

**WALDILLENY RIBEIRO DE ARAÚJO MOURA**

**ENSAIO FARMACOLÓGICO DAS ATIVIDADES  
ANTIINFLAMATÓRIA, CITOTOXICIDADE E TOXICIDADE  
AGUDA DA *Copaifera luetzelburgii*, HARM E *Sida santaremnensis*,  
MONTEIRO**

**TERESINA**

**PIAUI-BRASIL  
AGOSTO/2010**

**WALDILLENY RIBEIRO DE ARAÚJO MOURA**

**ENSAIO FARMACOLÓGICO DAS ATIVIDADES ANTIINFLAMATÓRIA,  
CITOTOXICIDADE E TOXICIDADE AGUDA DA *Copaifera luetzelburgii*,  
HARMS E *Sida santaremnensis*, MONTEIRO**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Sanidade e Reprodução Animal

Orientador: Prof. Dr. Rozeverter Moreno Fernandes

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria do Carmo Carvalho e Martins

Teresina  
Piauí – Brasil  
2010

Autorizo a reprodução parcial desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

### FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello

M929e      Moura, Waldilley Ribeiro de Araújo  
                   Ensaio farmacológico das atividades antiinflamatória, citotoxicidade  
                   e toxicidade aguda da *Copaifera luetzelburgii*, Harms e *Sida*  
*santare-*  
*mnensis*, Monteiro [manuscrito] / Waldilley Ribeiro de Araújo  
 Moura - 2010.  
 83f. ; il.

Cópia de computador (printout)  
 Tese (doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de  
 Pós- Graduação em Ciência Animal . 2010.  
 Orientador: Profº Dr. Rozeverter Moreno Fernandes

1. Botânica médica 2. *Copaifera luetzelburgii* 3. Óleo essencial  
 4. Citotoxicidade 5. Toxicidade 6. *Sida santaremnensis* 7. inflama-  
 ção 8. Edema I. Título.

CDD581. 634

**ENSAIO FARMACOLÓGICO DAS ATIVIDADES ANTIINFLAMATÓRIA,  
CITOTOXICIDADE E TOXICIDADE AGUDA DA *Copaifera luetzelburgii*, HARMS E  
*Sida santaremnensis*, MONTEIRO**

Tese defendida por

**WALDILLENY RIBEIRO DE ARAÚJO MOURA**

Aprovada em :

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Rozeverter Moreno Fernandes  
Centro de Ciências Agrárias  
Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Helcio Resende Borba  
Departamento de Biologia Animal  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Profª. Dra. Suzana Maria Pereira Galvão  
Faculdade de Ciências Médicas  
Univerdade Estadual do Piauí

Profª. Dra. Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes  
Centro de Ciências da Saúde  
Universidade Federal do Piauí

Profª. Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira  
Centro de Ciências da Saúde  
Universidade Federal do Piauí

## *Dedico,*

*Aos meus pais, Francisco Ribeiro de Araújo e  
Marilene Rodrigues Araújo, pelo incentivo e  
dedicação.*

*Ao meu marido Sandovaldo Gonçalves de Moura por  
estar ao meu lado nesta difícil caminhada.*

## *Homenagem especial,*

*Ao meu filho, amor da minha vida, Gabriel Araújo Gonçalves de Moura, fonte de toda força e vontade que carrego comigo ao despertar de cada manhã.*

*Te Amo!*

## *Agradecimentos Especiais*

*A Deus , acima de tudo.*

*Ao prof. Dr. Rozeverter Moreno Fernandes pela  
orientação e apoio.*

*A profa. Dra. Maria do Carmo Martins e Carvalho pela co-  
orientação neste trabalho*

*A profa. Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira pelo  
meu despertar no mundo da pesquisa com plantas  
medicinais .*



## AGRADECIMENTOS

*A Universidade Federal do Piauí (UFPI), pela minha formação profissional e por viabilizar esta pesquisa.*

*A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior CAPES pelo incentivo financeiro.*

*Ao Centro de Ciências Agrárias e Núcleo de Pesquisas em plantas medicinais da UFPI, pela infra-estrutura dispensada ao nosso estudo.*

*Ao Prof. Dr. Sidney Gonçalo Lima pelo apoio e ajuda na parte química do nosso trabalho.*

*Ao Prof. Dr. José Machado Moita Neto pela ajuda na estatística do trabalho.*

*A prof. Dra. Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva pela ajuda na leitura das lâminas das alterações histopatológicas.*

*Ao Prof. Dr. João Batista Lopes pelo trabalho realizado frente PPG em Ciência Animal.*

*Ao funcionário Luis Gomes, pela dedicação e colaboração ao Doutorado em Ciência Animal.*

*Aos professores M. Sc. Paulo Humberto Moreira Nunes e Prof. Dr. Marcelo Campos Rodrigues pelo incentivo na minha vida profissional.*

*A pós-graduanda de mestrado do NPPM Francilene Vieira da Silva por sempre estar preparada e motivada a me ajudar durante todo o experimento.*

*As alunas de graduação Mirna A. Bezerra, Katherine M. Vasco e Ana Karolinne da Silva Brito pela ajuda sempre que solicitadas.*

*Ao funcionário do biotério do Departamento de Morfofisiologia Animal, do Centro de Ciências agrárias da UFPI, Davi Sousa por atender todos os meus pedidos para aquisição de animais para o experimento.*

*Aos colegas de pós-graduação que ingressaram comigo na primeira turma de doutorado institucional da UFPI.*

*E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esse trabalho fosse concluído.*

*Muito obrigado!*

**SUMÁRIO**

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>02</b>
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>11</b>
<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>26</b>
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>38</b>
<b>CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>52</b>

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

Figura 1. Nº de larvas de <i>Artemia salina</i> que sobreviveram a diferentes concentrações do EEFC (2000 µg/mL) em diferentes concentrações durante 24 horas de observação.....	2
Figura 2. Nº de larvas de <i>Artemia salina</i> que sobreviveram a diferentes concentrações do EECC (2054 µg/mL) em diferentes concentrações durante 24 horas de observação.....	4
Figura 3. Citotoxicidade em hemólise com EHCC (1160 µg/mL) em diferentes concentrações durante 24 horas de observação.....	25

### CAPÍTULO III

Gráfico 1: Efeito do extrato Ssan-EtOH sobre o edema de orelha induzido por aplicação tópica do óleo de cróton (10 µL, 0,05 %), 1 h após tratamento tópico com dexametasona (0,2 mg/orelha) e veículo em camundongo. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, *p < 0,05; **p < 0,01 e ***p < 0,001.....	48
Gráfico 2: Efeito do extrato CI-EtOH sobre o edema de orelha induzido por aplicação tópica do óleo de cróton (10 µL, 0,05 %), 1 h após tratamento tópico com dexametasona (0,2 mg/orelha) e veículo em camundongo. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, *p < 0,05.....	48
Gráfico 3 : Efeito do extrato Ssan- EtOH sobre o edema de pata induzido por carragenina (100 µL, 1% ) em ratos Wistar adultos. Os animais foram tratados com salina e veículos e indometacina v.o. 60 min antes do estímulo. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, ***p < 0,001.....	49
Gráfico 4 : Efeito do extrato CI-EtOH sobre o edema de pata induzido por carragenina (100 µL, 1% ) em ratos Wistar adultos. Os animais foram tratados com salina e veículos e indometacina v.o. 60 min antes do estímulo. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, *p < 0,05; ***p < 0,001.....	49
Gráfico 5: Efeito do extrato CI-EtOH e ciproeptadina (10mg/kg) sobre o edema de pata induzido por dextrana (100 µg/pata) em camungongos adultos. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, **p < 0,01 e ***p < 0,001.....	50
Gráfico 6: Efeito do extrato Ssan-EtOH e ciproeptadina (10mg/kg) sobre o edema de pata induzido por dextrana (100 µg/pata) em camungongos adultos. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, *p < 0,05.....	50

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1. Determinação das concentrações em ppm usados no teste de toxicidade em

*Artemia salina*..... 22

Tabela 2 - Composição química do óleo essencial das folhas e das cascas de *C.*

*luetzelburgii* e áreas relativas (%) correspondentes a cada um dos constituintes..... 23

### CAPÍTULO II

Tabela 01: Determinação da DL<sub>50</sub> do extrato etanólico da *Copaifera luetzelburgii* (Cl- 3

EtOH) em camundongo..... 7

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Cloreto de cálcio
<b>CG-EM</b>	Cromatografia gasosa em espectrofotômetro em massa
<b>Cl-EtOH</b>	Extrato etanólico bruto da casca de <i>Copaifera luetzelburgii</i>
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose de uma substância que promove 50% de morte
<b>e.p.m.</b>	Erro padrão da média
<b>EE</b>	Extrato etanólico
<b>EECC</b>	Extrato etanólico da casca de copaífera
<b>EEFC</b>	Extrato etanólico da folha de copaífera
<b>Emax</b>	Efeito máximo
<b>eONS</b>	Enzima óxido nítrico sintetase endotelial
<b>eV</b>	Eletrovolt
<b>G</b>	Grama
<b>H</b>	Hora
<b>i. pl.</b>	intra-plantar
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentração letal média
<b>mg</b>	Miligrama
<b>min</b>	Minuto
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mM</b>	Milimol
<b>Nacl</b>	Cloreto de sódio
<b>°C</b>	Grau Celsius
<b>PA</b>	Puro para análise
<b>rpm</b>	Rotação por minuto
<b>SSan-EtOH</b>	Extrato etanólico das partes aéreas de <i>Sida santaremnensis</i>
<b>T</b>	Tratamento
<b>Vf</b>	Volume final
<b>Vi</b>	Volume inicial
<b>µg/ L</b>	micrograma por litro
<b>µg/ mL</b>	Micrograma por mililitro

## RESUMO

Em face dos diversos usos na medicina popular e do crescente interesse nas atividades terapêuticas das diferentes espécies e gêneros de *Copaifera* e *Sida*. O presente trabalho teve como objetivo estudar a atividade antiinflamatória do extrato etanólico da *Copaifera luetzelburgii* e da *Sida santaremnensis*. Bem como avaliar o potencial citotóxico, a toxicidade aguda e identificar os componentes químicos da *Copaifera luetzelburgii* Harms. A atividade antiinflamatória foi avaliada utilizando-se modelos de edema de orelha induzido por óleo de cróton, edema de pata por dextrana em camundongos e edema de pata por carragenina em ratos. Para realização dos testes de toxicidade foram feitos em *Artemia salina* e, através de hemólise. Na toxicidade aguda os animais foram tratados na dose 5g/kg via oral e 2g, 1g, 500mg, 250mg e 125mg/kg via intraperitoneal e observados por um período de 14 dias. A partir dos resultados deste estudo, conclui-se: Os extratos etanólicos de *Sida santaremnensis* (SSan-EtOH) e *Copaifera luetzelburgii* (Cl-EtOH) apresentam princípios ativos responsáveis pela atividade anti-edematogênica evidenciada nos modelos de edema de orelha e de pata, sendo necessário mais estudos para avaliar os possíveis mecanismos envolvidos na resposta observada; o extrato etanólico das cascas e folhas de *Copaifera luetzelburgii* não apresentou toxicidade contra *Artemia salina* e nem através de hemólise; a dose de 5g/kg de *Copaifera luetzelburgii*, administrada pela via oral, apresenta uma excelente margem de segurança, enquanto que a dose de 2g/kg, 1 g/kg desta mesma espécie apresenta uma elevada toxicidade pela via intraperitoneal, com várias alterações hepáticas, embora esta via de administração não seja de uso comum; os principais constituintes presentes nos óleos essenciais das folhas e cascas de *Copaifera luetzelburgii* são : germacreno-D,  $\gamma$ -selineno e 7-epi- $\alpha$ -selineno.

**Palavras-chave:** Toxicidade, *Artemia salina*, *Copaifera luetzelburgii*, *Sida santaremnensis*, inflamação

## ABSTRACT

Given the various uses in folk medicine and the growing interest in the activities tereapêuticas different species and genera of *Copaifera* and *Sida*. This work aimed to study the antiinflammatory activity of the ethanol extract of *Copaifera luetzelburgii* and *Sida santaremnensis* . And to assess the cytotoxic potential, acute toxicity and to identify the chemical constituents of *Copaifera luetzelburgii* Harms. The antiinflammatory activity was evaluated using models of ear edema induced by croton oil, paw edema in mice by dextran and carrageenan paw edema in rats. To perform the toxicity tests were done on *Artemia salina*, and through hemolysis. In acute animals were treated orally at a dose 5g/kg and 2g, 1g, 500mg, 250mg and 125mg/kg intraperitoneally and observed for a period of 14 days. The results of this study, we conclude: The ethanol extracts of *Sida santaremnensis* (SSan-EtOH) and *Copaifera luetzelburgii* (Cl-EtOH) showed active ingredient responsible for anti-edema activity evident in the models of ear edema and rat paw, is necessary more studies to evaluate the possible mechanisms involved in the observed response; the ethanol extract of the bark and leaves of *Copaifera luetzelburgii* showed no toxicity against *Artemia salina* and not by hemolysis; the dose 5g/kg of *Copaifera luetzelburgii* administered orally presents an excellent safety margin, while the dose of 2g/kg of the same species presents a high toxicity by in the intraperitoneal route, with several liver changes, although this route of administration is not in common use; the main constituents present in essential oils from leaves and bark of *Copaifera luetzelburgii* are germacrene-D,  $\gamma$ -selineno and 7-epi- $\alpha$ -selineno.

Keywords: Toxicity, *Artemia salina*, *Copaifera luetzelburgii*, *Sida santeremnensis* , inflammation

## INTRODUÇÃO

Desde épocas ancestrais da humanidade, as plantas medicinais são bastante utilizadas pelo homem. Deste modo, atualmente é possível tratar várias enfermidades por meio deste recurso natural. O emprego da tecnologia farmacêutica proporcionou a difusão dos medicamentos industrializados como recurso terapêutico predominante, mas de alto custo para o doente dentro das condições socio-econômicas vigentes, principalmente nos países do terceiro mundo, obrigavam à procura, pelas classes mais humildes, de alternativas terapêuticas mais baratas e relativamente seguras, como, por exemplo, as ervas medicinais (OLIVEIRA *et al*, 2005).

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos. Dessa forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo mantêm em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos (MACIEL *et al*, 2002)

Por outro lado, o hábito de consumir plantas da flora nativa sem nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas pode levar a sérios problemas de saúde. Muitas vezes essas plantas são, inclusive, empregadas para fins medicinais diferentes daqueles utilizados pelos silvícolas. Comparada com medicamentos usados nos tratamentos convencionais, a toxicidade de plantas medicinais e fitoterápicos pode parecer trivial. Isto, entretanto, não é verdade. A toxicidade de plantas é um problema sério de saúde pública. (VEIGA JUNIOR *et al*, 2005)

Por isso a comprovação científica por pesquisadores torna-se essencial nesta área. Estes estudos devem envolver áreas multidisciplinares, como por exemplo, botânica, fitoquímica e farmacologia, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural: a flora mundial (MACIEL *et al*, 2002).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi buscar a comprovação científica da atividade antiinflamatória e analgésica das plantas *Copaifera luetzelburgii* e da *Sida santaremnensis*, conhecidas popularmente como copaíba e guanxuma, respectivamente. Uma vez que o uso destes gêneros na medicina popular é freqüente. Além de estudar a toxicidade aguda destas plantas e as possíveis lesões causadas nos principais órgãos de camundongos tratados com *Copaifera luetzelburgii*. Assim esta tese foi constituída de três capítulos na forma de artigos científicos apresentados de acordo com as normas da Revista Química Nova e da Revista Brasileira de Farmacognosia.



## REVISÃO DE LITERATURA

### Gênero *Sida* - Aspectos gerais

*Sida* é um gênero botânico inserido na família *Malvaceae*, pertence à ordem Malvales e está constituída por 243 gêneros e 4225 espécies (STEVENS, 2003; WIKIPÉDIA, 2007), que se apresentam como ervas, subarbustos, arbustos e raramente árvores (BARACHO, 1998).

Espécies desta família são amplamente distribuídas em quase todo o mundo, com exceção de regiões muito frias, ocorrendo predominantemente nas regiões tropicais, principalmente na América do Sul (HEYWOOD, 1993). No Brasil, este gênero possui cerca de 35 gêneros e 400 espécies, muitos representantes nas regiões Nordeste e Sul e, em menor proporção, nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste (BARROSO *et al.* 1991; SILVA *et al.*, 2006a). Popularmente, chamadas de guanxuma ou vassoura, apesar desses nomes populares também serem empregados em outras espécies malváceas e, até mesmo, de outras famílias (PEIXOTO, 2007; WIKIPÉDIA, 2007).

Todas as espécies deste gênero são consideradas plantas daninhas, apesar de algumas representantes serem usadas na medicina popular (CARVALHO *et al.*, 1992; BALASTREIRE *et al.*, 2001; FLECK *et al.*, 2001; ALBERTO *et al.*, 2002; MACEDO *et al.*, 2003; HECTOR ALONSO, 2004; AZANIA *et al.*, 2004; OLIVO *et al.*, 2006).

A literatura científica relata o uso de espécies do gênero *Sida* na medicina popular para uma infinidade de enfermidades, além de seu uso ter sido avaliado por vários pesquisadores (tabela 1).

Estudos fitoquímicos do gênero *Sida* relatam a presença de alcalóides (DUNSTAN *et al.*, 1997; MEDEIROS *et al.*, 2006), dentre eles a criptolepina, em *Sida acuta* Burm., com potente atividade antimalárica (BANZOUZI *et al.*, 2004); a sidaverina, em *Sida veronicaefolia* Lam., com atividade contrátil em útero isolado de ratas (LUTTERODT *et al.*, 1995); a vasicina, em *Sida cordifolia* L., com atividade hipotensora e bradicárdica (SANTOS, 2005); e as substâncias efedrina, pseudo-efedrina, vasicinona, e vasicinol, com atividade broncodilatadora, além de esteróides, saponinas (GHOSAL *et al.*, 1975; KANTH *et al.*, 2000; PRADO *et al.*, 2005; MEDEIROS *et al.*, 2006), flavonóides (LUTTERODT, 1988a; MEDEIROS *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2006), fitoecdisteróides (DINAN *et al.* 2001; DARWISH; REINECKE, 2003), betainas (GORHAM, 1996; BLUNDEN *et al.*, 2001; BLUNDEN *et al.*, 2005), e polifenóis (LUTTERODT, 1988a). Nas raízes desta mesma planta encontraram efedrina, vasicinol e triptofano de vasicinona (SUTRADHAR *et al.*, 2006). Outros estudos com a *S. cordifolia* mostraram presença de óleos, esteróides, ácidos de resina e potássio. Também foram identificados nas espécies *S. acuta*, *S. humilis*, *S. rhombifolia* e *S. spinosa* a presença de alcalóides, esteróides, fenóis, taninos e saponinas (BORTUZZI *et al.*, 1994; PRADO *et al.*, 2005).

Tabela 1: Indicações etnofarmacológicas e farmacológicas do uso do gênero *Sida* encontrados na literatura

Indicações	Referência
Antimicrobiana e anti-viral	Taylor et al., 1996a; Taylor et al., 1996b; Valsaraj et al., 1997; Medeiros et al., 2006; Shinwari, 2000; Khan, 2000; Vuuren; Viljoen, 2006
Febre	Hansen et al., 1995; Bork et al., 1997; Frei et al., 1998; Shinwari; Khan, 2000; Scarpa, 2004
Malária	Banzouzi et al., 2004; Ignacimuthu et al., 2006;
Anti-fugica	Karou et al, 2006; Medeiros et al., 2006; Runyoro et al., 2006; Hamill et al., 2003
Furúnculos	Harsha et al., 2003
Asma	Krishnaraju et al., 2006; Medeiros et al., 2006
Afecções do trato respiratório	Peixoto, 2007
Congestão nasal	Medeiros et al., 2006
Abcessos	Hansen et al., 1995; Novy, 1997)
Dores de dente	Bork et al., 1997; Al buquerque et al., 2007
Ferimentos	Taylor et al., 1996a; Taylor et al., 1996b; Manandhar, 1998; Katewa et al., 2004; Souza et al., 2004; Muthu et al., 2006; Giday et al., 2007; Lehman et al., 2007
picadas de cobra	Otero et al., 2000a; Otero et al., 2000b; Otero et al., 2000c; Coe; Anderson, 2005, Silva et al, 2006 <sup>a</sup>
Leucorréia	Jadhav; Bhutani, 2005
Dismenorréia	Noumi et al., 1999; Jadhav; Bhutani, 2005
Anorexia	Balachandran; Govindarajan, 2005
Afta	Scarpa, 2004
Infecções do trato urinário	Scarpa, 2004; Souza et al., 2004
Pitíriase	Souza et al., 2004; Saikia et al., 2006
Úlcera péptica	Noumi; dibakto, 2000
Estomatites, bronquite asmática e congestão nasal, analgésico e atividade hipoglicêmica	Bork et al., 1997, Franzotti et al, 2000; Kanth et al , 2000; Sutradhar et al, 2006, Medeiros et al., 2006, Malairajan et al., 2006.;Franzotti et al., 2000; Venkatesh et al., 1999
Adstringente, propriedades Tônica,diurética, demulcente	Hansen et al., 1995; Shinwari; Khan, 2000
Desintérias	Ali, 1999; Lutterodt, 1988b; Noumi; Yomi, 2001; Peixoto, 2007;
Mal de parkinson	Nagashayana et al., 2000
Depressora SNC	Franco et al., 2005
Reumatismo	Di stasi et al., 2002
Citotóxica e antioxidante	Auddy et al., 2003; Islam et al., 2003; Silva et al., 2006
Hipertensão	Noumi et al., 1999; Hansen te al,1995
Doenças cardíacas	Hansen et al., 1995, Medeiros et al., 2006, Santos, 2005 ; Santos et al., 2006; Silveira et al., 2003; Venkatesh et al, 1999, Polloni et al, 2006,
Abortiva	Ong; Norzalina, 1999; Kamatenesi-Mugisha; Oryem-Origa, 2007; Teklehaymanot et al., 2007; Lutterodt, 1988a; Lutterodt et al., 1995
Anti-inflamatória	Dunstan et al., 1997; Franzotti et al., 2000,Krishnaraju et al., 2006; Medeiros et al., 2006; Peixoto, 2007, Venkatesh et al., 1999
Estomáquica	Hansen et al., 1995; Scarpa, 2004
Diurética	Hansen et al., 1995; Shinwari; Khan, 2000; Scarpa, 2004; Medeiros et al., 2006,

Estudos de toxicidade realizados para a espécie *Sida cordifolia* L. apontam para uma toxicidade muito baixa em camundongos (FRANZOTTI *et al.*, 2000) e em *Artemia salina*

(KRISHNARAJU *et al.*, 2006). A ingestão da espécie *Sida carpinifolia* L.f. (*Sida acuta* Burm.) por ovinos, caprinos e equinos causa intoxicação por doença de armazenamento lisossomal, por ação do alcalóide swainsonina (DRIEMEIER *et al.*, 2000; COLODEL *et al.* 2002 a/b; LORETTI *et al.*, 2003), além de distúrbios neurológicos (TOKARNIA *et al.*, 2002; LORETTI *et al.*, 2003). Contudo, muitos dos usos medicinais e atividades farmacológicas relatadas são atribuídos a esta espécie.

Outras pesquisas desenvolvidas com *S. cordifolia* observaram que o extrato desta planta causa uma elevada taxa de regeneração hepática em ratos submetidos a hepatectomia parcial (SILVA JUNIOR *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2006). Trabalhos realizados no extrato da *S. cordifolia* no sistema cardiovascular de ratos observaram hipotensão e bradicardia nestes animais, principalmente devido a uma estimulação directa dos receptores muscarínicos endoteliais vasculares e ativação indirecta de receptores muscarínicos cardíacos (MEDEIROS *et al.*, 2006). Pesquisas com atividade anticonvulsivante foram testadas nesta espécie não sendo observado efeito significativo (QUINTAS- JUNIOR *et al.*, 2002).

A *S. carpinifolia* L. (guanxuma, chá-da-índia) tem distribuição pantropical e é frequente em locais úmidos e sombreados das Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil. É uma planta subarborescente, perene, ereta, com 0,3 a 0,7 m de altura que se propaga por sementes (LORENZI *et al.*, 2000). Surto natural de intoxicação por esta planta foram relatados em caprinos (DRIEMEIER *et al.* 2000, COLODEL *et al.* 2002), em pôneis, (LORETTI *et al.* 2003) e em ovinos SEITZ *et al.* 2002). Os sintomas, onde observa foram: hipermetria e dismetria, tremores de cabeça e pescoço, nistagmo, quedas frequentes e posturas atípicas foram vistos em caprinos e ovinos (DRIEMEIER *et al.* 2000, COLODEL *et al.* 2002; SEITZ *et al.*, 2005).

Pesquisas realizadas com *S. galheirensis* mostrou uma alta atividade seqüestradora de radicais livres que pode ser justificada pela presença de pelo menos dois flavonóides (SILVA *et al.*, 2006a). Também foram desenvolvidas pesquisas com a espécie *S. linifolia* no sistema reprodutor onde utilizaram ratas grávidas e observaram que o uso do extrato da planta impediram a implantação embrionária. O extrato impediu a ovulogênese e ovulação, mas não mostrou atividade no útero, sugere-se que o extrato pode conter constituintes que causem atividade contraceptiva pós-coito (NWOBODO *et al.*, 1996)

Na espécie *S. santaremnensis* não existem relatos na literatura sobre possíveis atividades terapêuticas da espécie. Sendo encontradas apenas pesquisas sobre atividade da planta como erva daninha (BALASTREIRE *et al.*, 2001; HECTOR ALONSO, 2004; OLIVO *et al.*, 2006).

### **Gênero *Copaifera* – Aspecto gerais**

As árvores popularmente chamadas de copaíba, pertencentes ao gênero *Copaifera*, são

nativas de regiões tropicais da América Latina e também da África Ocidental. Na América Latina são encontradas espécies em regiões que se estendem desde o México até ao norte da Argentina (VEIGA JÚNIOR *et al.*, 2005).

Em uma classificação mais moderna da família Leguminosae, há uma divisão em três sub-famílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae (ou Faboideae). Através desta classificação, o gênero *Copaifera* pertence à família Leguminosae Juss, sub-família Caesalpinioideae Kunth. Segundo o sistema de classificação de Cronquist, o gênero *Copaifera* pertence à família Caesalpiniaceae. A classificação deste gênero apenas como Fabaceae também é encontrada em alguns livros (VEIGA JÚNIOR *et al.*, 2002).

Muitos botânicos e cronistas, em épocas de início de colonização, estiveram percorrendo diversas regiões do mundo no intuito de descreverem espécies do gênero *Copaifera*. Trabalhos mais recentes sobre descrição das espécies do gênero foram realizados por Cascon (2004). De acordo com a última edição do Index Kewensis, o gênero *Copaifera* possui 72 espécies identificadas, sendo que oito destas (tabela 2) só são encontradas no Brasil (VEIGA JÚNIOR *et al.*, 2002).

Tabela 2 – Ocorrência de algumas espécies brasileiras do gênero *Copaifera*

<i>Copaifera ssp.</i>	Nomes comuns	Características	Ocorrência
<i>C. multijuga</i> Hayne	cupaíba, copaíba angelim, copaíba roxo	árvore grande, óleo fluido e claro	Amazônia, Manaus, Mato Grosso
<i>C. reticulata</i> Ducke	copaíba marimari, copaíba jutaí	árvore grande, óleo espesso	Amazônia, Pará
<i>C. officinales</i> L.	copaíba verdadeira, jatobá mirim, óleo branco	árvore grande	Amazônia até Piauí
<i>C. langsdorfii</i> Desf.	copaíba vermelha, cupiúva, oleiro, copaíba da várzea	árvore de 10-35 m	Paraná, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Guiana, Venezuela
<i>C. martii</i> Hayne	copaíba jutaí, copaibarana, jutaí pororoca	arbusto à árvore pequena, óleo líquido e claro	Pará, Maranhão, Piauí, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais
<i>C. guianensis</i> Desf.	copaíba do Pará, copaíba do Rio Negro, copaíba branca	árvore grande	Amazônia
<i>C. coriacea</i> Mart.	baume de S. Paulo	árvore grande e frondosa	Piauí até a Bahia, São Paulo, Minas Gerais
<i>C. glycyarpa</i> Ducke	Copaíba preta, copaíba cuiarana	árvore 30-45 m, óleo viscoso e escuro	Maués, Xingu, Tapajós

Fonte – Cascon, 2004.

No que se refere à identificação botânica, vários aspectos morfológicos das flores, folhas e

frutos dificultam a identificação das várias espécies de copaíbas. Segundo características das flores, como pubescência das sépalas, comprimento dos anteros e a condição glabrosa ou não do pistilo são alguns fatores que atrasam o processo de identificação botânica das espécies do gênero *Copaifera*. No geral as árvores deste gênero apresentam crescimento lento, alcançando de 25 a 40 metros de altura e podendo viver até 400 anos. O caule da planta é áspero, de cor escura, possuindo diâmetro médio variando de 0,4 a 4 metros. As folhas da copaíba são alternadas, pecioladas e ovóides, sendo envolvidas por um arilo abundante e colorido. As flores são pequenas, hermafroditas, apétalas e dispostas em panículos axilares. Os frutos são do tipo vagem, geralmente monospermico (VEIGA JÚNIOR *et al.*, 2005).

No geral, as árvores de copaíba, apresentam no interior de seu tronco um óleo ou bálsamo. Popularmente conhecido como óleo de copaíba, a designação correta é óleo-resina, por ser um exudato de ácidos resinosos e com compostos voláteis. O termo bálsamo de copaíba também é erroneamente adotado, uma vez que não contém derivados de ácido benzóico ou cinâmico. Em todas as espécies do gênero os canais secretores do óleo-resina acham-se na região cortical dos caules, prolongando-se até o lenho, onde existem em grande abundância, às vezes formando bolsas. Estes canais são formados pela dilatação de espaços intercelulares (meatos) que se intercomunicam no meristema, chamados de canais esquizógenos (OLIVEIRA *et al.*, 2006; MARCATI *et al.*, 2001). Segundo Veiga Júnior *et al.* (2005), o óleo é produto da desintoxicação do organismo vegetal e funciona como defesa da planta contra animais, fungos e bactérias.

Uma prática de coleta da óleo-resina não agressiva é aquela realizada através de uma incisão com trado a cerca de 1-1,5 metro de altura do tronco onde, após a perfuração, a óleo-resina é coletado em um recipiente plástico e o orifício no tronco da árvore pode ser tampado com argila ou cano PVC isolado. O óleo *in natura* de copaíba apresenta certa variedade nos seus componentes, cuja variação parece ser mais sensível a fatores abióticos (insetos e fungos) do que à luminosidade e nutrientes. A exploração do óleo apresenta algumas características originárias de seu manejo e coleta. Esta caracteriza as possibilidades de suas aplicações industriais e farmacêuticas e, portanto, estabelecer o seu padrão de qualidade para o mercado. A principal delas refere-se à eventual mistura dos óleos de espécies botânicas variadas, ou ainda de espécimes de idades e locais distintos (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

O óleo-resina das árvores do gênero *Copaifera* tem registros de aplicações industriais como o uso em vernizes, lacas, fixado de odores, fragrâncias, amplamente utilizada no Brasil em cosméticos, aditivos em sabonetes, shampus, cremes, loções, gel, protetores solares e também em conservantes de alimentos. Também é utilizado no tratamento de diversas manifestações patológicas devido, atuando como anti-séptico, principalmente em órgãos do trato urinário e digestivo, desinfetante pulmonar, expectorante e cicatrizante. Este óleo-resina é comercializada

principalmente na Amazônia, onde pode ser obtida na forma bruta e sendo também o princípio ativo na formulação de xaropes expectorantes, mel composto e sabonetes medicinais. A Tabela 3 mostra o uso popular de óleo-resina de algumas espécies do gênero *Copaifera* (CASCON, 2004).

Tabela 3 – Uso popular da óleo-resina de espécies de *Copaifera*

Uso Oral	<i>Copaifera multijuga</i>	<i>Copaifera reticulata</i>	<i>Copaifera officinales</i>	<i>Copaifera langsdorfii</i>	<i>Copaifera coriaceae</i>	<i>Copaifera ssp.</i>
antiinflamatório		+	+	+	+	+
anti-séptico		+		+	+	+
blenorragia	+	+	+	+	+	+
Sífilis		+	+			+
corrimento uretral				+		
Cistite	+	+	+	+	+	
Diurético					+	+
expectorante	+	+	+	+	+	+
Asma		+	+			
pneumonia			+	+		+
Bronquite	+	+	+	+		+
estimulante				+	+	+
Dores abdominais			+			
vermífugo			+			
Câncer		+				+
Febre	+					
<b>Uso Local</b>						
antiinflamatório		+		+		+
anti-tétano neonatal	+	+	+	+	+	+
Faringite		+				
Hemorróidas		+	+			
cicatrizante	+	+	+	+	+	+
dermatose	+	+	+	+	+	+
Tumores		+				+
Herpes		+				

Fonte – Cascon, 2004.

Quimicamente o óleo-resina da copaíba é uma solução natural de ácidos diterpenóicos resinosos (fração fixa) em um óleo essencial (fração volátil) composto principalmente de sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados. A composição química dos óleos de copaíba encontra-se citada em diversos artigos científicos, onde foram utilizadas técnicas antigas, bem como metodologias mais modernas de isolamento e de identificação, tais como cromatografia gasosa

acoplada à espectrômetro de massa (CG-EM) com colunas cromatográficas de fase estacionária (CASCON *et al.*, 2000 ;VEIGA JUNIOR *et al.*, 2002;OLIVEIRA *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2008).

Entre os óleo-resinas estudadas e analisadas, existe uma grande semelhança na composição de sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados, ocorrendo maiores diferenças na composição de ácidos diterpenóicos. A literatura cita como predominantes entre os sesquiterpenos da óleo-resina o  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -bisaboleno e  $\alpha$ -copaeno (CASCON *et al.*, 2000 ; CASCON, 2004;VEIGA JUNIOR *et al.*, 2002;OLIVEIRA *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2008).

No óleo essencial extraído das folhas os sesquiterpenos predominam o  $\alpha$ -selineno e o  $\beta$ -selineno, que só ocorreriam como traços na óleo-resina e aromadendreno e bergamoteno só ocorrem na óleo-resina. Alguns sesquiterpenos como  $\alpha$ -humuleno,  $\beta$ -humuleno,  $\gamma$ -humuleno,  $\delta$ -elemeno,  $\gamma$ -cadineno,  $\alpha$ -cubebeno,  $\beta$ -cubebeno, óxido de cariofileno,  $\alpha$ -multijugenol e cypereno ocorrem tanto na óleo-resina como no óleo essencial das folhas. Ácidos diterpenóicos comumente citados como predominante é o ácido copálico e, além deste, encontram-se ainda os ácidos eperúico, kolavênico, catívico, poliáltico, hardwickico, crolechínico e derivados oxigenados de ácidos diterpenóicos cíclicos e ácido kaurenóico de estrutura tetracíclica (CASCON, 2004, VEIGA JUNIOR *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2008).

Embora muitas substâncias contidas no óleo-resina já terem sido identificadas, ainda não está bem estabelecida a relação entre a atividade biológica e a estrutura dos componentes das diversas espécies de *Copaifera*, além do fato de que existem poucos trabalhos na literatura que fazem uma avaliação da atividade biológica de frações analisadas e substâncias puras e/ou isoladas (CASCON, 2004).

O óleo de copaíba apresenta algumas substâncias de propriedades irritantes, que podem causar alguns efeitos colaterais devido ao seu consumo. O óleo causa, no trato urinário, inflamações e lesões renais (CASCON, 2004), distúrbios gastro-intestinais (PIO CORREA, 1931) e ainda sensibilidade cutânea (VEIGA JÚNIOR *et al.*, 2002).

Doses excessivas do óleo certamente deve ser a principal causa da manifestação dos efeitos colaterais, sendo este um motivo para que o uso da copaíba como medicamento tenha se tornado obsoleto em algumas regiões (CASCON, 2004). O uso de fitoterápicos por grande faixa da população brasileira dificilmente vem sendo acompanhado do controle de qualidade dessas drogas vegetais, e muitas vezes até a autenticidade de muitas das plantas usadas é duvidosa, devido a adulteração das mesmas (VEIGA JÚNIOR *et al.*, 2002).

Além do óleo-resina (bálsamo de copaíba), obtido através de pequenos cortes na casca do caule desta planta, o extrato da casca também é utilizado na medicina popular como cicatrizante, antiinflamatório, anti-séptico, antitumoral e como agente para tratar bronquites, úlceras e doenças

de pele (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002). Outros estudos farmacológicos com algumas espécies de *Copaifera* demonstraram atividade antiinflamatória (BASILE *et al.*, 1988; FERNANDES *et al.*, 1992; VEIGA JUNIOR *et al.*, 2007, CARVALHO *et al.*, 2009), antioxidante (PAIVA *et al.*, 2004) e antitumoral (OHSAKI *et al.*, 1994; LIMA *et al.*, 2003), além de ação cicatrizante, potencial anti-séptico, antitumoral, antibacteriano, expectorante, diurético e analgésico (LOURENÇO *et al.*, 2009; MONTES *et al.*, 2009; MOREIRA, 2009; PARENTE *et al.*, 2009; PIERI *et al.*, 2009). Também foi observado atividade larvicida no óleo-resina de *C. reticulata* para todos os estádios de *C. quinquefasciatus*. (SILVA *et al.* 2003)

A espécie *Copaifera multijuga* Hayne (Fabaceae-Caesalpinaceae) é popularmente conhecida pelo seu óleo resina, amplamente estudado por suas atividades biológicas. As cascas de seu caule são utilizadas na medicina popular na forma de chá contra diversas patologias, como inflamações, tumores e doenças pulmonares (CARVALHO, 1994). Estudos com extrato da casca da *C. multijuga* observação propeção fitoquímica, visto que foram detectados esteróides e triterpenos além de apresentarem um alto teor de fenóis totais (BEZERRA *et al.*, 2001)

Pesquisadores trabalhando com a folha com a de *Copaifera langsdorffii*, indicam que ela pode ser uma nova fonte de peroxidase. Além demonstrar que o método de extração da peroxidase proposto no trabalho, mostrou ser simples e economicamente viável, o que possibilita contribuir para a obtenção de peroxidase em alta escala e baixo custo (MACIEL *et al.*, 2006).

Estudos utilizando óleo de copaíba no colo uterino de ratas ooforectomizadas demonstraram um aumento nas ileiras de células no epitélio, observando-se também a presença de células queratinizadas na superfície. Por não saber seu mecanismo de ação, outros modelos experimentais são necessários para comprovar estes efeitos, assim como conhecer melhor suas propriedades, pois, embora tenha sido descoberta ação antiinflamatória do óleo de forma experimental, não foi ainda possível determinar qual ou quais os componentes responsáveis pelas propriedades descritas (LAMARÃO *et al.*, 2002)

A atividade antibacteriana da *Copaifera multijuga* Hayne frente *S. mutans* e ao *S. sanguinis* em um cimento odontológico mostrou-se promissor, pois a copaíba estudada apresentou um grande potencial para o uso como veículo ao cimento odontológico, sendo necessário estudos posteriores no que tange a propriedades físico-químicas e de biocompatibilidade (VASCONCELOS *et al.*, 2008)

Neste sentido, as principais propriedades terapêuticas citadas para a *Copaifera* são: a atividade antiinflamatória, que tem como principais componentes responsáveis os hidrocarbonetos sesquiterpênicos, especialmente o  $\beta$ -bisaboleno e o  $\beta$ -cariofileno, o óleo-resina de plantas do gênero *Copaifera* recebe indicação da medicina tradicional para inúmeras finalidades, das mais diferentes naturezas, e tem sido há vários anos matéria de diversos estudos, visando comprová-las ou adaptá-



las a novas terapias (PIERI *et al*, 2009). Em 1972, o *Food and Drug Administration*, órgão americano regulamentador de drogas, aprovou o óleo de copaíba, após ser submetido a testes de sensibilização e irritação em 25 voluntários, obtendo-se resultado negativo para ambos os testes (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002). Sua toxicidade foi posteriormente determinada por Basile e colaboradores (1988), cuja dose letal (DL<sub>50</sub>) discriminada foi de 3,79 mL/kg.

Estudos de toxicidade realizados para a espécie *Copaifera reticulata* demonstraram que a administração do óleo não causou mortalidade até a dose de 2g/kg além de não apresentar efeitos neurotóxicos (SACHETTI *et al.*, 2009). Além disso, Paiva *et al* (2004) relataram que o óleo-resina de *Copaifera langsdorffii* impede a isquemia associada a dano tecidual no intestino de ratos e sugerem que este efeito protetor pode, pelo menos em parte, ser devido à suas propriedades antioxidantes e anti-lipoperoxidativa.

Em face das diversas atividades biológicas e do crescente interesse terapêutico nas mais diferentes espécies dos gêneros *Copaiferas* e *Sida*, busca-se através desta revisão salientar a necessidade da ampliação de pesquisas nas espécies *Sida santaremnensis* H. Monteiro e *Copaifera luetzelburgii* Harms, encontradas no Piauí.

# CAPÍTULO I\*

\* Elaborado segundo as normas da Revista Química Nova

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO E BIOFARMACOLÓGICO DA  
ESPÉCIE *Copaifera luetzelburgii* Harms ENCONTRADA NO ESTADO DO PIAUÍ**

Waldilleny Ribeiro de Araújo Moura<sup>1\*</sup>, Rozeverter Moreno Fernandes<sup>1</sup>, Maria do Carmo de

Carvalho Martins<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí. CEP 64049-550, Teresina, PI, Brasil. e-mail:waldilleny@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Deptº de Biofísica e Fisiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí.

## CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO E BIOFARMACOLÓGICO DA ESPÉCIE *Copaifera luetzelburgii* Harms ENCONTRADA NO ESTADO DO PIAUÍ

**ABSTRACT:** We report the first characterization of the chemical constituents of essential oil and cytotoxic activity of extracts of *Copaifera luetzelburgii* Harms, found in the state of Piauí, Brazil. A extração do material vegetal foi feita em aparelhagem tipo Clevenger. To perform the toxicity tests were done on *Artemia salina*, and hemolysis by using the bark of *Copaifera luetzelburgii*, in which the extract was prepared by cold maceration and rotaevaporayion to ethanol withdrawal. The major constituents in the leaf oil were germacrene D (27.12%),  $\beta$ -caryophyllene (16.43%) and germacrene B (12.58%), whereas in the stem bark were  $\gamma$ -selinene (26.79%) 7-epi- $\alpha$ -selinene (24.73%) and  $\beta$ -selinene (14.63%). There was cytotoxic action of leaf extracts of leaves and bark (LC<sub>50</sub> of 0.1002  $\mu$ g/mL and 0.2798  $\mu$ g/mL, respectively) of *C. luetzelburgii* microcrustaceans front of *Artemia salina*, revealing potential therapeutic effect.

**Keywords:** *Copaifera luetzelburgii* Harms, essential oil, citotoxicity.

### INTRODUÇÃO

As árvores de copaíba, pertencentes ao gênero *Copaifera*, são nativas de regiões tropicais da América Latina e também da África Ocidental. Na América Latina são encontradas espécies em regiões que se estendem desde o México até ao norte da Argentina<sup>25</sup>

Em uma classificação mais moderna da família Leguminosae, há uma divisão em três sub-famílias: Caesalpinoideae, Mimosoideae e Papilionoideae (ou Faboideae). Através desta classificação, o gênero *Copaifera* pertence à família Leguminosae Juss., sub-família Caesalpinoideae Kunth. Segundo o sistema de classificação de Cronquist, o gênero *Copaifera* pertence à família Caesalpiniaceae. A classificação deste gênero apenas como Fabaceae também é encontrada em algumas literaturas<sup>5,8,21,25</sup>.

As árvores de copaíba, assim denominadas vulgarmente, apresentam no interior de seu tronco um óleo ou bálsamo. Popularmente conhecido como óleo de copaíba, a designação correta é a de óleo-resina, por ser um exudato de ácidos resinosos e compostos voláteis. O termo bálsamo de copaíba também é erroneamente adotado, uma vez que não contém derivados de ácido benzóico ou cinâmico. Em todas as espécies do gênero *Copaifera*, os canais secretores do óleo-resina acham-se na região cortical dos caules, prolongando-se até o lenho, onde existem em grande abundância, às vezes formando bolsas. Estes canais são formados pela dilatação de espaços intercelulares (meatos) que se intercomunicam no meristema, chamados de canais esquizógenos<sup>7,8,10,26</sup>. O óleo é produto da desintoxicação do organismo vegetal e funciona como defesa da planta contra animais, fungos e bactérias<sup>18, 25</sup>.

A exploração do óleo de copaíba apresenta algumas características originárias de seu manejo e coleta vão caracterizar as possibilidades de suas aplicações industriais e farmacêuticas e, portanto, estabelecer o seu padrão de qualidade para o mercado<sup>14,15,18</sup>. A composição química dos óleos de copaíba encontra-se definida em diversos trabalhos, sendo uma solução natural de ácidos diterpenóicos resinosos (fração fixa) em um óleo essencial (fração volátil) composto principalmente de sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados<sup>7,8,10,26</sup>. A composição química dos óleos de copaíba encontra-se citada em diversos artigos científicos, onde foram utilizadas técnicas antigas, bem como metodologias mais modernas de isolamento e de identificação, tais como cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) com colunas cromatográficas de fase estacionária. Já foram identificados 72 tipos diferentes de sesquiterpenos e 28 tipos de diterpenos em óleo-resinas de copaíba<sup>6</sup>. No entanto, a *C. luetzelburgii* ainda é uma espécie que não teve seus constituintes químicos estudados. Além disso, a maioria dos trabalhos realizados com o gênero copaífera se restringem ao estudo do óleo resina<sup>2, 8,18,25</sup>, sendo poucos aqueles que avaliaram o óleo essencial bem como os constituintes dos estratos provenientes de outras partes da planta.

Por outro lado, há muitos anos a população utiliza plantas para o tratamento de várias doenças. Entretanto, a maioria das espécies não são amplamente investigadas tanto química quanto

biologicamente, e mesmo as plantas já analisadas requerem estudos clínicos adicionais<sup>10,22</sup>. Estudos fitoquímicos sobre a espécie de *Copaifera* encontrada no estado do Piauí estão em decurso e é pioneiro, visto que, na literatura, não há trabalhos sobre esta espécie.

Dentro desta perspectiva e face as diversas atividades biológicas e do crescente interesse terapêutico, o presente estudo teve por objetivo identificar os constituintes químicos do óleo essencial e avaliar o potencial citotóxico de extratos etanólico de partes aéreas e casca da espécie de copaíba (*Copaifera luetzelburgii* Harms) encontrada no estado do Piauí, centro-norte do estado.

## **METODOLOGIA**

### **Material vegetal**

A coleta de *Copaifera luetzelburgii* Harms foi realizada no mês fevereiro nos anos de 2008 e 2009 na comunidade Quilombola dos Macacos, a 26 km do município de São Miguel do Tapuio (5°30'14" S, 41°19'22" W), no estado do Piauí. A exsicata da espécie foi identificada pela Prof. Dr<sup>a</sup>. Ana Luíza Du Bocage Neta e depositada no acervo do Herbário Graziela Barroso (N°26.235) da Universidade Federal do Piauí, em Teresina, Piauí.

### **Extração de constituintes voláteis:**

A extração do material vegetal foi feita em aparelhagem tipo Clevenger. As folhas e as cascas do caule foram submetidas separadamente ao processo de hidrodestilação durante 3 horas, em processo contínuo, e os óleos foram extraídos de seus hidrolatos por partição com éter etílico. A fase etérea foi seca com sulfato de sódio anidro e o éter foi eliminado em rota-evaporador. A parte química foi realizada em parceria com nossos colaboradores do Departamento de Química da UFPI, sob a supervisão e coordenação do professor Dr. Sidney Gonçalo Lima.

### **Análise por Comatografia Gasosa em Espectrofotometria de Massa (CG-EM)**

As amostras de óleos foram analisadas por CG-EM, sistema Shimadzu GC-17A/MS QP5050A: coluna DB-5HT, com 30 m x 0,25 mm, espessura do filme interno de 0,10 µm e hélio como gás carreador a 1,7 mL/min, temperatura do injetor 270 °C; temperatura do detector 290 °C; temperatura da coluna 60 °C (1 min) – 180 °C (1 min) em 4 °C/min, 180-270 °C em 10 °C/min (10min). Os espectros de massas foram produzidos por impacto eletrônico (70 eV) e comparados com os padrões existentes na biblioteca Willey 229 do computador no aparelho. A identificação dos constituintes foi feita por interpretação de seus respectivos espectros de massas e índice de retenção linear (Índice de Kovat), e por comparação com dados da literatura.

### **Obtenção dos extratos etanólico das folhas e cascas**

Para obtenção do extrato etanólico das folhas e cascas secas, separadamente, fez-se a trituração das amostras utilizando-se um moinho tipo Willis e realizou-se quatro extrações de maceração a frio, em intervalos de 24h cada extração e, em seguida, fez-se a filtração com papel filtro convencional e a concentração do extrato foi feita por evaporação dos solventes utilizando um rota-evaporador à temperatura média de 40 °C.

### **Avaliação da concentração letal média sobre *Artemia salina***

Para realização dos testes de citotoxicidade em *Artemia salina*, ovos das larvas de camarão de água salgada foram colocados em recipiente contendo água do mar artificial e, após um período de 24h, tempo correspondente ao período de eclosão dos ovos, este mantido a temperatura ambiente (25-30 °C) e sob luz artificial, as larvas eclodiram e foram coletadas para o teste com auxílio de pipeta.<sup>15</sup> Soluções padrões dos extratos hexânico e etanólico foram preparadas por dissolução de 50 mg de cada extrato e adicionado tween-40, um tensoativo para solubilizar os extratos orgânicos em água. Dez larvas de *Artemia salina* foram transferidas para os tubos de ensaio contendo soluções salinas dos extratos hexânico e etanólico das folhas e cascas de *Copaifera luetzelburgii* Harms em diferentes concentrações. Os ensaios foram realizados em triplicata. Os tubos de ensaio foram mantidos sob iluminação e as larvas sobreviventes foram contadas após 24h. A concentração letal

média ( $CL_{50}$ ) foi determinada por regressão linear, em modelo Probit a 95% de confiança. Foram realizados os testes em *Artemia salina* com quatro extratos, conforme tabela 1.

### **Determinação da atividade hemolítica**

No ensaio citotóxico, utilizou-se o extrato etanólico (Cl-EtOH) da casca da *Copaifera luetzelburgii* no qual o extrato foi preparado através de macerações a frio e rotaevaporação para retirada do etanol. Para a obtenção do sangue, os ratos foram sacrificados por deslocamento cervical, decapitados e o sangue coletado imediatamente em um béquer com 30 mL de solução de salina 0,9% com  $CaCl_2$  10 mM sob agitação. As hemácias foram lavadas duas vezes por centrifugação a 5000 rpm/3 min. O sedimento da última centrifugação foi ressuspensão em salina a 0,5% e borbulhada com mistura carbogênica por 30 min. A atividade hemolítica foi avaliada para as concentrações de 3, 10, 30, 100, 300 e 1000  $\mu\text{g/ml}$  do extrato Cl-EtOH. A montagem dos tubos foi feita em triplicata para todos os produtos testes nas concentrações desejadas e o volume foi completado para 0,5 mL com solução salina. Para o controle positivo, foi adicionado 100  $\mu\text{L}$  de Triton X-100 1% (100% de hemólise). A cada tubo foi adicionado 100  $\mu\text{L}$  de suspensão de eritrócitos e incubou-se por uma hora à temperatura ambiente sob agitação constante. Centrifugou-se as amostras a 5.000 rpm durante 3 min., sendo a hemólise medida pela absorbância do sobrenadante a 540 nm.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Análise dos constituintes químicos**

A análise do óleo volátil por CG-EM obtido das folhas frescas de *C. luetzelburgii* permitiu a identificação de 27 constituintes químicos (**Tabela 2**), representando 90% do total, enquanto que para as cascas identificou-se 20 constituintes. Nesta observamos que o germacreno-D (27.12%) foi o constituinte majoritário no óleo essencial das folhas, seguido do  $\beta$ -cariofileno (16.43%) e do germacreno-B (12.58%). Foram identificados, também, os sesquiterpenóides óxido de cariofileno (0.33%), viridiflorol (1.94%), guaiol (0.94%), carotol (0.26%), torreyol (2.49%) e  $\alpha$ -



cadinol (2.41%) em menores quantidades. Nossos resultados são semelhantes aos encontrados nos estudos químicos e farmacológicos dos óleos essenciais dos frutos e das cascas dos frutos de *C. langsdorffii* onde foram observado, constituintes principais identificados para o óleo essencial dos frutos foram:  $\gamma$ -muuroleno (29,8%) e  $\beta$ -cariofileno (14,8%), enquanto que para o óleo das cascas dos frutos o constituinte principal era o óxido de cariofileno (47,3%)<sup>7,8,25,26</sup>.

Também foram realizados trabalhos com o óleo essencial do pericarpo da *C. langsdorffii* onde podemos citar  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -selineno e óxido de cariofileno com os principais componentes<sup>18,20</sup>. Sendo que vários constituintes químicos encontrados nestes trabalhos<sup>11,12</sup> são similaridades aos encontrados no óleo essencial das folhas e da casca da *C. luetzelburgii*. Comparado os resultados entre as espécies é possível identificar discretas variações na composição química, sendo que observou-se a presença de determinados constituintes não vistos nos outros óleos<sup>11,12</sup>. Além de, também terem sido visto diferenças nas percentagens dos compostos químicos. Este fato pode estar relacionado a fatores genotípicos<sup>1</sup> ou ambientais<sup>14</sup>, como diferentes tipos de solo ou adaptação às condições ambientais distintas entre as áreas de coleta.

Dentre os constituintes detectados no óleo essencial obtido das cascas, o  $\gamma$ -selineno (26.79%) e 7-epi- $\alpha$ -selineno (24.73%) foram os constituintes mais abundantes, resultado diferente de um trabalho<sup>20</sup> que observou uma maior concentração de óxido de cariofileno.

Acredita-se que os sesquiterpenos presentes nos óleos da folha ( $\alpha$  copaeno,  $\beta$ -cariofileno e germacreno-D) sejam responsáveis pela inibição do processo inflamatório, sendo que a literatura cita que o cariofileno também possui atividade anti-tumoral, anti-edematosa<sup>14,28,23,25</sup>. Desta forma podemos sugerir que esta planta possua atividade antiinflamatória já que a mesma possui uma porcentagem bastante elevada de cariofileno e germacreno D, destacando-se ainda uma possível atividade antibacteriana deste óleo essencial, pois vários autores atribui esta atividade a germacreno D, constituinte de maior percentagem visto por nas folhas<sup>4,6,9,17</sup>.

**Concentração letal mediana sobre *Artemia salina* e citotoxicidade através de hemólise**

Ao observarmos as figuras 1 e 2 verificamos que os extratos etanólicos da folhas e das casca foram incapazes de causar a mortalidade das larvas de *Artemia*, indicando uma ausência de toxicidade. Portanto, não foi possível determinar a  $CL_{50}$ . Estes resultados sugerem que *C. luetzelburgii* Harms possui um baixo potencial de toxicidade. Apesar de dos testes com *Artemia salina* serem um bioensaio preliminar de baixo custo sobre a toxicidade geral de uma espécie vegetal com atividade biofarmacológica<sup>3,5,17</sup>.

Os resultados do teste citotoxicidade mostrou que o extrato etanólico das cascas de copaíba apresentou um percentual de hemólise em torno de 25%, sendo um percentual baixo. Podendo-se dizer que não apresentaram atividade tóxica através da metodologia utilizada (figura 3).

Este resultado é semelhante aos testes da *Artemia salina* com o mesmo tipo e extrato. Podendo-se perceber que o extrato etanólico em ambas metodologias demonstra-se bastante seguro para seu uso.

Ressalta-se que a ausência de toxicidade dos extratos no teste de letalidade contra *Artemia salina* e citotoxicidade através de hemólise são indicadores de que a planta pode ser bem tolerada frente ao sistema biológico. Entretanto, estudos mais detalhados para a avaliação da toxicidade dos extratos bioativos empregando-se outros modelos (*in vitro* e *in vivo*) se fazem necessários.

## CONCLUSÃO

Ao observarmos os resultados obtidos com a avaliação dos componentes das frações voláteis dos extratos da casca e folha de *Copaifera luetzelburgii*, e a avaliação toxicológica sobre *Artemia salina* e citotóxica sobre hemácias, podemos concluir que:

Os principais constituintes presentes nos óleos essenciais das folhas e cascas de *C. luetzelburgii* são : germacreno-D,  $\gamma$ -selineno e 7-*epi*- $\alpha$ -selineno.

O extrato etanólico das cascas e folhas não apresentaram toxicidade contra *Artemia salina*. Nem citotoxicidade através de hemólise, apresentando portanto uma certa segurança para seu uso terapêutico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams, R. P.; *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*, Allured Publishing Corporation: Illinois, **2001**.
2. Basile, A.C.; Sertié, J.A.; Freitas, P.C.; Zanini, A.C. **1988**, *J Ethnopharmacol*, 22, 1.
3. Batista, R.; Brandão, G. C.; Braga, F. C.; Oliveira, A. B. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. **2009**, 19, 1.
4. Biavatti, M. W.; Vieira, P. C.; Silva, M. F. G. F.; Fernandes, J. B.; Albuquerque, S.; Magalhães, C. M. I.; Pagnocca, F. C.; *Phytomedicine* **2001**, 8, 121.
5. Brito, M. V. H. et al. *Acta Cirúrgica Brasileira*. **2000**, 15, 2.
6. Burt, S.; *Int. J. Food Microbiol.* **2004**, 94, 223.
7. Cascon, V. *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, **2004**.
8. Cascon, V.; Gilbert, B. *Phytochemistry*. **2000**, 55.
9. Deuschle, R. A. N.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, **2003**.
10. Ferreira, L. A.; Braz, E. M. *The New York Botanical Garden*. Universidade Federal do Acre, **1991**.
11. Gramosa, M. V.; Silveira, E. R. *Journal of Essential Oil Research*. **2005**, 17, 2.
12. Gramosa, N. V.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Ceará, Brasil, **2001**
13. Henriques, A. T.; Pires, C. A. S., Apel, M. A. *Química de produtos naturais, novos fármacos e moderna farmacognosia*. **2007**.
14. Hutchison, M.; Lewer, P.; Macmillan, J.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1984**, 23,63

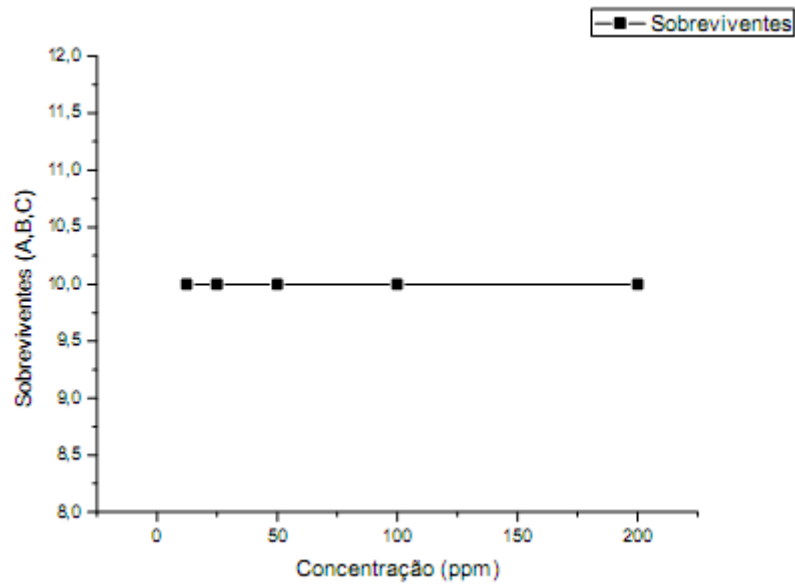
15. Kang, R.; Helms, R.; Stout, M. J.; Jaber, H.; Nakatsu, T.; *J. Agric. Food, Chem.* **1992**, *40*, 23,28.
16. Marcati, C. R.; Angyalossy-Alfonso, V.; Benetati, L. *Revista Brasileira de Botânica.* **2001**, *24*, 3.
17. Murari, A. L. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, **2007**.
18. Oliveira, E. C. P.; Lameira, O. A.; Zoghbi, M. G. B. *Rev. Brasileira de Plantas Medicinai.* **2006**, *8*, 3.
19. Pelczar, M. J.; Chan, E. C. S.; Krieg, N. R. Control of microorganisms, the control of microorganisms by physical agents. In: *Microbiology*. 469. New York; Mc Graw – Hill International, **1988**.
20. Pereira, F.J.; Martins, F. T.; Corrêa, R. S.; Moreira, M. E. C.; Costa, A. M. D. D. ; Santos, M. E.C.; Costa, A. M. D. D.; Santos, M. H; Pólo, M. Barbosa, L. C.A. *Latin American journal of Pharmacy*, **2008**,*23*,3, 369-74.
21. Pio Corrêa, M. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Min. da Agricultura. IBDF, **1984**.
22. Rigamonte-Azevedo, O. C.; Wadt, P. G. S.; Wadt, L. H. O. *Copaíba: Ecologia e produção de óleo-resina*. Embrapa. Rio Branco, **2004**.
23. Shimizu, M.; Shogawa, H.; Matsuzawa, T.; Yonezawas, S.; Hayashi, T.; Arisawa, M.; Suzuki, S.; Yoshizaki, M.; Morita, N.; *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 2283.
24. Veiga Jr, V.F., L. Zunino J.B. Calixto, M.L. Patitucci & A.C. Pinto .**2001**, *Phytother. Res.* **15**: 476-80
25. Veiga Jr., V. F.; Pinto, A. C. *Química Nova.* **2002**, *25*, 2.
26. Veiga Jr., V. F.; Andrade Jr., M. A.; Ferraz, I. D. K.; Christo, H. B.; Pinto, A. C. *Acta Amazônica.* **2007**, *37*, 1.
27. Yoshizaki, M.; Morita, N.; Lima Neto,J.S.; Gramosa, N. V.; *Chem. Pharm. Bull.***1990**, *38*, 2283.
28. Zheng, G.Q.; Kenney, P. M.; Lam, L. K. T.; *J. Nat. Prod.* **1992**, *55*, 99.

**Tabela 1.** Determinação das concentrações em ppm usados no teste de toxicidade em *Artemia salina* da *Copaifera luetzelburgii*

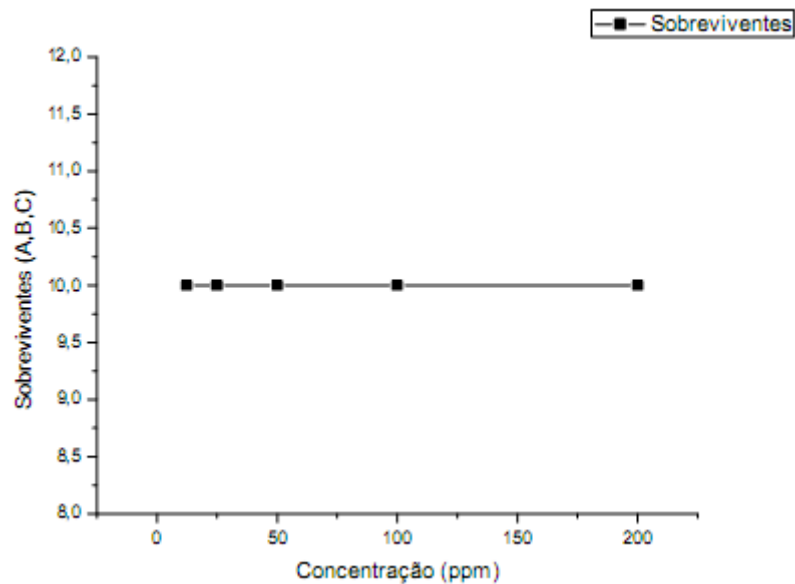
Extratos	Solução Padrão (ppm)	Concentrações
Extrato etanólico Folha (EEFC)	2000	12,5
		25,0
		50,0
		100,0
		200,0
Extrato etanólico casca do caule (EECC)	2050	12,5
		25,0
		50,0
		100,0
		200,0

**Tabela 2** - Composição química do óleo essencial das folhas e das cascas de *C. luetzelburgii* e áreas relativas (%) correspondentes a cada um dos constituintes

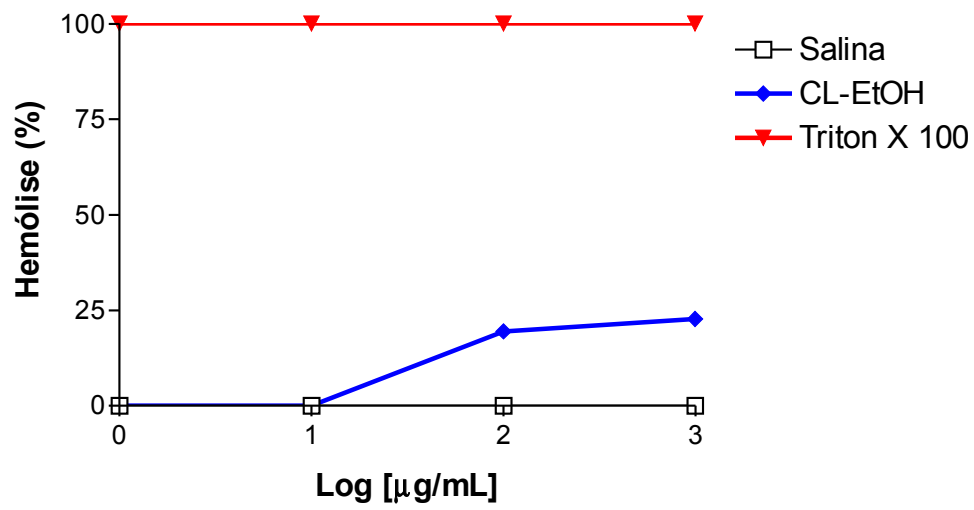
<b>Constituintes</b>	<b>Folhas</b>	<b>Cascas</b>
<i>p</i> -cimeno	0,08	-
Limoneno	0,09	-
<i>Cis</i> - $\beta$ -ocimeno	0,26	-
$\delta$ -elemeno	0,77	-
$\alpha$ -cubebeno	0,51	0,40
$\alpha$ -ylangeno	0,22	-
$\alpha$ copaeno	5,31	1,87
$\beta$ -cubebeno	0,55	-
$\beta$ -elemeno	2,05	0,88
$\beta$ -patchouleno	0,66	-
$\alpha$ -gurjuneno	-	0,29
$\beta$ -cariofileno	16,43	-
$\gamma$ -cadineno	0,60	-
Elemeno	0,37	-
$\alpha$ -guaiano	-	0,38
Deihidroaromadendreno	-	1,70
$\alpha$ -humuleno	1,80	-
Aromadendreno	0,24	0,36
$\beta$ -chamigreno	-	1,38
$\gamma$ -selineno	-	26,79
germacreno-D	27,12	-
$\delta$ -cadineno	7,89	1,68
$\beta$ -selineno	-	14,63
germacreno-B	12,58	-
$\alpha$ -muuroleno	2,99	0,51
7- <i>epi</i> - $\alpha$ -selineno	-	24,73
Spathulenol	0,78	0,84
óxido de cariofileno	0,33	2,45
Viridiflorol	1,94	0,26
Guaiol	0,94	-
Elemol	0,73	-
Carotol	0,26	-
Globulol	-	1,07
$\alpha$ -cadinol	2,49	-
Torreyol	2,41	-
Rimueno	-	0,15
óxido de manoyl	-	1,34
Kaureno	-	1,64



**Figura 1.** Nº de larvas de *Artemia salina* que sobreviveram a diferentes concentrações do EEFC (200ppm) em diferentes concentrações durante 24 horas de observação



**Figura 2.** Nº de larvas de *Artemia salina* que sobreviveram a diferentes concentrações do EECC (200 ppm) em diferentes concentrações durante 24 horas de observação



**Figura 3.** Percentual de hemólise após a exposição ao EECC (1160 µg/mL) em diferentes concentrações ocorrido no período de 24 horas de observação



## **CAPÍTULO II\***

\*Elaborado segundo as normas da Revista Brasileira de Farmacognosia

## **Investigação da toxicidade aguda do extrato etanólico da *Copaifera luetzelburgii* Harms (Fabaceae) em camundongos (*Mus musculus*)**

Waldilleny R. A. Moura<sup>2\*</sup>, Rozeverter M. Fernandes<sup>1</sup>, Maria do Carmo C. Martins<sup>2</sup>

**RESUMO:** O estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda em camundongos após o tratamento com extrato etanólico de *Copaifera luetzelburgii*. Os animais foram divididos em grupos de dez animais (5 machos e 5 fêmeas) e tratados com dose 5g/kg via oral e 2g, 1g, 500mg, 250mg e 125mg/kg via intraperitoneal. Estes foram observados por um período de 14 dias para observação de alterações comportamentais e mortalidade. Após esse período, os animais foram eutanasiados e as vísceras foram fixadas em formalina tamponada e após 24 horas, ressecionadas para processamento histopatológico. A partir dos resultados deste estudo, conclui-se que: a dose de 5g/kg, administrada pela via oral não apresentou mortalidade. No entanto pela via intraperitoneal encontrou-se uma DL50 de 311mg/kg, onde as doses de 2g/kg e 1g/kg apresentaram uma elevada toxicidade demonstrada nas várias lesões hepáticas encontradas em exames histopatológico.

**Unitermos:** Toxicidade, *Copaifera luetzelburgii*, alterações histopatológicas

**ABSTRACT:** The study aimed to evaluate the acute toxicity in mice after treatment of *Copaifera luetzelburgii* com extrato ethanol. The animals were divided into groups of ten animals (five males and five females) treated with oral dose 5g/kg and 2g, 1g, 500mg, 250mg and 125mg/kg intraperitoneally. These were observed for a period of 14 days for observation of behavioral changes and mortality. After this period, the animals were euthanized and the viscera were fixed in formalin and after 24 hours, resected for histopathological processing. The results of this study, we

<sup>21</sup> Programa de Pós-graduação Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550, Teresina -Pi, Brasil .e-mail: [waldilleny@yahoo.com.br](mailto:waldilleny@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Departamento de Biofísica e Fisiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550, Teresina -Pi, Brasil

conclude that: a dose of 5 grams / kg administered orally did not show mortality. However intraperitoneally met an LD50 of 311mg/kg, the doses of 2 g / kg and 1 g / kg showed a high toxicity demonstrated in various liver lesions found in histopathological

**Keywords:**Toxicity, *Copaifera luetzelburgii*, histopathological changes

## INTRODUÇÃO

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos. Dessa forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo mantêm em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos (Maciel *et al*, 2002).

Embora o uso das espécies de *Copaiferas* seja difundido tanto pela população quanto pelo meio médico, não existem estudos sobre atividades tóxicas e terapêuticas da objeto de estudo, não sendo encontrado até então nenhuma literatura específica na área médica sobre esta árvore.

A toxicidade aguda é o efeito que produz uma substância dentro de um curto período de tempo e que resulta da administração de uma única dose ou de várias doses. Serve de base ainda para o estabelecimento de um regime de doses para pesquisas sobre a toxicidade subaguda e crônica, além de fornecer subsídios sobre o modo de ação tóxica da substância-teste (Brito, 1994).

A determinação da toxicidade da *C. langsdorffii* se fez necessária uma vez que, o uso da casca e do óleo desta espécie e de outras do mesmo gênero de copaíba destaca-se dentre as substâncias medicinais de uso popular principalmente na Amazônia como antiinflamatório, cicatrizante e antiinfecioso por via oral, tópica ou vaginal (Veiga *et al*, 2005; Brito *et al*, 1999; Carvalho, 1994; Fernandes *et al*, 1992; Albuquerque *et al*, 1989; Basile *et al*, 1988; Fernandes, 1949).

Várias pesquisas relatam o uso do óleo-resina de *Copaifera*, tais como a *C. langsdorffii*, em como os óleos-resinas obtidos a partir de várias espécies do gênero. Sendo difícil a obtenção do óleo ( Brito *et al*, 1999; Barreto Junior *et al*, 2005). Optamos pelo estudo da casca, uma vez que seu uso também é amplamente utilizado na medicina popular.

Apesar do amplo conhecimento a respeito das demais espécies do gênero, não existem relatos na literatura sobre possíveis atividades terapêuticas e ou tóxicas de *Copaifera luetzelburgii*. Assim, o presente trabalho justifica-se por ter como objetivo a toxicidade aguda desta espécie de copaíba na qual os estudos sobre ela ainda são escassos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta do material**

A coleta de *Copaifera luetzelburgii* Harms foi realizada no mês fevereiro nos anos de 2008 e 2009 na comunidade Quilombola dos Macacos, a 26 km do município de São Miguel do Tapuio (5°30'14" S, 41°19'22" W), no estado do Piauí. A exsicata da espécie foi identificada pela Prof. Dr<sup>a</sup>. Ana Luíza Du Bocage Neta e depositada no acervo do Herbário Graziela Barroso (N°26.235) da Universidade Federal do Piauí, em Teresina, Piauí.

### **Preparação do Extrato Etanólico**

As cascas foram picadas, dessecadas em uma estufa de circulação de ar forçada durante 72 horas a uma temperatura máxima de 45° C ( $\pm$  1). O material foi triturado e o pó obtido acondicionado em frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado até o momento do preparo dos extratos. O extrato etanólico (EE) foi obtido colocando-se de 1000g da matéria vegetal em etanol PA, onde ficavam durante quatro dias em temperatura ambiente num processo de maceração a frio, passado este período, o extrato obtido foi separado da matéria vegetal e filtrado, processo repetido a cada quatro dias, totalizando quatro extrações sucessivas. A solução obtida foi colocada no

evaporador rotativo a 40 °C ( $\pm 1$ ) acoplado a um banho termostático para retirada do etanol e posteriormente no liofilizador para retirada da água restante no extrato.

## **Animais**

Foram utilizados 70 camundongos (*Mus musculus*), pesando entre 25 e 30 gramas, provenientes do Biotério do Departamento de Morfofisiologia Veterinária do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Estes animais foram divididos em grupos de dez animais, separados por sexo, em gaiolas plásticas e alimentadas com ração e água *ad libitum* em ambiente climatizado (temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) com condições controladas de luminosidade (12h/12h, claro/escuro). Antes do início do experimento, os animais foram submetidos a um jejum sólido de 12 horas. Os protocolos utilizados obedeceram a norma do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) e passaram por aprovação pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal desta Instituição sob o nº026/09.

## **Determinação da toxicidade aguda em camundongos**

A toxicidade aguda foi realizada seguindo-se o método de Miller e Tainter (1944), onde utilizou-se grupos de 70 camundongos, divididos em grupos de 10 animais (5 machos, 5 fêmeas). Estes foram tratados com doses de *Copaifera luetzelburgii* Harms da seguinte forma: Grupo Controle 1 e 2 – animais tratados solução fisiológica 0,9% administrada por via oral com o auxílio de uma sonda intragástrica e pela via intraperitoneal com volume de 0,1ml/kg. O grupo T1- animais tratados com 5g/kg de extrato por via oral. Os grupos T2, T3, T4, T5 foram administrados por via intraperitoneal nas seguintes doses 2000, 1000, 500, 250, 125mg/kg, respectivamente. Sendo que em todos os grupos tratados pela via intraperitoneal foi adicionado 1% de DMSO ao extrato.

A mortalidade foi avaliada aos 30, 60, 120, 360 minutos e a cada 24 horas após o tratamento até o 14º dia. Foi observada a presença ou ausência de 22 sinais de acordo com o protocolo empregado por Carlini (1972), durante todo o período do experimento.

A coleta dos principais órgãos (fígado, rins, coração e pulmões) ocorreu após o óbito de cada animal durante o experimento e no décimo quarto dia após o tratamento, dos animais que sobreviveram foram anestesiados e eutanaseados, por deslocamento cervical, para coleta dos órgãos. Após a retirada seccionou-se o coração, o fígado, baço, pulmão e os rins por incisão sagital e colocou-se em solução de formol a 10%. As secções teciduais foram fixadas em formalina tamponada e após 24 horas, resseccionadas para processamento histopatológico: desidratação com séries crescentes de álcool (70° a 100°) seguida de diafanização em xilol impregnação e inclusão em parafina, segundo os métodos habituais (Luna, 1968). Em micrótomo, seccionou-se os fragmentos tissulares em espessura de 3,0 µM com subsequente coloração por hematoxilina-eosina e tricômico, para exame microscópico.

A determinação da DL<sub>50</sub> foi feita através da interpolação semi-logarítmica, sendo postos no eixo das ordenadas os valores correspondentes ao percentual de mortes e, no eixo das abcissas, as doses administradas de *Coifera luetzelburgii* (Cl-EtOH).

A análise estatística foi expressa como média ± erro padrão da média (EPM) e os resultados comparados pelo teste T de Student, utilizando-se o programa SPSS 15.0 for Windows, sendo que o nível de significância foi estabelecido em  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Desde 1927 foi desenvolvido o teste da dose letal média para a padronização biológica de drogas tóxicas. Desde então, foi incorporado ao protocolo de rotina toxicológica de outros compostos químicos clássicos, sendo agora usado nos modelos governamentais, os quais regulam os testes toxicológicos de substâncias químicas. Por isso, iniciou-se as nossas pesquisas com *C.*

*luetzelburgii*, a presença ou não de toxicidade, já que é uma espécie vegetal bastante difundida na terapêutica popular, principalmente com atividade antiinflamatória.( Fernandes *et al*, 2004)).

Os resultados obtidos demonstram que a planta não é tóxica por via oral, pois todos os animais que receberam o extrato da *C. luetzelburgii* pela via oral (5g/kg), dose máxima recomendada pela literatura, não apresentaram alterações no comportamento, mantendo atividade geral dentro da normalidade e não houve nenhum óbito (Carlini,1972) . Resultados semelhantes ao descrito por, Sachetti *et al*. (2009) estudando o óleo-resina da *C. reticulata* nas doses de 5mg/kg a 2000mg/kg.

No entanto, os camundongos que receberam o extrato etanólico (Cl-ETOH) por via intraperitoneal nas doses de 125mg, 250mg, 500mg,1000mg e 2000mg apresentaram uma mortalidade variando de 20,40, 70 e 90%, respectivamente, sendo que a DL<sub>50</sub> calculada para a via intraperitoneal foi de 311mg/kg (tabela 1). A tabela 1 demonstra que a dose letal média foi de 311 mg/kg, se extrapolarmos isso para um homem de 70 kg a dose tóxica seria de 2,8 g/kg o que não é um percentual muito difícil de se alcançar.

As principais alterações de comportamento foram observadas após 60 minutos da administração do extrato nas doses de 2000mg/kg e 1000mg/kg onde houve uma diminuição da atividade geral (Carlini, 1972). Também observou neste grupo o maior número de óbitos, sendo que o tempo de 120 minutos foi o período que ocorreu a maior quantidade de mortes no grupo T1 e após 48 horas no grupo T2.

Por outro lado, obsevou-se que quando administrou pela via intraperitoneal o percentual de mortalidade aumentou de forma gradativa conforme o aumento da dose, demonstrando tendência a uma mortalidade dose dependente. Provavelmente a baixa toxicidade ocorrida pela via oral deva-se a fatores como taxa de esvaziamento gástrico, pH gastrointestinal e concentração enzimática. Desta forma acredita-se que o extrato tenha sido biotransformado em primeira passagem pelo fígado, reduzindo assim seu potencial tóxico. (Spinosa *et al*, 2006). Por outro lado a via intraperitoneal oferece um padrão de absorção errático, havendo substâncias que penetram

rapidamente na circulação, e podendo escapar da primeira passagem no fígado, fato que pode explicar a maior mortalidade dos grupos submetidos ao extrato por esta via, principalmente os das doses elevadas (Osório-de-castro, 2000).

Ao exame histopatológico dos animais tratados por via oral na dose de 5g observou-se no fígado infiltrado inflamatório periportal discreta com predominância de mononucleares, e em um eosinófilos. No entanto, o grupo controle por esta via não apresentou alteração digna de nota.

Por outro lado, o fígado dos animais tratados com o extrato na dose de 2g via intraperitoneal apresentaram na sua maioria, ou seja, 80%, infiltrado periportal discreto a moderado com predominância de células mononucleares distribuídas de maneira focal amultifocal. Nos demais órgãos (baço, pulmão, coração e rim) não foram observadas alterações.

No grupo de camundongos que receberam por via intraperitoneal 1g observou-se que 70% apresentaram degeneração periportal discreta a moderada no fígado. Sem alterações nos demais órgãos. Já no grupo que a dose foi 500mg constatamos que os fígados de 40% dos animais apresentaram degeneração periportal de discreta a moderada. Em um deles foi visto degeneração discreta centrolobular. E todos, apresentaram infiltrado inflamatório periportal moderado principalmente de eosinófilos.

Na dose de 250mg ocorreu uma infiltração focal ou periportal discreta a acentuada, constituída principalmente de eosinófilos. Em um deles observou-se degeneração periportal difusa. E no grupo que foi utilizado 125mg, 60% apresentaram infiltrado focal discreto com predominância de mononucleares.

Em todas as doses estudadas verificou-se que o fígado por ser o principal órgão metabolizado foi o maior afetado quando se usou a via intraperitoneal. Fato não observado nos animais do grupo controle desta mesma via, pois nenhuma alterações no fígado e nos demais órgãos estudados (rim, baço, pulmão, coração) foram constatados.



## CONCLUSÕES

A partir dos resultados deste estudo, conclui-se que a dose de 5g/kg de *C. luetzelburgii*, administrada pela via oral, apresenta uma excelente margem de segurança. Porém à medida em que se aumentou a dose pela via intraperitoneal, houve também um aumento das alterações, embora esta via de administração não seja de uso comum, sendo o fígado o principal órgão afetado pelo extrato.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, J.M. 1989, *Plantas medicinais de uso popular*. Brasília: ABEAS/MEC;.

BARRETO JÚNIOR, A. G.; BISCAIA JUNIOR, E. C.; VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; CARVALHAES, S. F.; MACIEL, M. A. 2005. Cromatografia de troca-iônica aplicada ao isolamento da fração ácida do óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*) e da sacaca (*Croton cajucara*). *Química Nova*. 28: 4

BASILE, A.C.; SERTIÉ, J.A.; FREITAS, P.C.; ZANINI, A.C. 1988, Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *Copaifera*. *J Ethnopharmacol* .22:1.

BRITO, A. S. 1994. *Manual de Ensaio Toxicológicos in vivo*. São Paulo. Ed. Unicamp. p. 122,

BRITO, M.V.H.; OLIVEIRA, R.V.B.; MORAIS, M.R.; LAMEIRA, A.O. 1999. Efeito do óleo de copaíba no comportamento de ratos. *Rev Paul Med*. 13: 1, p.34-7.

CARLINI, E. A. 1972, "Screening" farmacológico de plantas brasileiras. *Rev. Bras. Biologia*. 32: 2, p. 265-274.

CARVALHO, J. C ; VIRIATO, E. P.; BIANCHETTI, E. S.; SANTOS, K. S.; VAZ, A. F.;

CAMPOS, R. M. V.; PEREIRA, A. P.; BEZERRA, R. M.; PERAZZO, F. F.; T. 2009. Study of high dilutions of copaiba oil on inflammatory process. *International Journal of High Dilution Research*. 8: 26, p. 9-14.

CARVALHO, P.E.R.1994 *Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Brasília: EMBRAPA–CNPQ.*

FERNANDES J. 1949. *Sobre o óleo-resina de copaíba e sua aplicação industrial.* Associação Comercial do Amazonas.

FERNANDES, M.Z.L.; FERNANDES, R.M.; VIANA, G.E.N.; LOPES, J. B. 2004. Determinação da toxicidade aguda do extrato aquoso de Simarouba versicolor ST. Hill, em camundongos. *Rev. Bras. Pl.Med.*6:2, p. 48-51.

FERNANDES, R.M.; PEREIRA, N.A.; PAULO, L.G.1992. Anti-inflammatory activiti of copaíba balsam. *Rev Bras Farm.* 73: 3, p. 53-6.

GOMES, N. M.; REZENDE, C. M.; FONTES, S. P.; MATHEUS, M. E.; FERNANDES, P. D. 2007. Antinociceptive activity of Amazonian Copaiba oils. *Journal of Ethnopharmacology.* 109, p. 486–492.

LUNA, L.G. 1968. *Manual of histopatologic staing methods of the Armed Force Institute of Pathology.* 3 ed. New York: Mc Graw-hill.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C. VEIGA JUNIOR, V. F.; GRYNHERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. 2002. *Plantas Medicinai: A Necessidade De Estudos Multidisciplinares.* Quím. Nova. 25(3), p 429-438.

OSÓRIO-DE-CASTRO, C. G. S. 2000.*Estudos de utilização de medicamentos - noções básicas.* Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p.92.

PIO CORRÊA, M. 1984. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.* Min. da Agricultura. IBDF.

SACHETTI, C. G.; FASCELI, M. L.; SAMPAIO, J. A.; LAMEIRA, O. A.; CALDAS, E. D. 2009. Avaliação da toxicidade aguda e potencial neuróxico da copaíba. *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 19:4, p.937 – 941.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. 2006. *Farmacologia aplicada a medicina veterinária*. 4 ed. Ed. Guanabara kooga,. 897p.

SPSS 15.0 for Windows. 1989-2006. *Release 15.0.1.1 Standard versions copyright SPSS Inc.*,

TRESVENZOL, L. M.; PAULA, J. R.; RICARDO, A. F.; FERREIRA, H. D.; ZATTA, D. T. 2006. Estudo sobre o comércio informal de plantas medicinais em Goiânia e cidades vizinhas. *Revista Eletrônica de Farmácia*. 3:1, p. 23-28.

VEIGA JR, V. F.; PINTO, A. C. 2002. O Gênero *Copaifera* L. *Quim. Nov.* 25, p.273

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Quím. Nova* .28:3, p 519-528.

VIRIATO, E. P.; BIANCHETTI, E. S.; SANTOS, K. C.; VAZ, A. F.; CAMPOS, R. M. V.; PEREIRA, A. P.; BEZERRA, R. M.; PERAZZO, F. F.; CARVALHO, J. C. T. 2009. Study of high dilutions of copaiba oil on inflammatory process. *Int. J. High Dilution*. 8: 26, p. 9-14.

**Tabela 01:** Determinação da  $DL_{50}$  do extrato etanólico da *Copaifera luetzelburgii* (Cl-EtOH) em camundongo

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSES mg/kg</b>	<b>Nº ANIMAIS /ÓBITOS</b>
T1	2000	10/9
T2	1000	10/9
T3	500	10/7
T4	250	10/4
T5	125	10/2
CI	-	10/0
Limite de confiança para $DL_{50}$ ( $\alpha = 0,05$ )		
$DL_{50}$ média = 311mg/kg		
Limite superior $DL_{50}$ = 499mg/kg		
Limite inferior $DL_{50}$ = 157 mg/kg		

## CAPÍTULO III\*

\* Elaborado segundo as normas da Revista brasileira de Farmacognosia

### **Investigação do efeito antiinflamatório de *Sida santaremnensis* H. Monteiro (Malvaceae) e *Copaifera luetzelburgii* Harms (Fabaceae)**

Waldilleny R. A. Moura<sup>3\*</sup>, Rozeverter M. Fernandes<sup>1</sup>, Maria do Carmo C. Martins<sup>3</sup>

<sup>31</sup> Programa de Pós-graduação Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550, Teresina -Pi, Brasil .e-mail: [waldilleny@yahoo.com.br](mailto:waldilleny@yahoo.com.br)

**RESUMO:** Objetivou-se investigar o efeito dos extratos etanólicos de *Sida santaremnensis* e *Copaifera luetzelburgii* na atividade antiinflamatória. Estas espécies são utilizadas na medicina popular devido, principalmente às suas atividades antiinflamatória. A redução do processo edematogênico nos grupos de animais tratados foi observada para todos agentes inflamatórios testados (Carragenina, dextrana) e tópica através do óleo de cróton. Pode-se concluir que estas espécies apresentam princípios ativos responsáveis pela atividade anti-edematogênica abrindo um leque de estudos para avaliar os possíveis mecanismos envolvidos nas respostas observadas.

**Unitermos:** *Sida santaremnensis*, *Copaifera luetzelburgii*, edema, inflamação

**ABSTRACT:** The objective was to investigate the effect of ethanol extracts of *Sida santaremnensis* and *Copaifera luetzelburgii* on antiinflammatory activity. These species are used in folk medicine, mainly due to their anti-inflammatory activities. The reduction process edematogenic in groups of treated animals was observed for all tested inflammatory agents (Carrageenan, dextran) and by topical croton oil. It can be concluded that these species have active principles responsible for anti-edema activity by opening a range of studies to evaluate the possible mechanisms involved in the responses observed.

**Keywords:** *Sida santaremnensis*, *Copaifera luetzelburgii*, edema, inflammation

## INTRODUÇÃO

Embora a utilização de plantas medicinais como recurso terapêutico esteja bastante difundida no Brasil e no mundo, são necessários estudos para comprovar certas atividades preconizadas para determinados vegetais. Além disso, para se obter êxito na busca por novos

---

<sup>2</sup> Departamento de Biofísica e Fisiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550, Teresina -Pi, Brasil

fármacos com atividade biológica, deve-se buscar maior integração entre as informações obtidas em comunidades tradicionais e aquelas obtidas através de pesquisas laboratoriais (Yunes *et al*, 2001).

No Brasil, plantas do gênero *Sida* (Malvaceae), como a *Sida cordifolia*, são usadas na medicina popular para o tratamento de estomatites, da asma e de congestão nasal (Balbach, 1978). Enquanto algumas espécies do gênero *Sida* destacam-se por seus usos como adstringentes, antídotos para as peçonhas do escorpião e cobra, agentes anti-tuberculosos, febrífugos, antiinflamatórios, dentre outros (Gunatilaka *et al.*, 1980; Venkatesh *et al.*, 1999). Na análise fitoquímica prévia de *Sida cordifolia* (Malvaceae) foi encontrado a presença de alcalóides, óleos, esteróides, resinas, ácidos, mucina e nitrato de potássio (Diwan; Kanth, 1999). O extrato etanólico obtido de outra espécie do gênero *Sida* (*Sida acuta*) apresentou atividade analgésica no teste da placa quente (Diwan; Kanth, 1999).

Dentre as plantas aromáticas que vem despertando o interesse dos pesquisadores, visto o seu uso bastante disseminado na medicina popular brasileira, têm-se o gênero *Copaifera* (Leguminosae – Caesalpinioideae), popularmente conhecidas como “copaíba”, “copaibeiras” ou “pau d’óleo”. O óleo-resina (bálsamo de copaíba), obtido através de pequenos cortes na casca do caule desta planta, e o extrato da casca são utilizados na medicina popular como cicatrizante, antiinflamatório (Basile *et al.*, 1988; Fernandes *et al.*, 1992; Veiga Junior *et al.*, 2005), antioxidante (Paiva *et al.*, 2004), antitumoral (Ohsaki *et al.*, 1994; Lima *et al.*, 2008), anti-séptico, como agente para tratar bronquites, úlceras e doenças de pele, antibacteriano, expectorante, diurético e analgésico (Veiga Junior; Pinto, 2002). Sendo os principais componentes químicos responsáveis por estas atividades os hidrocarbonetos sesquiterpênicos, especialmente o  $\beta$ -bisaboleno e o  $\beta$ -cariofileno (Pieri *et al*, 2009)

Com base nos dados apresentados na literatura, tanto da análise fitoquímica quanto das atividades farmacológicas atribuídas às espécies de *Sida* e *Copaifera*, é de grande importância investigar o potencial farmacológico das espécies *Sida santaremnensis* e *Copaifera luetzelburgii*

encontradas em nossa região, uma vez que nos levantamentos bibliográficos realizados não há relatos de estudos dessa atividade nas referidas espécies.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivos, investigar o efeito antiinflamatório do extrato etanólico da *Sida santaremnensis* (Ssan-EtOH) e *Copaifera luetzelburgii* (Cl-EtOH), utilizando-se modelos de edema de orelha induzido por óleo de cróton em camundongos, edema de pata induzido por carragenina em ratos, edema de pata induzido por dextrana em camundongos.

## **MATERIAL E MÉTODO**

### **Coleta do material**

As cascas do caule da *Copaifera luetzelburgii* Harms foram coletadas na comunidade Quilombola dos macacos, a 26 km do município de São Miguel do Tapuio (5°30'14" S, 41°19'22" W) e partes aéreas da *Sida santaremnensis* no município de Teresina, ambas no estado do Piauí. As espécies foram identificadas e encontram-se depositadas no acervo do Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí, em Teresina, Piauí, sob o nº 26.235 e 21.860 das excicatas.

### **Preparação dos Extratos Etanólicos**

As cascas e folhas foram picadas foram, dessecadas em uma estufa de circulação de ar forçada durante 72 horas a uma temperatura máxima de 45° C ( $\pm$  1), em seguida o material foi triturado em moinho de faca tipo Willis. Os extratos foram obtidos através de maceração a frio com quatro extrações sucessivas. Após este procedimento os extratos obtidos foram colocados no evaporador rotativo a 40 °C ( $\pm$ 1) acoplado a um banho termostaticado para retirada do etanol e posteriormente no liofilizador para retirada da água restante nos extratos.

### **Animais**

Foram utilizados ratos Wistar (180 - 220 g) e camundongos Swiss albinos (25 - 35 g) machos e fêmeas, provenientes do biotério do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais (NPPM)



e Biotério do Departamento de Morfofisiologia Veterinária do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí. Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (Parecer N° 004/08 e 026/09).

## **Avaliação da atividade antiinflamatória**

### **Edema de orelha induzido por óleo de cróton em camundongos**

Seguindo-se o método de Schiantarelli *et al.* (1982), grupos de 5-10 camundongos (machos e fêmeas) foram anestesiados com tiopental sódico (25 mg/kg) para a aplicação tópica do óleo de cróton (10 µL, 0,05 %) na orelha direita, após uma hora do tratamento aplicou-se topicamente dexametasona (0,2 mL/orelha), veículo (salina, NaCl 0,9 %) ou extratos Cl-EtOH ou Ssan-EtOH (0,05 a 5 mL/orelha). A orelha esquerda recebeu apenas acetona. Após quatro horas da aplicação do óleo de cróton, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e suas orelhas cortadas com perfurador (6 mm de diâmetro) para medida do edema (mg). Calculou-se a porcentagem de inibição do edema, comparando-se o aumento percentual médio do peso da orelha do grupo controle, com aquele do grupo tratado.

### **Edema de pata induzido por carragenina em ratos**

Seguindo-se o método de Yesilada *et al.* (2002), grupos de 5-8 ratos (machos e fêmeas) foram tratados por via oral com veículo, extrato (Ssan-EtOH: doses 50mg/kg ou 200mg/kg; Cl-EtOH: doses 250mg/kg ou 500mg/kg) ou indometacina (5 mg/kg), v.o.. Após uma hora ocorreu a aplicação de carragenina (1 %; 0,1 mL, i.pl.). O edema da pata foi medido a cada 60 minutos por um paquímetro digital durante 6 horas após indução da inflamação. A diferença do volume da pata no tempo final (Vf) e tempo zero (Vi) foram determinados para cada animal.

### **Edema de pata induzida por dextrana**

Grupos de 5-8 camundongos (machos e fêmeas) foram tratados via oral com veículo (solução salina 0,9%), extrato ou ciproheptadina (10mg/kg). Após 1 hora ocorreu injeção de dextrana (100 µg/pata). O volume em mL da pata foi medido usando o método descrito por Winter *et al.*, (1962) com adaptações. O edema da pata foi medido após 1 hora de administração da dextrana, seguindo método descrito por Winter *et al* com adaptações (1962). Os animais foram eutanasiados com superdose de tiopental sódico, as patas foram retiradas e pesadas. A inibição do edema foi calculado pela diferença do peso (mg) da pata que recebeu o estímulo com a pata contralateral e os valores expressos em mg.

### **Análise Estatística**

Os dados obtidos foram expressos como média ± e.p.m. e analisados por ANOVA, seguida de pós-teste de Tukey. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O edema é um mecanismo de defesa local exclusiva dos tecidos mesenquimais lesados; a evolução do edema passa por várias etapas, entre elas, estão os fenômenos básicos do agente inflamatório que envolve a mediação química de fármacos e que poderá ocorrer em qualquer inflamação sendo ela aguda ou crônica (Tubaro *et al.*, 1985).

O edema de orelha induzido por óleo de cróton representa um modelo muito usado para estudar a atividade antiinflamatória de drogas esteroidais e não esteroidais (Tubaro *et al.*, 1985), assim como o edema de pata por carragenina.

Na avaliação do edema de pata induzido por óleo de cróton, um agente irritante que induz a síntese e liberação de histamina, serotonina, Ssan-EtOH na dose de 0,05 mg/orelha não demonstrou efeito anti-edematogênico significativo, quando comparado ao grupo controle (gráfico 1), mas nas doses de 0,1 e 0,2 mg/orelha observou-se efeito anti-edematogênico significativo quando comparado com o grupo controle (gráfico 1), sugerindo assim que os princípios ativos presentes no extrato (Ssan-EtOH) interferiram com a liberação ou a própria ação de vários mediadores

inflamatórios, como prostaglandinas, bradicinina, PAF, substância P, dentre outras (Lapa, 2003). Já Cl-EtOH não demonstrou efeito anti-edematogênico significativo, quando comparado ao grupo controle (gráfico 2) em nenhuma das doses avaliadas, sugerindo que o extrato não possui atividade antiinflamatória tópica diferente dos resultados evidenciados com *Copaifera langsdorffi*, onde se concluiu que altas diluições do óleo de copaíba apresentam efeitos anti-inflamatórios (Viriato *et al*, 2009).

No ensaio da atividade antiedematogênica sistêmica, O processo inflamatório induzido por carragenina tem seu pico entre a 3<sup>a</sup> e a 4<sup>a</sup> hora. Na resposta inflamatória aguda estão envolvidas três fases distintas. Na primeira fase ocorre liberação simultânea de histamina e serotonina; na segunda fase ocorre liberação de cininas, como a bradicinina; e na fase terminal ocorre liberação de prostaglandinas (Rowley *et al*, 1959 ; Di Rosa & Willoughby, 1971; Williams, 1995; Salvemini *et al*, 1996; Lapa, 2003).

Qualquer substância que iniba a ação da carragenina no modelo utilizado é considerada como tendo ação antiinflamatória. Foram avaliados os efeitos dos extratos Ssan-EtOH e Cl-EtOH administrados por via oral, sobre a resposta inflamatória induzida por carragenina (1% subplantar), no modelo de edema de pata em ratos. Os resultados obtidos demonstram que Ssan-EtOH na dose de 50 mg/kg e Cl-EtOH na dose de 500 mg/kg tiveram efeitos significativos até a quinta hora, quando comparados ao controle (gráficos 3 e 4), indicando que estes extratos podem conter princípios ativos que estariam inibindo o processo inflamatório em diferentes etapas da resposta inflamatória em que estariam envolvidos vários mediadores químicos da inflamação (histamina, serotonina, bradicinina e prostaglandinas). A dose de 250mg/kg do extrato Cl-EtOH não apresentou efeito significativo em nenhum hora, mostrando que o efeito não é dose dependente.

No modelo de edema de pata induzida por dextrana não foi observado redução significativa do edema pelo extrato Ssan-EtOH (50mg/kg e 200mg/kg), mostrando que sua atividade antiinflamatória está relacionada ao sinergismo positivo dos vários mediadores envolvidos na inflamação, pois este efeito antinflamatório foi encontrado no ensaio com carragenina (gráfico 5). O

extrato Cl-EtOH mostrou atividade anti-inflamatória significativa por dextrana apenas na maior dose testada (500 mg/kg), nos levando a afirmar que esta é a dose recomendada para a inibição da resposta inflamatória (gráfico 5). A dose de 250mg/kg semelhante ao teste com carragenina também não demonstrou efeito, confirmando a informação anterior.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos com o extrato etanólico de *Sida santaremnensis* (SSan-EtOH) e *Copaifera luetzelburgii* (Cl-EtOH), pode-se concluir que estas espécies apresentam atividade anti-edematogênica evidenciada nos modelos de edema de orelha e de pata. Dentro desta perspectiva verifica-se a necessidade de estudo para determinar os possíveis mecanismos de ação dos extratos estudados.

## REFERÊNCIAS

- BASILE, A.C.; SERTIÉ, J.A.; FREITAS, P.C.; ZANINI, A.C. Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *Copaifera*. *J Ethnopharmacol*. 22:1, 1988.
- DI ROSA, M. & WILLOUGHBY, D. A. 1971. Screens for inflammatory drugs. *J. Pharm. Pharmacol*. 23, p 297-300.
- DIWAN, P.V., KANTH, V.R., 1999. Analgesic, anti-inflammatory and hypoglycaemic activities of *Sida cordifolia*. *Phytotherapy Research*. 13, p 75–77.
- FERNANDES, R.M.; PEREIRA, N.A.; PAULO, L.G.1992. Anti-inflammatory activity of copaiba balsam. *Rev Bras Farm*. 73:3, p. 53-6.
- GUNATILAKA, A. A. L.; SOTHEESWARAN, S.; BALASUBRAMANIAM, S.; CHANDRASEKARA, A. I.; SRYANI, H. T. B. 1980. Studies on Medicinal Plants of Sri Lanka III: Pharmacologically Important Alkaloids of some *Sida* Species. *Planta Medica*. 39, p. 66-72.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LANDAMN, M.T.R.L.; CASTRO, M. S. A.; LIMA, T.C.M., 2003 “Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais”. *Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais*. p. 104,105 e 112.

LIMA NETO, J. S.; GRAMOSA, N. V.; SILVEIRA, E. R. 2008. Constituintes químicos dos frutos de *Copaifera langsdorffii* Desf. *Quim. Nov.* 31, p 1078-1080.

OHSAKI, A.; YAN, L. T.; ITO, S.; EDATSUGI, H. IWATA, D, KOMODA, Y. 1994. The isolation and in vivo potent antitumour activity of clerodane diterpenoid from the oleoresin of the Brazilian medicinal plant, *Copaifera langsdorffii* Desfon. *Bioorg Med Chem Lett.* 4, p 2889-2892.

PAIVA, L. A. F.; GURGEL, L.A; CAMPOS, A. R.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S. N. 2004. Attenuation of ischemia reperfusion-induced intestinal injury by óleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. *Life science.* 75:16, p 1979-1987.

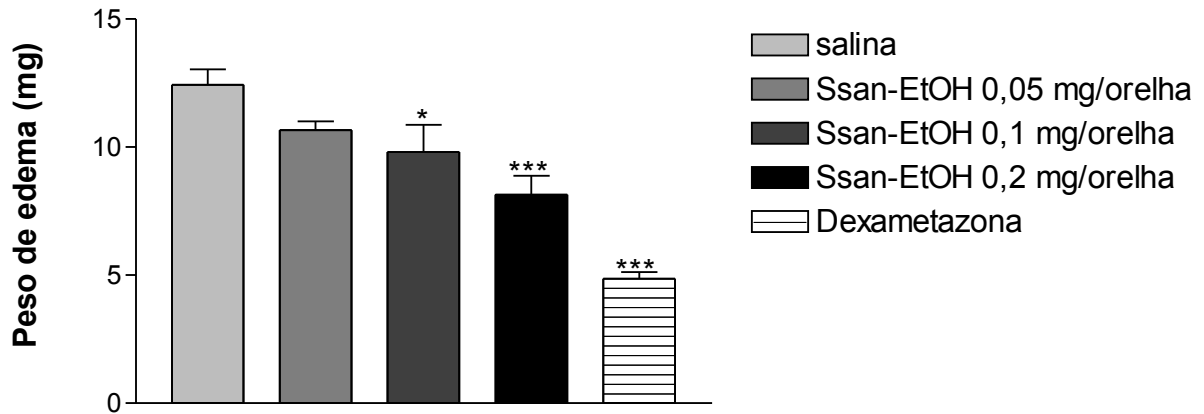
PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.; MOREIRA, M.A.S. 2009. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. Copaiba oil (*Copaifera* sp.): history, extraction, industrial applications and medicinal properties. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 11:4, p.465-472.

ROWLEY, D.A.; BENDITT, E.P. 1959. 5-hydroxytryptamine and histamine as mediators of the vascular impure produced by agents which damage mast cells in rats. *Journal of Experimental Medicine.* 103, p. 399-415.

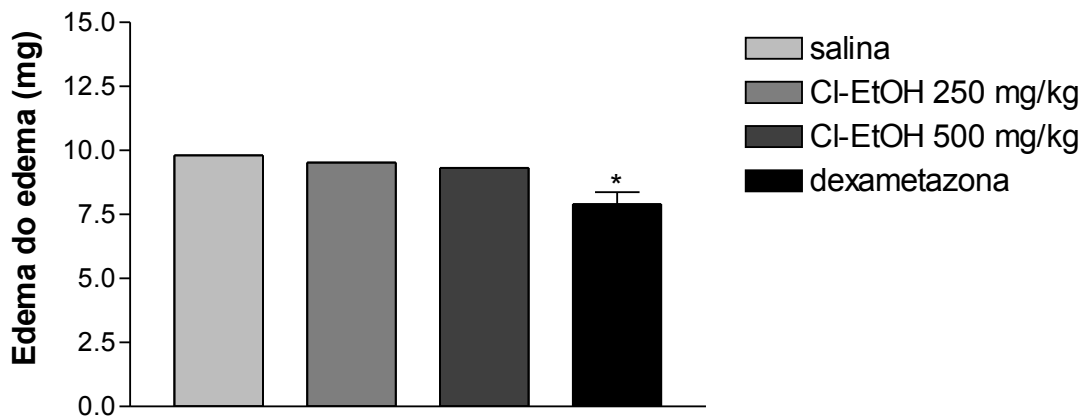
SALVEMINI, D. WANG, Z. Q.; WYATT, P. S.; BOURDON, D. M.; MARINO, M. H.; MANNING, P. T.; CURRIE, M. G. , 1996. Nitric Oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. *Brit. J. Pharmacol.* 118. 829-898.

SCHIANTARELLI, P.; CADEL, S.; ACERBI, D.; PAVESI, L. 1982. Antiinflammatory activity and Bioavailability of percutaneous piroxican. *Arzneim. – Forsch./Drug Res.* 32, p.230-235.

- TUBARO, A.; DRI, P.; DELBELLO, G.; ZILLI, C.; DELLA LOGGIA, R. 1985. The crotonoil ear test revisited. *Agents Action.* 17:3/4, p.347-349,.
- VEIGA JURNIOR, V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova.* 28: 3, p. 519-528.
- VENKATESH, S.; REDDY, S. R.; SURESH, B.; RESSY, B. M.; RAMESH, M. 1999. Antinociceptive and Anti-inflammatory Activity of *Sida rhomboidea* Leaves. *Journal of Ethnopharmacology.* 67, p. 229-232.
- VIRIATO, E. P.; BIANCHETTI, E. S.; SANTOS, K. C.; VAZ, A. F.; CAMPOS, R. M. V.; PEREIRA, A. P.; BEZERRA, R. M.; PERAZZO, F. F.; CARVALHO, J. C. T. 2009. Study of high dilutions of copaiba oil on inflammatory process. *Int. J. High Dilution.* 8: 26, p.9-14.
- WILLIAMS, H. J.; SATTLER, I.; MOYNA, G.; SCOTT, A. I.; BELL, A. A.; VINSON, S. B. 1995. Diversity in Cyclic Sesquiterpene Production by *Gossypium hirsutum*. *Phytochemistry.* 40: 6, p. 1633-1636.
- WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. 1963. Anti-inflammatory and antipyretic activities of indometacina. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 141, p 369-76.
- YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. 2001. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos no Brasil. *Química nova.* 24: 1, p 147-152.



**Gráfico 1: Efeito do extrato Ssan-EtOH sobre o edema de orelha induzido por aplicação tópica do óleo de cróton (10  $\mu$ L, 0,05 %), 1 h após tratamento tópico com dexametazona (0,2 mg/orelha) e veículo em camundongo. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$ .**



**Gráfico 2: Efeito do extrato CI-EtOH sobre o edema de orelha induzido por aplicação tópica do óleo de cróton (10  $\mu$ L, 0,05 %), 1 h após tratamento tópico com dexametazona (0,2 mg/orelha) e veículo em camundongo. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, \* $p < 0,05$ .**

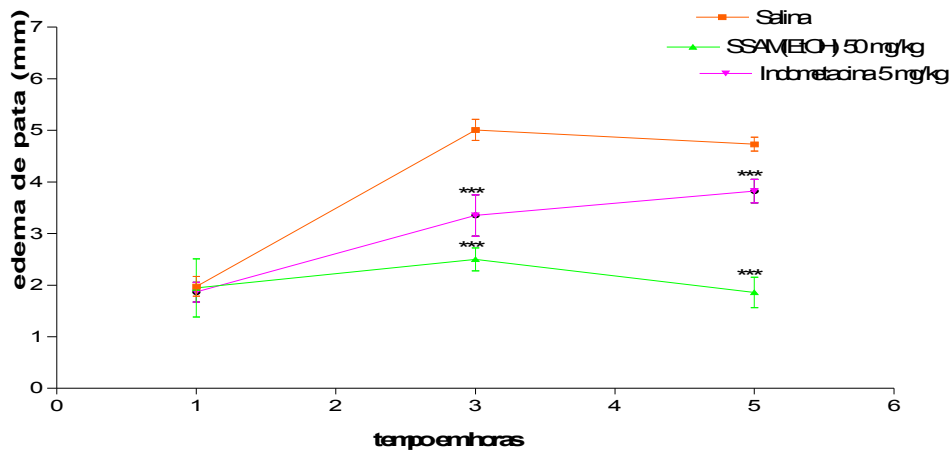


Gráfico 3 : Efeito do extrato Ssan- EtOH sobre o edema de pata induzido por carragenina (100 µL, 1% ) em ratos Wistar adultos. Os animais foram tratados com salina e veículos e indometacina v.o. 60 min antes do estímulo. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, \*\*\* $p < 0,001$ .

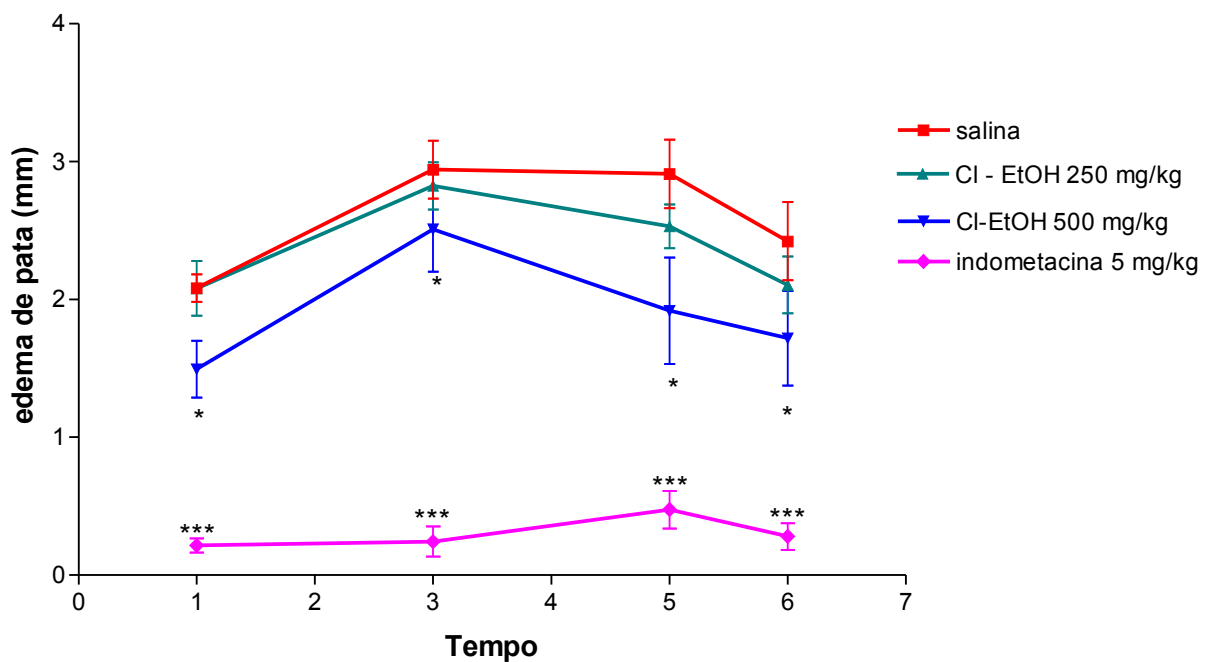
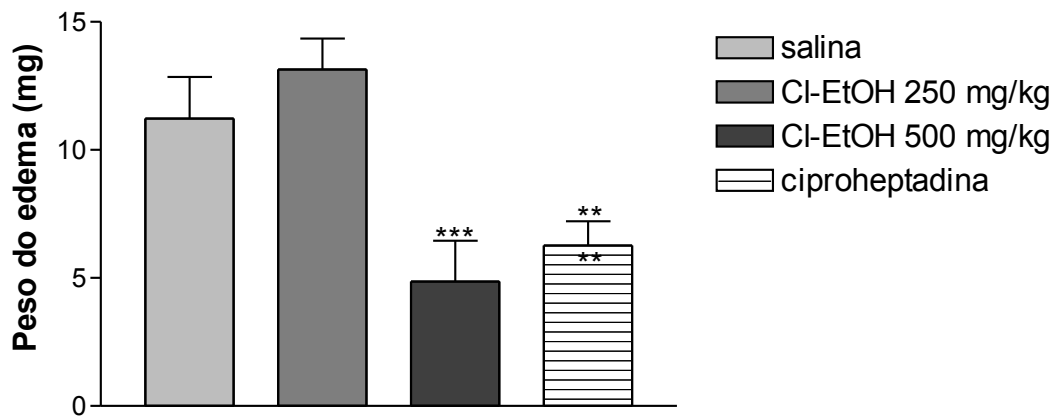
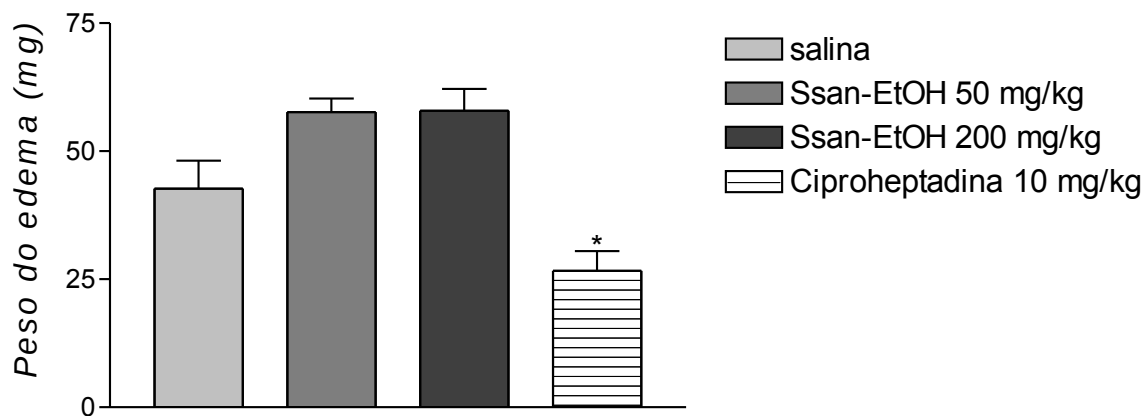


Gráfico 4 : Efeito do extrato CI-EtOH sobre o edema de pata induzido por carragenina (100 µL, 1% ) em ratos Wistar adultos. Os animais foram tratados com salina e veículos e indometacina v.o. 60 min antes do estímulo. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, \* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .





**Gráfico 5: Efeito do extrato CI-EtOH e ciproheptadina (10mg/kg) sobre o edema de pata induzido por dextrana (100 µg/pata) em camungongos adultos. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$ .**



**Gráfico 6: Efeito do extrato Ssan-EtOH e ciproheptadina (10mg/kg) sobre o edema de pata induzido por dextrana (100 µg/pata) em camungongos adultos. ANOVA one-way seguida do teste de Tuckey, \* $p < 0,05$ .**

## CONCLUSÕES GERAIS

De acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que:

- ✓ Os extratos etanólicos de *Sida santaremnensis* (SSan-EtOH) e *Copaifera luetzelburgii* (Cl-EtOH)s apresentam princípios ativos responsáveis pela atividade anti-edematogênica evidenciada nos modelos de edema de orelha e de pata, sendo necessário mais estudos para avaliar os possíveis mecanismos envolvidos na resposta observada.
- ✓ O extrato etanólico das cascas e folhas de *Copaifera luetzelburgii* não apresentou toxicidade contra *Artemia salina*.
- ✓ O extrato etanólico das cascas não apresentou citotoxicidade através de hemólise.
- ✓ A dose de 5g/kg de *Copaifera luetzelburgii*, administrada pela via oral, apresenta uma excelente margem de segurança, enquanto que a dose de 2g/kg, 1 g/kg desta mesma espécie apresenta uma elevada toxicidade pela via intraperitoneal, com várias alterações hepáticas, embora esta via de administração não seja de uso comum.
- ✓ Os principais constituintes presentes nos óleos essenciais das folhas e cascas de *Copaifera luetzelburgii* são : germacreno-D,  $\gamma$ -selineno e 7-epi- $\alpha$ -selineno.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABO, S.; TRIER, J. S.; BROWN, A.; SCHNOOR, J. Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. **Gastroenterology**, v. 88, p. 228-236, 1985.

ADAMS, R. P.; **Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy**, Allured Publishing Corporation: Illinois, 2001.

ALBUQUERQUE, J.M. 1989, **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília: ABEAS/MEC;

ALBUQUERQUE, U. P.; MONTEIRO, J. M.; RAMOS, M. A.; AMORIM, E. L. C. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology** .v 110, p. 76–91, 2007.

AUDDY, B.; FERREIRA, M.; BLASINA, F.; LAFON, L.; ARREDONDO, F.; DAJAS, F.; TRIPATHI, P.C.; SEAL, T.; MUKHERJEE, B. Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases. **Journal of Ethnopharmacology**. 84, 131- 138, 2003.

AZANIA, A. A. P. M.; AZANIA, C. A.M.; MARQUES, M. O.; PAVANI, M. C. M.D. Emergência e Desenvolvimento de Guanxuma (*sida rhombifolia*), capim- braquaria (*Brachiaria decumbens*) e caoa-de-açúcar (*Saccharum sp.*) influenciadas por subprodutos da destilação do álcool. **Plant. Daninha**, v. 22, n. 3, p. 331-336, 2004.

BALASTREIRE, L. A.; BAIO, F. H. R. Avaliação de uma metodologia prática para o mapeamento de plantas daninha. **Rev. Bras. Agrícola e Ambiental**, v 5 , n2, p 101- 106, 2001.

BANZOZI, J. T.; PRADO, R.; MENAN, H.; VALENTIN, A.; ROUMESTAN, C.; MALLIÉ, M.; PELISSIER, Y.; BLACHE, Y. Studies on medicinal plants of Ivory Coast: Investigation of *Sida acuta* for *in vitro* antiplasmodial activities and identification of an active constituent. **Phytomedicine**, 11: 338–341, 2004.

BARACHO, G. S. Taxonomia do gênero *Sida* L. seção *cordifoliae* (DC.) Fryxell (Malvaceae) no Brasil. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Pernambuco, 1998.

BARRETO JÚNIOR, A. G.; BISCAIA JUNIOR, E. C.; VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; CARVALHAES, S. F.; MACIEL, M. A. cromatografia de troca-iônica aplicada ao isolamento da fração ácida do óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*) e da sacaca (*Croton cajucara*). **Química Nova**. v 28, n 4, 2005

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, A. C. **Sistemática de Angiospermas no Brasil 2**. Imprensa Universitária, 1991.

BATISTA, R.; BRANDÃO, G. C.; BRAGA, F. C.; OLIVEIRA, A. B. . Cytotoxicity of *Wedelia paludosa* D.C. extracts and constituents *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. **2009**, 19,p 36-40

BASILE, A.C.; SERTIÉ, J.A.; FREITAS, P.C.; ZANINI, A.C. Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *Copaifera*. **J Ethnopharmacol**. V 22, p 101-109, 1988

BIAVATTI, M. W.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; FERNANDES, J. B.; ALBUQUERQUE, S.; MAGALHÃES, C. M. I.; PAGNOCCA, F. C. Chemistry and bioactivity of *Raulinoa echinata* Cowan, an endemic Brazilian Rutaceae species . **Phytomedicine**, v 8,n 2, p 121 -124, 2001.

BIANCO, S., BARBOSA JUNIOR, A.F.; PITELLI, R.A. Crescimento e nutrição mineral de capim-camalote. **Plant. daninha**, v 22, n 3, p.375-380. 2004.

BLUNDEN, G.; A.V. PATEL; ARMSTRONG, N. J.; GORHAM, J. Betaine distribution in the Malvaceae. **Phytochemistry**. V 58, p 451–454, 2001.

BLUNDEN, G.; A.V. PATEL; ARMSTRONG, N.; ROMERO, M. A.; MELÉNDEZ, P. Betaine distribution in Angiosperms. **Biochemical Systematics and Ecology**. V 33,p 904-920, 2005.

BORTUZZI, M.; SIQUEIRA, V.L; LOPES, A. M. V.; PAIM, A. C.; Estudo fitoquímico de *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) e aspectos anatômicos da raiz. **Lecta-USF**.v. 12, n. 1, p. 81-97, 1994

BRITO, M. V. H. ET AL. *Acta Cirúrgica Brasileira*. V 15, n 2, 2000.

BRITO, A. S. **Manual de Ensaio Toxicológicos in vivo**. São Paulo. Ed. Unicamp. p. 122, 1994

BRITO, M.V.H.; OLIVEIRA, R.V.B.; MORAIS, M.R.; LAMEIRA, A.O. Efeito do óleo de copaíba no comportamento de ratos. **Rev Paul Med** v. 13, n 1, p.34-7, 1999.

BURT, S.; Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **Int. J. Food Microbiol.** v 94, n 3, 223-253, 2004.

CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry**, v.55, n.7, p.773-8, 2000.

CASCON, V. Copaíba - *Copaifera spp.* In: CARVALHO, J.C.T. **Fitoterápicos antiinflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas.** Tese de Doutorado .Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. 480p.

CARVALHO, L. S.; PITELLI, R. A. Levantamento e análise fitossociológica das principais espécies de plantas daninhas de pastagens da região de Selvíria (MS). **Plant. Daninha**, v. 10, n 1,2. p. 25-32, 1992.

CARVALHO, P.E.R. Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Brasília: **EMBRAPA–CNPQ**; 1994.

CARVALHO, J. C ; VIRIATO, E. P.; BIANCHETTI, E. S.; SANTOS, K. S.; VAZ, A. F.; CAMPOS, R. M. V.; PEREIRA, A. P.; BEZERRA, R. M.; PERAZZO, F. F.; T. Study of high dilutions of copaiba oil on inflammatory process. **International Journal of high Dilution Research.** v. 8, n. 26, p. 9-14, 2009.

CSAHA, A. Analgesic and antiinflammatory activities of *Sida cordifolia* Linn. **Indian J Pharmacol**, v 38, p 207-208, 2006.

CARLINI, E. A. “Screening” farmacológico de plantas brasileiras. **Rev. Bras. Biologia**, v. 32, n. 2, p. 265-274, 1972.

COE, F. G.; ANDERSON, G. J. Snakebite ethnopharmacopoeia of eastern Nicaragua. **Journal of Ethnopharmacology.** V 96, p 303–323, 2005.

COLEMAN, T. G.; MANNING, R. D. Jr.; NORMAN, R. A. Jr.; DECHEE, J. The role of the kidney in spontaneous hypertension. **American Heart Journal**.v 89. p 94-98, 1994.

COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D.; LORETTI, A. P.; GIMENO, E. J.; TRAVERSO, S. D.; SEITZ, A. L.; ZLOTOWSKI, P. Aspectos clínicos e patológicos da intoxicação por *Sida carpinifolia* (Malvaceae) em caprinos no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.** v. 22, p. 56- 62, 2002a.

COLODEL, E. M.; GARDNER, D.; R. ZLOTOWSKI, P.; DRIEMEIER, D. Identification of swainsonine as a glycoside inhibitor responsible for *Sida carpinifolia* poisoning. **Veterinary and Human Toxicology**. V 44, n 3, p 177-178, 2002b.

DARWISH, F. M. M.; REINECKE, M. G. Ecdysteroids and other constituents from *Sida spinosa* L. **Phytochemistry**. v 62, p 1179–1184, 2003.

DEUSCHLE, R. A. N.;2003. **Atividade antimicrobiana e análise fitoquímica de Senecio desiderabilis Vellozo (Asteraceae)**. Santa Maria, 124f. Dissertação de Mestrado -Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria.

DI STASI, L.C.; OLIVEIRA, G.P.; CARVALHAES, M.A.; QUEIROZ-JUNIOR, M.; TIEN, O.S.; KAKINAMI, S.H.; REIS, M.S. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. **Fitoterapia**. 73, 69-91, 2002.

DI ROSA, M. & WILLOUGHBY, D. A. Screens for inflammatory drugs. **J. Pharm. Pharmacol.** V 23, p 297-300, 1971.

DINAN, L.; BOURNE, P. WHITING, P. Phytoecdysteroid profiles in seeds of *Sida spp.* , (Malvaceae). **Phytochemical Analysis**. V 12, n 2, p 110-119, 2001.

DRIEMEIER ,D.; COLODEL , E.M.; GIMENO, E. J.; BARROS , S.S. Lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* poisoning in goats. **Vet. Pathol.** v. 37, p.153-159, 2000.

DUNSTAN, C. A.; NOREEN, Y.; SERRANO, G.; COX, P. A.; PERERA, P.; BOHLIN, L. Evaluation of Samoan and Peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rate ar edema assays. **Journal of Ethnopharmacology**. 57, 35-56, 1997.

ELISABETSKY, E; WANNMACHER L. The status of ethnopharmacology in Brazil. **J Ethnopharmacol.** V 38, p 137-143, 1993.

FERREIRA, L. A.; BRAZ, E. M. **The New York Botanical Garden.** Universidade Federal do Acre, 1991.

FERNANDES, R.M.; PEREIRA, N.A.; PAULO, L.G.1992. Anti-inflammatory activiti of copaíba balsam. **Rev Bras Farm** v. 73, n 3, p. 53-6.

FLECK, N. G.; AGOSTINETTO, D.; VIDAL, R. A.; MEROTTO JÚNIOR, A. Efeitos de fontes nitrogenadas e de luz na germinação de sementes de *Bidens pilosa* e *S. rhombifolia*. **Ciênc. Agrotec.** V. 25, n. 3, p. 592 – 600, 2000.

FLECK, N. G.; RIZZARDI, M. A.; AGOSTINETTO, D.; BALBINOT JUNIOR, A.A. Interferência de picão-preto e guanxuma com a soja: efeitos da densidade de plantas e época relativa de emergência. **Ciênc. Rural**, v 34, n 1, p. 67-73,2004.

FRANCO, C.I.F.; MORAIS, L.C.S.L.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; ALMEIDA, R.N.; ANTONIOLLI, A.R. CNS pharmacological effects of the hydroalcoholic extract of *Sida cordifolia* L. leaves. **Journal of Ethnopharmacology.** V 98, p 275–279, 2005.

FRANZOTTI, E.M.; SANTOS, C.V.F.; RODRIGUES, H.M.S.L.; MOURÃO, R.H.V.; ANDRADE, M.R.; ANTONIOLLI, A.R. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). **Journal of Ethnopharmacology.** V 72, p 273–278, 2000.

GHOSAL S.;HAUHAN, R.S.;MEHTA,R. Alkaloids of *Sida cordifolia*. **Phytother. Chem.** v 14, p 830-2, 1975.

GIDAY, M.; TEKLEHAYMANOT, T.; ANIMUT, A.; MEKONNEN, Y. Medicinal plants of the Shinasha, Agew-awi and Amhara peoples in northwest Ethiopia. **Journal of Ethnopharmacology.** V 110, p 516–525, 2007.

GOMES, N. M.; REZENDE, C. M.; FONTES, S. P.; MATHEUS, M. E.; FERNANDES, P. D. Antinociceptive activity of Amazonian Copaiba oils. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 109, p. 486–492, 2007.

GORHAM, J. Glycinebetaine is a major nitrogen-containing solute in the malvaceae. **Phytochemistry**. V 43, N 2, p. 367-369, 1996.

GRAMOSA, M.V.; SILVEIRA, E.R. Volatile constituents of *Copaifera langsdorffii* i from the Brazilian northeast. **Journal of Essential Oil Research**, v.17, p.130-132, 2005.

GRAMOSA, N. V.; E estudo químico framacológico de copaiifera langsdorffii desf. (Leguminosae). Fortaleza, 225p. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2001

GUNATILAKA, A.A.L.;SOTHEESWARAN,S; BALASUBRAMANIAN,S; CHANDRASEKARA A. I; SRIYANI, H. T. B. Studies on medicinal plants of Sri Lanka. **Planta Med.** v 39,p 66 -72, 1980

HECTOR ALONSO, S. M. M. R. **Efeitos de diferentes coberturas mortas obtidas a partir do manejo me caniço com roçadeira lateral na dinâmica populacional de plantas daninhas em citros.**2004. 128p. Dissertação (Mestrado ) . ESALQ, São Paulo. 2004.

HENRIQUES, A. T, SIMÕES-PIRES, C. A, APEL, M. A. **Óleos essenciais: importância e perspectivas terapêuticas.** In: Yunes RA, Cechinel Filho V. Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia. Itajaí, Universidade do Vale do Itajaí. 2002, 303p

HEYWOOD, V. H. **Flowering Plants on the World**, Ed. B. T. Batsford Ltda., London, 1993.

IGNACIMUTHU, S.; AYYANAR, M.; SIVARAMAN K., S. Ethnobotanical investigations among tribes in Madurai District of Tamil Nadu (India). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, 2:25, 2006.

ISLAM, M. E.; HAQUE, M. E.; MOSADDIK, M. A. Cytotoxicity and antibacterial activity of *Sida rhombifolia* (Malvaceae) grown in Bangladesh. **Phytotherapy research**. V 17 , 8, p 973-975, 2003.

KANG R.; HELMS, R.; STOUT, M. J.; JABER, H; NAKATSU, T. Vietnamese culinary herbs in the United States. **J Agric Food Chem**. V 40, p 2328-2332, 1992.



KANTH V. R, DIWAN, P. V. Analgesic, antiinflammatory and hypoglycaemic activities of *Sida cordifolia* in rats **Phytother Res.**v 13, p 75-7, 2000.

KAROU, D.; SAVADOGA, A.; CANINI, A; YAMEGA, S.; MONTESANO, C.; SIMPORE, J.; COLIZZI, V.; TRAORE, A. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta* . **African. Journ. of Biotch.**, v. 5, n. 2, p. 195-200, 2006.

KATEWA, S.S.; CHAUDHARY, B.L.; JAIN, A. Folk herbal medicines from tribal area of Rajasthan, India. **Journal of Ethnopharmacology.** V 92, p 41–46, 2004.

KRISHNARAJU, A. V.; RAO, T. V. N.; SUNDARARAJU, D.; VANISREE, M.; TSAY, H.; SUBBARAJU, G. V. Biological Screening of Medicinal Plants Collected from Eastern Ghats of India Using *Artemia salina* (Brine Shrimp Test). **International Journal of Applied Science and Engineering.** V 4, n 2, p 115-125, 2006.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LANDAMN, M.T.R.L.; CASTRO , M. S. A.; LIMA, T.C.M., “Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais”. Sociedade Brasileira de Plantas Mediciniais. P. 104,105 e 112, 2003.

LIMA NETO, J. S.; GRAMOSA, N. V.; SILVEIRA, E. R. Constituintes químicos dos frutos de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Quim. Nova,** V 31, n 5, p 1078-1080, 2008

LITTLETON J, ROGERS T, FALCONE D. Novel approaches to plant drug discovery based on high throughput pharmacological screening and genetic manipulation. **Life Science,** v. 22, n. 78, p. 467-75, 2005.

LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil: Terrestres, Aquáticas, Parasitas e Tóxicas. Família Malvaceae.** 3ª ed. Plantarum, São Paulo, p. 461-482, 2000.

[LORETTI, A. P.](#); [COLODEL, E. M.](#); [GIMENO, E. J.](#); [DRIEMEIER, D.](#) Lysosomal storage disease in *Sida carpinifolia* toxicosis: an induced mannosidosis in horses. **[Equine Veterinary Journal.](#)** V 35, n5, p 434-438, 2003.

LOURENÇO, A.C.S.; MIGUEL, L.K.; GUARIDO, K.L.; SENSIATE, L.A.; SALLES, M.J.S. (p.407). Óleo de copaíba (*Copaifera langsdorfii* Desf.) em padrões reprodutivos de camundongos e no desenvolvimento embriofetal. Copaiba oil (*Copaifera langsdorfii* Desf.) on mouse reproductive patterns and embryonic or fetal development. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. V 11,n 4, p. 407-413,2009.

LUNA, L.G. **Manual of histopatologic staining methods of the Armed Force Institute of Pathology**. 3 ed. New York: Mc Graw-hill, 1968.

LUTTERODT, G. D. Abortifacient properties of an extract from *Sida veronicaefolia*. **Journal of Ethnopharmacology**. 23 (1) 27-37, 1988a.

LUTTERODT, G. D. Interaction between oxytocin and 'sidaverin' on the gravid and non-gravid rat uterus. **Pharmacological Research**. V 32, n 1-2, 1995.

LUTTERODT, G. D. Responses of gastrointestinal smooth muscle preparations to a muscarinic principle present in *Sida veronicaefolia*. **Journal of Ethnopharmacology**.v 23,2-3, p 313-322, 1988b.

MACEDO, J. F.; BRANDÃO., M. LARA, J. F. R. Plantas daninhas na pós-colheita de milho nas várzeas do rio São Francisco em Minas Gerais. **Plant. Daninha**, v. 21, n. 2, p. 239-248, 2003.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C. VEIGA JUNIOR, V. F.; GRYNHERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas Mediciniais: A Necessidade De Estudos Multidisciplinares. **Quím. Nova** , v.25 , n.3,p 429-438, 2002.

MALAIRAJAN, P.; GOPALAKRISHNAN, G.; NARASIMHAN, S.; VENI, K. J. K. Analgesic activity of some Indian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. 106, 425–428, 2006.

MANANDHAR, N. P. Native phytotherapy among the Raute tribes of Dadeldhura district, Nepal. **Journal of Ethnopharmacology**. 60, 199–206, 1998.

MARCATI, C. R.; ANGYALOSSY-ALFONSO, V.; BENETATI, L. Anatomia comparada do lenho de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinoidae) de floresta e cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**. V 24, n 3, 311-320.2001.

MEDEIROS, I. A. ; SANTOS, M. R. V.; SCIMENTO,N.M.S.; DUARTE, J. C. Cardiovascular effects of *Sida cordifolia* leaves extract in rats **Fitoterap.** v. 77, n.1, p. 19-27, 2006.

MITCHELL, S. A.; AHMAD, M. H. A. A review of medicinal plant research at the university of the west indies Jamaica. **Indian. Med. J.** v 55, n 4, p. 243-269, 2001.

MONTES, L.V.; BROSEGHINI, L.P.; ANDREATTA, R. S.; ANNA, M. E. S.S.; NEVES, V. M.; SILVA, A. G. evidências para o uso do óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida- uma revisão sistemática. **Natureza on line** . v7, n 21, p 61-67, 2009.

MURARI, A. L. **Constituintes voláteis e atividade antimicrobiana de Senecio crassiflorus var. crassiflorus.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 133 f, 2007.

NOUMI, E.; HOUNGUE, F.; LONTSI, D. Traditional medicines in primary health care: plants used for the treatment of hypertension in Bafia, Cameroon. **Fitoterapia.** V 70, p 134-139, 1999.

NOVY, J. W. Medicinal plants of the eastern region of Madagascar. **Journal of Ethnopharmacology**,v 55, p 119-126, 1997.

NWOBODO E. O. ; NWFIA W. C. ; EZEIGBO J. C. ; ONWUGHALU J. **Fitoterap.** v, 67, n 4, p 291-293, 1996.

OHSAKI A, YAN LT, ITO S, EDATSUGI H, IWATA D, KOMODA Y .. The isolation and in vivo potent antitumour activity of clerodane diterpenoid from the oleoresin of the Brazilian medicinal plant, *Copaifera langsdorffii* Desfon. **Bioorg Med Chem Lett**, v 4, p 2889-2892.1994

OLIVEIRA, R. B.; COSTA, E. A.; VALADARES, M. C.; CUNHA, L.C. Avaliação Das Atividades Anti-Inflamatória E Analgésica De Extrato De *Synadenium Umbellatum*. **Rev. Eletrôn. de Farmácia Suplem.** V. 2, n. 2, p. 137- 139, 2005.

OLIVEIRA, E. C. P. LAMEIRA, O. A.; ZOGHBI, M. G.B Identificação da época de coleta do óleo-resina de copaíba (copaífera spp.) no município de Moju, PA. **Revista de plantas medicinais**, v 8, n 3, p 14-23,2006.

OLIVO, C. J.; SOBCZARK, M. F.; CHARÃO, P. S. ; ZEICH, M. F.; ROSSAROLLA, G.; ALVES, E. M.; UBERTY, L. F.; SCHVENDLER, S. E. Avaliação de uma pastagem de capim elefante manejada sob princípios categóricos no período estável. **Rural Development**, v 8, n.2, 2006.

ONG, H.C.; NORZALINA, J. Malay herbal medicine in Gemencheh, Negri Sembilan, Malaysia. **Fitoterapia**. 70, 10-14, 1999.

OSÓRIO-DE-CASTRO, C. G. S. **Estudos de utilização de medicamentos - noções básicas**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p.92, 2000.

OTERO, R.; FONNEGRA, R.; JIMÉNEZ, S.L.; NÚÑEZ, V.; EVANS, N.; ALZATE, S.P.; GARCÍA, M.E.; SALDARRIAGA, M.; DEL VALLE, G.; OSORIO, R.G.; DÍAZ, A.; VALDERRAMA, R.; DUQUE, A.; VÉLEZ, H.N. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia Part I: Traditional use of plants. **Journal of Ethnopharmacology**. 71, 493–504, 2000a.

OTERO, R.; NÚÑEZ, V.; BARONA, J.; FONNEGRA, R.; JIMÉNEZ, S.L.; OSORIO, R.G.; SALDARRIAGA, M.; DÍAZ, A. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. **Journal of Ethnopharmacology**. V 73,p233-241, 2000c.

OTERO, R.; NÚÑEZ, V.; JIMÉNEZ, S.L.; FONNEGRA, R.; OSORIO, R.G.; GARCÍA, M.E.; DÍAZ, A. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia Part II: Neutralization of lethal and enzymatic effects of *Bothrops atrox* venom. **Journal of Ethnopharmacology**.v 7 , n 1, p 505–511, 2000b.

PARENTE, L.M.L.; SILVA, M.S.B.; BRITO, L.A.B.; LINO-JÚNIOR, R.S.; PAULA, J.R.; TREVENZOL, L.M.F.; ZATTA, D.T.; PAULO, N.M. Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. Healing effect and antibacterial activity of *Calendula officinalis* . **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. V 11, n 4, p.383-397,2009.

PAIVA, L. A. F.; GURGEL, L.A; CAMPOS, A. R.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S. N. 2004. Attenuation of ischemia reperfusion-induced intestinal injury by óleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. **Life science**, v 75, n 16, p 1979-1987.

PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.; MOREIRA, M.A.S. 2009. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s.v 11,n 4, p.465-472.

PEIXOTO, A. M. **Enciclopédia Agrícola Brasileira: S-Z, Vol. 6.** Esalq - Escola Superior De Agricultura Luiz De Queiroz, USP. Ed. USP, 2007.

PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Control of microorganisms, the control of microorganisms by physical agents. In: Microbiology.** 469. New York; Mc Graw – Hill International, 1988.

PEREIRA, F.J.; MARTINS, F. T.; CORRÊA, R. S.; MOREIRA, M. E. C.; COSTA, A. M. D. D. ; SANTOS, M. E.C.; COSTA, A. M. D. D.; SANTOS, M. H; PÓLO, M. BARBOSA, L. C.A Isolamento, composição química e atividade anti-inflamatória do óleo essencial do dpericarpo de *Copaifera langsdorffii* desf.de acordo com hidroddestilação sucessivas. **Latin American journal of Pharmacy**,v 23, n 3, p 369-74, 2008.

PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.; MOREIRA, M.A.S. (p.465)Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. Copaiba oil (*Copaifera* sp.): history, extraction, industrial applications and medicinal properties. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s. 11:4, p.465-472, 2009.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Min. da Agricultura. IBDF, 1984

POLLONI, G. ; SPEROTTO, J. S. ; JUNIOR, A. H. **Avaliação da atividade Antipropulsiva de Sida Rhombifolia L. (Malvaceae).** In: VIII Jornada de Estudos Farmacêuticos. VI Faramafeira. Anais... Erechim/RS, 2006.

PRADO, C. ; ALENCAR, R. G.; OLIVEIRA, L. M.G. F; FERREIRA, M. R.; PRAKASH, A. VARMA, R. K.; GHOSAL, S. Alkaloid Constituents of *Sida acuta*, *S. humilis*, *S. rhombifolia* and *S. spinosa*. **Planta Med.**v 43 , p. 384-388, 1981.

QUINTAS-JUNIOR, L. J.; ALMEIDA, R. N.; FALCOA, A. C.G.M.; AGRA, M.F.; SOUSA, M. F. V.; BARBOSA-FILHO. Avaliação da Atividade Anticonvulsivante de Plantas do Nordeste Brasileiro. **Acta Farm.** V. 21, n. 3, p. 179-84, 2002.

RANGEL, M.; MALPEZZI, E. L. A.; SUSINI, S. M. M.; FREITAS, J. C. Hemolytic activity in extracts of the diatom *Nitzschia*. **Toxicon.**,v 35, n 2, p 305-309, 1997.

RAO, K.S.; LAKSHMINARAYANA, G. Characteristics and Composition of Six Malvaceae Seeds and the Oils. **JAOCS**, India, v. 61, n. 8, p. 1345-1346, 1984.

REMBOLD, C. M. Electromechanical and pharmacomechanical coupling. In: Bárány, M. Biochemistry of smooth contraction. San Diego: **Academic Press**, p. 227-239, 1996.

RIGAMONTE AZEVEDO, O.C. et al. Potencial de produção de óleo-resina de copaíba (*Copaifera sp.*) de populações naturais do sudoeste da Amazônia. **Revista Árvore**, v.30, n.4, p.583-91, 2006.

RIGAMONTE AZEVEDO, O.C. et al. **Copaíba: ecologia e produção de óleo-resina.** Rio Branco: EMBRAPA, MAPA, 2004. 28p

ROCHA, F. A. C., ROCHA, J. C. S., PEIXOTO, M. E. B., JANCAR, S., CUNHA F. Q, RIBEIRO, R. A. Effect of nitric oxide synthase in articular inflammatory pain and cellular influx of zymosan-induced arthritis in rats. **Revista Brasileira de Reumatologia.**v 43,4, p 206-17, 2003.

RUNYORO, D. K. B.; MATEE, M. I.N.; NGASSAPA, O. D.; JOSEPH, C. C.; MBWAMBO, Z. H. Screening of Tanzanian medicinal plants for anti-Candida activity. **BMC Complementary and Alternative Medicine.** v 6, n 11, 2006.

SALVEMINI, D. WANG, Z. Q.; WYATT, P. S.; BOURDON, D. M.; MARINO, M. H.; MANNING, P. T.; CURRIE, M. G. Nitric Oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. *Brit. J. Pharmacol.* V 118. P 829-898, 1996

SAIKIA, A. P.; RYAKALA, V. K.; SHARMA, P.; GOSWAMI, P.; BORA, U. Ethnobotany of medicinal plants used by Assamese people for various skin ailments and cosmetics. **Journal of Ethnopharmacology**. V 106, p 149–157, 2006.

SANTOS, M. R. V. Atividade cardiovascular da vasicina, um alcalóide isolado das folhas de *Sida cordifolia* L. João Pessoa, **Tese de Doutorado** (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, 2005.

SANTOS, M. R. V.; NASCIMENTO, N. M.; ANTONIOLLI, A. R.; MEDEIROS, I. A. Endothelium-derived factors and K<sup>+</sup> channels are involved in the vasorelaxation induced by *Sida cordifolia* L. in the rat superior mesenteric artery. **Pharmazie**. v 61, n 5, p 466-469, 2006.

SCARPA, G. F. Medicinal plants used by the Criollos of Northwestern Argentine Chaco. **Journal of Ethnopharmacology**, v 91, p 115–135, 2004.

SCHIANTARELLI, P.; CADEL, S.; ACERBI, D.; PAVESI, L. Antiinflammatory activity and Bioavailability of percutaneous piroxican. **Arzneim. – Forsch./Drug Res.**, v. 32, p.230-235, 1982.

SCHMIDT, H. H. W.; HOFMANN, H.; SCHINDLER, U.; SHUTENKO, Z. S.; CUNNINGHAM, D. D.; FEELISCH, M. No NO• from NO synthase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. V 93, p 14492–14497, 1996.

SEITZ, A.; COLODEL, E. M.; BARROS, S. S.; DRIEMEIER, D.. Intoxicação experimental pod *S. carpinifolia* (Malvaceae) em ovinos. **Pesq. Vet. Bras.** v. 25, n. 1, p. 15-20, 2005.

SHINWARI, M. I.; KHAN, M. A. Folk use of medicinal herbs of Margalla Hills National Park, Islamabad. **Journal of Ethnopharmacology**. v 69, p 45–56, 2000.

SHIMIZU, M.; SHOGAWA, H.; MATSUZAWA, T.; YONEZAWAS, S.; HAYASHI, T.; ARISAWA, M.; SUZUKI, S.; YOSHIZAKI, M.; MORITA, N.; Anti-inflammatory constituents of topically applied crude drugs. IV. Constituents and anti-inflammatory effect of Paraguayan crude drug "alhucema" (*Lavandula latifolia* Vill.). **Chem. Pharm. Bull.** V 38, n 8, p 2283-4, 1990.

SILVA JUNIOR, O. C. S.; SILVA, R. L.; MELO, G. B.; MELO, V. A.; LIMA, S. O. ; ANTONIOLL, A. R.; BAGNATO, V. Proliferative effect of medicinal plants and laser on liver regeneration. A considerable experimental model: from an experimental model to clinical applications. **Acta Cirurg. Bras.** v 18, s. 5, p. 6-8, 2003.

SILVA, D. A.; SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. F. V. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* ULBR. (MALVACEAE). **Química Nova.** V. 29, N. 6, 1250-1254, 2006.

SILVA, D. A.; COSTA, D. A.; SILVA, D. F.; SOUZA, M. F. V.; AGRA, M. F.; MEDEIROS, I. A.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BRAZ-FILHO, R. Flavonóides glicosilados de *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológicos preliminares do canferol 3,7-di-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 23-29, Jan/Mar. 2005a.

SILVA, D. A.; CHAVES, M. C. O.; COSTA, D. A.; MORAES, M. R. R.; NÓBREGA, F. B. P.; SOUZA, M. F. V. Flavonoids from *Herissantia tiubae*. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 3, p. 197-200, 2005b.

SILVA, D. D.; SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N. ; SOUZA, M. N. F. V. Constituintes Químicos E Atividade Antioxidante De *Sida Galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Quim. Nova**, v. 29, n. 6, 2008

SILVA, L. N. M.; NOGUEIRA, J. C. M.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Estudo Farmacognóstico Da Raiz De *Sida Cordifolia* L Malvaceae. **Rev. Eletrôn. de Farmácia.** v. 2, n2, p 161-163, 2005.

SILVA, R. L. S.; MELO, G. B.; MELO, V. A. ; ANTONIOLLI, A. R. ; MICHELLONE, P. R. T. ; ZUCOLOTTO, S. ; RICINATO, M. A. N. C.; FRANCO, C. F. F. F.; MOTA, G. A.; SILVA, O. C.



Effect of the aqueous extract of *Sida cordifolia* on liver regeneration after partial hepatectomy. **Acta Cirúrg. Bras.** v. 21,n.1, p. p 37-39,2006 b.

SILVEIRA, A.L.; GOMES, M.A.S.; SILVA FILHO, R.N.; SANTOS, M.R.V.; MEDEIROS, I.A.; BARBOSA FILHO, J.M. Evaluation of the cardiovascular effects of vasicine, an alkaloid isolated from the leaves of *Sida cordifolia* L. (Malvaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy.**v 13, n 2, p 37-39, 2003.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK; P. R. **Farmacognosia - Da planta ao medicamento.** 5 ed. Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2003.

SOUZA BRITO, A. R. M. toxicidade aguda (dose simples). In: **Maual de ensaios toxicológicos *in vivo*.** Campinas: Editora da Unicamp, Rio de Janeiro: Editora Três, p 23-30, 1994.

SOUZA, G. C.; HAAS, A.P.S.; POSER, G.L.; SCHAPOVAL, E.E.S.; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology.** V 90, p 135–143, 2004.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website.** Versão 4, 2003. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb/> Acesso em: 15 de junho de 2007.

TAYLOR, R.S.L.; EDEL, F.; MANANDHAR, N.P.; TOWERS, G.H.N. Antimicrobial activities of southern Nepalese medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology.** V 50, p 97-102, 1996a.

TAYLOR, R.S.L.; HUDSON, J.B.; MANANDHAR, N.P.; TOWERS, G.H.N. Antiviral activities of medicinal plants of southern Nepal. **Journal of Ethnopharmacology.** V 53, p 97-104, 1996b.

TEKLEHAYMANOT, T.; GIDAY, M.; MEDHIN, G.; MEKONNEN, Y. Knowledge and use of medicinal plants by people around Debre Libanos monastery in Ethiopia. **Journal of Ethnopharmacology.** V 111, p 271–283, 2007.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. **Toxicon.** V 40, p 1635–1660, 2002.

TUBARO, A.; DRI, P.; DELBELLO, G.; ZILLI, C.; DELLA LOGGIA, R. The crotonoil ear test revisited. **Agents Actions**, v. 17,n.3/4, p.347-349, 1985.

VALSARAJ, R.; PUSHPANGADAN, P.; SMITT, U.W.; ADSERSEN, A.; NYMAN, U. Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India. **Journal of Ethnopharmacology**. V 58, p 75-83, 1997.

VEIGA JUNIOR, V.F., L. ZUNINO J.B. CALIXTO, M.L. PATITUCCI & A.C. PINTO . Phytochemical and antioedematogenic studies of commercial copaiba oils available in Brazil., **Phytother.** v 15, n 6, p 476-80. 2001

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; O Gênero *Copaifera* L. **Quim. Nova**, v. 25, p.273, 2002.

VEIGA JUNIOR, V. F. ; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Quím. Nova** ,v.28 , n.3 p 519-528, 2005.

VEIGA JR., V. F.; ANDRADE JR., M. A.; FERRAZ, I. D. K.; CHRISTO, H. B.; PINTO, A. C. **Acta Amazônica**. 2007, 37, 1.

VENKATESH, S.; REDDY, S. R.; SURESH, B.; RESSY, B. M.; RANESH, M. L . Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Sida rhomboidea*. **J. Etnopharmacol.** V. 67, n. 2, p. 229-32, 1999.

VENKATESH, S.; REDDY, Y. S. R.; SURESH, B.; REDDY, B. M.; RAMESH. M. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Sida rhomboidea* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**. V 67, P 229–232, 1999.

VICKERY, J. R. The Fatty Acid Composition of Seed Oils From Ten Plant Families with Particular Reference to Cyclopropane and Dihydrosterculic Acids. **JAOCs**, p. 87-91, 1980.

VINEGAR, R; TRAU, J. F, SELPH, J. L. Some quantitative temporal characteristic of carrageenin-induced pleurisy in the rat. **Proc Soc Exp Biol Med**. V. 14, p. 711-714, 1973.

VIRIATO, E. P.; BIANCHETTI, E. S.; SANTOS, K. C.; VAZ, A. F.; CAMPOS, R. M. V.; PEREIRA, A. P.; BEZERRA, R. M.; PERAZZO, F. F.; CARVALHO, J. C. T. Study of high dilutions of copaiba oil on inflammatory process. **Int. J. High Dilution**. V.8, n 26, p.9-14, 2009.

VOGALIS, F.; PUBLICOVER, N. G.; HUME, J. R.; SANDERS, K. M. Relationship between calcium current and cytosolic calcium in canine gastric smooth muscle cells. **The American Journal of Physiology**. V 260 , n1 p 1012-1018, 1991.

VUUREN, S. F.; VILJOEN; A. M. The in vitro antimicrobial activity of toothbrush sticks used in Ethiopia. **South African Journal of Botany**. V 72, p 646-648, 2006.

WIKIPÉDIA: Aenciclopédia livre. Wikimédia Foundation. **Sida**. Abr. 2007. Disponível em [http://pt.wikipedia.org/wiki/Sida\\_%28bot%C3%A2nica%29](http://pt.wikipedia.org/wiki/Sida_%28bot%C3%A2nica%29). Acesso em 27 set. 2007.

WILLIAMS, H. J.; SATTLER, I.; MOYNA, G.; SCOTT, A. I.; BELL, A. A.; VINSON, S. B. Diversity in Cyclic Sesquiterpene Production by *Gossypium hirsutum*. **Phytochemistry**, v. 40, n.6, p. 1633-1636, 1995.

WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Anti-inflammatory and antipyretic activities of indometacina. **J. Pharmacol. Exp. Ther**, v 141, p 369-76, 1963.

YESILADA, E, KUPELI, E, 2002. Berberis cratageina DC. Root exhibits potent anti-inflammatory, analgesic and febrifuge effects in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology** . v 79, p 237-248.

YOO, I. D.; Y, B. S.; LEE, I. K.; RYOO, I. J.; CHOUNG, D. H.; HAN, K. H. Three Naphthalenes from root bark of *Hibiscus syriacus*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 5, p. 799-802, 1998.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos no Brasil. **Química nova**.v 24, n 1, p 147-152, 2001

WILLIAMS, H. J.; SATTLER, I.; MOYNA, G.; SCOTT, A. I.; BELL, A. A.; VINSON, S. B. Diversity in Cyclic Sesquiterpene Production by *Gossypium hirsutum*. **Phytochemistry**, v. 40, n.6, p. 1633-1636, 1995.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos no Brasil. **Química nova**.v 24, n 1, p 147-152, 2001

ZHANG, H. L.; NAGATSU,A.; OKUYAMA, H.; MIZUKAMI, H.; SAKAKIBARA, J. Sesquiterpene glycosides from cotton oil cake. **Phytochemistry**, v. 48, n. 4, p. 665-668, 1998.

ZHENG, G.Q.; KENNEY, P. M.; LAM, L. K. T. Chemoprevention of benzo[a]pyrene-induced forestomach cancer in mice by natural phthalides from celery seed oil .**J. Nat. Prod.** 55, 99, 1992.