária^[14]. Os principais estudos desta substância se destacam na área da oncologia, por apresentar atividade antiproliferativa em linhagens de células tumorais^[15], onde sua atividade citotóxica está relacionada a dano direto ao DNA e morte celular por apoptose^[16].

A ausência de dados toxicológicos *in vivo*, a possibilidade de utilização da onco-A na terapêutica anticâncer, bem como o conhecimento sobre a toxicidade de compostos da mesma classe química, foram os fatos principais que motivaram a execução deste trabalho. O presente estudo se propõe avaliar os efeitos toxicológicos, pressóricos e renais da onco-A em modelos animais *in vivo* e *ex vivo*.

Materiais e Métodos

A onco-A foi isolada por cromatografia em gel de sílica a partir do extrato etanólico do cerne do caule da *A. oncocalyx*. A preparação do extrato, o método de isolamento e a caracterização química foram descritas por Pessoa et al.^[17,18].

Para o teste de toxicidade oral aguda foram utilizados camundongos Swiss fêmeas (pesando entre 20 a 25 g), em que foi possível a determinação de uma dose de segurança para a realização dos experimentos de pressão arterial média e perfusão renal ratos Wistar machos (250-300 g), provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC. Todos os experimentos foram realizados de acordo com o Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará sob o número 32/15.

Inicialmente, camundongos swiss (n=6) receberam uma dose de 2000 mg/Kg de onco-A por uma cânula de gavagem em um volume de 2 mL/Kg. Após a administração de cada dose, os animais foram observados por 15, 30 e 60 minutos bem como após 24 horas e, diariamente, por um total de 14 dias, quanto a presença de sinais indicativos de toxicidade. A variação de peso corporal foi registrada. Ao final do experimento os animais foram anestesiados com cetamina (80 mg/Kg) e xilasina (10 mg/Kg) para coleta de sangue venoso para posteriores análises bioquímicas (ureia, creatinina e ácido úrico); bem como para a retirada dos órgãos (rim, coração e pulmão) para análise histológica.

Após a verificação de baixa toxicidade, ratos Wistar machos (n=6), pesando entre 250-300 g, foram anestesiados com cetamina (100 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg) para a realização do procedimento cirúrgico, que consistiu de uma traqueostomia e implantação de cateteres preenchidos com heparina (500 UI. mL⁻¹ em salina) na aorta abdominal para registro da Pressão Arterial Média e na veia cava inferior para administração de drogas, conforme técnica descrita previamente^[19,20]. O cateter aórtico foi então acoplado a um transdutor de pressão piezo-elétrico (Braile BXS/N) e a um sistema de amplificação de sinal com interface USB (DATAQ DI-148U), utilizando o software de aquisição de dados WinDaq/Lite para o cálculo direto da P.A.M. A onco-A

foi injetada manualmente *in bolus* no volume de 0,1 mL, seguido de injeção de 0,2 mL de solução salina. Cada animal recebeu uma série crescente de doses da onco-A (30, 100, 300 e 1000 µg/Kg) através do cateter intravenoso em intervalos de 5 minutos cada, e o curso temporal das alterações de pressão arterial média foi registrado. Após o período experimental foi realizada a eutanásia do animal por exsanguinação e laparotomia transversal e longitudinal para coleta de sangue e órgãos (coração e rim). Alíquotas de sangue venoso foram coletadas para a realização de dosagens bioquímicas de aspartato transaminase (AST), alanina aminotransferase (ALT), lactato desidrogenase, creatina quinase (CK-Total), creatinina, ureia e ácido úrico.

Para análise da função renal foi utilizado o sistema de perfusão de órgão^[21,22]. Este sistema permite a manutenção constante de parâmetros funcionais renais com utilização de albumina bovina à 6% na solução perfusora de Krebs-Henseleit e oxigenação por mistura carbogênica (95% de oxigênio e 5% de CO₂). A técnica cirúrgica utilizada seguiu o método descrito por Balhmann et al.^[23], Nishiitsutji-Uwo et al.^[24], Ross^[25] e Fonteles et al.^[21]. Ratos Wistar machos (n=6) pesando entre 250-300 g foram anestesiados cetamina (100 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg) e o rim direito colocado no sistema. Foram registrados a pressão de perfusão e o fluxo de perfusão a cada cinco minutos, durante 120 min. Amostras de urina e perfusato foram coletadas para posterior dosagem de sódio, potássio, cloreto (método íon eletrodo seletivo - RapidChem 744 - Bayer® diagnóstica), inulina (hidrólise direta, conforme Walser et al.^[26] e Fonteles et al.^[21] e osmolaridade (osmômetro de vapor – Vapro®), importantes no cálculo dos parâmetros da função renal. As concentrações de onco-A utilizadas foram 1 g/mL, 3 µg/mL e 10 µg/mL, para fins de comparação dos efeitos da substância sobre a pressão de perfusão (PP), resistência vascular renal (RVR), ritmo de filtração glomerular (RFG), fluxo urinário (FU) e transporte de eletrólitos (Na⁺, K⁺ e Cl⁻). Ao final da perfusão, os rins foram pesados e, em seguida, amostras de tecido foram armazenadas em 10% de formalina tamponada durante 24 h, seguido de etanol (70%). Os fragmentos foram submetidos a desidratação, diafanização e corte a uma espessura de 5µm. As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) e analisadas utilizando um microscópio óptico trinocular Nikon Eclipse.

Para análise estatística, todos os dados foram expressos como média ± erro padrão da média e analisados através do programa GraphPadPrism v. 6.0. Utilizou-se os testes estatísticos (ANOVA e Teste t de Student) para analisar os experimentos de pressão arterial. Para as dosagens bioquímicas realizadas nos experimentos de Toxicidade Oral Aguda e de Pressão arterial média, os resultados foram analisados utilizando Teste t de Student. Nos ensaios de perfusão renal, utilizou-se Two-Way ANOVA, seguida de pós-teste de Bonferroni.

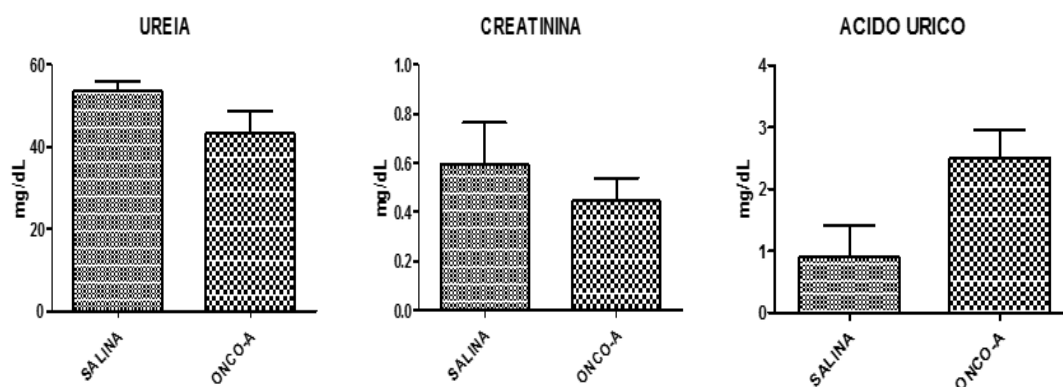
Resultados e Discussão

Onco-A na dose de 2000 mg/Kg foi administrada por gavagem ao primeiro animal e verificada a sobrevivência após 48 h (Animal 1). Diante deste resultado foram realizados testes em mais 3 animais. Os Animais 2 e 3 sobreviveram aos 14 dias da administração, ao passo que o Animal 4 morreu cerca de 2 h e 30 min após a gavagem. Destacando-se que, desses animais, três consecutivos sobreviveram no teste da dose limite, de 2000 mg/Kg, estima-se uma DL₅₀ > 2000 mg/Kg. É importante ressaltar que durante os 14 dias após a administração, os animais que sobreviveram não apresentaram nenhuma outra alteração indicativa de toxicidade.

Ao final do período, verificou-se que o tratamento com onco-A não provocou alterações estatisticamente significativas sobre as dosagens bioquímicas de ureia, creatinina e ácido úrico (**FIGURA 1**). Entretanto, na análise histológica dos tecidos pulmonar, renal e cardíaco demonstraram diversas alterações. No tecido

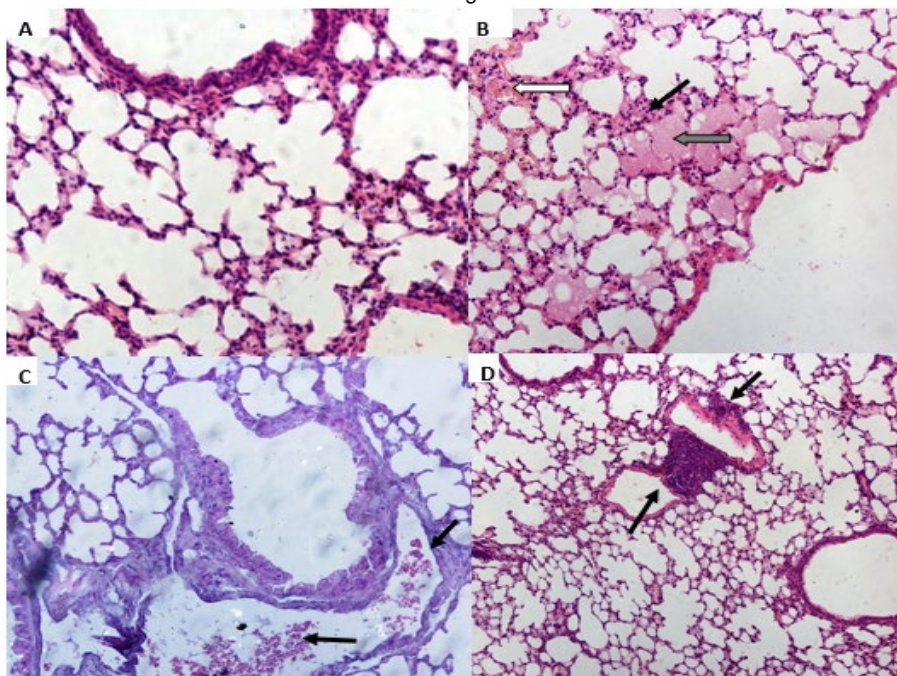
pulmonar observou-se hemorragia, infiltrado inflamatório, edema, hiperplasia do tecido linfóide, hemorragia intra-alveolar. Em relação ao tecido renal, foram observadas alterações tais como: degeneração glomerular e degeneração tubular hidrópica, com tumefação das células tubulares; atrofia glomerular e depósito de material proteico na luz tubular. No tecido cardíaco foram observados presença de vasos sanguíneos congestionados, área de necrose, com destaque para as células anucleadas e eosinofílicas; infiltrado inflamatório, edema e células necróticas. No grupo controle não houve qualquer indício de citotoxicidade (**FIGURAS 2, 3 e 4**).

FIGURA 1: Níveis plasmáticos de ureia, creatinina e ácido úrico em camundongos tratados com onco-A 2000 mg/kg, ou tratados com salina (controle), após o experimento de toxicidade oral aguda- Teste da Dose Limite.



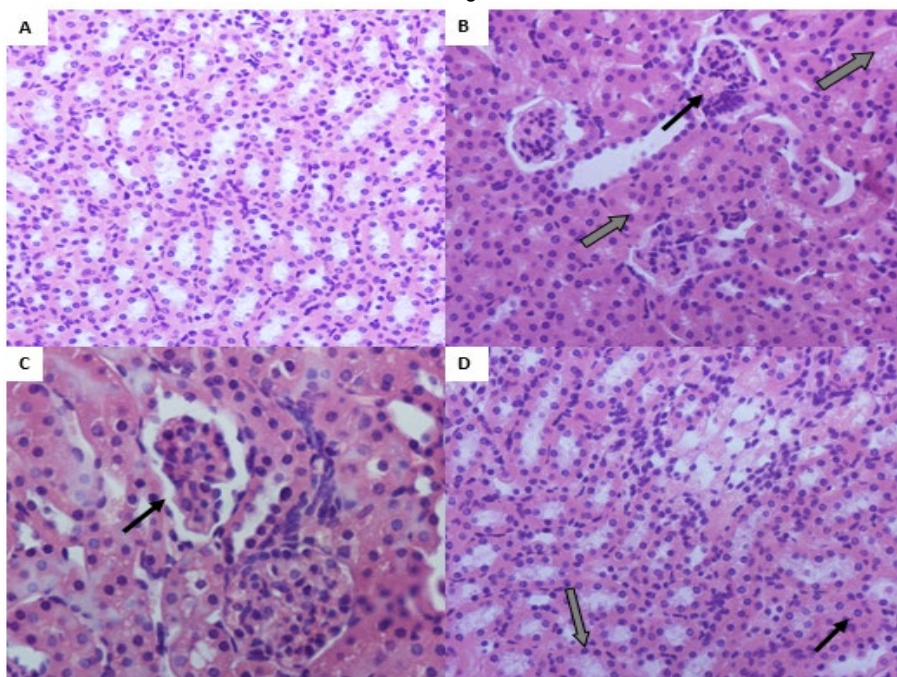
Legenda: Dados expressos como média \pm E.P.M. e analisados por Teste t não pareado.

FIGURA 2: Fotomicrografias das alterações no tecido pulmonar, induzidas pela onco-A (2000 mg/Kg) após 14 dias nos animais submetidos ao teste de toxicidade oral aguda.



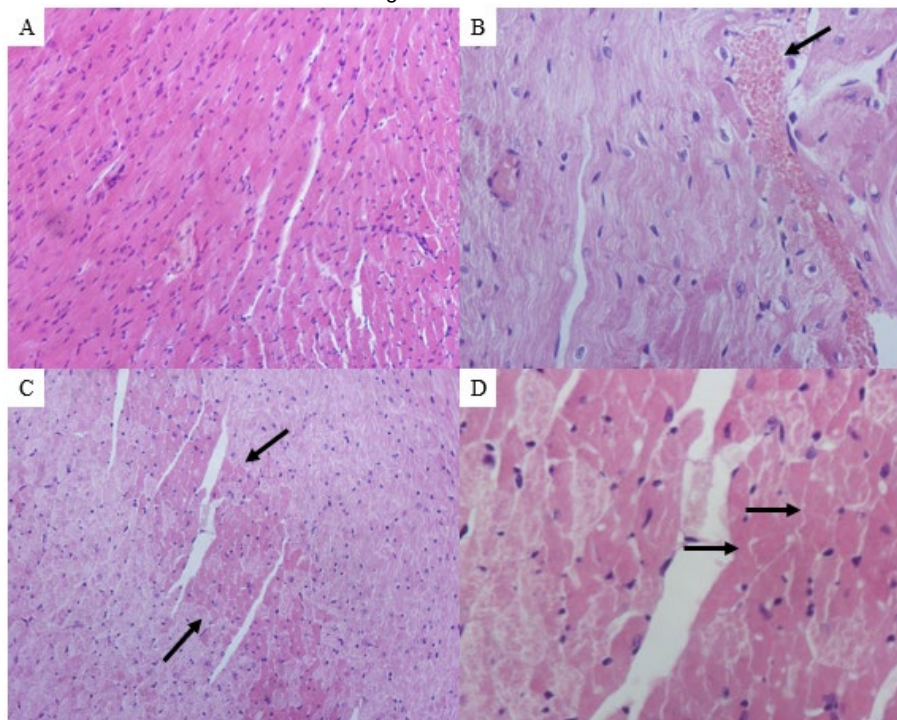
Legenda: (A) Grupo controle sem alterações, objetiva 20x. Nos animais tratados com onco-A, observou-se: (B) Hemorragia discreta (seta branca), infiltrado inflamatório (seta preta) e edema (seta cinza), nos alvéolos pulmonares, objetiva 40x (C) Destaque para sangue dentro de uma veia (setas pretas), objetiva 60x. (D) Hiperplasia do tecido linfóide associado a mucosa, denominado Hiperplasia de BALT (setas pretas), objetiva 10x. Coloração HE. Microscópio Nikon Eclipse Nis, Software Nis 4.0.

FIGURA 3: Fotomicrografias das alterações no tecido renal, induzidas pela onco-A (2000 mg/Kg) após 14 dias nos animais submetidos ao teste de toxicidade oral aguda.



Legenda: (A) Grupo controle sem alterações, medula renal normal. (B) Degeneração glomerular (seta preta) e degeneração tubular hidrópica, com tumefação das células tubulares (setas cinzas), objetiva 40x. (C) Atrofia glomerular (seta preta), objetiva 60x. (D) degeneração tubular hidrópica (seta preta) e depósito de material proteináceo na luz tubular, proteína de Tamm-Horsfall (seta cinza), indicativo de lesão tubular objetiva 40x. Coloração HE. Microscópio Nikon Eclipse Nis, Software Nis 4.0.

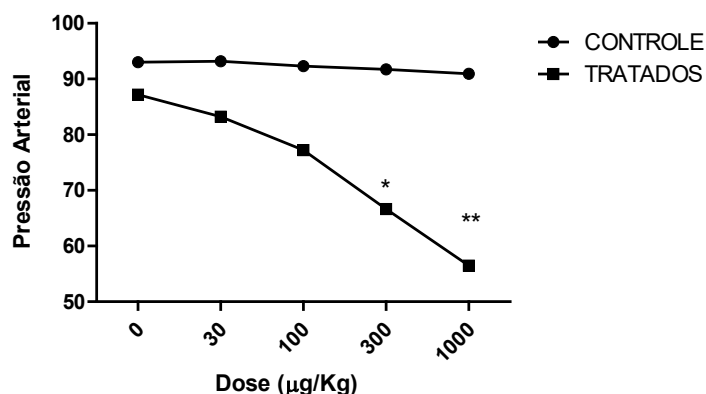
FIGURA 4: Fotomicrografias das alterações no tecido cardíaco, induzidas pela onco-A após 14 dias nos animais submetidos ao teste de toxicidade oral aguda.



Legenda: (A) Grupo controle sem alterações, objetiva 20x. Nos animais tratados com onco-A, observou-se: (B) Presença de vasos sanguíneos congestionados (seta preta), objetiva 40x (C) Área de necrose mais eosinofílica (setas pretas), objetiva 10x. (D) Área de necrose, com destaque para as células anucleadas e eosinofílicas (setas pretas), objetiva 40x. Coloração HE. Microscópio Nikon Eclipse Nis, Software Nis 4.0

Quando se observou a ação da onco-A sobre os níveis pressóricos de ratos, foi possível evidenciar que a administração consecutiva *in bolus* de doses crescentes de onco-A ocasionaram redução significativa da pressão arterial média. As médias, nos respectivos tempos (0, 15, 20, 25, 30) dos grupos controle, foram (93,01 ± 8,75 mmHg); (93,18 ± 8,56); (92,32 ± 9,23); (91,72 ± 9,97); (90,92 ± 10,41) e nos grupos tratados com onco-A nas doses de 30 µg/kg, 100 µg/kg, 300 µg/kg, 1000 µg/kg, respectivamente: (87,17 ± 11,60); (83,22 ± 12,62); (77,24 ± 15,03); (66,66* ± 22,79); (56,46 ± 26,06) (**FIGURA 5**).

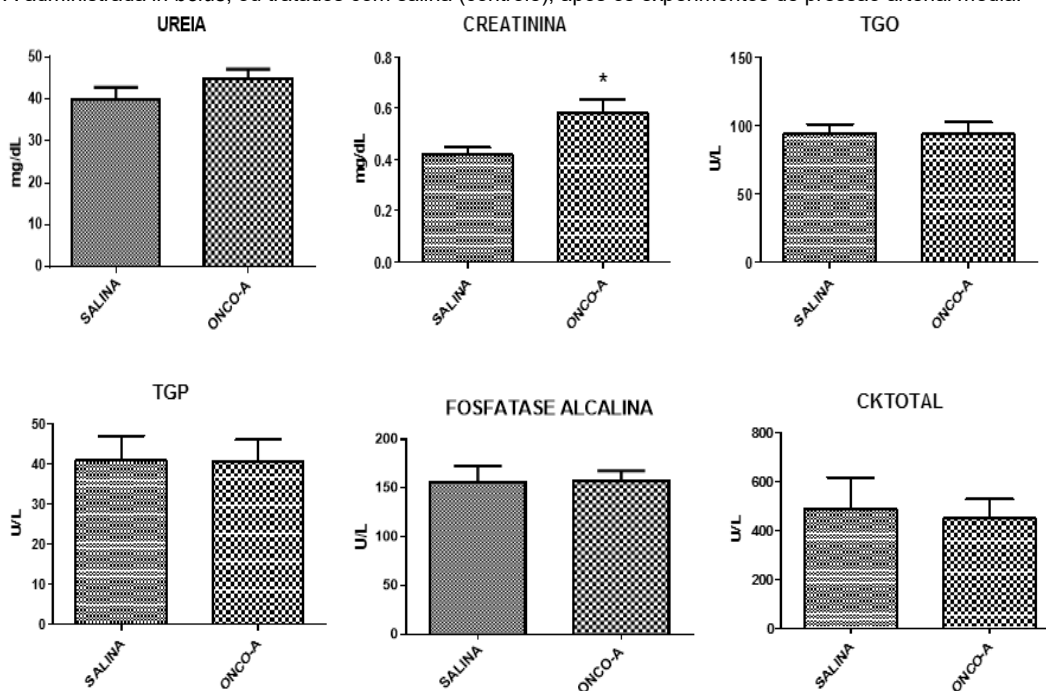
FIGURA 5: Relação dose-efeito da administração de onco-A, *in bolus*, em ratos anestesiados com cetamina (100 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg) na pressão arterial média.



Legenda: Dados expressos como média ± E.P.M. e analisados por ANOVA e Teste t de Student, com * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$.

Em relação aos parâmetros bioquímicos observados após os experimentos pressóricos, em relação aos níveis ureia, creatinina, AST, ALT, fosfatase alcalina e CK-Total, o tratamento com onco-A apenas ocasionou alterações nos níveis de creatinina (**FIGURA 6**).

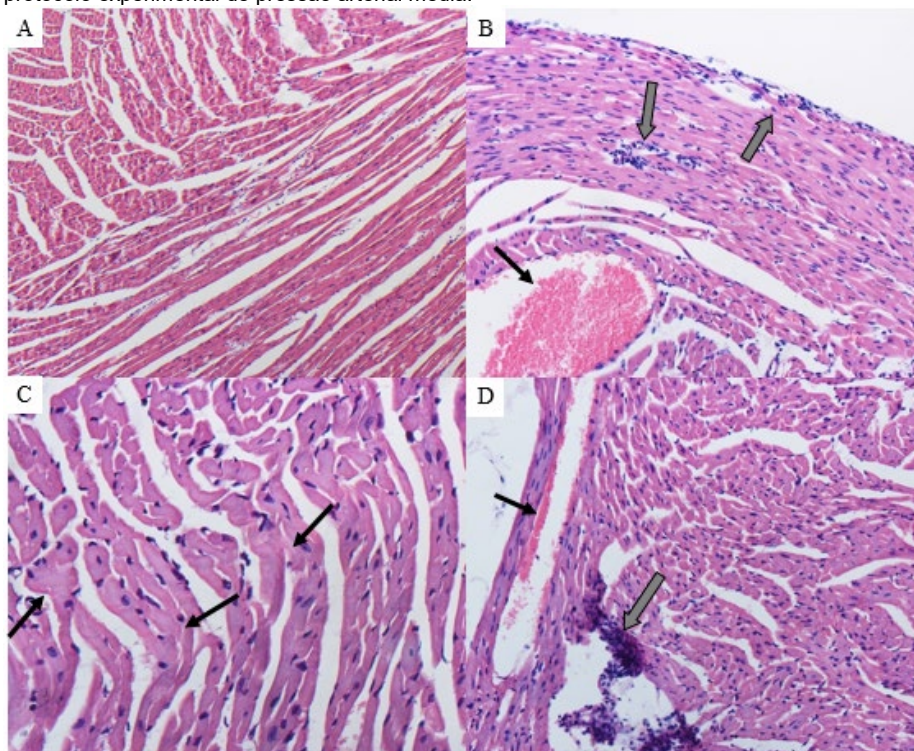
FIGURA 6: Níveis plasmáticos de ureia, creatinina, TGO, TGP, fosfatase alcalina e CK total em ratos tratados com onco-A administrada *in bolus*, ou tratados com salina (controle), após os experimentos de pressão arterial média.



Legenda: Dados expressos como média ± E.P.M. e analisados por Teste t não pareado, * $p < 0,05$.

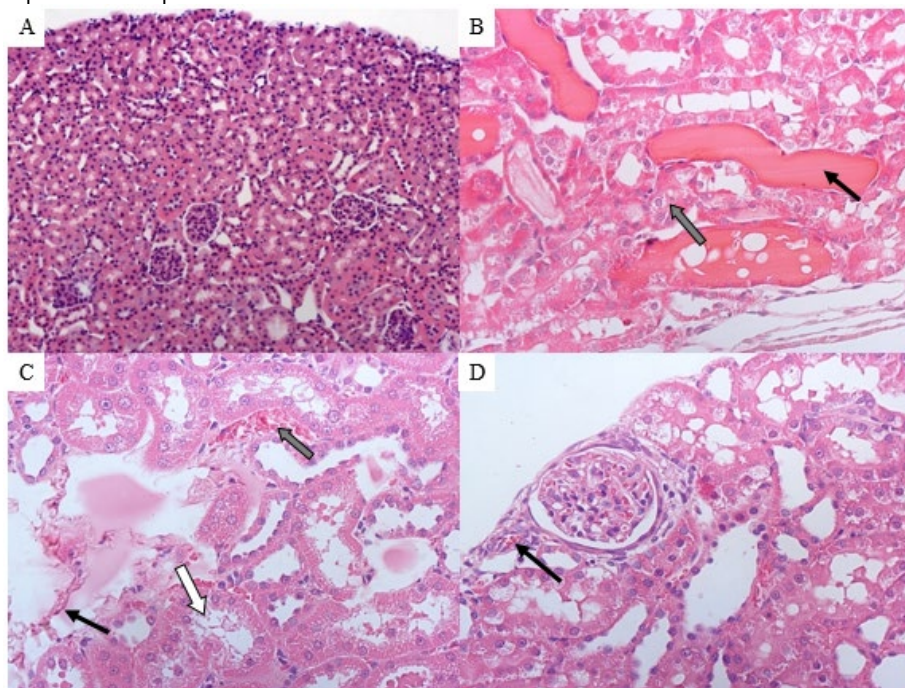
Ao analisar as fotomicrografias referentes aos tecidos cardíaco e renal, foram observadas alterações após o protocolo experimental de pressão arterial média. No tecido cardíaco observou-se hemorragia, infiltrado inflamatório, área necrosante, presença de vasos sanguíneos congestionados e infiltrado inflamatório no pericárdio (**FIGURA 7**). As alterações no tecido renal, induzidas pela onco-A foram degeneração tubular hidrópica tubular, depósito de material proteico na luz tubular, presença de vaso sanguíneo congestionado, edema intersticial, degeneração tubular e infiltrado inflamatório moderado na região periglomerular (**FIGURA 8**). No grupo controle não houve alterações nos tecidos correspondentes.

FIGURA 7: Fotomicrografias das alterações no tecido cardíaco, induzidas pela onco-A nos animais submetidos ao protocolo experimental de pressão arterial média.



Legenda: (A) Grupo controle sem alterações, corte longitudinal e transversal, objetiva 10x. No grupo tratado com onco-A, observou-se: (B) Presença de hemorragia (seta preta) e infiltrado inflamatório no miocárdio (setas cinzas), objetiva 20x. (C) Área de necrose, com destaque para as células anucleadas das fibras cardíacas (setas pretas), objetiva 40x. (D) Presença de vasos sanguíneos congestionados (seta preta) e infiltrado inflamatório no miocárdio (seta cinza), objetiva 20x. Coloração HE. Microscópio Nikon Eclipse Nis, Software Nis 4.0.

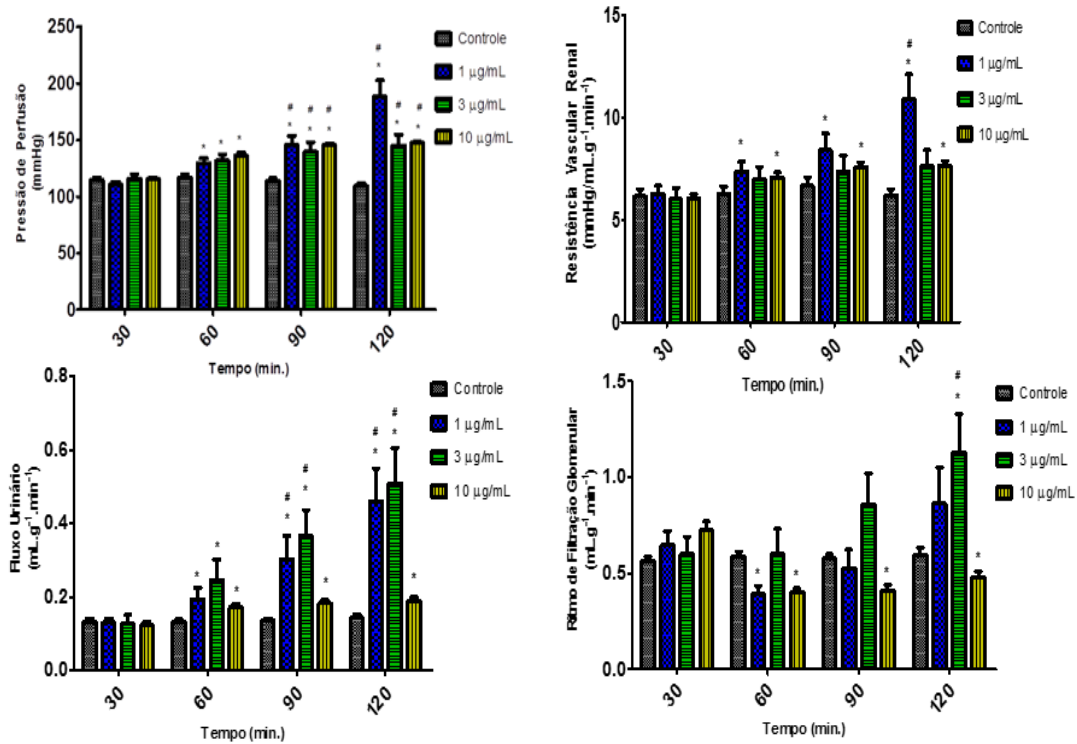
FIGURA 8: Fotomicrografias das alterações no tecido renal, induzidas pela onco-A nos animais submetidos ao protocolo experimental de pressão arterial média.



Legenda: (A) Grupo controle sem alterações, córtex renal, objetiva 10x. No grupo tratado com onco-A, observou-se: (B) Degeneração hidrópica tubular (seta cinza) e depósito de material proteináceo na luz tubular (seta preta), objetiva 40x. (C) Presença de vaso sanguíneo congestionado (seta cinza), edema intersticial (seta preta) e degeneração tubular (seta branca), objetiva 40x. (D) Infiltrado inflamatório moderado na região periglomerular (seta preta), objetiva 40x. Coloração HE. Microscópio Nikon Eclipse Nis, Software Nis 4.0.

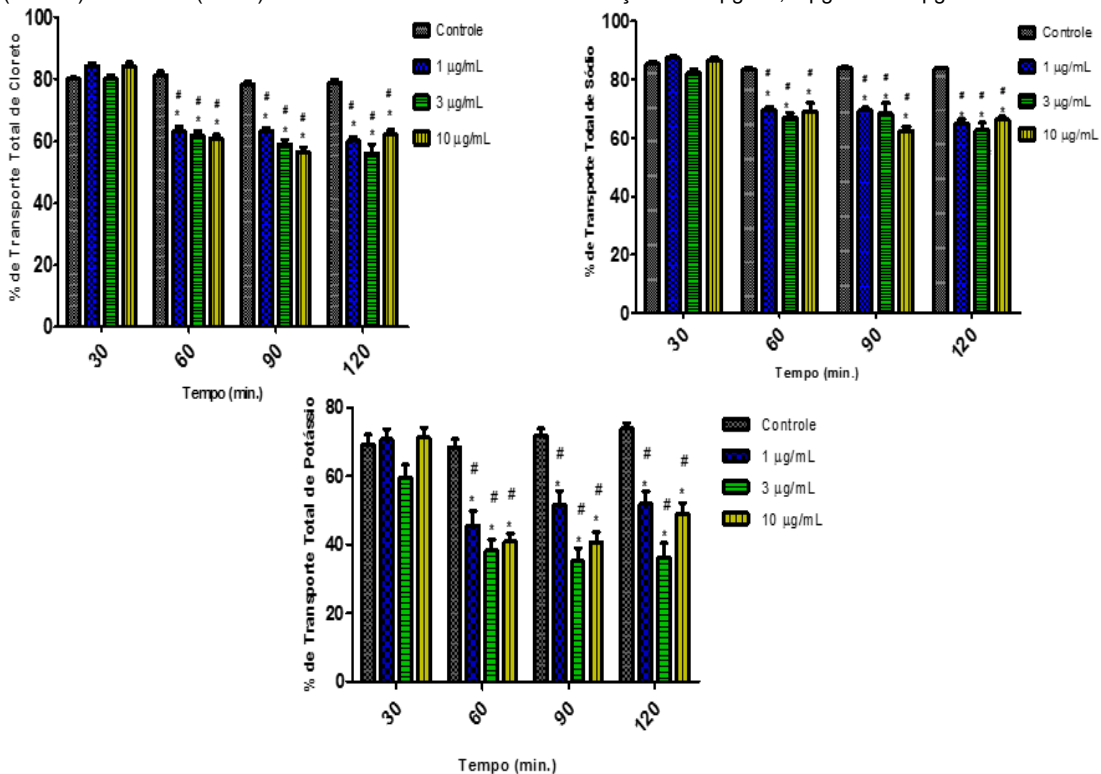
Quando avaliados os dados resultantes da perfusão renal após a administração da onco-A, foram observadas alterações na fisiologia renal nos parâmetros avaliados. Pode-se observar um aumento na PP aos 60, 90 e 120 minutos nos grupos das três doses estudadas quando comparadas ao grupo controle interno (**FIGURA 9**). Esses resultados foram acompanhados do aumento significativo da RVR para as doses de 1 µg/mL e 10 µg/mL nos tempos 60, 90 e 120 (**FIGURA 9**). Para a dose de 3 µg/mL não houve alteração estatisticamente significativa. Em relação ao FU, a onco-A promoveu aumento significativo nos tempos de 60, 90 e 120 minutos para os três grupos (**FIGURA 9**). Já o RFG, na comparação com o controle interno, encontrou-se reduzido nas concentrações de 1 µg/mL (tempo 90) e 10 µg/mL (tempos 60, 90 e 120) e aumentada para a dose de 3 µg/mL, no último tempo (**FIGURA 9**). Em relação ao Transporte Tubular Total dos eletrólitos (Na⁺, K⁺ e Cl⁻), houve redução significativa em todos os tempos do experimento nos três grupos estudados (**FIGURA 10**).

FIGURA 9: Efeitos promovidos pela onco-A na Pressão de Perfusão (PP), Resistência Vascular Renal (RVR), Fluxo Urinário (FU), Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) em rim isolado de rato nas concentrações de 1 µg/mL, 3 µg/mL e 10 µg/mL.



Legenda: Os dados são expressos em média ± E.P.M. com análise por teste t de Student ou Two-Way ANOVA e pós-teste de Bonferroni. *P<0,05, comparação entre os diferentes tempos 60, 90 e 120 e o controle interno do grupo (tempo 30).

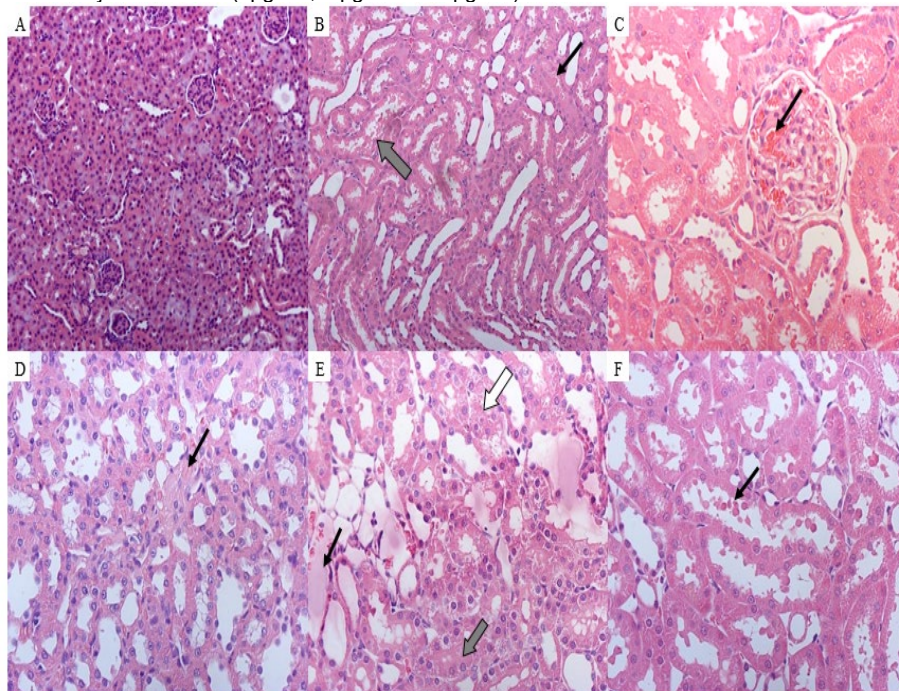
FIGURA 10: Efeitos promovidos pela onco-A no Percentual de Transporte Tubular Total de Cloreto (%TCl⁻), Sódio (%TNa⁺) e Potássio (%TK⁺) em rim isolado de rato nas concentrações de 1 µg/mL, 3 µg/mL e 10 µg/mL.



Legenda: Os dados são expressos em média ± E.P.M. com análise por teste t de Student ou Two-Way ANOVA e pós-teste de Bonferroni. *P<0,05, comparação entre os diferentes tempos 60, 90 e 120 e o controle interno do grupo (tempo 30)

Ao analisar as fotomicrografias do tecido renal após a perfusão, foram observadas alterações induzidas pela onco-A, tais como: degeneração tubular, depósito de material proteico na luz tubular, congestão glomerular, fibrose intersticial discreta, edema peritubular e presença de hemácias no lúmen tubular (FIGURA 11).

FIGURA 11: Fotomicrografias das alterações no tecido renal, induzidas pela onco-A na perfusão de rim isolado, em três concentrações testadas (1 µg/mL, 3 µg/mL e 10 µg/mL).



Legenda: (A) Grupo controle sem alterações, córtex renal, objetiva 10x. Nos grupos tratados com onco-A observou-se, em 1 µg/mL: (B) Degeneração tubular (seta cinza) e depósito de material proteináceo na luz tubular (seta preta), córtex, objetiva 20x. (C) Congestão glomerular (seta preta), córtex, objetiva 40x. Em 3 µg/mL: (D) Fibrose intersticial discreta (seta preta), medula, objetiva 40x. (E) Edema peritubular (seta preta), degeneração tubular (seta branca) e material proteináceo na luz tubular (seta cinza), objetiva 40x. Em 10 µg/mL: (F) Presença de hemácias no lúmen tubular (seta preta), córtex, objetiva 40x. Coloração HE. Microscópio Nikon Eclipse Nis, Software Nis 4.0.

Estudos toxicológicos têm a finalidade de assegurar ou refutar a aplicabilidade clínica de um fármaco para investigação de sua segurança, o que se dá através de testes para avaliação de efeitos agudos ou crônicos, sistêmicos ou sítio-específicos^[27]. Com base neste entendimento foi investigada a toxicidade oral aguda da onco-A, para determinação de sua DL₅₀. No teste da dose limite, a onco-A apresentou uma DL₅₀ > 2000 mg/Kg, em virtude da sobrevivência de três animais, indicando ser uma substância de baixa letalidade.

Sivagnanam et al.^[13] em um estudo para investigação da atividade antidiabética da onco-A isolada da planta *Prenanthes sarmantous*, administrou por via oral 200 mg/Kg da substância em camundongos não diabéticos (n=12), também não relatando toxicidade elevada da substância.

Na avaliação dos efeitos pressóricos sistêmicos, verificou-se que a onco-A promoveu redução na pressão arterial média de ratos normotensos anestesiados. Estudos realizados com a para-benzoquinona, um metabólito do benzeno, verificaram que altas doses da substância induziram decréscimo na pressão arterial e morte devido a paralisia no centro medular^[28]. A hipoperfusão renal ocasionada pela hipotensão, poderia explicar o aumento transitório significativo dos níveis de creatinina plasmática nos animais tratados com onco-A submetidos ao protocolo de pressão arterial média^[29].

O tratamento com onco-A resultou em dano na arquitetura microscópica glomerular e tubular, bem como em infiltração de células inflamatórias na análise histológica do tecido renal dos animais submetidos aos experimentos *in vivo* de toxicidade oral aguda e pressão arterial média. Devido ao alto metabolismo basal e ao seu papel no processo de detoxificação de substâncias, os rins são particularmente sensíveis ao estresse oxidativo induzido por quinonas. EROs tem grande importância como mediadores da sinalização intracelular relacionado aos processos de necrose e apoptose, e a perda de função celular, envolvidos no dano glomerular e tubular. Em resposta ao dano direto tubular induzido por nefrotoxicantes, as células epiteliais tubulares sofrem uma rápida perda da integridade do citoesqueleto e de sua polaridade, caracterizado por dilatação e degeneração celular, perda da borda em escova, bem como processos de necrose ou apoptose^[30].

As demais alterações histológicas após 14 dias, indicaram pronunciados sinais de toxicidade causados pela onco-A, com destaque para a presença de hemorragia alveolar e infiltrado inflamatório no tecido pulmonar, além de áreas de necrose, infiltrado inflamatório, edema e congestão vascular, na análise do tecido cardíaco. Isso se deve, provavelmente, à presença de antraquinonas como a doxorubicina, daunorrubicina e epirubicina^[31] que estão relacionadas ao desenvolvimento de cardiotoxicidade através da formação de EROs (O_2^- e H_2O_2), por meio de reações no ciclo redox, ou pela formação de complexos com proteínas do metabolismo do ferro^[32].

Quando o efeito da onco-A é avaliado sobre o órgão isolado (rim), percebe-se uma elevação na PP aumentou nas três concentrações testadas de Onco-A, com incremento da resistência (RVR) nas concentrações de 1 $\mu\text{g/mL}$ e 10 $\mu\text{g/mL}$. Pode-se, então, inferir que a diminuição da pressão sistêmica evidenciada nos experimentos de pressão arterial média, pode estar influenciando a arquitetura renal, de forma a alterar os capilares renais, causando vasoconstrição arteriolar e elevando a pressão de perfusão e resistência renal^[33]. Isso pode ser corroborado, ainda, pela complexidade do sistema renal, que é controlado por milhares de vias de sinalização endócrinas, bem como pelo potencial tóxico da onco-A em causar dano direto ao DNA da célula, levando a diferentes repostas fisiológicas, em diferentes sistemas.

Os resultados de redução do transporte de eletrólitos, bem como o aumento da diurese induzido pela onco-A nas três concentrações testadas sugere uma ação tubular associada. Os achados histológicos de degeneração hidrópica tubular e edema peritubular nos rins perfundidos com onco-A, corroboram com esses resultados. A perda de polaridade das células com borda em escova do túbulo proximal, leva a uma instabilidade funcional das proteínas transportadoras presentes na membrana da célula tubular, o que resulta diretamente na redução dos transportes iônicos. A degeneração hidrópica é ocasionada em virtude de uma maior retenção de eletrólitos no citoplasma das células tubulares, por uma diminuição da reabsorção tubular^[34]. A maior retenção de solutos nos túbulos renais explica o aumento do volume urinário, devido à maior concentração de solutos na urina^[35].

Um dos parâmetros mais importantes para a avaliação da função renal é o RFG. Este diminuiu transitoriamente nos rins perfundidos com onco-A 1 $\mu\text{g/mL}$, apresentou aumento no grupo de concentração 3 $\mu\text{g/mL}$, e redução irreversível com 10 $\mu\text{g/mL}$ de onco-A. Nguyen et al.^[36] em um estudo com compostos derivados de quinonas (AA-861, tBuBHQ, tBuBQ, eduroquinona), detectou que os compostos dessa classe podem induzir a produção de EROs por meio da regulação positiva de enzimas da família NADPH oxidase, aumentando sua atividade oxidase. Essas oxidases são expressas na mácula densa de ratos e estão envolvidas na vasoconstrição de arteríola aferente, diminuindo o RFG. Outro efeito promovido por essas

enzimas é a redução do óxido nítrico disponível da mácula densa, o que prejudica a vasodilatação dependente do endotélio e, conseqüentemente, impede o reestabelecimento do RFG^[37].

Outro mecanismo que pode explicar a redução do RFG é a liberação de endotelinas pelo endotélio vascular renal lesado. Estas substâncias são secretadas no compartimento basolateral do endotélio pelas células mesangiais e tubulares renais e suas ações estão associadas à vasoconstrição das arteríolas aferentes e eferentes, aumentando a PP, a RVR e reduzindo o RFG^[38].

Conclusão

Diante das evidências encontradas pode-se afirmar que, embora a onco-A tenha apresentado baixa letalidade em todos os protocolos experimentais realizados e importante atividade hipotensora, ela mostrou evidências de toxicidade pulmonar, renal e cardíaca, atribuídas aos compostos de sua classe química.

Agradecimentos

À CAPES e à Funcap, pelo apoio financeiro concedido para o desenvolvimento desse trabalho, e a todos os pesquisadores envolvidos.

Referências

1. Lima CMP et al. Avaliação da toxicidade aguda do extrato das cascas de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. **Rev Bras PI Med.** 2014; 16(4): 832-838. [\[CrossRef\]](#).
2. Koeppen BM, Stanton BD. **Berne & Levy – Fisiologia.** 6ª ed. Elsevier, 2009. 859p. [\[Link\]](#).
3. Kalil Filho R et al. I Diretriz Brasileira de Cardio-Oncologia da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq Bras Cardiol.** 2011; 96(2 s.1): 01-52. [\[Link\]](#).
4. Casarett SL, Doull J. **Toxicology: The Basic Science of Poisons.** Curtis D. Klassen. 17th ed. Kansas: McGraw-Hill, 2008. 1331p. [\[Link\]](#).
5. Pupo MT, Gallo MBC, Vieira PC. Biologia química: uma estratégia moderna para a pesquisa em produtos naturais. **Quím Nova.** 2007; 30(6): 1446-1455. [\[CrossRef\]](#).
6. Monks TJ, Hanslik RP, Cohen GM, Ross D, Graham DG. Quinone chemistry and toxicity. **Toxicol Appl Pharmacol.** 1992; 112: 2-16. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
7. Abraham I, Joshi R, Pardasani P, Pardasani RT. Recent Advances in 1,4-Benzoquinone Chemistry. **J Braz Chem Soc.** 2011; 22(3): 385-421. ISSN 0103-5053. [\[CrossRef\]](#).
8. Madeo J, Zubair A, Marianne F. A review on the role of quinones in renal disorders. **Springerplus.** 2013; 2(1): 139. [\[CrossRef\]](#).
9. Asche C. Antitumour quinones. **Mini Rev Med Chem.** 2005; 5(5): 449-467. [\[CrossRef\]](#).
10. Costa-Lotufo LV et al. Toxicity to sea urchin egg development of the quinone fraction obtained from *Auxemma oncoalyx*. **J Braz Med Biol Res.** 2002; 35(8). [\[CrossRef\]](#).

11. Braga R. **Plantas do Nordeste: especialmente do Ceará**. 5ª ed. Mossoró, RN: Fundação Guimarães Duque: Fundação Vingt-Un Rosado - ESAM, 495p. 2001. [\[Link\]](#).
12. Ferreira MAD et al. Oncocalyxone A inhibits human platelet aggregation by increasing cGMP and by binding to GP Iba glycoprotein. **Brit J Pharmacol**. 2003; 154: 1216-1224. [\[CrossRef\]](#).
13. Sivagnanam I, Kalaivanan P, Rajamanickam M. Anti-diabetic activity of oncocalyxone an isolated from prenanthes sarmentosus. **Inter J Pharmacy Pharmac Sci**. 2013; 5(4). [\[Link\]](#).
14. Ferreira MAD et al. Analgesic and anti-inflammatory activities of a fraction rich in oncocalyxone A isolated from *Auxemma oncocalyx*. **Phytomedicine**. 2004; 11: 315-322. [\[CrossRef\]](#).
15. Leyva A, Pesssoa C, Boogaerd F, Sokaroski R, Lemos TLG, Wetmore LA et al. Oncocalyxones A and C, 1,4- Anthracenediones from *Auxemma oncocalyx*: comparison with anticancer 1,9- Anthracenediones. **Anticancer Res**. 2000; 20(2A): 1029-31. PMID: 10810392. [\[PubMed\]](#).
16. Sbardelotto AB. **Estudo do mecanismo de citotoxicidade da oncocalixona-a em leucemia promielocítica humana – linhagem HL-60**. 103 fs. 2013. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-graduação em Farmacologia] - Universidade Federal do Ceará, UFC, 2013. [\[Link\]](#).
17. Pessoa ODL et al. R. Novel cordiachromes isolated from *Auxemma oncocalyx*. **Nat Prod Lett**. 1993; 2: 145. [\[CrossRef\]](#).
18. Pessoa ODL et al. Cordiachromes from *Auxemma oncocalyx*. **Phytochem**. 1995; 6: 1777-1786. [\[CrossRef\]](#).
19. Lahlou S et al. Cardiovascular effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* in rats: role of the autonomic nervous system. **PI Med (Stuttgart)**. 1999; 65(6): 553-557. [\[CrossRef\]](#).
20. Siqueira RJB. **Estudo dos efeitos cardiovasculares do óleo essencial de *Croton zehntneri* e de seus principais constituintes, anetol e estragol, em ratos normotensos**. 53 fs. 2005. Dissertação de Mestrado [Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas] - Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife. 2005. [\[Link\]](#).
21. Fonteles MC et al. Support of renal kidney function by long-chain fatty acids derived from renal tissue. **Am J Physiol**. 1983; 244: 235-246. [\[CrossRef\]](#).
22. Monteiro HAS, Fonteles MC. The effect of *Bothrops jararaca* venom on rat kidney after short-term exposure: preliminary results. **Pharmacol Toxicol**. 1999; 85: 198-200. [\[CrossRef\]](#).
23. Balhlmann J, Giebisch G, Ochwaldt B. Micropuncture study of isolated perfused rat kidney. **Am J Physiol**. 1967; 212: 77-82. [\[CrossRef\]](#).
24. Nishiitsuji-Uwo GM, Ross BD, Krebs HA. Metabolic activities of isolated perfused kidney. **Biochem J**. 1967; 103: 852-862. [\[CrossRef\]](#).
25. Ross BD. The isolated perfused rat kidney. **Clin Sci Mol Med Suppl**. 1978; 55(6): 513-521. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
26. Walser M, Davidson DG, Orloff J. The renal clearance of alkali-stable inulin. **J Clin Invest**. 1955, v.34, p.1520-1523. [\[Link\]](#)
27. Langman LJ, Kapur BM. Toxicology: Then and now. **Clin Biochem**. 2006; 39: 498-510. [\[CrossRef\]](#).
28. Deichmann WB, Keplinger ML. Phenol and phenolics compounds. Industrial hygiene and toxicology. **Intersc**. New York, p.1383-1385, 1963. ISBN: 978-1-4612-9649-2. [\[CrossRef\]](#).

29. Harty J. Prevention and Management of Acute Kidney Injury. **The Ulster Med J.** 2014; 83(3): 149-157. [[PubMed](#)].
30. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. **Robbins & Cotran Patologia: Bases Patológicas das Doenças.** Elsevier, 8ª ed. 2010. ISBN 13: 978-8535234596. 1480p.
31. Simůnek T, Stěrba M, Popelová O, Adamcová M, Hrdina R, Gersl V. Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron. **Pharmacol Rep.** 2009; 61(1): 154-71. ISSN 1734-1140. [[Link](#)].
32. Gammella E, Maccarinelli F, Buratti P, Recalcati S, Cairo G. The role of iron in anthracycline cardiotoxicity. **Front Pharmacol.** 2014; 5: 25. ISSN 1734-1140. [[CrossRef](#)]
33. Constanzo LS. 1947. **Fisiologia.** 5ª ed., Rio de Janeiro: Elsevier. 2014. 520p. ISBN: 9788535275612.
34. Bonventre JV et al. Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity. **Nat Biotechnol.** 2010; 23(5): 436-440. [[CrossRef](#)].
35. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. **Robbins-Patologia Básica.** 9ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora LTDA., 2013. ISBN: 978-4377-1781-5. [[Link](#)].
36. Nguyen MV et al. Quinone compounds regulate the level of ROS production by the NADPH oxidase Nox4. **Biochem Pharmacol.** 2013; 85(11): 1644-54. [[CrossRef](#)].
37. Liu R et al. Depolarization of the macula densa induces superoxide production via NAD(P)H oxidase. **Am J Physiol Renal Physiol.** 2007; 292(6): F1867-1872. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
38. Zanatta CA et al. Papel do sistema endotelina na nefropatia diabética. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 2008; 52(4): 581-588. [[CrossRef](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 18/03/2020 | **Aceite:** 19/10/2020 | **Publicação:** 31/03/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Silva PLB, Costa LLM, Nogueira Júnior FA, Jorge ARC et al. Toxicidade oral aguda e avaliação dos efeitos pressóricos e renais causados pela oncocalyxona A. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2021; 15(1): 93-107. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/973>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

Atividade antimicrobiana das lactonas sesquiterpênicas da folha da yacon (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae)

Antimicrobial activity of sesquiterpene lactones from yacon leaves (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae)

DOI 10.32712/2446-4775.2021.864

Vieira, Perla Raquel Nogueira¹; Reis, Débora Raquel Mergen Lima¹; Oliveira, Cledes Teresinha de¹; Souza, Carolina Ribeiro Noronha de².

¹Instituto Federal do Paraná (IFPR), Campus Palmas, Av. Bento Munhoz da Rocha Neto s/nº, PRT-280, Trevo da Codapar, CEP 85555-000, Palmas, PR, Brasil.

²Universidade Federal de Jataí, Campus Jatobá, Rodovia BR-364, km 195, nº 3800, Cidade Universitária, CEP 75801615, GO, Brasil.

*Correspondência: carolina.noronha@ufg.br.

Resumo

A yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma planta originária dos Andes pertencente à família Asteraceae. Seus tubérculos e folhas são consumidos de forma medicinal, principalmente para o controle da hiperglicemia. Adicionalmente, os tricomas glandulares presentes nas folhas são ricos em lactonas sesquiterpênicas (LST) como a enidrina, uvedalina e sonchifolina, que apresentam atividade antimicrobiana contra diferentes fungos e bactérias gram-positivas. No presente trabalho avaliou-se a atividade antimicrobiana das LST extraídas das folhas da yacon frente à cepas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* Typhimurium pelo método de difusão em disco. Encontrou-se atividade antimicrobiana contra *S. aureus*. Seguiu-se com o teste de microdiluição, que determinou uma concentração inibitória mínima de 0,09 mg/ml contra *S. aureus*. Os resultados confirmam o potencial antimicrobiano das lactonas sesquiterpênicas, especialmente contra bactérias gram-positivas.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana. Yacon. Lactonas sesquiterpênicas. *Smallanthus sonchifolius*.

Abstract

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) is a native plant from the Andes belonging to the Asteraceae family. Its tubers and leaves are consumed mainly for the control of hyperglycemia. In addition, the glandular trichomes present in the leaves are rich in sesquiterpene lactones such as enyndrine, uvedalina and sonchifolin, which present antimicrobial activity against different strains of fungi and gram-positive bacteria. The antimicrobial activity of the sesquiterpene lactones extracted from leaves was evaluated against *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* Typhimurium by the disc diffusion

method. Results show antimicrobial activity only against *S. aureus*. Minimum inhibitory concentration against *S. aureus*, calculated after the microdilution method, was 0.09 mg/ml. Results confirm the antimicrobial activity of sesquiterpene lactones against gram-positive bacteria.

Keywords: Antimicrobial activity. Yacon. Sesquiterpene lactones. *Smallanthus sonchifolius*.

Introdução

A resistência microbiana é uma realidade no contexto hospitalar e comunitário que está associada ao uso irracional de agentes antimicrobianos. Dentre as estratégias recomendadas para minimizar este problema está a redução global no número de prescrições e o desenvolvimento de novas substâncias com ação antimicrobiana^[1]. Neste sentido, tem crescido a busca por produtos naturais como fontes de compostos bioativos com potencial antimicrobiano.

A yacon, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.; H. Robinson), é uma planta originária dos Andes pertencente à família Asteraceae. No Brasil ela é conhecida como “batata yacon” ou “batata *die*”^[2]. Suas raízes tuberosas são consumidas *in natura* e suas folhas são consumidas de maneira medicinal na forma de chá. As raízes apresentam baixo valor energético, devido à alta porcentagem de água em sua composição, e armazenam energia na forma de frutanos do tipo inulina e frutoligossacarídeos, os quais não são hidrolisados pelo corpo humano e passam pelo trato intestinal agindo como fibras alimentares^[3]. Já as folhas são ricas em ácidos fenólicos, como o ácido clorogênico, cafeico e ferrúlico^[4], que apresentam elevado poder antioxidante^[5]. Estes compostos fenólicos parecem estar envolvidos com a atividade hipoglicemiante atribuída aos diferentes extratos da folha de *S. sonchifolius*^[6,7].

Adicionalmente aos efeitos medicinais do consumo da yacon, as folhas têm importância devido ao seu efeito antimicrobiano. Especificamente, os tricomas glandulares presentes nas folhas são ricos em lactonas sesquiterpênicas (LST) como a enidrina, uvedalina e sonchifolina^[8-13]. Estas apresentaram atividade antibacteriana contra *Bacillus subtilis*^[9] e *Staphylococcus aureus*^[14-16] (ambas bactérias gram-positivas) e antifúngica contra *Pyricularia oryzae*, fungo patógeno que afeta plantações de arroz^[8,9], e *Aspergillus flavus*^[12].

A fim de investigar com mais profundidade o potencial antimicrobiano das folhas de *S. sonchifolius*, avaliou-se a atividade antimicrobiana de suas LST frente às leveduras *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, à bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* e à bactéria gram-negativa *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium. Os microrganismos foram escolhidos pela grande relevância como causadores de infecções humanas e pela dificuldade de tratamento das infecções por eles produzidas.

Material e Métodos

Plantio

Mudas de *S. sonchifolius*, cerca de 15 cm de altura, obtidas de um produtor local foram plantadas com espaçamento de 1 m entre linhas e 0,7 m entre plantas, em profundidade de 0,15 m, na estufa do Instituto Federal do Paraná – Campus Palmas.

Secagem das folhas

As folhas foram coletadas 90 dias após o plantio e submetidas à secagem em estufa com fluxo de ar forçado a 40°C por 24 horas.

Extração e purificação das lactonas sesquiterpênicas

A extração e purificação das lactonas sesquiterpênicas presentes nas folhas de *S. sonchifolius* foi realizada segundo protocolo descrito por Andrade^[14]. Utilizou-se 1 litro de diclorometano para a imersão de 150 gramas de folhas secas por 15 minutos a temperatura ambiente. O extrato resultante foi filtrado em filtro de papel qualitativo e submetido à rotoevaporação a 40-45°C. Ao resíduo, adicionou-se 35 ml de metanol e 15 ml de água destilada gota a gota. Após esse processo as ceras presentes no extrato precipitaram, sendo necessária uma nova filtragem para a remoção destas. Para a remoção do solvente, o filtrado foi submetido a uma nova evaporação a 40-45°C, sob pressão reduzida, em rotoevaporador. Ao resíduo deste processo foi adicionado 9 ml de metanol e a solução foi armazenada a -20°C por 4 dias. O precipitado foi separado por decantação e, em seguida, lavado em éter etílico gelado (3:1). O éter etílico foi então evaporado.

Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do extrato foi avaliada por duas técnicas: 1) difusão em disco e 2) concentração inibitória mínima. A utilização destes métodos para testes com extratos vegetais foi revisada por diversos autores^[17-20]. Foram utilizadas cepas *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida tropicalis* (ATCC 28707), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Salmonella* Typhimurium (NEWP 0028).

A técnica de difusão em disco é um método físico, no qual a zona de inibição de crescimento do organismo teste é avaliada frente à inoculação com substância biologicamente ativa. Para a inoculação foram utilizadas cepas do microrganismo testado e suspensos em solução salina estéril (NaCl 0,85%) até atingir o grau 0,5 da escala MacFarland (1×10^6 UFC/mL). Foram utilizadas placas de petri contendo ágar Mueller-Hinton para os testes com bactérias e ágar Sabouraud-Dextrose para os testes com leveduras. As placas foram semeadas com o auxílio de um *swab* estéril embebido na suspensão microbiana, cobrindo toda a superfície da placa. Em seguida, foram depositados os discos impregnados com 10 µl de extrato à 50 mg/ml e 25 mg/ml, diluído em solução salina com DMSO à 10%; um disco embebido em solução de 10% DMSO (controle negativo) e discos com agentes antimicrobianos (controles positivos), que para as bactérias foram ampicilina (1,0 µg/µl) e oxacilina (0,1 µg/µl) e para as leveduras anfotericina B (10 µg/µl) e fluconazol (2,5 µg/µl). Os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas a 36°C em estufa por 24 horas e, em seguida, foram medidos os halos de inibição de crescimento microbiano, quando presentes.

A técnica de concentração inibitória mínima (CIM) corresponde à determinação da menor concentração da substância avaliada capaz de inibir o crescimento do microrganismo teste. Foi utilizada técnica de microdiluição em caldo Mueller-Hinton para a cepa de *S. aureus*. A escolha da cepa deu-se a partir dos resultados obtidos nos testes de difusão de disco, por ter sido a única cepa a apresentar sensibilidade ao extrato. Uma solução contendo 10% de DMSO e o extrato à 1,5 mg/ml foi preparada. Em seguida, foi realizada uma série de diluições (entre 0,75 mg/ml e 0,005 mg/ml) em DMSO 10%. Aos poços foi então adicionado 5µl do inóculo e 100µl do caldo. A placa foi incubada a 35°C por 24 horas. Após incubação os poços foram acrescidos com 2,3,5-trifeniltetrazólio, um revelador indicador de oxirredução, utilizado para

apontar a presença de células viáveis. A concentração mais baixa em que o revelador indicou a presença de células viáveis foi utilizada como indicativa para estabelecer a CIM.

Resultados e Discussão

Lactonas sesquiterpênicas foram extraídas de tricomas glandulares presentes nas folhas de *S. sonchifolius*. A atividade antimicrobiana do extrato foi testada, primeiramente, pelo método de difusão em disco. Este teste é preconizado por vários autores para ensaios preliminares ou *screening*, por apresentar boa reprodutibilidade, resultados qualitativos rápidos e ser possível utilizando uma pequena amostra^[21]. Testou-se a atividade antimicrobiana contra as leveduras *C. albicans* e *C. tropicalis*, a bactéria gram-positiva *S. aureus* e a bactéria gram-negativa *S. Typhimurium*. As leveduras do gênero *Candida* são encontradas no tubo gastrointestinal e vagina da população saudável, podendo se tornar patogênicas sob determinadas condições, causando infecções superficiais ou invasivas^[22]. *S. aureus* é encontrada no trato respiratório e pele, podendo causar infecções oportunistas na pele, corrente sanguínea e vias aéreas, por exemplo^[23]. Historicamente o tratamento esteve acompanhado pelo surgimento de cepas resistentes, primeiro à penicilina e posteriormente à meticilina^[24]. Os diferentes sorotipos de *Salmonella enterica* são tipicamente transmitidos por via oral, causando síndromes como a febre tifoide, diarreias e bacteremia em homens e animais^[25], sendo um grande problema para a indústria de alimentos.

Os diâmetros dos halos de inibição obtidos pelo teste de difusão em disco encontram-se na **TABELA 1**. A ausência de formação de halo de inibição nas placas de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *S. Typhimurium* indica ausência de atividade antimicrobiana contra estas cepas. Por outro lado, a presença de halo de inibição, dependente da concentração, contra a cepa de *S. aureus* indica atividade antimicrobiana do extrato testado. Especificamente, a média do diâmetro do halo de inibição com o extrato a 25 mg/ml foi de 7 mm; e com o extrato à 50 mg/ml, 15 mm. Não houve inibição do crescimento bacteriano pela ação do veículo (DMSO) e os halos de inibição da oxacilina (0,1 mg/ml) e ampicilina (1 mg/ml) foram de 45 mm e 48 mm, respectivamente.

TABELA 1: Média do diâmetro do halo de inibição do crescimento de diferentes cepas frente a duas concentrações do extrato de lactonas sesquiterpênicas de *Smallanthus sonchifolius*.

	Halo de inibição do crescimento (mm)	
	50 mg/ml	25 mg/ml
<i>Candida albicans</i>	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	-
<i>Salmonella Typhimurium</i>	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	7

(-) = Não houve formação de halo de inibição.

Uma vez que o teste de difusão em disco evidenciou a atividade do extrato contra *S. aureus*, seguiu-se com o teste de microdiluição para determinação da concentração mínima inibitória. A CIM é expressa como a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de inibir completamente o crescimento da bactéria. O teste foi realizado com concentrações variando entre 0,75 mg/ml e 0,005 mg/ml e evidenciou que, após o período de incubação, o microrganismo havia sido inibido em concentrações acima de 0,09 mg/ml.

A observação de cepas resistentes à drogas antimicrobianas tem impulsionado a busca por novos agentes antimicrobianos. Neste contexto, as LST têm apresentados resultados promissores. Aquelas extraídas de diversas espécies vegetais apresentaram atividade antifúngica e antibacteriana, especialmente contra

bactérias gram-positivas como *S. aureus* e *B. subtilis*^[26-30]. Especificamente das folhas de *S. sonchifolius* foram isoladas LST como a enidrina, uvedalina e sonchifolina^[9,10], que tiveram sua atividade antimicrobiana confirmada contra os fungos *P. oryzae* e *A. flavus* e as bactérias gram-positivas *S. aureus* (inclusive cepas resistentes a metilina) e *B. subtilis*^[8,9,14-16]. No caso da ação antimicrobiana contra *S. aureus* resistente a metilina, a enidrina parece ter uma papel mais relevante em comparação com as demais LST testadas^[15].

No presente trabalho, por meio do teste de difusão em disco, confirmou-se a atividade antimicrobiana das LST presentes na folha de *S. sonchifolius* contra *S. aureus*. Adicionalmente, o teste de microdiluição indicou que a concentração inibitória mínima, em solução de DMSO, é de 0,09 mg/ml. O mesmo extrato não inibiu o crescimento de *S. Typhimurium* e das leveduras *C. albicans* e *C. tropicalis*. De maneira similar, Andrade^[14] não encontrou atividade antimicrobiana contra as bactérias gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* e *Escherichia coli*.

Conclusão

Conclui-se que as LST encontradas nas folhas de *S. sonchifolius* apresentam atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, mas não contra *C. albicans*, *C. tropicalis* e *S. Typhimurium*, confirmando-se o potencial antimicrobiano de LST contra bactérias gram-positivas.

Agradecimentos

Ao Instituto Federal do Paraná (IFPR) pelo financiamento por meio do Auxílio PIAP – Edital Proepi nº. 11/2016.

Referências

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **O uso indiscriminado de antimicrobianos e resistência microbiana**. Boletim 03. Brasília: Editora MS; 2010. p.1-12. [\[Link\]](#).
2. Santana I, Cardoso MH. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Ciênc Rural**. 2008; 38 (3): 898-905. ISSN 1678-4596. [\[CrossRef\]](#).
3. Albuquerque EN, Rolim PM. Potencialidades do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) no diabetes *Mellitus*. **Rev Ciênc Méd**. 2011; 20(3-4): 99-108. ISSN 2318-0897. [\[CrossRef\]](#).
4. Simonovska B, Vovk I, Andrenšek S, Valentová K, Ulrichová J. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. **J Chromatogr A**. 2003; 1016: 89-98. ISSN 0021-9673. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
5. Valentova K, Cvak L, Muck A, Ulrichova J, Simanek V. Antioxidant activity of extracts from leaves of *Smallanthus sonchifolius*. **Eur J Nutr**. 2003; 42: 61-6. ISSN 1436-6215. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
6. Genta SB, Cabrera WM, Mercado MI, Grau A, Catalán CA, Sánchez SA. Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smallanthus sonchifolius*: Constituents of the most active fractions. **Chem-Biol Interact**. 2010; 185: 143-52. ISSN 0009-2797. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
7. Oliveira RB. **Atividades anti-diabética, anti-inflamatória e toxicologia de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson - Asteraceae**. 76p. Ribeirão Preto; 2011. Tese de Doutorado [Programa de

pós-graduação em Ciências Farmacêuticas] - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP. Ribeirão Preto. 2011.

8. Inoue A, Tamogami S, Kato H, Nakazato Y, Akiyama M, Kodama O et al. Antifungal melampolides from leaf extracts of *Smallanthus sonchifolius*. **Phytochemistry**. 1995; 4: 845-8. ISSN 0031-9422. [[CrossRef](#)].

9. Lin F, Hasegawa M, Kodama O. Purification and Identification of Antimicrobial Sesquiterpene Lactones from Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Leaves. **Biosci Biotechnol Biochem**. 2003; 67(10): 2154-9. ISSN 1347-6947. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

10. Mercado MI, Aráoz MVC, Grau A, Catalán CAN. New Acyclic Diterpenic Acids from Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Leaves. **Nat Prod Commun**. 2010; 5(11): 1721-6. ISSN 1934-578X. [[PubMed](#)].

11. Mercado MI, Aráoz MVC, Manrique I, Grau A, Catalán CAN. Variability in sesquiterpene lactones from the leaves of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) accessions of different geographic origin. **Genet Resour Crop Evol**. 2014; 61(6): 1209-17. ISSN 1573-5109. [[CrossRef](#)].

12. Pak A, González E, Felicio JD, Pinto MM, Rossi MH, Simoni IC, Lopes MN. Inhibitory activity of compounds isolated from *Polymnia sonchifolia* on aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. **Braz J Microbiol**. 2006; 37: 199-203. ISSN 1678-4405. [[CrossRef](#)].

13. Schorr K, Da Costa FB. Quantitative Determination of Enhydrin in Leaf Rinse Extracts and in Glandular Trichomes of *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae) by Reversed-phase High-performance Liquid Chromatography. **Phytochem Anal**. 2005; 16: 161-5. ISSN 1099-1565. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

14. Andrade EF. **Composição química e atividade biológica de extratos de folhas e flores de Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)**. 110p. Curitiba; 2014. Tese de Doutorado [Programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos] – Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2014.

15. Choi JG, Kang OH, Lee YS, Oh YC, Chae HS, Obiang-Obounou B, Park SC, Shin DW, Hwang BY, Kwon DY. Antimicrobial activity of the constituents of *Smallanthus sonchifolius* leaves against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**. 2010; 14(12): 1005-9. ISSN 2284-0729. [[PubMed](#)].

16. Jung H, Kwon DY, Choi JG, Shin DY, Chun SS, Yu YB, Shin DW. Antibacterial and synergistic effects of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* under light intensity. **J Nat Med**. 2010; 64: 212-5. ISSN 1861-0293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

17. Das K, Tiwari RKS, Shrivastava DK. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. **J Med Plant Res**. 2010; 4 (2): 104-1. ISSN 1996-0875. [[Link](#)].

18. Ríos JL, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. **J Ethnopharmacol**. 2005; 100: 80-4. ISSN 0378-8741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

19. Janssen AM, Scheffer JJ, Baerheim Svendsen A. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. **PI Med**. 1987; 53 (5): 395-8. ISSN 0032-0943. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

20. Kalembe D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Curr Med Chem**. 2003; 10(10): 813-29. ISSN: 1875-533X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

21. Ríos JL, Recio MC, Villar A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature. **J Ethnopharmacol**. 1988; 23(2-3): 127-49. ISSN 0378-8741. [[CrossRef](#)].

22. Colombo LC, Guimarães T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* ssp. **Rev Soc Bras Med Trop**. 2003; 36(5): 599-607. ISSN 1678-9849. [[CrossRef](#)].

23. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. **N Engl J Med**. 1998; 339(8): 520-32. ISSN 1533-4406. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
24. Stratton CW. Nuances in antimicrobial susceptibility testing for resistant gram-positive organisms. **Antimicrob Infect Dis Newsl**. 2000. 18(8): 57-64. ISSN 1069-417X. [[CrossRef](#)].
25. Coburn B, Grassl GA, Finlay BB. Salmonella, the host and disease: a brief review. **Immunol Cell Biol**. 2006; 85: 112-18. ISSN 1440-1711. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
26. Erasto P, Grierson DS, Afolayan AJ. Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. **J Ethnopharmacol**. 2006; 106(1); 117-20. ISSN 0378-8741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
27. Kuo-Hsiung L, Toshiro Ibuka, Rong-Yang W, Geissman TA. Structure-antimicrobial activity relationships among the sesquiterpene lactones and related compounds. **Phytochemistry**. 1977; 16(8): 1177-81. ISSN 0031-9422. [[CrossRef](#)].
28. Neerman MF. Sesquiterpene lactones: a diverse class of compounds found in essential oils possessing antibacterial and antifungal properties. **Int J Aromather**. 2003; 13(2-3): 114-20. ISSN 0962-4562. [[CrossRef](#)].
29. Rabe T, Mullholland D, van Staden J. Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves. **J Ethnopharmacol**. 2002; 80(1): 91-4. ISSN 0378-8741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
30. Wedge DE, Galindo JC, Macías FA. Fungicidal activity of natural and synthetic sesquiterpene lactone analogs. **Phytochemistry**. 2000; 57(7): 747-57. ISSN 0031-9422. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 14/10/2019 | **Aceite:** 19/10/2020 | **Publicação:** 31/03/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Vieira PRN, Reis DRML, Oliveira CT, Souza CRN. Atividade antimicrobiana das lactonas sesquiterpênicas da folha da yacon (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae). **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2021; 15(1): 108-114. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/864>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

The trends on plants in the prevention and treatment of the COVID-19

DOI 10.32712/2446-4775.2021.1026

Porto, Polliana Fernandes¹; Bragança, Maylla Luanna Barbosa Martins^{1*}; Oliveira, Bianca Rodrigues de¹; Coelho, Carla Cristine Nascimento da Silva¹; Serra, Hellen Cristina Oliveira Amorim¹; Muniz, Alessandra Karla Oliveira Amorim¹; Santana, Karen das Graças Ferreira Passos¹.

¹Universidade Federal do Maranhão, Restaurante Universitário. Avenida dos Portugueses, Vila Bacanga, CEP 65080-805, São Luís, MA, Brasil.

*Correspondência: mayllabmartins@gmail.com.

The use of natural products is growing everyday around the world. Herbal phytoconstituents have been effective in the past reducing infectious conditions for many years, before antibiotics were introduced. Herbal medicinal products appear to be an alternative for the manufacturing of novel antivirals, antibodies, vaccines, growth factors and cytokines^[1].

Identifying the antiviral mechanisms, of these herbal medicinal products has elucidated on how and where they interact or interrupt with the viral life cycle. This includes viral input, replication, assembly and release, as well as virus-specific interactions^[1,2].

The greatest advantage of using products that originate from plants to produce vaccines is the inability they have to replicate human pathogens, because these products can diminish the risk of contamination and making the purification process less strident. In otherwise they can be produced in massive quantities by molecular farming in plants, reducing the cost of production^[2,3].

Phytonutrients in the diet (originating from fruits and vegetables) generally promote immune responses, due to the presence of antioxidants and anti-inflammatory compounds. These include phenolic compounds, flavonoids, carotenoids and vitamins of complex B, C, D and E, in addition to iron, selenium and zinc. The strategy of providing a diet with anti-inflammatory compounds has proven to be a viable option for managing COVID-19. The insufficiency of micronutrients and others nutritional aspects, have been shown to affect the clinical course of the disease^[4].

Flavonoids belong to a group of secondary metabolites by plants with a polyphenolic structure, which is widely found in fruits and vegetables. They have a biochemical and antioxidant effect in some diseases. The effects are as antioxidants, anti-inflammatory, anti-mutagens, anti-cancer-causing and antiviral activity, associated with the ability to control major cell enzyme functions. Specifically, apigenin, luteolin, quercetin, amentoflavone, puerarin, epigallocatechin, epigallocatechin gallate, gallic acid, gallic acid gallate and kaempferol, these show the ability to inhibit the proteolytic activity of SARS-CoV 3CLpro^[5].

Ocasionalmente Chinese medicinal herbs have been used in the treatment of viral epidemics in some countries. China and South Korea have produced a protocol that considers the use of these components in the treatment of COVID-19. The SARS-CoV2 (similar to SARS-CoV) uses the ACE-2 receptor as the gateway to the cell. Some compounds can inhibit infection because they have the same virus receptor, so the compound blocks the receptor and blocks the virus from accessing the cell. Thus, herbal compounds that have this binding capability with the ACE-2 receptor have been used in China and Korea in the treatment of COVID-19, such as, *Glycyrrhiza uralensis*^[6].

Furthermore, some herbal products of Traditional Chinese Medicine, may have potentially immunosuppressive effect, this can reduce inflammatory markers (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10), resulting in decreased lung inflammation or acute lung disease. Other formulas showed significant inhibition of SARS-CoV-2 replication and reduced pro inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6, CCL2/MCP-1, and CXCL10/IP-10) produced at the mRNA level^[6].

Considering the evidence, there are many studies being produced, these aim to focus on the use of plant products in the treatment and prevention of viral infections, especially COVID-19. Find on the **TABLE 1** some species that have shown promising results in several studies.

TABLE 1: Potential antiviral strategies from plants against Coronavirus.

Plant specie Autor Família	Biological action	Active compound	EC50 or IC50 (SD)
<i>Allium porrum</i> J. Gay Alliaceae	Action of lecithins in inhibition of viral action	Agglutinin	0.45 (0.00) μg ^[7,8]
<i>Allium sativum</i>	Secondary metabolites that inhibit the action of the virus	Quercetin	ND ^[7,9,10]
<i>Angelica keiskei</i> (Ashitaba)	3CLpro inhibitor	Chalcones	11.40-129.80 μg ^[7,11]
<i>Camellia sinensis</i>	3CLpro Inhibitor	Tannic acid	3.00 μg ^[7,8]
		3- isothaeftavin urtiga3-gallate	7.00 μg ^[7,8]
	Binding to RNA-dependent RNA polymerase	Theaflavin	ND ^[7,8]
	Replication & 3CLpro	Betulinic acid	ND ^[7,8]
	PLpro & 3CLpro	Coumaroyltyramine	ND ^[7,8]
	PLpro & 3CLpro	Cryptotanshinone	ND ^[7,8]
	Replication, 3CLpro & entry	Desmethoxyreserpine	ND ^[7,8]
	Entry & spike protein	Dihydrotranshinone	ND ^[7,8]
	PLpro & 3CLpro	Kaempferol	ND ^[7,8]
	Replication & 3CLpro	Lignan	ND ^[7,8]
	PLpro	Moupinamide	ND ^[7,8]
	PLpro & 3CLpro	N-cis-feruloyltyramine	ND ^[7,8]
	PLpro & 3CLpro	Quercetin	ND ^[7,8]
	Replication & 3CLpro	Sugiol	ND ^[7,8]
PLpro & 3CLpro	Tanshinone IIa	ND ^[7,8]	
<i>Cinnamomi sp.</i>	Early stage inhibition of viral entry (clathrin-dependent endocytosis pathway)	Procyanidin A2	10.70 (0.40) $\mu\text{g}/\text{mL}$ (EtOH fraction) - Water extraction followed by phase extraction ^[8,11]

<i>Dioscoreae Rhizoma</i>	Viral growth inhibitor	Plant extract	200.00 µg/ml ^[7,11]
<i>Galla chinensis</i>	ACE2 receptor inhibitor	Tetra-O-galloylβ-d-glucose	4.50-240.00 µg (from 85 % ethanol extract) 1.70 (0.30) µg (Isolated compounds) ^[7,11]
<i>Galla chinensis</i>	ACE2 receptor inhibitor	Tetra-O-galloylβ-d-glucose	4.50-240.00 µg (from 85 % ethanol extract) 1.70 (0.3) (Isolated compounds) ^[7,11]
<i>Glycyrrhiza glabra and Glycyrrhiza uralensis</i> (Licorice)	Viral growth inhibitor of SARS - CoV	Glicirrizina	30.00 ug/ml ^[10,11]
		Glycyrrhizin	365.00 (12.00) ug/ml (Chemical standards) ^[8]
		18β-glycyrrhetic acid	> 20.00 ug/ml ^[8]
<i>Houttuynia cordata</i> (Fish leaf)	3CLpro Inhibitor and RNAdependent RNA polymerase (RdRp) Inhibitor. May inhibit pivotal enzymes and trigger negative feedback control in immune systems.	Plant extract	>200.00 µg/ml ^[7,11]
		Boiled water extract	50.00 µg/ml ~1000.00 µg/mL ^[8,11]
		Boiled water extract	
<i>Isatis indigotica</i>	3CLpro inhibitor	Hesperetin	8.30 µg ^[1,2]
		Sinigrin	2170.00 µg ^[1,2]
<i>Laurus nobilis</i>	Viral Growth inhibitor	Plant Extract	120.00 µg/ml ^[2]
	Inhibition of viral replication	L. nobilis: β-ocimene, 1,8-cineole, α-pinene, β-pinene	120.00 (1.20) µg/mL (Essential oil) ^[8]
<i>Nicotiana tabacum</i>	Plant bioreactors that can be used in the development of oral vaccines	Antígeno Viral S1 Antígeno Viral N	1.60 (0.50) µg ^[3,7,11]
<i>Nicotiana benthamiana</i>	Viral growth inhibitor. Studying its use for creating a vaccin.	NICTABA Lectin	ND ^[3]
<i>Psoralea corylifolia</i>	Mixed inhibitor of SARS-CoV PLpro (isobavachalcone and psoralidin also reversible)	Ethanol extract of seeds	15.00 µg/ml ^[7,8]
		Bavachinin	38.40 (2.40) µg ^[7,8]
		Neobavaisoflavone	18.30 (1.10) µg ^[7,8]
		Isobavachalcone	7.30 (0.80) µg ^[7,8]
		4'-O-methylbavachalcone	10.10 (1.20) µg ^[7,8]
		Psoralidin	4.20 (1.00) µg ^[7,8]
		Corylifol A	32.30 (3.20) (rest in µM) ^[7,8]
<i>Rheum palmatum</i>	Inhibition of 3CLpro	Plant extract in 75 % etanol. Possibly anthraquinones	13.76 (0.03) µg/ml ^[7,11]
<i>Rheum officinale</i>	Viral spike protein and human ACE2 receptors inhibitor	Emodin	1.00-10.00 µg/ml ^[7,8]
	Inhibited binding of S protein to ACE2	Emodin Water extracts (at 40°C) of roots	~5.00 µg/mL ^[7,8]
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Non-competitive enzyme isomerization inhibitor of protease (except for rosmariquinone which exhibits simple reversible slow-binding inhibition). Isolated compounds from ethanol extract	Tanshinones	0.80-30.00 µg ^[2]
		Tanshinone IIA	89.10 (5.20) µg ^[8]
		Tanshinone IIB	24.80 (0.80) µg ^[8]
		Methyl tanshinonate	21.10 (0.80) µg ^[8]
		Cryptotanshinone	226.70 (6.20) µg ^[8]
		Tanshinone I	38.70 (8.20) µg ^[8]
		Dihydrotanshinone I	14.40 (0.70) µg ^[8]
		Rosmariquinone	21.10 (0.80) µg ^[8]
		Tingenone	9.90 µg ^[8]
Igusterin	9.90 µg ^[8]		

<i>Toona sinensis</i> <i>Roem</i>	Inhibit the cellular entry of SARS-CoV	Quercetin	30.00–43.00 µg/mL Boiled water extract of leaves ^[7,8]
--------------------------------------	--	-----------	--

Legend: CLpro = chymotrypsin-like protease; n/a = not applicable to this study; ND = no data; PLpro = papain-like protease; RNA = ribonucleic acid; EC50 = effective concentration, IC50 = inhibitory concentration, ACE2 = angiotensin-converting enzyme; SARS-CoV = Severe Acute Respiratory Syndrome CoV.

The species of *Camellia sinensis*, *Glycyrrhiza glabra*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana benthamiana* are being widely studied and have brought great promises to the prevention and treatment of the coronavirus, especially COVID-19 kind. The use of isolated plants or compounds has shown the ability to act from the moment the virus enters the cell, until the inhibition of its replication. Thus, the development of a plant-based vaccine is a real possibility and it is already in testing phase. However, further studies are needed to establish how effective, safe to use, individual dose and possible side effects expected from these compounds.

References

- Ahmad A, Rehman UM, Alkharfy KM. An alternative approach to minimize the risk of coronavirus (Covid-19) and similar infections COVID-19 Overview. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.** 2020; 24(7): 4030-4034. ISSN 1128-3602. [[CrossRef](#)].
- Rosales-Mendoza S, Márquez-Escobar VA, González-Ortega O, Nieto-Gomez R, Arevalo-Villalobos JI. What does plant-based vaccine technology offer to the fight against COVID-19? **Vaccines.** 2020; 8(2): 1-19. ISSN 2076-393X. [[CrossRef](#)]
- Capell T, Twyman RM, Armario-Najera V, Ma JKC, Schillberg S, Christou P. Potential applications of plant biotechnology against SARS-CoV-2. **J T Plants Sci.** 2020; 25(7): 1-9. ISSN 1878-4372. [[CrossRef](#)].
- Gasmi A, Noor S, Tippairote T, Dadare M, Menzel A, Bjørklund G. Individual risk management strategy and potential therapeutic options for the COVID-19 pandemic. **Clin Immunol.** 2020; 215: 108409. ISSN 1521-6616. [[CrossRef](#)].
- Jo S, Kim S, Shin DH, Shin DH, Kim MS. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. **J Enzyme Inhib Med Chem.** 2020; 35(1): 145–151. ISSN 1475-6374. [[CrossRef](#)].
- Wu R, Wang L, Kuo H-CD, Shannar A, Peter R, Chouet PJ et al. An Update on Current Therapeutic Drugs Treating COVID-19. **Curr Pharmacol Rep.** 2020; 6: 56-70. ISSN 2198-641X. [[CrossRef](#)].
- Yonesi M, Rezazadeh A. Plants as a prospective source of natural anti-viral compounds and oral vaccines against COVID-19 coronavirus. **Preprints** 2020; [[CrossRef](#)].
- Mani JS, Johnson JB, Steel JC, Broszczak DA, Neilsena PN, Walsh KB et al. Natural product-derived phytochemicals as potential agents against coronaviruses: a review. **Virus Res.** 2020; 284: 197989. ISSN 1872-7492. [[CrossRef](#)].
- Vellingiri B, Jayaramayya K, Iyer M, Narayanasamy A, Govindasamy V, Giridharan B, et al. COVID-19: A promising cure for the global panic. **Sci Total Environ.** 2020; 725: 138277. ISSN 0048-9697. [[CrossRef](#)].
- ul Qamar MT, Alqahtani SM, Alamri MA, Chein LL. Structural basis of SARSCoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. **J Pharm Anal.** 2020; 10(4): 313-319. ISSN 2095-1779. [[CrossRef](#)].
- Ho LTF, Chan KKH, Chung VCH, Leung TH. Highlights of traditional Chinese medicine frontline expert advice in the China national guideline for COVID-19. **Eur J Integr Med.** 2020; 36: 101116. ISSN 1876-3839. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

Histórico do artigo | Submissão: 10/06/2020 | **Aceite:** 08/10/2020 | **Publicação:** 31/03/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Porto PF, Bragança MLBM, Oliveira BR, Coelho CCNS et al. The trends on plants in the prevention and treatment of the COVID-19. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2021; 15(1): 115-119. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1026>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

Revista Fitos

e-ISSN: 2446-4775 e ISSN: 1808-9569

Endereço: Av. Comandante Guarany, 447, Jacarepaguá, CEP 22775-903, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Telefone: 21- 3348.5598

E-mail: revistafitos@far.fiocruz.br.

[Visualizar versão vigente online](#)

Última atualização: 31/03/2021

A Revista Fitos (Farmanguinhos/Fiocruz) é um periódico interdisciplinar de publicação trimestral que tem por objetivo publicar artigos científicos originais sobre Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Biodiversidade e Saúde.

1. A Revista Fitos aceita artigos para as seguintes seções

1.1. Perspectiva: Análises de temas conjunturais, de interesse imediato e sobre a importância do tema, em geral a convite dos Editores, com o máximo de 2.200 palavras e até seis (6) referências.

1.2. Debate: Análise de temas relevantes do campo da Inovação, Biodiversidade e Saúde. A publicação é acompanhada por comentários críticos assinados por pesquisadores conceituados, convidados a critério da editoria, seguida de resposta do autor do artigo principal, com o máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações.

1.3. Artigo de pesquisa: Inclui estudos descritivos, de abordagens qualitativas e/ou quantitativas, incluindo os de pesquisa básica com animais de laboratório, estudos controlados e randomizados, caso-controle e transversais, outros. Texto com, no máximo, 6.000 palavras (excluindo tabelas/ figuras e referências) e, no máximo, trinta (30) referências. Artigos que relatam ensaios clínicos (clinical trials) deverão informar adesão ao CONSORT (<http://www.consort-statement.org/>) e ter cadastro em um dos Registros de Ensaios Clínicos listados pela Organização Mundial da Saúde ou no *National Institute of Health* (NIH) (www.clinicaltrials.gov). Em casos de submissão de estudos observacionais, solicita-se adesão aos guias do STROBE (<https://www.strobe-statement.org/index.php?id=strobe-home>) para a reparação do manuscrito.

1.4. Revisão: Avaliações críticas e ordenadas da literatura sobre temas pertinentes ao escopo da Revista Fitos, incluindo os tipos de revisões–narrativas, integrativas, sistemáticas e meta-análises. Os autores destes últimos, devem incluir no corpo do manuscrito o número do registro do protocolo da revisão no PROSPERO (<http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/>). Para a elaboração do manuscrito os autores devem seguir as normas propostas pelo PRISMA (<http://www.prisma-statement.org/>). Autores podem também submeter à Equipe Editorial Científica uma proposta de artigo de revisão, com um roteiro. Se aprovado, o autor pode desenvolver o roteiro e submetê-lo para publicação. Artigos de revisão devem limitar-se a 8.000 palavras (excluindo tabelas/ figuras e referências) e, no máximo, quarenta (40) referências atuais.

1.5. Relato de Experiência: Descrição de experiência que contribua de forma relevante para a área de atuação, contextualizado, com objetividade e aporte teórico, incluindo resumo, introdução com marco teórico e objetivo(s), metodologia, descrição da experiência, discussão, agradecimento (quando houver). Texto contendo até 6.000 palavras e, no máximo, vinte (20) referências e, até quatro (4) figuras. As figuras podem ser organizadas sob a forma de prancha. Cada prancha será considerada como uma figura.

1.6. Comunicação Breve: Relato de resultados preliminares de pesquisa, ou ainda, de estudos originais que possam ser apresentados como revisão ou na estrutura de artigo, mas de forma sucinta, com o máximo de 1.700 palavras e até cinco (5) referências.

1.7. Monografia de Planta(s) Medicinal(is): Visam agrupar, padronizar e sistematizar o conhecimento das características e propriedades das plantas medicinais para orientar o registro em órgãos de regulamentação. Texto contendo até 3.500 palavras e, no máximo, vinte (20) referências.

1.8. Resenha: resenha crítica de livro, dissertações, teses e outros, publicado nos últimos dois anos com, no máximo, 1.200 palavras.

1.9. Carta ao Editor: Comentários com conteúdo crítico construtivo acerca de material previamente publicado na Revista Fitos. Deve ser diretamente submetida aos Editores Associados. Texto com até 700 palavras e, no máximo, seis (6) referências bibliográficas. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada junto a carta. Editoriais e comentários são encomendados a autoridades em áreas específicas. O Conselho Editorial também analisa propostas de comentários submetidas espontaneamente.

2. Processo de Avaliação/Revisão por pares (“peer review”)

2.1. O conteúdo integral publicado na Revista Fitos (Farmanguinhos/Fiocruz) passa pelo processo de revisão por pares (*Peer review*). Inicialmente os manuscritos submetidos são direcionados aos editores científicos, para avaliação inicial quanto ao atendimento das normas requeridas para envio dos originais e o mérito do trabalho, decidindo assim, sobre a aprovação de sua submissão, com ou sem alterações. Na sequência, o artigo é enviado para um processo de avaliação por pares, duplo-cega, selecionados de um cadastro de revisores de instituições nacionais e internacionais. Após receber os pareceres dos avaliadores, os Editores Científicos/Associados decidirão pela aceitação do manuscrito sem modificações, pela devolução aos autores com sugestões de modificações ou pela rejeição. Os Editores Científicos/Associados têm a responsabilidade de reencaminhar o artigo aos autores para esclarecimentos, tantas vezes quanto necessário, e, a qualquer momento, por decisão dos Editores o documento pode ter sua recusa determinada. Cada nova versão é analisada pelos Editores Científicos, que detém o poder da decisão final.

3. Normas para submissão e apresentação do manuscrito

3.1. A Revista Fitos publica artigos científicos inéditos e originais, que não estejam em avaliação simultânea em nenhum outro periódico, cuja identificação fará com que o manuscrito seja desconsiderado para publicação.

3.2. Não há cobrança de taxas para submissão, avaliação e publicação dos artigos.

3.3. São aceitos manuscritos em português, inglês e espanhol.

3.4. Todos os artigos são publicados em formato PDF e HTML.

3.5. O conteúdo integral da Revista Fitos de livre acesso, está disponibilizado no site <http://www.revistafitos.far.fiocruz.br/>, com licença de publicação CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

3.6. Os manuscritos deverão ser acompanhados pelo Termo de Cessão de Direitos Autorais preenchido e assinado individualmente, por todos os autores, e inserido no sistema no momento da sua submissão. [Baixe aqui o Termo](#).

4. Formatação do Manuscrito

4.1. O manuscrito deve ser redigido com fonte Arial tamanho 12, em folha configurada em tamanho A4, com espaço 1,5 e margem de 3 cm de cada um dos lados, incluindo as referências bibliográficas e títulos/legendas de tabelas e ilustrações.

4.2. O arquivo deverá apresentar-se em formato digital, extensão “doc” ou “docx”. Arquivos em Adobe® PDF format (.pdf files) não serão aceitos.

4.3. No cabeçalho, antes do Título deve ser informado a seção: perspectiva, debate, artigo de pesquisa, revisão, relato de experiência, comunicação breve, monografia de planta(s) medicinal(is), resenha, carta ao editor.

4.4. A organização do manuscrito deve seguir a ordem: título, resumo em português, resumo em inglês, texto, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas (cada tabela completa, com título e legendas, inseridas no corpo do texto), figuras (cada figura completa, com título e legendas, inseridas no corpo do texto). Para mais informações, [consultar Seções dos manuscritos](#).

4.5. O Título e os Subtítulos, em negrito, deverá ter a primeira palavra escrita com a primeira letra maiúscula.

4.6. Não serão aceitas notas de rodapé.

4.7. Siglas devem ser escritas por extenso, quando aparecem a primeira vez no texto, incluindo Resumo e Abstract.

5. Fontes de Financiamento

5.1. Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado de auxílio à pesquisa.

6. Conflito de Interesses

6.1. Caso haja conflito de interesse, que envolva o manuscrito, este deverá ser informado no formulário de submissão.

7. Colaboradores e ORCID

7.1. Especificar as contribuições individuais de cada autor na elaboração do artigo. Os critérios de autoria devem basear-se nas deliberações do ICMJE, que estabelece o seguinte: o reconhecimento da autoria deve estar baseado em contribuição substancial relacionada aos seguintes aspectos: 1. Concepção e projeto ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual; 3. Aprovação final da versão a ser publicada; 4. Ser responsável por todos os aspectos do trabalho na garantia da exatidão e integridade de qualquer parte da obra. Essas quatro condições devem ser integralmente atendidas. ([Tutorial](#))

Todos os autores deverão informar o número de registro do ORCID no cadastro de autoria do artigo. Não serão aceitos autores sem registro.

7.2. Os autores mantêm o direito autoral da obra, concedendo à Revista Fitos o direito de primeira publicação.

8. Agradecimentos

8.1. Opcionais.

8.2. Devem ser breves e objetivos. Somente devem ser mencionadas as pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria.

9. Referências

9.1. As referências devem ser numeradas e ordenadas na sequência das citações no texto. As citações no texto devem ser identificadas por algarismos arábicos, entre chaves e sobrescritos. Seguir a sequência da numeração das citações, também, nas tabelas, caso haja.

9.2. Devem ser formatadas no estilo Vancouver, também conhecido como o estilo *Uniform Requirements*.

9.3. Artigos aceitos para publicação, mas ainda não publicados podem ser citados desde que seja feita a indicação da revista e que o respectivo artigo está na pré-publicação em "Ahead of Print".

9.4. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados conforme recomenda o Index Medicus; uma lista com suas respectivas abreviaturas pode ser obtidas através da publicação da NLM "List of Serials Indexed for Online Users", disponível no endereço www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html. Para visualizar alguns exemplos do modelo adotado pela Revista Fitos. Para mais informações, [consulte o documento "Exemplos de Referências"](#).

10. Nomenclatura Científica

Para os nomes científicos devem ser seguidas as regras de nomenclatura botânica e zoológica, bem como as abreviaturas e convenções específicas.

10.1. Nomenclatura Botânica

Os nomes científicos de plantas devem ser escritos de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica, sem abreviaturas no resumo/abstract e no corpo do texto, para cada espécie citada pela primeira vez, mas quando várias espécies pertencerem ao mesmo gênero basta citar apenas para a primeira (por exemplo, *Mentha piperita* e *M. acuta*). A autoria da espécie (por exemplo, L., Opiz) é necessária apenas na seção de Metodologia, de acordo com o The International Plant Names Index (www.ipni.org) e com a Flora do Brasil 2020 (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>). Cultivares ou variedades devem ser correlacionados ao nome científico (por exemplo, *Ximenia americana* var. *inermis*). Os autores devem informar na Metodologia/Material e Métodos o espécime e número do *voucher* de referência das plantas utilizadas ou outro material examinado.

11. Ética e Integridade em Pesquisa

12.1. Os manuscritos de pesquisas envolvendo animais e/ou seres humanos deverão ser acompanhados do Certificado de Aprovação de um Comitê de Ética em Pesquisa, emitidos pela instituição de origem do(s) autor(es), cujo número do protocolo deverá ser citado no texto.

12.2. As autorizações para acesso ao patrimônio genético e ao conhecimento tradicional associado devem ser apresentadas e citadas no corpo do texto quando pertinente.

Antes de submeter o manuscrito é importante que o(a)s autore(a)s observem/verifiquem:

a) **estilo científico**: deve ser informativo, racional, baseado em dados concretos, onde podem ser aceitos argumentos de ordem subjetiva, desde que explanados sob um ponto de vista científico;

b) **vocabulário técnico**: a comunicação científica deve ser feita com termos comuns, que garantam a objetividade da comunicação. Porém, deve ser observado que cada área científica possui seu vocabulário técnico próprio;

c) **correção gramatical**: a observação da correção do texto deve ser feita com cuidado, evitando-se o uso excessivo de orações subordinadas em único parágrafo, o excesso de parágrafos, lembrando que cada parágrafo encerra uma pequena ideia defendida no texto, logo, encerrada a ideia, muda-se o parágrafo.

d) **testar todos os hiperlinks das referências**; passando o mouse por cima dos hiperlinks verifique se os endereços informados estão corretos ([Tutorial](#));

e) **realizar o checklist** para fazer a verificação final. [Baixe aqui o checklist](#).

Finalizamos, lembrando que a submissão do manuscrito só será aceita se o mesmo atender plenamente à Instrução aos Autores.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Instituto de Tecnologia em Fármacos