



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL

JOSÉ WELLINTON DA SILVA

ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO DE *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae)

RECIFE, PE

2016

JOSÉ WELLINTON DA SILVA

ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO DE *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes

RECIFE, PE

2016

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Silva, José Wellinton da

**Estudo etnofarmacológico de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae). /
Recife: O Autor, 2016.**

75 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Rafael Matos Ximenes

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de
Biotecnologia Industrial, Recife, 2016.**

Inclui referências e anexo

1. Etnofarmacologia 2. Fitoquímicos 3. Solanácea I.
Ximenes, Rafael Matos (orient.) II. Título

615.321

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017- 629

JOSÉ WELLINTON DA SILVA

ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO DE *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Biotecnologia Industrial da
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE,
como requisito final para obtenção do título de
Mestre em Biotecnologia Industrial.

Aprovada em: 29/ 02/ 2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dra. Gláucia Manoella de Souza Lima (Avaliador interno)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley (Avaliador externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dra. Márcia Vanusa da Silva (Suplente interno)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dra. Márcia Silva do Nascimento (Suplente externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

*Dedico esse Mestrado a minha família,
especialmente a minha mãe Creusa Emília,
pelo apoio e incentivo.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por sua presença constante, bondade e misericórdia, bem como por ter me guiado e me concedido à sabedoria e discernimento necessário.

A minha família, especialmente a minha mãe por todo o apoio e incentivo.

Ao meu orientador prof. Dr. Rafael Ximenes, pela orientação, ensinamentos, dedicação e muita paciência.

Agradeço a todos os professores colaboradores pela parceria.

Aos amigos: Simone, Raudiney, Jonathan, Lidiane, Érima, Karol, Karine, Fernanda, Rivaldo, Thiago, Temístocles, Samara, Cíntia, Iasmine, Fatinha, Alisson, Rayanne, Raphaely, Ester, Diliane, Noadya, Camila e Wanessa. O apoio de vocês tornou tudo mais leve.

A todos do laboratório LBPF pela colaboração nos experimentos.

Ao CNPq, FACEPE e CAPES pelo auxílio e apoio concedido, de fundamental importância para o desenvolvimento deste trabalho.

*‘Para louvar a nossa mãe, todo o bem que se
disser, nunca há de ser tão grande, como o bem
que ela nos quer’.*

Mário Quintana

RESUMO

Solanum paniculatum L. é conhecida popularmente como jurubeba-verdadeira. Esta espécie é usada na medicina popular principalmente no tratamento de desordens hepáticas, gastrointestinais e febre, e em menor escala como desinfetante e cicatrizante de feridas. O objetivo deste estudo foi verificar a atividade antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória tópica de diferentes extratos (folhas, flores, frutos, caule e raízes) de *S. paniculatum* como indicativos da possível atividade cicatrizante da planta. A avaliação fitoquímica foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando sistemas e reveladores específicos e através da dosagem de compostos fenólicos e flavonoides. O potencial antioxidante dos extratos foi analisado por diversos métodos in vitro: capacidade antioxidante total (fosfomolibdênio), sequestro dos radicais DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) e ABTS (2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfonato). A atividade anti-inflamatória tópica foi avaliada pelos modelos de edema de orelha induzido por diferentes agentes flogísticos: óleo de cróton, ácido araquidônico, fenol, capsaicina e fenilpropriolato de etila (EPP). A prospecção fitoquímica revelou a presença de várias classes de metabólitos secundários, com destaque para os flavonoides, triterpenos e esteroides, mono e sesquiterpenos. O extrato das folhas de *S. paniculatum* apresentou uma maior atividade antioxidante e antimicrobiana, quando comparada com as demais partes da planta estudada. A concentração de ácido clorogênico, β -sitosterol e estigmasterol no extrato das folhas foram quantificados através de CLAE. O extrato das folhas apresentou atividade anti-inflamatória em três dos modelos agudos estudados, expressa em percentual de inibição do edema de acordo as respectivas doses usadas: óleo de cróton 2%, 63 e 82,5% nas doses de 0,5 e 1,0 mg/orelha, respectivamente; fenol 10%, 91% na dose de 1,0 mg/orelha; e EPP (2 mg/orelha), 96% na dose de 1,0 mg/orelha. O EFSP também exibiu atividade anti-inflamatória crônica apresentando percentual de inibição de 39,5 %, além de inibir a atividade da MPO em 40,13% e reduzir os danos teciduais. Em conclusão, o extrato das folhas apresentou atividade antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória tópica, resultados que indicam a possível eficácia do uso popular desta espécie como desinfetante e cicatrizante de feridas cutâneas. Todavia, são necessários mais estudos para determinar a atividade cicatrizante direta do extrato das folhas de *S. paniculatum*.

Palavras-chave: Jurubeba. Prospecção fitoquímica. Atividade antioxidante. Atividade antimicrobiana. Atividade anti-inflamatória. Edema de orelha.

ABSTRACT

Solanum paniculatum L. is popularly known as “jurubeba-verdadeira” (Eng. lit. “true jurubeba”). It is used in folk medicine mainly in the treatment of hepatic and gastrointestinal disturbances, fever, and also to clean skin wounds and promote healing. The aim of this study was to verify the antioxidant, antimicrobial, and topical anti-inflammatory activities of different extracts (leaves, flowers, fruits, branches, and roots) of *S. paniculatum* as indicatives of a possible wound healing activity of this species. The phytochemical evaluation was performed by thin-layer chromatography (TLC) using specific solvent systems and revealers, and by the determination of total phenolic and flavonoid contents. Antioxidant potential of the extracts was analyzed by three *in vitro* methods: total antioxidant activity (phosphomolibdenum assay); DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) radical scavenging. Topical anti-inflammatory activity was evaluated by ear edema induced by different agents: croton oil, arachidonic acid, phenol, capsaicin, and ethyl phenylpropiolate (EPP). Phytochemical screening revealed the presence of several classes of secondary metabolites, mainly flavonoids, triterpenes and steroids, mono and sesquiterpenes. The extract of the leaves of *S. paniculatum* (SpLE) showed a better antioxidant and antimicrobial activities, when compared with other organs extracts. The concentration of chlorogenic acid, β -sitosterol, and stigmasterol in SpLE was determined by HPLC. SpLE showed topical anti-inflammatory activity in three of the studied models, expressed as inhibition percentage of ear edema according to the respective doses: croton oil 2%, 63 and 82.5%, at doses of 0.5 and 1.0 mg/ear, respectively; phenol 10%, 91% at dose of 1.0 mg/ear; and EPP, 96% at dose of 1.0 mg/ear. In conclusion, SpLE showed antioxidant, antimicrobial, and topical anti-inflammatory activity. These results indicate the possible efficacy of the use in folk medicine of this species to clean and promote wound healing. However, more studies are necessary to determine the direct wound healing activity of *S. paniculatum* leaves.

Keywords: Jurubeba. Phytochemical screening. Antioxidant activity. Antimicrobial activity. Anti-inflammatory activity. Ear edema.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Espécime de <i>Solanum paniculatum</i> L.	20
Figura 2 -	Migração de neutrófilos	22
Figura 3 -	Metabolismo do ácido araquidônico	24
Figura 4-	Efeitos locais e sistêmicos de TNF- α e IL-1	26
Figura 5-	Curva de calibração do ácido clorogênico	48
Figura 6-	Cromatografia obtida por CLAE-DAD do ácido clorogênico	48
Figura 7-	Cromatografia obtida por CLAE-DAD do EFSP	49
Figura 8-	Curva de calibração do β -sitosterol e estigmasterol	50
Figura 9-	Cromatografia obtida por CLAE-ELSD do β -sitosterol e Estigmasterol	50
Figura 10-	Efeito tópico do EFSP no edema de orelha induzido por óleo de Cróton	52
Figura 11-	Efeito tópico do EFSP no edema de orelha induzido por ácido Araquidônico	54
Figura 12-	Efeito tópico do EFSP no edema de orelha induzido por capsaicina	55
Figura 13-	Efeito tópico do EFSP no edema de orelha induzido por fenol	56
Figura 14-	Efeito tópico do EFSP no edema de orelha induzido por EPP	57
Figura 15-	Efeito da aplicação múltipla de óleo de cróton	58
Figura 16-	Atividade da MPO	59
Figura 17-	Fotomicrografias da análise histopatológica	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Métodos empregados na prospecção fitoquímica por CCD	31
Tabela 2 -	Descrição dos grupos experimentais	36
Tabela 3 -	Caracterização fitoquímica dos extratos de <i>S. paniculatum</i>	40
Tabela 4-	Atividade antimicrobiana	45
Tabela 5-	Atividade antimicrobiana frente a várias cepas de isolados clínicos de <i>S. aureus</i> .	46
Tabela 6-	Análises quantitativas das substâncias identificadas no EFSP	51
Tabela 7-	Análise morfométrica	60

LISTA DE ABREVIATURAS

AA -	Ácido araquidônico
Abs -	Absorbância
ANOVA -	Análise de variância
CCD -	Cromatografia em camada delgada
CE ₅₀ -	Concentração efetiva 50%
COX -	Ciclooxigenase
COX-1 -	Ciclooxigenase-1
COX-2 -	Ciclooxigenase-2
DEX -	Dexametasona
DPPH -	2,2-difenil-1-picril-hidrazila;
E.P.M. -	Erro padrão da média.
EFSP -	Extrato etanólico das folhas de <i>Solanum paniculatum</i>
EROs -	Espécies reativas de oxigênio
g -	Gramas(s)
h -	Hora(s)
H ₂ O ₂ -	Peróxido de hidrogênio
i.p. -	Via intraperitoneal
IL- 10 -	Interleucina -10
IL-1 -	Interleucina-1
IL-6 -	Interleucina-6
IL-1 β	Interleucina 1 beta
INDO-	Indometacina
IPA -	Instituto Agrônomo de Pernambuco
kg -	Quilograma
LOX -	Lipoxigenase
LTA ₄ -	Leucotrieno A ₄
LTB ₄ -	Leucotrieno B ₄
LTC ₄ -	Leucotrieno C ₄
mgGAE	Miligrama de equivalente de ácido gálico
mgQE	Miligrama de equivalente de quercetina
nm -	Nanômetro
NO -	Óxido nítrico
O ₂ ⁻	Íon superóxido
OMS -	Organização Mundial da Saúde
PAF -	Fator de ativação plaquetária
PGD ₂ -	Prostaglandina D ₂
PGE ₂ -	Prostaglandina E ₂
PGI ₂ -	Prostaglandina I ₂
PKC -	Proteína quinase C
PLA ₂ -	Fosfolipase A ₂
SUS -	Sistema Único de Saúde
TNF- α -	Fator de necrose tumoral-alfa
TXA ₂ -	Tromboxano A ₂
μ L -	Microlitro
μ m -	Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1 Plantas Medicinais	18
3.1.1 Família <i>Solanaceae</i>	19
3.1.2 Gênero <i>Solanum</i>	20
3.1.3 Espécie <i>Solanum paniculatum</i> L.	20
3.2 Processo Inflamatório	21
3.2.1 Inflamação aguda	22
3.2.2 Inflamação crônica	23
3.2.3 Mediadores inflamatórios	24
3.2.3.1 <i>Eicosanóides</i>	24
3.2.3.2 <i>Citocinas</i>	25
3.2.3.3 <i>Fator ativador de plaquetas (PAF)</i>	27
3.2.3.4 <i>Óxido nítrico</i>	27
3.2.3.5 <i>Aminas vasoativas</i>	28
3.3 Espécies reativas de oxigênio (EROS)	28
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Materiais	30
4.2 Coleta do material botânico e preparação dos extratos	30
4.3 Caracterização fitoquímica	30
4.4 Teor de compostos fenólicos	31
4.5 Teor de flavonoides	32
4.6 Atividade antioxidante in vitro	32
4.6.1 Capacidade antioxidante total	32
4.6.2 DPPH	33

4.6.3 ABTS	33
4.7 Atividade antimicrobiana	33
4.8 Quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE	34
4.9 Estudos <i>in vivo</i> da atividade anti-inflamatória	35
4.9.1 Animais	35
4.9.2 Atividade anti-inflamatória tópica	36
4.9.2.1 <i>Edema de orelha</i>	36
4.9.2.2 <i>Edema de orelha induzido por óleo de cróton</i>	37
4.9.2.3 <i>Edema de orelha induzido por ácido araquidônico</i>	37
4.9.2.4 <i>Edema de orelha induzido por capsaicina</i>	37
4.9.2.5 <i>Edema de orelha induzido por fenol</i>	38
4.9.2.6 <i>Edema de orelha induzido por EPP</i>	38
4.10 Edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton	38
4.11 Atividade enzimática da mieloperoxidase	38
4.12 Análise histopatológica	39
4.10 Análise estatística	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 Caracterização fitoquímica	40
5.1.1 Prospecção fitoquímica	40
5.1.2 Teor de fenóis totais	41
5.1.3 Teor de flavonóides	42
5.2 Atividade antioxidante <i>in vitro</i>	42
5.2.1 Capacidade antioxidante total	42
5.2.2 DPPH	43
5.2.3 ABTS	43
5.3 Atividade antimicrobiana	44
5.4 Quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE	47
5.4.1 Quantificação do ácido clorogênico	47
5.4.2 Quantificação do β -sitosterol e estigmasterol	49
5.5 Atividade anti-inflamatória tópica	51
6 CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	64

1. INTRODUÇÃO

As plantas com propriedades medicinais têm sido usadas pelo homem para curar suas doenças há mais de 60.000 anos. A etnobotânica e a etnofarmacologia têm servido como base para estudos vegetais, objetivando a descoberta de substâncias bioativas e de novos fármacos (LEITÃO et al., 2014; MARTINS et al., 2015).

Apesar do crescente aumento dos estudos farmacológicos de produtos de origem vegetal, identificados nos últimos 30 anos, apenas cerca de 6% da flora terrestre têm sido explorada. E o Brasil, devido o seu vasto território e a sua rica biodiversidade, é considerado uma fonte promissora de novos produtos terapêuticos (MARTINS et al., 2015; ATANAZOV et al., 2015).

Dentre as inúmeras espécies vegetais com propriedades medicinais, as espécies da família *Solanaceae*, abundantes no nordeste brasileiro, têm sido amplamente estudadas. O gênero *Solanum* é o mais representativo desta família, o qual é caracterizado pela presença de glicoalcalóides, flavonoides e glicosídeos (CLEMENTINO-NETO et al., 2015).

Solanum paniculatum L., conhecida popularmente como jurubeba-verdadeira, é uma espécie nativa do Brasil, mas que também é encontrada em outros países da América do Sul. Esta espécie é utilizada na medicina popular no tratamento de problemas hepáticos, digestivos e anemias, fazendo parte da 1ª Farmacopéia Brasileira (COIMBRA, 1994 apud LORENZI; MATOS, 2008). Essa espécie faz parte da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), e algumas atividades farmacológicas já foram comprovadas, como a ação hepatoprotetora (MATTOS FILHO et al., 1997), inibitória da secreção ácida estomacal (MESIA-VELA et al., 2002).

Além das atividades comprovadas acima descritas, a jurubeba também é utilizada na medicina popular como cicatrizante e desinfetante de feridas na forma de compressas com gaze ou gargarejo (BRAGA, 1976; MATOS, 2007; LORENZI; MATOS, 2008). E de acordo com estudo realizado por Albuquerque et al., (2007) *Solanum paniculatum* é usada popularmente para gastrite e inflamação em geral.

A inflamação é uma resposta do organismo contra agentes patógenos ou substâncias nocivas, que ocorre através da produção de mediadores inflamatórios e movimentação de líquido e de leucócitos para região lesada, objetivando a eliminação do agente lesivo e o restabelecimento da função fisiológica, eventos que caracterizam a inflamação aguda (RUBIN, 2006).

Todavia, quando o agente lesivo persiste, ocorre a evolução da inflamação aguda para inflamação crônica, a qual pode durar meses ou até mesmo anos e causando destruição do tecido e a proliferação de tecido conjuntivo. As células mononucleares e as células derivadas dos macrófagos são os principais tipos celulares encontrados neste tipo de inflamação (RANG; DALE, 2011).

Sendo assim, o estudo de plantas medicinais, embasado nos conhecimentos populares, representa uma fonte relevante de possíveis princípios ativos, bem como de potenciais novos fármacos efetivos no tratamento de doenças inflamatórias (ALBUQUERQUE et al., 2014; RIBEIRO et al., 2007).

Este estudo objetivou a avaliação das atividades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória tópica dos extratos de *S. paniculatum*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar um estudo etno-guiado dos diferentes órgãos de *Solanum paniculatum* L., visando à comprovação das atividades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória tópica como indicativos de possível atividade cicatrizante desta espécie.

2.2 Objetivos Específicos

- Coletar os diferentes órgãos de *S. paniculatum* (folhas, flores, frutos, caule e raízes) e realizar a extração;
- Realizar a prospecção fitoquímica e determinar o teor de compostos fenólicos e flavonoides dos diferentes extratos de *S. paniculatum*;
- Determinar a atividade antioxidante dos extratos por diferentes métodos químicos;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos contra micro-organismos padrão e isolados clínicos de feridas;
- A partir do extrato mais promissor, determinar as concentrações de marcadores por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Investigar a atividade anti-inflamatória tópica do extrato mais promissor através de diferentes modelos de edema de orelha em camundongos;

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Plantas medicinais

A utilização de plantas com propriedades medicinais, para o tratamento de doenças é uma prática antiga e de grande relevância, uma vez que os conhecimentos adquiridos com o passar dos anos passaram a fazer parte de um conjunto de saberes e práticas que são reconhecidos como parte da medicina tradicional pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (CORADIM; SIMINSKI; REIS, 2011).

A OMS considera como medicinal todo vegetal que possui substâncias com propriedades terapêuticas em um ou mais de seus órgãos (BADKE, 2008). Ainda de acordo com a OMS cerca de 80% da população tem recorrido ao uso de plantas medicinais com o objetivo de tratar ou prevenir enfermidades (VEIGA-JÚNIOR, 2005).

Fontes de valiosas substâncias bioativas com potencial terapêutico, as plantas medicinais têm demonstrado com o passar dos anos o seu valor e representam ainda hoje um relevante e promissor caminho para descoberta de novos fármacos (LIMA et al., 2011; ATANAZOV et al., 2015). Pois, apesar dos avanços da medicina moderna, cerca de 30% dos fármacos avaliados como agentes terapêuticos são provenientes de produtos naturais (CALIXTO, 2005). Para Silva et al. (2014), a utilização de plantas na produção de medicamentos têm sido relevante devido principalmente as suas propriedades bioativas, mais também devido ao fato de serem abundantes, de fácil acesso e de baixo custo.

De acordo com Atanazov et al. (2015) houve um crescente interesse científico pelos estudos farmacológicos de substâncias de origem vegetal nos últimos 30 anos. Dentre os vários medicamentos desenvolvidos a partir de estudos realizados com plantas medicinais, podemos citar de acordo com Cragg e Newman (2013): irinotecano (CPT-11), derivado de *Camptotheca acuminata* e usado no tratamento do câncer; *reserpina*, isolado a partir de *Rauwolfia serpentina* e utilizado como anti-hipertensivo; *quelina*, presente em *Ammi visnaga* e usado no tratamento de psoríase e vitiligo; *galegine*, isolado de *Galega officinalis* L. e usado como modelo para síntese de metformina, um anti-diabético; morfina, isolada de *Papaver somniferum* é usada no tratamento da dor, dentre muitos outros.

Heinrich (2009) em seu trabalho avaliou 40 estudos etnofarmacológicos realizados entre 2007 e 2008 discutindo a importância da base conceitual e dos métodos utilizados, objetivando não só destacar os estudos já concluídos, mais também melhorar a qualidade dos estudos futuros. Algumas plantas que apresentam atividade anti-inflamatória foram enfatizadas por Heinrich (2010) tais como: *Tripterygium wilfordii*; *Capsicum annuum* L.; *C. frutescens* L.; *Tanacetum parthenium* e *Euphorbia resinifera*. E dentre os medicamentos anti-inflamatórios provenientes de plantas medicinais produzidos recentemente destacam-se: Acheflan (*Cordia verbenacea*), Peplin (*Euphorbia peplus* L.), Sativex® (*Cannabis sativa* L.), Crofelemer (*Croton lechleri* Muell. Arg.) (HEINRICH, 2014). .

Apesar dos estudos da flora terrestre terem se intensificado nos últimos anos, estima-se que apenas 6% dos cerca de 300 mil espécies de plantas superiores foram farmacologicamente investigadas e apenas 15% tiveram estudos fitoquímicos realizados (CRAGG; NEWMAN, 2013).

3.1.1 Família *Solanaceae*

A família *Solanaceae* possui uma distribuição cosmopolita, apresentando 2.768 espécies distribuídas em 115 gêneros (THE PLANT LIST, 2013). Possui uma maior representação nos trópicos e sub-trópicos, sendo a América do Sul o centro de maior diversidade (VIEIRA-JUNIOR et al., 2015). Os representantes da família *Solanaceae* são morfologicamente diversificados podendo possuir representantes com as seguintes características morfológicas: ervas, arbustos, subarbustos ou árvores pequenas; folhas alternadas, simples; flores bissexuadas e actinomorfas e frutos na forma de baga ou cápsula (CORADIM L.; SIMINSKI A.; REIS A. 2011). As várias espécies pertencentes a esta família são bem diversificadas, apresentando representantes de importância econômica e alimentar (*Nicotiana tabacum*, *Datura stramonium*, *Solanum tuberosum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Physalis peruviana*, *Capsicum annuum*, *C. frutescens*), ornamental (*Brunfelsia* sp. e *Petunia* sp.) e medicinal (*Atropa beladonna* e *Mandragora officinailis*) (MARTINS, 2013; TAYLOR; KENT, 2013).

. 3.1.2 Gênero *Solanum*

O gênero *Solanum* L. é o maior e mais complexo gênero da família *Solanaceae*, apresentando atualmente 1.230 espécies no qual se encontra frequentemente a presença de alcaloides e flavonoides. Pertencem a este gênero espécies de interesse econômico como o tomate (*Solanum lycopersicum*), batata (*Solanum tuberosum*), berinjela (*Solanum melongena*) e espécies com propriedades medicinais dentre as quais se destaca *Solanum paniculatum* (SOUZA; LORENZI, 2008; THE PLANT LIST, 2013).

3.1.3 Espécie *Solanum paniculatum* L.

Solanum paniculatum, uma das espécies pertencentes ao gênero *Solanum*, é conhecida popularmente como jurubeba ou jurubeba-verdadeira. Trata-se de uma espécie nativa do Brasil, mais que também está presente em outras regiões tropicais do continente sul-americano (Figura 1) (GARCIA et al., 2008; PEREIRA et al., 2008).

Figura 1 - Espécime de *Solanum paniculatum* L. (*Solanaceae*).



Fonte: <http://www.rain-tree.com/Plant-Images/>

Esta espécie é caracterizada morfologicamente como uma planta perene, arbustiva e ereta, que atinge cerca de 2 m de altura, é ramificada apresentando folhas

alternadas, pecioladas e de tonalidade mais escura na face superior, a qual é coberta por pelos e espinhos. As suas flores são violetas ou azuladas. Os frutos são bagas esféricas branco-esverdeados, dispostos em cachos e mantidos por um pedúnculo contendo várias sementes, os quais são utilizados como tempero, em pickles, e como aditivo, em aguardente de cana-de-açúcar (LORENZI, 2000; CORADIM L.; SIMINSKI A.; REIS A. 2011).

Classificada como fitoterápico, *Solanum paniculatum* foi listada na primeira Farmacopéia Brasileira. Na medicina popular esta espécie é utilizada principalmente no tratamento de distúrbios hepáticos e gástricos (VIEIRA et al., 2013; MESIA-VELA et al., 2002; AGRA et al., 2007). Mais também, além dessas atividades, estudos têm demonstrado que apresenta atividades: antioxidante, atua como quimioprotetor contra o câncer e no combate de febres intermitentes (MENDES; CARLINI, 2007; SABIR; ROCHA, 2008; ENDRINGER et al., 2010). Segundo Nunes e Araújo (2003) o uso tópico das folhas de *Solanum* tem função cicatrizante de feridas. E verificou-se também que *Solanum paniculatum* apresenta atividade bacteriostática, e bactericida contra bactérias orais causadoras de cárie dental (COSTA et al., 2014).

As atividades biológicas atribuídas a esta espécie estão intimamente associada à presença de metabólitos secundários, principalmente esteroides, saponinas, glicosídeos e alcaloides, os quais variam de acordo com a parte da planta (GARCIA et al., 2008). E além destes outros metabólitos foram identificados em estudos químicos: jurubebine, jubebine, solanine, isojuvipidine, isojuvubidine, isopaniculidine e jurubidine (MESIA-VELA et al., 2002).

3.2 Processo inflamatório

A inflamação é uma resposta do organismo contra micro-organismos estranhos e tecidos danificados ou necróticos, que visa à proteção do mesmo contra a injúria celular inicial, bem como contra os possíveis danos posteriores consequentes de tal injúria (ROBBINS; COTRAN, 2010). A depender da intensidade do estímulo inflamatório e da duração do mesmo, a inflamação pode ser classificada em aguda ou crônica (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

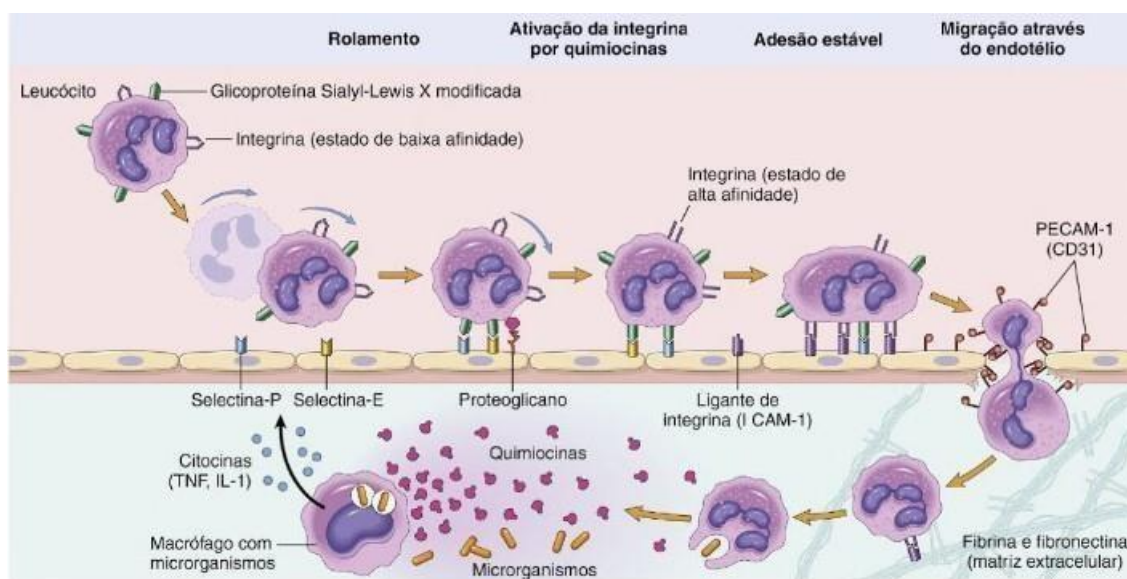
3.2.1 Inflamação aguda

Caracterizada pela resposta rápida do hospedeiro, a inflamação aguda pode ser causada por infecções (bacteriana, viral, fúngica, parasita), necrose tecidual, corpos estranhos e reações imunes (PATEL et al., 2014; RUBIN, 2006).

Uma vez estabelecida à injúria, o sistema imunológico inato entra em ação, em resposta aos sinais transmitidos pelos neutrófilos, macrófagos, mastócitos e plaquetas situados nos tecidos lesados, levando a produção dos mediadores inflamatórios e posterior ativação da resposta imune adaptativa (NATHAN, 2006; ABBAS et al., 2011). Os mediadores inflamatórios são produzidos a partir de células ou de proteínas plasmáticas. Os mediadores celulares principais são: as aminas vasoativas, histamina e serotonina; as prostaglandinas, leucotrienos e lipoxinas derivadas de metabólitos do ácido araquidônico; o fator ativador de plaquetas (PAF); as espécies reativas de oxigênio (EROS); o óxido nítrico (NO); as citocinas e quimiocinas; e os neuropeptídeos. Já os mediadores derivados do plasma são: o sistema complemento; o sistema de coagulação; e as cininas (RUBIN, 2006; ROBBINS; COTRAN, 2010).

A liberação dos mediadores pro-inflamatórios promove uma série de alterações, as quais ocasionam vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular, proporcionando a exudação plasmática, migração de leucócitos e proteínas para o sítio inflamatório, bem como o aparecimento das características clínicas da inflamação: rubor, edema, calor, dor e perda da função (Figura 2) (CRUVINEL et al., 2010).

Figura 2- Migração de neutrófilos



Fonte: ROBBINS; COTRAN (2010) (p.48).

No tecido injuriado os leucócitos, principalmente neutrófilos são ativados por contato com o patógeno e por cininas provenientes do tecido. A atuação dos leucócitos consistem no reconhecimento dos agentes agressores, através de receptores do tipo Toll (TLRs) e posterior ativação destas células visando à remoção de tais agentes. A fagocitose, a morte intracelular e a concomitante geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) e óxido nítrico são as respostas mais importantes para destruição de agentes lesivos (BARTON, 2008; COSTA et al., 2012).

Quando a resposta inflamatória consegue eliminar os agentes causadores de danos teciduais, principalmente agentes microbianos, sinais são liberados, principalmente por lipoxinas derivadas do ácido araquidônico geradas por lipoxigenases, os quais provêm a diminuição da migração de neutrófilos e o deslocamento de macrófagos, objetivando a finalização da resposta inflamatória e eliminação de restos celulares (SERHAN, 2007).

Todavia, nem sempre a resposta inflamatória aguda culmina na cura e restabelecimento das funções teciduais. Há situações em que devido ao vasto dano causado aos tecidos, ocorre a formação de fibroses, as quais ocorrem em tecidos que não possuem a capacidade de regeneração. E quando o agente lesivo persiste, de modo que a resposta inflamatória aguda não consegue sanar a inflamação ocorre a evolução para a inflamação crônica (RANG; DALE, 2011).

3.2.2 Inflamação crônica

De acordo com Buckley et al., (2015) a inflamação crônica caracteriza-se pela localização específica e duração prolongada, a qual é proveniente do desequilíbrio entre o recrutamento de células inflamatórias e a remoção do infiltrado imunológico. Este tipo de inflamação pode ser resultante de infecções persistentes, causadas por micro-organismos, doenças inflamatórias imunomediadas e exposição prolongada a agentes potencialmente tóxicos (ROBBINS; COTRAN, 2010).

Estudos têm sugerido que os fibroblastos, além de apresentar função estrutural nos tecidos, estão também envolvidos na modulação de células do sistema imune, de modo que durante a inflamação crônica, permanecem ativados e neste estado levam a produção de citocinas, quimiocinas, e prostanóides (FLAVELL et al., 2008).

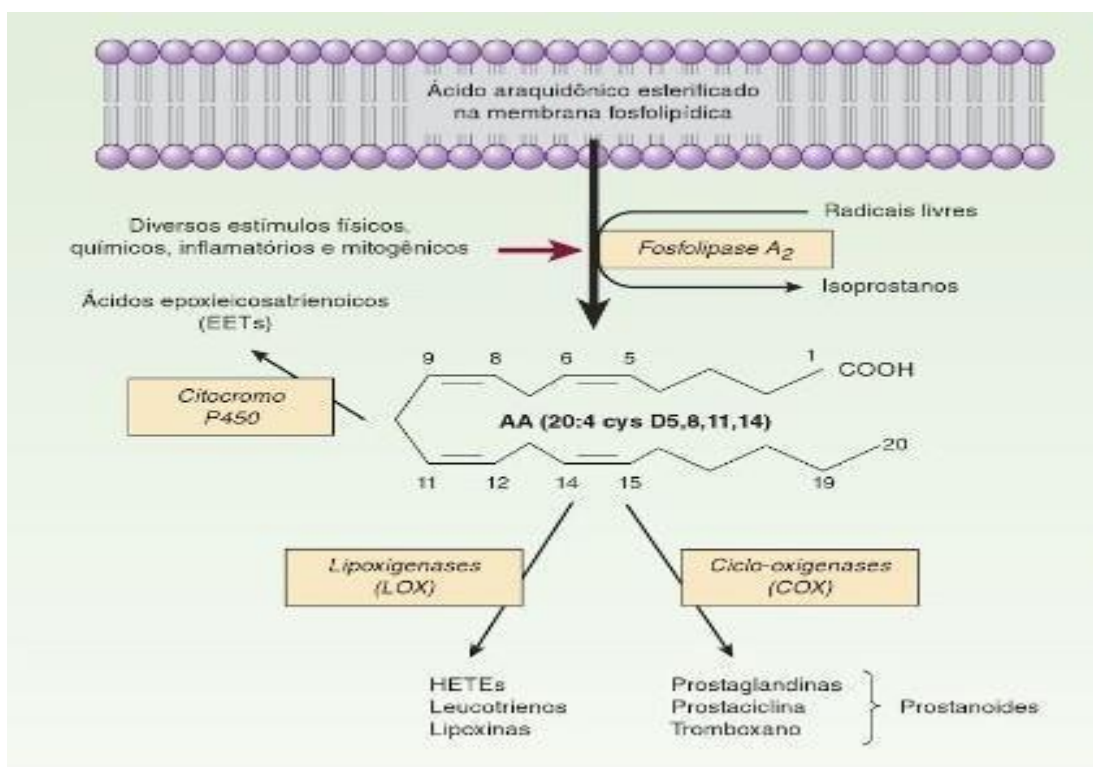
3.2.3 Mediadores inflamatórios

3.2.3.1 Eicosanóides

Os eicosanóides são sinalizadores lipídicos bioativos derivados do ácido araquidônico, os quais atuam nos processos homeostáticos e inflamatórios (DENNIS; NORRIS, 2015).

O ácido araquidônico (AA) é um ácido graxo de 20 carbonos liberado dos fosfolípidios das membranas celulares por uma reação de hidrólise catalisada pela enzima fosfolipase A₂. Após liberação no citoplasma, o AA é metabolizado pelas cicloxigenases (COX-1 e COX-2) e lipoxigenases (5-LOX, 12-LOX e 15-LOX), produzindo prostaglandinas (PG), prostaciclina (PGI), tromboxanos (TX) e leucotrienos (LT), (Figura 3) (LEVICK et al., 2007).

Figura 3 - Metabolismo do Ácido Araquidônico



Fonte: Katzung (2007).

As prostaglandinas são produzidas pelos mastócitos, macrófagos e células endoteliais pela via das cicloxigenases. As duas isoformas de COX geram

prostaglandinas H (PGH₂), as quais são substrato para síntese de prostaciclina (PGI₂) e tromboxanos (TXA₂) (ABBAS et al., 2011). As prostaglandinas atuam na proteção do revestimento da mucosa intestinal, regulam o equilíbrio de líquido/ eletrólitos, estimulam a agregação plaquetária e também têm funções inflamatórias como induzir febre, hiperalgesia e a vasodilatação (RUBIN, 2006; MESQUITA JR et al, 2008).

Os leucotrienos são produzidos pela ação da 5-lipoxigenase predominante nos neutrófilos, as quais são responsáveis pela conversão do ácido araquidônico a ácido 5-hidroxi-eicosatetraenoico que é precursor dos leucotrienos (ROBBINS; COTRAN, 2010). De acordo com FRANCISCHETTI et al., (2010) o leucotrieno LTB₄ é um agente quimiotático e atua também promovendo a adesão molecular de integrinas β_2 e a adesão celular ao endotélio vascular, já os leucotrienos C₄, D₄ e E₄ estão relacionados com a vasoconstricção e aumento da permeabilidade vascular. A estes mediadores inflamatórios ainda são atribuídas as seguintes funções: indução e agravamento da resposta inflamatória, regulação da produção de espécies reativas de oxigênio, enzimas lisossomais e citocinas pró- inflamatórias, bem como na mobilização de linfócitos T (BEHL; KAUR; KOTWANI et al., 2016).

3.2.3.2 Citocinas

Proteínas com baixo peso molecular, as citocinas são secretadas por várias células imunes e não imunes, atuando na estimulação ou inibição da proliferação celular, na atividade antiviral, citotóxica e apoptótica, bem como na diferenciação celular e na resposta inflamatória (ROSA et al., 2016).

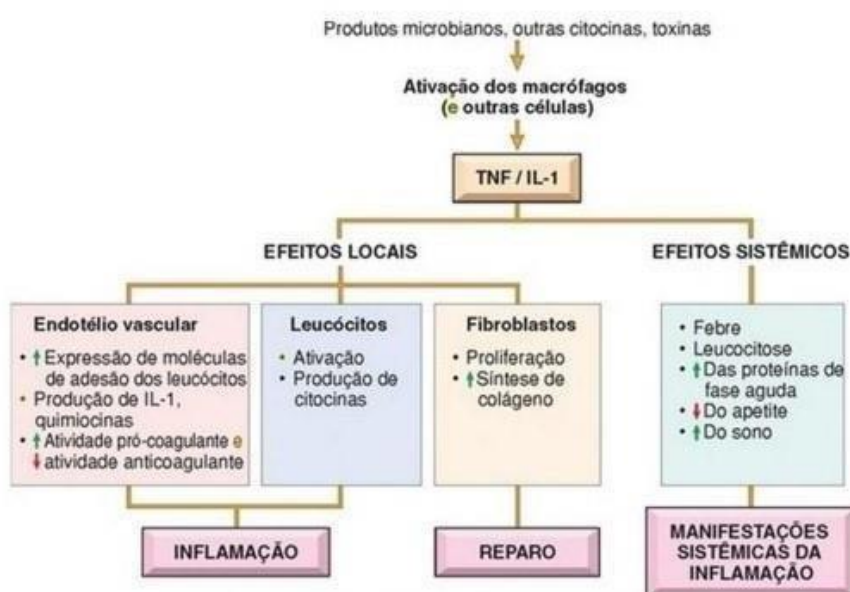
As citocinas são divididas em duas categorias gerais de acordo com as atividades biológicas realizadas em: pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α) e anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL -13) (ROSA et al., 2015; GANANÇA et al., 2016).

As principais citocinas responsáveis pela mediação da inflamação são: TNF- α (fator de necrose tumoral-alfa) e a IL-1 (interleucina-1) (Figura 4). Estas proteínas são produzidas principalmente por macrófagos ativados em resposta a endotoxinas e outros produtos microbianos, injúria física e outros estímulos inflamatórios (ROBBINS; COTRAN, 2010).

O TNF- α exerce várias funções promotoras do desenvolvimento do processo inflamatório, as quais podem ser imunoestimuladoras ou imunossupressoras. Este mediador interage com as células endoteliais e induz a produção de moléculas de adesão

celular e vascular, bem como de E-selectina, as quais favorecem a migração de leucócitos para a região inflamada. Além disso, atua induzindo a produção de IL-1, IL-6, NO, quimiocinas e eicosanoides. E dentre as funções imunossupressoras, o TNF- α pode atenuar a resposta imune inibindo a sinalização dos receptores das células T, promovendo apoptose das mesmas, bem como inibindo células dendríticas e induzindo a produção de citocinas anti-inflamatórias. (O'SHEA; AVERIL MA; LIPSKY, 2002; KHAN, 2008).

Figura 4 - Efeitos locais e sistêmicos do TNF- α e IL-1



Fonte: ROBBINS; COTRAN, (2010) (p. 62)

A família IL-1 apresenta três citocinas, sendo duas agonistas (IL-1 α e IL-1 β) e uma antagonista IL-1 (IL-1ra). As IL-1 agonistas, são produzidas por vários tipos de células, mas principalmente por monócitos/macrófagos após sofrer estimulação por produtos bacterianos, citocinas e complexos imunes (RANG; DALE, 2011).

Os efeitos sistêmicos da IL-1 estão associados à regulação da taxa metabólica, dos níveis de glicose do sangue e da pressão sanguínea e, além disso, exercem um papel importante na regulação termostática, na percepção da dor e no apetite. Estes mediadores atuam também como mediadores endógenos de leucócitos, linfócitos, células β , na síntese de moléculas de adesão celular e vascular, no crescimento celular, reparo tecidual e doenças inflamatórias crônicas (BANERJEE, 2012).

3.2.3.3 Fator ativador de plaquetas (PAF)

O fator ativador de plaquetas (PAF) é um mediador inflamatório derivado de fosfolipídios da membrana (RUBIN, 2006). A produção de PAF é estimulada por vários tipos de células, incluindo monócitos/macrófagos, leucócitos polimorfonucleares, eosinófilos, basófilos, plaquetas, mastócitos, linfócitos e células endoteliais (RIVERA et al., 2014).

A principal via de síntese de PAF é chamada via de remodelação, a qual envolve um precursor, o 1-O-alkil-2-acil-glicerofosfocolina, e é realizada em duas etapas. Na primeira etapa a PLA₂ atua sob o precursor formando 1-O-alkil-2-liso-glicerofosfocolina (Liso-PAF) e um ácido graxo livre, geralmente o ácido araquidônico. Na segunda etapa, a liso-PAF é acetilada pela enzima acetil-coenzima-A-liso-PAF-acetiltransferase, a qual usa a acetil-coenzima A como doador (GOODMAN; GILMAN, 2012).

Além da agregação e degranulação plaquetária, o PAF atua nas reações inflamatórias e alérgicas, na produção de moléculas de adesão de leucócitos, quimiotaxia, degranulação de leucócitos, explosão respiratória e aumento da permeabilidade vascular (REZNICHENKO; KOSTANJE, 2015).

3.2.3.4 Óxido nítrico (NO)

O óxido nítrico é sintetizado através da conversão de L-arginina em L-citrulina pelas três formas da enzima óxido nítrico sintase: neuronal (nNOS), endotelial (eNOS) e induzível (iNOS) (SOBREVIA et al., 2016).

Este mensageiro celular está envolvido em muitos mecanismos fisiológicos, nos sistemas cardiovascular, nervoso, e imunológico. No sistema nervoso, estudos têm demonstrado que o NO atua na migração e proliferação celular (CARREIRA et al., 2015).

O NO apresenta propriedades pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. Um exemplo de atividade anti-inflamatória é a produção de pequenas quantidades de NO derivado da eNOS que inibe a adesão e migração de células inflamatórias. Todavia, quantidades maiores de NO produzidas a partir da iNOS estimulam a produção de lipopolissacarídeos e citocinas inflamatórias (IL-1 e TNF- α), os quais cooperam com o desenvolvimento do processo inflamatório, uma vez que causam o aumento da

permeabilidade vascular e da infiltração de leucócitos para o tecido inflamado. O NO também tem um importante função na eliminação de agentes microbianos causadores de inflamação, através da geração de peróxinitrito (ONOO^-), uma espécie oxidante altamente reativa (FARO et al., 2014).

3.2.3.5 Aminas vasoativas

A histamina e a serotonina são as duas principais aminas vasoativas e estão entre os primeiros mediadores inflamatórios a serem liberados durante a inflamação (ROBBINS; COTRAN, 2010).

Principal produto da secreção dos mastócitos, a histamina atua na migração e proliferação de células do músculo liso, regula as funções dos monócitos/macrófagos, eosinófilos, células T, neutrófilos e células endoteliais (BARUAL; SHARMA; DILEEPAN, 2015). A histamina exerce seus efeitos através de quatro receptores acoplados a proteína G: H1, H2, H3 e H4. O receptor H1 está relacionado com a resposta inflamatória, o qual é amplamente expresso nas células endoteliais e no músculo liso atuando no aumento da permeabilidade vascular, síntese de prostaciclina e do PAF. Estudos têm mostrado que a ativação do receptor H2 leva a expressão de moléculas de adesão celular durante o processo inflamatório (BEGHDADI et al., 2009).

A serotonina é um neurotransmissor que contribui na regulação de várias funções fisiológicas: humor, sono, apetite, sensação de dor, regeneração de tecido, coagulação e função gastrointestinal (BERGER; GRAY; ROTH, 2009). Esta amina vasoativa é produzida no cérebro e no intestino. No intestino a ela é liberada pelas células enterocromafins vai para corrente sanguínea e é transportada pelas plaquetas. Quando ocorre alguma lesão, a serotonina é rapidamente liberada pelas plaquetas e atua na resposta inflamatória promovendo quimiotaxia, atraindo células para o local da inflamação e fagocitose, bem como no aumento da permeabilidade vascular (ROBBINS; COTRAN, 2010; BAGANZ; BLAKELY, 2012).

3.3 Espécies reativas de oxigênio (EROS)

As espécies reativas de oxigênio (EROS) são formadas em condições fisiológicas devido à redução parcial de moléculas de oxigênio. São considerados EROS o ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroxila (OH), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o

oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), os quais são produzidos principalmente nas mitocôndrias, citosol, peroxissomos, endossomos e fagossomos, dentre outros (NITA; GRZYBOWSKI, 2015).

O desequilíbrio entre a produção de EROS e a produção de sistemas de defesas antioxidantes (catalase, superóxido desmutase e glutathione peroxidase) gera o estresse oxidativo, que pode causar danos às biomoléculas como os lipídeos, as proteínas e o DNA (AVENDÑO; MENENDES, 2008).

A geração de EROS durante a inflamação é importante, pois visa à eliminação de agentes lesivos, todavia estes potentes mediadores podem causar dano celular endotelial devido ao aumento da permeabilidade vascular, bem como amplificar a resposta inflamatória (TAFANI et al., 2015).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

Óleo de cróton, ácido araquidônico, fenilpropionato de etila, fenol, capsaicina, reagente de Folin-Ciocalteu, fosfomolibdênio, DPPH e ABTS foram obtidos da Sigma-Aldrich (EUA, MO, St. Louis).

4.2 Coleta do material botânico e preparação dos extratos

As folhas, flores, frutos, caule e raízes de *S. paniculatum* foram coletados em janeiro de 2013 na cidade de Jaboatão dos Guararapes/PE (8°12'29.0"S 34°55'27.0"W). A autenticação botânica foi feita pela botânica Rita Pereira do Herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) onde a exsicata foi depositada (IPA 88160)

Diferentes órgãos de *S. paniculatum* foram secos a 45 °C em uma estufa com circulação forçada de ar por 24 horas. Depois, o material foi moído, pesado e extraído com etanol 95 °GL (10% p/v) por sete dias protegido da luz. O procedimento de extração foi realizado três vezes. Os extratos de cada órgão foram agrupados e o solvente evaporado a 45 °C em um evaporador rotativo (RV10, IKA®, Alemanha).

4.3 Caracterização fitoquímica

Os extratos etanólico das folhas, flores, frutos, caule s e raízes de *S. paniculatum* foram analisados por cromatografia de camada delgada usando placas de sílica gel F₂₅₄ (ALUGRAM® 818131, Macherey-Nagel, Alemanha) utilizando diferentes sistemas de solventes. Foi verificada a presença ou ausência de flavonoides, fenilpropanoides, terpenoides, esteroides, saponinas, alcaloides, cumarinas, proantocianinas, quinonas, e açúcares redutores, como descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Métodos empregados na prospecção fitoquímica por cromatografia em camada delgada.

<i>Classe de metabólitos secundários</i>	<i>Padrões</i>	<i>Sistema</i>	<i>Revelador</i>	<i>Referência</i>
Flavonoides, derivados cinâmicos e fenilpropanoglicosídeos	Quercetina, rutina e ácido clorogênico	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	NEU	Wagner e Bladt (1996) Brasseur e Angenot (1986)
Triterpenos e esteroides	β-sitosterol	Tolueno:AcOEt (90:10 v/v)	LB	Harborne (1998)
Mono e sesquiterpenos	Timol	Tolueno:AcOEt (97:3 v/v)	Anisaldeído sulfúrico	Harborne (1998)
Cumarinas e Quinonas	Cumarina e lapachol	CHCl ₃ -MeOH (98:2 v/v)	KOH	Wagner e Bladt (1996)
Alcaloides	Pilocarpina	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Dragendorff	Wagner e Bladt (1996)
Proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas	Catequina	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Vanilina clorídrica	Roberts <i>et al.</i> (1957)

Nota - KOH – hidróxido de potássio 5% em EtOH, NEU - difenilborinato de amino-2-etila 1% em MeOH; LB – Liebermann-Burchard.

4.4 Teor de compostos fenólicos

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (Li et al., 2008). Uma alíquota de 200 µL dos extratos, diluído em metanol (1mg/mL), foi adicionado para 1 mL do reagente Folin-Ciocalteu 10 %. Depois de 4 min, 2,5 mL de solução de carbonato de sódio (0,7 M) foi adicionado. Os tubos de ensaio foram incubados por 30 min em temperatura ambiente, protegido da luz, e depois foi realizada a leitura das absorbâncias em 765 nm. O ácido gálico foi usado como padrão para curva de calibração (0 – 100 mg/L). Os resultados foram obtidos a partir da equação de regressão: $y = 0,0121x + 0,032$, $R^2 = 0,9967$ e expressados como miligrama de equivalente de ácido gálico (mgGAE)/g de extrato. As dosagens foram realizadas em triplicata.

4.5 Teor de flavonoides

A determinação de flavonoides foi realizada pelo método descrito por Woisky e Salatino (1998). Uma alíquota de 0,5 mL dos extratos diluída em metanol (1 mg/mL) foi adicionada em 0,5 mL de $AlCl_3$ 2% em metanol. Os tubos de ensaio foram incubados por 30 min em temperatura ambiente, protegidos da luz, e em seguida foi realizada a leitura das absorbâncias em 420 nm. A quercetina foi usada como padrão para curva de calibração (0 – 100 mg/mL). Os resultados foram obtidos a partir da equação de regressão: $y = 0.0262x - 0,0892$, $R^2 = 0,9982$ e expressados como miligrama de equivalente de quercetina (mgQE)/g de extrato. As dosagens foram realizadas em triplicata.

4.6 Atividade antioxidante *in vitro*

4.6.1 Capacidade antioxidante total

A capacidade antioxidante total dos extratos etanólicos de *S. paniculatum* foi determinada pelo método do fosfomolibdênio usando o ácido ascórbico como padrão (Pietro et al., 1999). Uma alíquota de 0,1 mL dos extratos diluído em metanol (1 mg/mL) foi adicionada para 1 mL de solução reagente (600 mM ácido sulfúrico, 28mM fosfato de sódio e 4 mM de molibdato de amônio). Os tubos de ensaio foram tampados e incubados em banho de água fervente a 95 °C por 90 min. Após resfriamento, as absorbâncias foram mensuradas em 695 nm contra o branco (1 mL da solução reagente e 0,1 mL de metanol). A atividade antioxidante total foi expressa em relação ao ácido ascórbico e calculada pela seguinte fórmula,

$$\%TAC = \frac{Sabs - Babs}{AAabs - Babs} \times 100$$

Onde, Babs é a absorbância do branco, Sabs é a absorbância das amostras (extratos) e AAabs é a absorbância do ácido ascórbico.

4.6.2 DPPH (2,2-difenil1-picrilhidrazil)

A capacidade de sequestrar o radical livre DPPH dos extratos etanólicos de *S. paniculatum* foi determinada usando microplacas de 96 poços como descrito por Brand-Williams et al., (1995). Resumidamente, 0,04 mL dos extratos ou ácido gálico, diluídos em metanol (1,56, 3,125, 6,25, 12,5, 25, 50, 100 µg/mL) e 0,25 mL de solução de DPPH 1 mM em metanol foi adicionado a cada poço. As microplacas foram mantidas por 30 min em temperatura ambiente, protegidas da luz. Depois deste tempo, foi medida a absorbância em 517 nm. O percentual de sequestro de radical livre DPPH foi calculado para cada concentração dos extratos pela seguinte fórmula:

$$DPPH\ inhibition\ (\%) = \frac{Sabs - Babs}{Babs} \times 100$$

Onde, Babs é a absorbância do branco e Sabs é a absorbância das amostras.

A partir dos valores de inibição, foi calculada a CE50 de cada amostra por regressão não linear.

4.6.3 ABTS (2,2-azobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)

O ABTS (7mM) foi oxidado pela adição de 140 mM de persulfato de potássio. A solução foi mantida em temperatura ambiente por 16 horas, no escuro. Antes do uso, a solução ABTS⁺ foi diluída com etanol para uma absorbância de 0,70 ± 0,02 unidades em 734 nm. Para a determinação da atividade de eliminação do radical ABTS⁺ pelos extratos etanólicos de *S. paniculatum*, 0,01 mL dos extratos diluídos em metanol foi adicionado para 1,0 mL da solução de ABTS⁺. Após 6 min no escuro, as absorbâncias foram mensuradas em 734 nm e os resultados expressos como percentual de inibição.

4.7 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos extratos de *S. paniculatum* foi avaliada pelo método de difusão em disco de acordo com Bauer et al., (1966). Os extratos foram testados contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* – UFPEDA 02, *Micrococcus luteus* – UFPEDA 06, *Bacillus subtilis* – UFPEDA 16, e *Enterococcus*

faecium – UFPEDA 138), Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* – UFPEDA 39, *Escherichia coli* – UFPEDA 224, e *Serratia marcescens* – UFPEDA 398) e álcool-ácido resistentes (*Mycobacterium smegmatis* – UFPEDA 71), além de levedura (*Candida albicans* – UFPEDA 1007). Todos os micro-organismos foram obtidos da Coleção de Cultura do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA).

Discos de papel (Whatman nº 2) com 6 mm de diâmetro foram impregnados com 20 µL da solução de 20.000 µg/mL dos extratos dissolvidos em DMSO. Os discos foram então colocados em meio semeado com um dos micro-organismos. As seguintes drogas padrão foram usadas como controle: cetoconazol (Neomicina, Brasil), para levedura, cefalexina (Eurofarma, Brasil) e canamicina (Centro de Controle e Produtos para Diagnóstico-CECON, Brasil) para bactérias. Os testes foram realizados em triplicata. Os resultados (diâmetro da zona de inibição em volta do disco) foram expressos em mm. O teste de controle negativo foi realizado com discos embebidos em DMSO.

Devido a sua atividade, frente a bactérias Gram-positivas, o extrato das folhas foi testado contra isolados clínicos multirresistentes de *S. aureus* obtidos de feridas humanas. A concentração inibitória mínima (CMI) e a concentração bactericida mínima (CMB) foram calculadas pelo método de micro diluição. Os testes foram realizados em caldo Müller-Hinton, pH 7,4 e foi aplicada a técnica de dupla diluição em série. Uma solução estoque de 1,000 µg/mL de cada extrato foi preparada. Uma suspensão padronizada de microrganismos foi preparada para utilização com um tubo de 0,5 na escala McFarland. A placa foi incubada por 18 horas e depois disso um corante indicador resazurin (Sigma-Aldrich, USA) foi aplicado para mostrar se houve crescimento microbiano nos poços. A CMI foi determinada como a concentração do último poço onde não houve crescimento microbiano. A partir deste experimento, o conteúdo dos poços foi semeado em placas com meio ágar Müller-Hinton para estabelecer a concentração bactericida mínima (CMB), que é a concentração em que não há crescimento de colônias. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.8 Quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE

A quantificação do ácido clorogênico foi realizada utilizando um cromatografo líquido de alta eficiência da Shimadzu Prominence LC-20AT com um detector de

arranjo de diodo (SPDM20), injetor automático SIL-20AC, forno CTO-20A e degaseificador DGU-20A5. A separação cromatográfica foi feita com uma coluna Luna C-18 (150 mm x 4,6 mm x 5 µm, Phenomenex). Foi utilizado como fase móvel a mistura de H₂O:ácido acético (99:1, Solvente A) e metanol (Solvente B), com sistema de eluição: 0-30 min, 5-30 % de B, 30-40 min, 30-100% de B, 45 min, 100% de B, 45-48 min, 100-5% de B, 50 min 5% de B. Fluxo de 1,0 mL/minuto, temperatura de 40°C e para monitoramento foi utilizado o comprimento de onda de 320nm. Para a filtração das amostras foram utilizados filtros de nylon (Whatman) 0,45 µm. Todos os solventes utilizados foram grau HPLC. A curva de calibração utilizando padrão externo, foi realizada nas concentrações variando de 0,025 a 0,80 mg/mL, em triplicata. O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foi de 0,0285 mg/mL e 0,0863 mg/mL, respectivamente.

Para a quantificação do β -sitosterol e do estigmasterol foi utilizado um equipamento da Shimadzu Prominence LC-20AT com um detector de Espalhamento de Luz Evaporativo – ELSD (3300, Alltech Associates, USA), injetor automático SIL-20AC, forno CTO-20A e degaseificador DGU-20A5. A separação cromatográfica foi feita com uma coluna Luna C-18 (150 mm x 4,6 mm x 5 µm, Phenomenex). Foi utilizado como fase móvel metanol (grau HPLC) com fluxo de 1,0 mL/min, temperatura da coluna de 40°C, temperatura do *drift tube* de 70 °C e um fluxo de nitrogênio em 2 mL/min. Para a filtração das amostras foram utilizados filtros de nylon (Whatman) 0,45 µm. A curva de calibração utilizando padrão externo, foi realizada nas concentrações variando de 0,0156 a 0,125 mg/mL, tanto para o β -sitosterol quanto para o estigmasterol, ambos em triplicata. O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) para o β -sitosterol foi de 0,135µg e 0,408µg, respectivamente, e para o estigmasterol foi de 0,131µg e 0,396µg, respectivamente.

4.9 Estudos *in vivo* da atividade anti-inflamatória

4.9.1 Animais

Para os diferentes modelos avaliados foram utilizados camundongos Swiss e BALB/c, machos e fêmeas, entre 8 e 12 semanas de idade. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada (22 ± 2 °C) e ciclo claro/escuro de 12 horas, com livre acesso a comida e água. Todos os procedimentos experimentais que foram

realizados estão de acordo com o Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA) e foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso Animal da Universidade Federal de Pernambuco (nº 59/2015).

4.9.2 Atividade anti-inflamatória tópica

4.9.2.1 Edema de orelha

A atividade anti-inflamatória tópica do extrato das folhas de *Solanum paniculatum* foi avaliada por meio da inibição da formação do edema de orelha induzido pela ação dos diferentes agentes flogísticos (óleo de cróton, ácido araquidônico, fenilpropionato de etila, capsaicina e fenol) (RAUH, *et al.*, 2011). Para os referidos modelos foram realizados os seguintes grupos experimentais Tabela 2:

Tabela 2 – Descrição dos grupos experimentais

Grupos (n = 6)	Atividade anti-inflamatória tópica do extrato etanólico das folhas de <i>Solanum paniculatum</i>
G1	Grupo que recebeu 0,1 mg /20µL por orelha
G2	Grupo que recebeu 0,5 mg /20µL por orelha
G3	Grupo que recebeu 1,0 mg /20µL por orelha
G4	Grupo que recebeu óleo de cróton 2% - 20µL por orelha
G5	Grupo que recebeu o fármaco padrão - 20µL por orelha (Dexametasona e Indometacina)

Fonte: Autor

Após períodos de tempo específicos para cada modelo (pico inflamatório), os animais foram eutanasiados e uma amostra de 6 mm de diâmetro foi retirada de cada orelha com auxílio de um *punch* de biópsia. As amostras foram pesadas em balança analítica (Shimadzu, Japão) e o edema foi calculado pela diferença do peso das amostras da orelha esquerda (controle negativo) e da orelha direita (grupos testes e controle positivo) do mesmo animal.

4.9.2.2 Edema de orelha induzido por óleo de cróton

O referido modelo permite identificar os inibidores das enzimas COX e LOX. Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.). Um grupo recebeu apenas 20 µL óleo de cróton a 2% em acetona sendo aplicado na superfície interna e externa da orelha direita dos animais. Em seguida, os demais grupos receberam além do óleo do cróton o extrato de *Solanum paniculatum* e o fármaco-padrão (indometacina) diluídos no mesmo volume de acetona e aplicado na orelha direita. A orelha esquerda recebeu somente acetona que funciona como controle negativo. Após seis horas os animais foram sacrificados e a resposta inflamatória foi avaliada (TUBARO, 1985).

4.9.2.3 Edema de orelha induzido por ácido araquidônico

Os animais, camundongos BALB/c, foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.) e em seguida foi aplicado na superfície interna e externa da orelha direita dos animais o extrato das folhas de *Solanum paniculatum* nas respectivas doses e a indometacina (0,5 mg/orelha) diluídos em 20 µL de acetona, além do grupo que recebeu apenas a solução de ácido araquidônico (2 mg/orelha) diluído no mesmo volume. A orelha esquerda recebeu acetona que funciona como controle negativo. Nesse modelo o pico de formação do edema é avaliado após uma hora (YOUNG, *et al.*, 1984; CRUMMEY, *et al.*, 1987).

4.9.2.4 Edema de orelha induzida por capsaicina

Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.). Foi administrado uma solução de capsaicina (0,25 mg/orelha) diluídos em 20 µL de acetona na superfície junto com as respectivas doses testadas do extrato de *Solanum paniculatum* na parte interna e externa da orelha direita dos animais. Na orelha esquerda foi administrada acetona que funciona como controle negativo. O controle positivo recebeu um pré-tratamento com o fármaco padrão (vermelho de rutênio, 3 mg/kg, s.c.) 30 min antes da administração da solução de capsaicina dissolvido em acetona. O pico inflamatório foi verificado após 30 min de indução (GABOR, 2000; GABOR; RAZGA, 1992).

4.9.2.5 *Edema de orelha induzido por fenol*

Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.). Uma solução de fenol a 10% (p/v) diluída em 20 µL de acetona foi aplicada na superfície interna e externa da orelha direita dos animais. O extrato de *S. paniculatum* e o fármaco-padrão (dexametasona 1 mg/orelha) foram em seguida diluídos no mesmo volume de acetona e aplicados na orelha direita. A orelha esquerda recebeu acetona e funciona como controle negativo. A formação do edema foi avaliada após uma hora da indução. (GÁBOR, 2000).

4.9.2.6 *Edema de orelha induzido por fenilpropiolato de etila – EPP*

O edema de orelha induzido por EPP foi realizado em camundongos BALB/c pela aplicação tópica de 20 µL de EPP (50 mg/mL) diluído em acetona em ambos os lados da orelha direita. Foi aplicado topicamente na orelha direita EFSP (1 mg/orelha) ou dexametasona (0,1 mg/orelha) 16 horas antes da aplicação de EPP, enquanto a orelha esquerda recebeu 20µL do veículo (acetona e acetona/ etanol). Após 1 h, os animais foram eutanasiados para avaliação do edema.

4.10 **Edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton**

O edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton visa avaliar o efeito do extrato em um processo inflamatório já estabelecido. O processo inflamatório foi induzido pela aplicação de 20 µL de óleo de cróton 5% (v/v) em acetona em dias alternados, durante 9 dias, camundongos Swiss (n=10/grupo). O extrato e a dexametasona (0,1 mg/orelha, controle positivo) foram aplicados por via tópica durante 4 dias (2 vezes ao dia) a partir do 5º dia do experimento. No 9º dia do experimento, os animais foram eutanasiados e círculos de 6 mm de tecido das orelhas foram coletados para avaliação do edema (STANLEY et al., 1991).

4.11 **Atividade enzimática da mieloperoxidase**

A atividade da enzima mieloperoxidase, utilizada como indicativo da presença de leucócitos polimorfonucleares, foi avaliada utilizando metodologia de Bradley et al.

(1982) com modificações. Biopsias de 6mm do tecido das orelhas foram adicionados a 0,5 mL de tampão fosfato de sódio 80 mM e pH 5,4 contendo 0,5% de hexadeciltrimetilamônio (HTAB), homogeneizado e centrifugado por 10 minutos a 3000 rpm. Alíquotas (10 µl) do sobrenadante foram distribuídas em placa de 96 poços e adicionado 200 µl da solução de *O*-dianisidina (16,7 mg de *o*-dianisidina [Sigma], 90 ml de água desionizada, 10 ml de tampão de fosfato de potássio, 50 µl de peróxido de hidrogênio a 1%). A atividade enzimática foi determinada colorimetricamente usando leitor de placas na absorbância de 450 nm e expressa como DO/biopsia.

4.12 Análise histopatológica

Amostras de 6 mm de tecido de orelhas de camundongos submetidos a ao modelo de edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton foram preservadas em formaldeído tamponado por 24 horas. Logo após, foram lavadas em solução tampão, desidratadas e, álcool em série crescente de concentração e incluídas em glicol metacrilato historesina (Historesin Leica®). Os cortes de 4 µm foram obtidos em micrótomo (Leica®) modelo RM 2245 equipado com navalha de vidro, distendidos em água destilada e colocados sobre lâminas, levados para secagem em estufa a 60°C por 1 minuto e submetidos às técnicas de coloração pela Hematoxilina - Eosina (HE). As lâminas em duplicatas/animal foram analisadas em microscópio de luz, da marca Leica® modelo DM500 e fotografadas mediante o uso de câmera Leica modelo EC3 acoplada ao microscópio, bem como do software Leica Application Suite (LAS) EZ para análise histopatológica (Almeida et al., 2014).

4.13 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média $\pm$ erro padrão da média e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni. O limite de significância foi considerado como 5% ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPadPrism® 5.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização fitoquímica

5.1.1 Prospecção fitoquímica

A extração com etanol apresentou rendimentos de 16,62 % para as folhas, 15,91% para as flores, 7,01% para os frutos, 3,75% para o caule e 16,35% para as raízes. A prospecção fitoquímica dos extratos etanólicos das folhas, flores, frutos, caule e raiz de *Solanum paniculatum* demonstrou uma forte presença de várias classes de metabólitos secundários, com destaque para os flavonoides, triterpenos e esteroides, mono e sesquiterpenos (Tabela 3).

Tabela 3 – Caracterização fitoquímica do extrato etanólico de *Solanum paniculatum*

Classe de metabólitos secundários	<i>Solanum paniculatum</i> L.				
	Folhas	Flores	Frutos	Caule	Raízes
Flavonoides	+++ ⁽¹⁾	+++ ⁽¹⁾	+++	++	++
Fenilpropanoides	+	+	+++	+++	++
Triterpenos e esteroides	+++	+++	+++	++	+++
Mono e sesquiterpenos	+++	+++	+++	++	+++
Alcaloides	Tr	Tr	Tr	Tr	tr
Proantocianidinas	-	-	-	-	-
Cumarinas	-	-	+	++	+
Quinonas	-	-	-	-	-
Açúcares redutores	-	-	-	-	-

Nota: (1) Heterosídeos de 3'-OH e 3',4'-OH flavonoides (mono, di e triglicosilados)

Legenda: (+++) forte; (++) médio; (+) fraco; (-) ausente; (tr) traços. Fonte: o autor.

Os metabólitos secundários apresentam estruturas complexas, de baixo peso molecular, os quais se destacam na área da farmacologia devido aos efeitos benéficos proporcionados à saúde humana (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

As espécies do gênero *Solanum* apresentam metabólitos secundários importantes na defesa natural tais como: alcaloides e saponinas esteroidais, glicoalcalóides e flavonoides (CHENG; LI; WANG, 2008).

O estudo fitoquímico do extrato bruto das raízes de *Solanum paniculatum* realizado por Macêdo-Costa et al., (2014) revelou a presença de alcaloides e um alto teor de fenóis (flavonóides e taninos). Adicionalmente a esses metabólitos encontrados, Lôbo et al., (2010) revelou em seu estudo a presença de leucoantocianidinas, catequinas e saponinas. Nas partes aéreas desta espécie foram encontrados ácido caféico, flavonoides e duas novas saponinas esteroidais (VIEIRA-JÚNIOR et al., 2015).

Os principais metabólitos secundários encontrados nesse estudo estão em conformidade com estudos anteriores realizados com *Solanum paniculatum*, apresentando pequenas variações, as quais de acordo com Santos (2015) podem ser atribuídas a fatores bióticos e abióticos aos quais as plantas são submetidas.

5.1.2 Teor de fenóis totais

Os resultados obtidos estão expressos como miligrama de equivalente de ácido gálico (mgGAE)/g dos seguintes extratos: flores ($56,20 \pm 4,29$), folhas ($90,91 \pm 2,26$), frutos ($69,75 \pm 2,36$), caule ($68,57 \pm 0,24$) e raiz ($78,84 \pm 1,57$). Estes achados evidenciam que o teor de fenóis totais variou de 5,6 – 9,0% sendo os extratos das folhas e das raízes os que apresentaram um maior teor de fenóis quando comparado com os demais extratos.

Os compostos fenólicos são produzidos através do metabolismo secundário de algumas plantas, os quais apresentam estruturas variadas. Dentre os diversos compostos fenólicos destacam-se os ácidos fenólicos, os taninos e os flavonoides. A estes metabólitos secundários são atribuídos algumas funções biológicas e farmacológicas em meio às quais se destaca atividade antioxidante (HAIADA et al., 2011).

Estes compostos apresentam uma estrutura química que favorece a atividade eliminadora de radicais livres, através da doação de um átomo de hidrogênio ou de um elétron. A atividade antioxidante se deve as suas propriedades redox que possibilita atuar como agentes redutores, doadores de hidrogênio, supressores de radical livre e potencial quelante de metais (SILVA et al., 2011).

5.1.3 Teor de flavonóides

Os teores de flavonóides encontrados nos extratos etanólicos de *S. paniculatum* foram os seguintes: flores ($17,96 \pm 0,93$), folhas ($13,62 \pm 1,77$), frutos ($6,46 \pm 0,20$), caule ($17,73 \pm 1,06$) e raiz ($37,09 \pm 1,42$) (mgQE)/g de extrato.

Os flavonoides são compostos polifenólicos que apresentam caracteristicamente dois anéis aromáticos e um heterociclo oxigenado, aos quais são atribuídas atividades biológicas como anti-inflamatória, antitumoral e antioxidante (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

A atividade antioxidante deste composto está relacionada à capacidade de capturar e neutralizar espécies oxidantes como o ânion superóxido (O_2^-) e o radical hidroxila (OH), de sequestrar radicais livres, de inibir as enzimas ciclooxigenases, lipoxigenases, NADPH-oxidase, xantina-oxidase, fosfolipase e de estimular enzimas antioxidantes como a catalase e a superóxido-dismutase (SIMÕES et al., 2010).

5.2 Atividade antioxidante *in vitro*

5.2.1 Capacidade antioxidante total

A avaliação da atividade antioxidante total, realizada pelo método do complexo fosfomolibdênio, se baseia na redução do molibdênio. O molibdênio se encontra no estado de oxidação (VI), todavia na presença de substâncias antioxidantes como compostos fenólicos ocorre a formação de um complexo de coloração verde o fosfato/molibdênio (V), determinado espectrofotometricamente em 695 nm. Os extratos apresentaram os seguintes valores de atividade antioxidante: flores ($20,66 \pm 1,12\%$), folhas ($69,66 \pm 1,86\%$), frutos ($62,94 \pm 4,12\%$), caule ($46,91 \pm 2,99\%$) e raiz ($46,15 \pm 4,65\%$) em relação ao ácido ascórbico que apresenta atividade de 100%.

Dos extratos estudados, o extrato etanólico das folhas de *S. paniculatum* apresentou uma maior atividade antioxidante, exibindo o valor percentual mais próximo ao do ácido ascórbico. Este resultado pode estar associado à presença de uma maior quantidade de compostos fenólicos presentes nas folhas desta espécie.

5.2.2 DPPH (2,2-difenil1-picrilhidrazil)

Os extratos apresentaram os seguintes valores de CE_{50} : flores $CE_{50} = 766,4$ (301,1-105,1), folhas $CE_{50} = 177,7$ (171,1- 184,7), frutos $CE_{50} = 478,0$ (350,8 – 651,3), caule $CE_{50} = 323,8$ (298,8-351,0) e raiz $CE_{50} = > 1000$. O padrão utilizado foi o ácido gálico, o qual apresentou EC_{50} de 8,654 (7,903 – 9,477) $\mu\text{g/mL}$.

De acordo com esses dados fica evidente, que as folhas apresentaram uma maior atividade antioxidante, quando comparada com as demais partes da planta estudada. Este resultado corrobora os de Ribeiro e colaboradores (2007) que ao avaliar a atividade antioxidante de *S. paniculatum* verificou que o extrato etanólico das folhas apresentou uma maior atividade antioxidante quando comparado com os extratos hexânicos e aquoso.

O estudo da atividade antioxidante de espécies do gênero *Solanum* também foi realizado por Coutinho (2009), que avaliou a atividade antioxidante do extrato metanólico das raízes de quatro espécies: *S. granulosoleprosum*, *S. torvum*, *S. paniculatum* e *S. mauritianum*. Dentre estas *S. torvum* e *S. paniculatum* apresentaram atividade antioxidante maior do que as demais CE_{50} (7,36 $\mu\text{g/mL}$) e ($CE_{50} = 9,51$ $\mu\text{g/mL}$) respectivamente, mostrando valores de CE_{50} próximos ao do padrão *Ginkgo biloba* (7,30 $\mu\text{g/mL}$). O autor atribuiu esta relevante atividade antioxidante a presença de flavonoides e compostos fenólicos. De acordo com Souza e colaboradores (2007) a capacidade dos compostos fenólicos de sequestrar e neutralizar radicais livres se deve a estrutura e a propriedade redutora dos mesmos.

5.2.3 ABTS (2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)

Os extratos apresentaram os seguintes percentuais de inibição após 6 min de incubação: flores ($32,20 \pm 4,58\%$), folhas ($46,76 \pm 4,31\%$), frutos ($31,85 \pm 0,51\%$), caule ($42,17 \pm 2,80\%$) e raízes ($53,63 \pm 4,11\%$). Os valores de inibição obtidos revelam que dentre as partes da planta estudada, as raízes apresentam uma maior atividade antioxidante, quando comparada com as demais partes da planta.

Os resultados obtidos pelos diferentes métodos usados para análise da atividade antioxidante dos extratos de *S. paniculatum* evidenciam certa consonância entre os valores obtidos pelas diferentes metodologias. A relevante atividade antioxidante apresentada pelos métodos P-Mo, DPPH e ABTS verificada no extrato das folhas,

quando comparada com os demais extratos pode ser resultante da grande quantidade de compostos fenólicos presentes. Todavia, na análise pelo método de ABTS se verificou que o extrato das raízes apresentou atividade antioxidante superior ao extrato das folhas, mesmo apresentando uma quantidade menor de compostos fenólicos.

Tiveron (2010) obteve resultados semelhantes em seu estudo, no qual avaliou a atividade antioxidante de alguns vegetais, e observou que o extrato da salsa apresentava um dos menores teores de compostos fenólicos e também uma das mais baixas atividades antioxidante, quando avaliado pelo método DPPH, todavia esta hortaliça apresentou atividade antioxidante considerável ao ser avaliada pelo método ABTS. Logo, estes resultados mostram que há variação da atividade antioxidante de acordo com a metodologia utilizada e que os vegetais que apresentam os menores teores de compostos fenólicos, não necessariamente possuem baixa atividade antioxidante. Desta forma, a avaliação da atividade antioxidante por diferentes metodologias é importante, uma vez que todas as metodologias apresentam vantagens e limitações.

5.3 Atividade antimicrobiana

Os resultados da atividade antimicrobiana dos extratos de *S. paniculatum*, obtidos pelo método de difusão de disco, frente a bactérias Gram-positivas (*S. aureus*, *M. luteus*, *E. faecium*, *B. subtilis*), Gram-negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. marcescens*), ácido-álcool resistentes (*M. smegmatis*) e levedura (*C. albicans*) estão expressos na Tabela 5.

Tabela 4 – Análise da atividade antimicrobiana dos extratos de *S. paniculatum* frente a bactérias Gram-positivas, Gram negativas, álcool-ácido resistentes e a leveduras, pelo método de difusão de disco.

Extratos de <i>Solanum</i> <i>paniculatum</i>	Micro-organismos								
	Gram-positivos				Gram-negativos			Álcool-ácido resistente	Levedura
	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>M. smegmatis</i>	<i>C. albicans</i>
Folhas	20,67 ± 0,33 mm	22,67 ± 0,33 mm	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Flores	NI	15,33 ± 1,20 mm	NI	NI	NI	NI	NI	NI	8,33 ± 0,33 mm
Frutos	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Caule	NI	16,00 ± 0,00 mm	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Raíz	13,67 ± 0,33 mm	20,00 ± 0,00 mm	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Canamicina (30 µg/disco)	23,00 ± 0,67 mm	28,3 ± 0,33 mm	NI	14,0 ± 0,00 mm	20,00 ± 0,00 mm	NI	15,33 ± 1,20 mm	40,00 ± 0,00 mm	-
Cefalexina (30 µg/disco)	35,33 ± 1,20 mm	54,33 ± 1,20 mm	24,67 ± 0,33 mm	45,00 ± 0,00 mm	NI	24,33 ± 1,20 mm	NI	NI	-
Cetoconazol (300 µg/disco)	-	-	-	-	-	-	-	-	24,1 ± 0,19 mm

NI – Não inibiu; (-) – Não testado.

Fonte: Autor.

Estes resultados evidenciam uma maior atividade antimicrobiana dos extratos frente a bactérias Gram-positivas, principalmente *S. aureus* e *M. luteus*, apresentando valores de inibição maiores que $13,00 \pm 0,00$ mm, resultados semelhantes aos da canamicina utilizada como controle positivo. Os extratos estudados não apresentaram atividade para *E. faecium*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. marcescens* e *M. smegmatis*. E o extrato dos frutos não inibiu o crescimento de nenhum dos microrganismos testados.

A partir destes achados, os extratos foram testados contra isolados clínicos multirresistente a *S. aureus* e a concentração mínima inibitória (CMI), bem como a concentração mínima bactericida (CMB) foram calculadas pelo método de microdiluição. Dentre os extratos estudados, apenas o extrato das folhas foi testado para estas cepas e os resultados estão expressos na Tabela 6.

Tabela 5 – Atividade antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de *S. paniculatum* frente a várias cepas de isolados clínicos de *S. aureus*.

Cepas	Extrato das folhas de <i>S. paniculatum</i>	
	CMI	CMB
711	250	>1000
725	250	>1000
729	250	>1000
730	62,25	500
731	62,25	1000
732	250	>1000

Cepas de *S. aureus* (711, 725, 729, 730, 731 e 732).

Fonte: Autor.

A atividade antimicrobiana do extrato das raízes de *S. paniculatum* foi avaliada por Lôbo et al., (2010). Neste estudo se verificou que esta espécie apresenta atividade contra *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*, apresentando valores CMI relevantes. Os resultados obtidos foram atribuídos à presença de alcaloides e taninos encontrados no extrato estudado.

O estudo realizado por Abbas e colaboradores (2014) revelou que os extratos etanólico de *S. nigrum* e *S. xanthocarpum* apresentam atividades contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos. A análise comparativa da atividade das duas espécies revelou que *S. nigrum* apresenta maior potencial de inibição contra bactérias Gram-positivas (*M. varians*, *M. luteus* e *S. aureus*), enquanto *S. xanthocarpum* inibe mais efetivamente bactérias Gram-negativas (*Salmonella typhi*, *Pasteurella maltocida* e *E. coli*). Segundo o autor a atividade antimicrobiana se deve a presença de alcaloides, glicosídeos e terpenos.

5.4 Quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE

5.4.1 Quantificação do ácido clorogênico

Os ácidos clorogênicos contemplam uma família de ésteres constituídos por ácidos hidroxinâmicos e o ácido quínico. O ácido clorogênico mais comum é o ácido 5-cafeoilquínico, o qual é formado pela junção do ácido quínico com o ácido cafeico (GARAMBONE, 2007).

Estes ácidos são encontrados em fontes alimentares como café, frutas cítricas, maçãs, peras, frutas silvestres, alcachofra e berinjela. E por se tratar de compostos polifenólicos são atribuídas atividades antibacteriana e imunorreguladora, mas principalmente atividade antioxidante (FRANK et al., 2003; SIMÕES et al., 2010).

De acordo com o estudo realizado por Hwang e colaboradores (2014), o ácido clorogênico apresenta atividade anti-inflamatória, atuando inibindo produção de NO, bem como a expressão de COX-2 e de citocinas inflamatórias (IL-1 β e TNF- α).

A curva de calibração foi obtida utilizando padrão externo em concentrações variando de 0,025 a 0,80 mg/mL, sendo o limite de detecção (LD) e o de quantificação (LQ) de 0,0285 mg/mL e 0,0863 mg/mL, respectivamente conforme a figura 5.

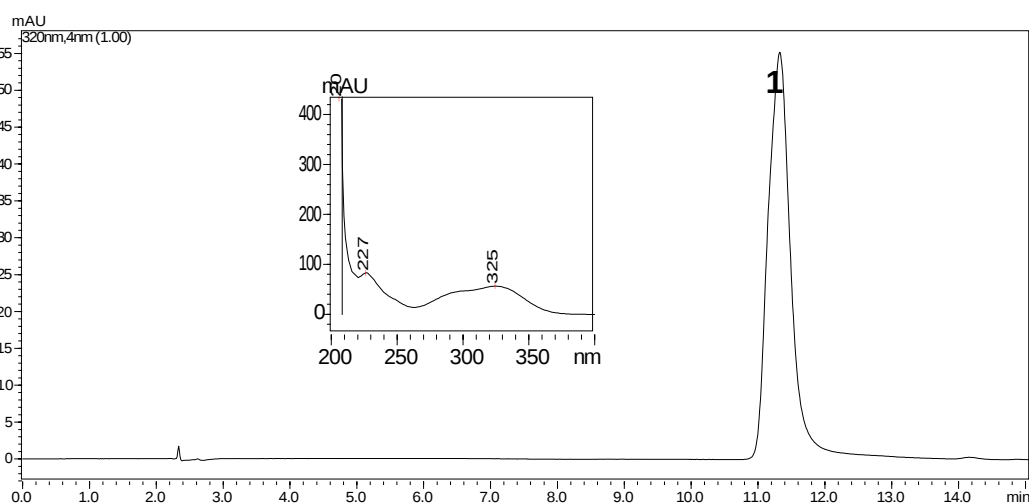
Figura 5 - Curva de calibração do ácido clorogênico

$Y = aX + b$, onde $a = 1234919$ e $b = -13871,16$. $R^2 = 0.9991537$ e $R = 0.9995767$

Fonte: Autor.

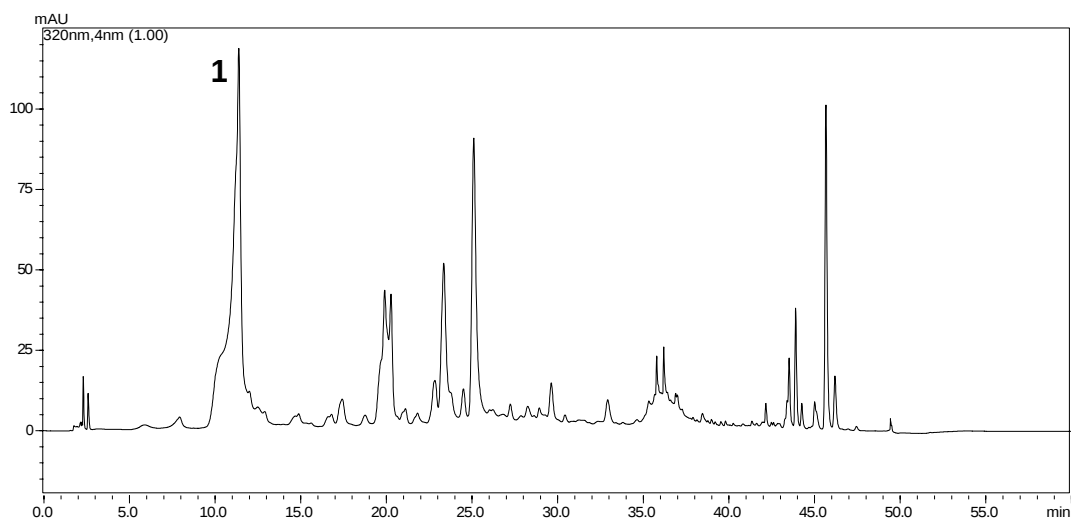
A quantificação do ácido clorogênico foi realizada no extrato etanólico das folhas de *S. paniculatum*. Foram injetados 30µL do extrato a uma concentração de 2,5 mg/mL. A quantificação foi realizada com base na altura do pico (Figura 6).

Como resultado tem que em 75,0 µg de extrato etanólico das folhas de *S. paniculatum*, 2,88µg é de ácido clorogênico.

Figura 6. Cromatograma obtido por CLAE-DAD do ácido clorogênico. Comprimento de onda 320nm.

Fonte: Autor

Figura 7. Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato EtOH das folhas de *Solanum paniculatum*. Comprimento de onda 320nm. (1) ácido clorogênico.



Fonte: Autor

A análise química e citotóxica do extrato das raízes de *Solanum paniculatum* realizada por Tenório et al., (2012) mostrou através da HPLC-DAD um pico identificado como ácido clorogênico corroborando com os nossos achados. O autor atribuiu a excelente atividade citotóxica do extrato etanólico de *Solanum paniculatum*, inibindo a proliferação de 92% do crescimento celular das células HL-60 (referente à leucemia promielocítica) ao ácido clorogênico, devido a sua capacidade de regular as alterações fenotípicas de células tumorais, sugerindo possível atividade anticancerígena.

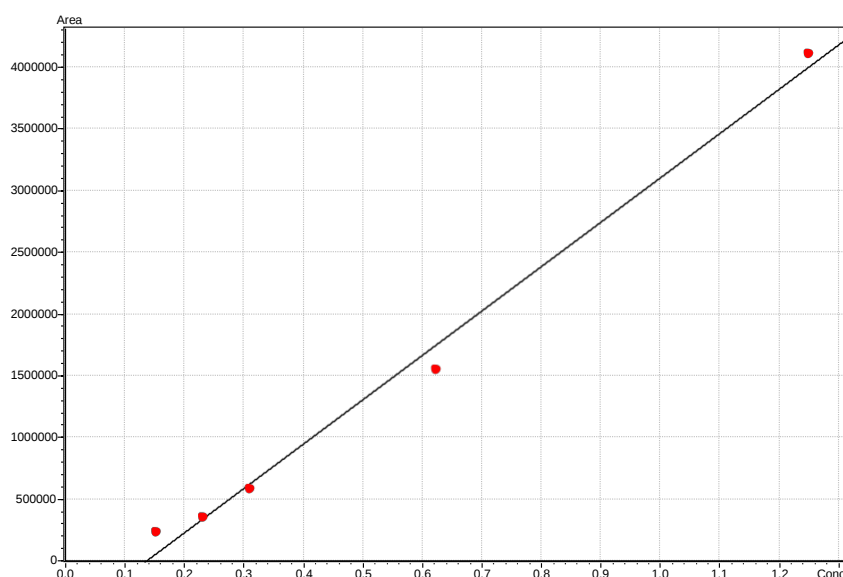
5.4.2 Quantificação do β -sitosterol e estigmasterol

Constituintes naturais das plantas, os fitoesteróides são estruturalmente semelhantes ao colesterol e são representados principalmente pelo β -sitosterol, estigmasterol e campesterol. As principais fontes destes fitoesteróides são leguminosas, grãos de cereais, óleos vegetais e castanhas (WOYENGO et al., 2009).

Dentre os esteróis vegetais o β -sitosterol é o mais abundante e de acordo com Park et al., (2008) ele atua na redução da absorção de colesterol, promovendo a diminuição dos níveis de colesterol-LDL no sangue e consequentemente os riscos de doenças cardiovasculares e também apresenta atividade anti-inflamatória, aumentam a atividade de enzimas antioxidantes reduzindo o estresse oxidativo, bem como inibindo o crescimento de células cancerígenas.

O estigmasterol é um esterol vegetal insaturado usado na prevenção de certos tipos de câncer, apresenta atividade anti-inflamatória através da inibição de citocinas pró-inflamatórias e de mediadores envolvidos no desenvolvimento da osteoartrite e possui uma potente atividade antioxidante (RUBY et al., 2013)

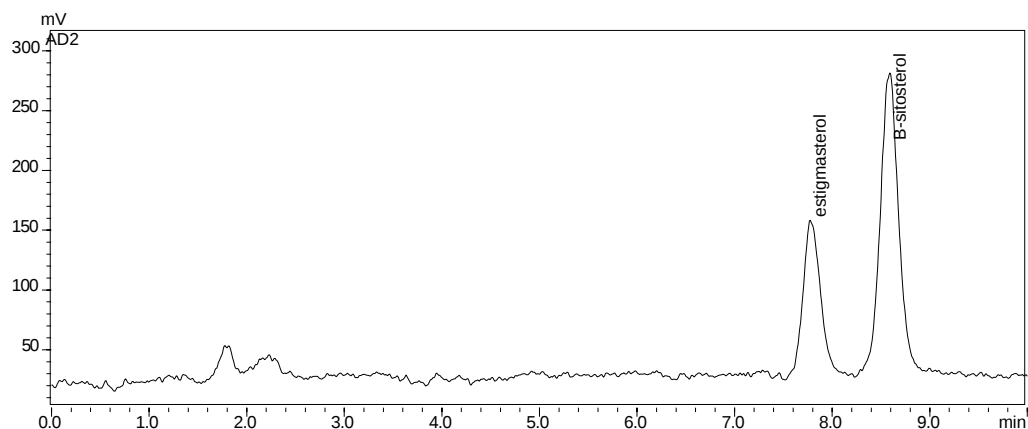
Figura 8- Curva de calibração do β -sitosterol e estigmasterol



$$Y = aX + b, a = 3595587 \text{ e } b = -492610,1. R^2 = 0.9923540 \text{ e } R = 0.9961697$$

Fonte: Autor

Figura 9. Cromatograma obtido por CLAE-ELSD do β -sitosterol e do estigmasterol.



Fonte: Autor

A quantificação do β -sitosterol e do estigmasterol foi feita com o extrato etanólico das folhas de *S. paniculatum*. A cada 148,0µg de extrato tem-se 0,654µg e 1,902µg de β -sitosterol e estigmasterol, respectivamente.

Tabela 6. Análises quantitativas das substâncias identificadas no extrato etanólico das folhas de *S. paniculatum* (a cada 100,0µg de extrato).

Extrato EtOH das folhas de <i>S. paniculatum</i> (Em 100,0µg de extrato)	
Ácido clorogênico	3,84 µg
β-sitosterol	0,442 µg
Estigmasterol	1,285 µg

Fonte: Autor

5.5 Atividade anti-inflamatória tópica

A pele é constituída por uma porção epitelial de origem ectodérmica, a epiderme e uma porção conjuntiva de origem mesodérmica denominada derme. É um dos maiores órgãos do corpo, atingindo cerca de 16% do peso corporal, e é responsável por desempenhar inúmeras funções (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

As principais funções da pele são: proteção, termorregulação, respostas imunológicas, manutenção e defesa. E devido ao fato de está localizada na interface com o meio externo, a pele está sujeita a estímulos por agentes mecânicos, químicos, físicos, assim como de patógenos. Dentre os mecanismos de defesa do corpo, a inflamação é um dos principais, o qual visa à eliminação do agente lesivo e o restabelecimento da homeostase (BRITO, 2012).

A administração tópica de compostos com propriedades anti-inflamatórias no tratamento de doenças cutâneas possibilita uma maior eficácia, pois promovem absorção adequada e atingi locais específicos da pele, obtendo desta forma melhores efeitos farmacológicos (PEREIRA et al., 2015).

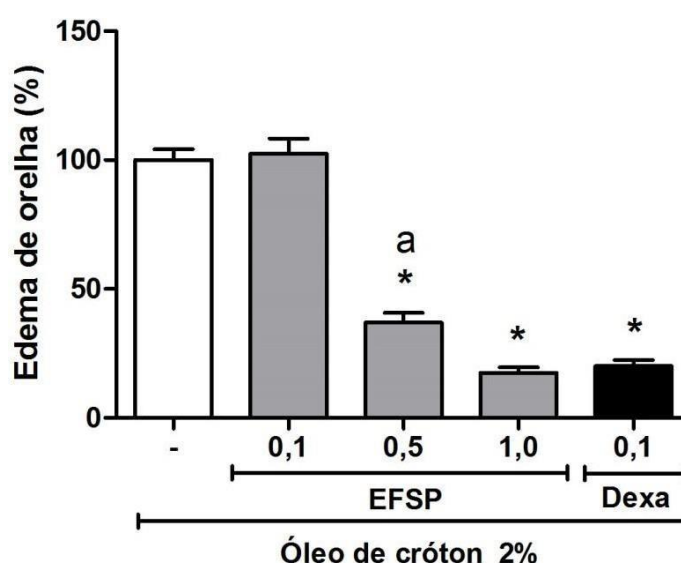
A atividade anti-inflamatória tópica das folhas de *Solanum paniculatum* foi avaliada neste estudo através de modelos de edema de orelha induzido por diferentes agentes flogísticos: óleo de cróton, ácido araquidônico, capsaicina, fenol e EPP.

O primeiro modelo utilizado para avaliar a atividade anti-inflamatória do EFSP foi o edema de orelha induzido por óleo de cróton. De acordo com Saraiva e

colaboradores (2011) o óleo de cróton atua na ativação da fosfolipase A2 (PLA2), COX, LOX, proteína quinase C (PKC), bem como na liberação de histamina e serotonina. Sendo assim este agente flogístico, que tem como principal agente irritante o acetato de tetradecainol-forbol (TPA), atua no desenvolvimento da resposta inflamatória aguda, promovendo a formação do edema, através da infiltração de leucócitos e macrófagos, células responsáveis pela liberação dos mediadores químicos como prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, lipoxinas, assim como de outros mediadores, os quais são responsáveis pela vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, apresentando resposta inflamatória máxima seis horas à indução (ANDUJAR et al., 2010; MOTTA et al., 2013).

No referido modelo, o EFSP apresentou uma redução estatisticamente significativa do edema induzido por óleo de cróton de 63% e 82,5% nas doses de (0,5 e 1,0 mg/orelha) quando comparados com controle negativo, bem como mostrou atividade semelhante a dexametasona usada como controle positivo, a qual apresentou inibição de 79,8%. O EFSP na dose 0,1 mg/orelha não apresentou redução do edema (Figura 10).

Figura 10 - Efeito tópico do extrato etanólico das folhas de *Solanum paniculatum* no edema de orelha induzido por óleo de cróton 2%. Os resultados foram expressos em média $\pm$ SEM e analisados por ANOVA com pós-teste Bonferroni com significância de $*p < 0,05$. -: Veículo; EFSP 0,1, 0,5 e 1,0 mg/orelha; Dexametasona (0,1 mg/orelha) - Controle positivo.



Fonte: Autor

Estes resultados estão em consonância com outros estudos da atividade anti-inflamatória realizados com outras espécies do gênero *Solanum*, através deste modelo. O estudo da atividade anti-inflamatória tópica do extrato etanólico das folhas de *Solanum corymbiflorum* realizado por Piana e colaboradores (2015) demonstrou significativa atividade anti-inflamatória com inibição máxima do edema induzido por óleo de cróton de 87% na dose de 1 mg/orelha, quando comparado com o controle negativo e com a dexametasona, usada como controle positivo, a qual apresentou o percentual de inibição de 89%. E o potencial anti-inflamatório do extrato etanólico (EE) e da fração alcaloide (FA) dos frutos de *Solanum lycocarpum* foi também avaliado por este modelo por Viera-Júnior et al (2003), o qual mostrou EE e AF foram capazes de inibir o edema de orelha induzido por óleo de cróton numa dose-dependente ($P < 0,05$ vs controle) e que a maior dose da FA testada (100 mg/kg, sc) produziu uma inibição de 48,9% do edema, enquanto a dexametasona apresentou 71,4%.

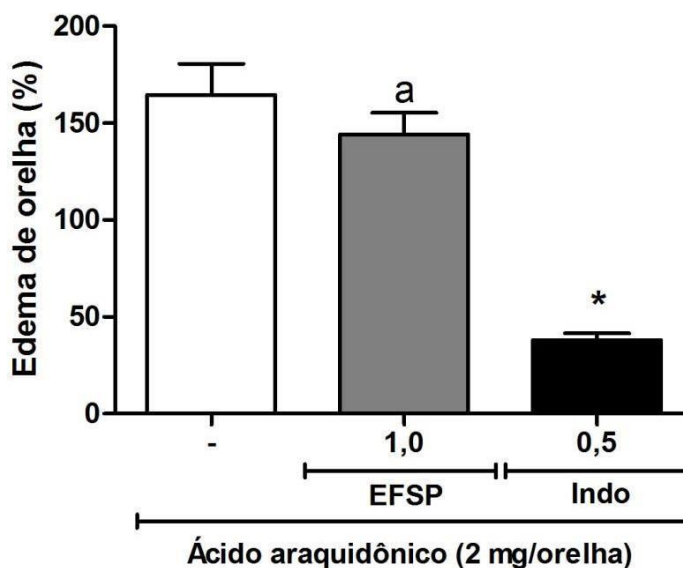
De acordo com Tubaro (1985) o modelo de óleo de cróton é sensível a variadas classes de agentes farmacológicos como os anti-inflamatórios esteroidais (AINES) (indometacina), anti-inflamatórios não esteroides (dexametasona), dentre outros e por isso é usado para avaliar a atividade anti-inflamatória tópica como triagem.

Em seguida, foi analisada a atividade anti-inflamatória do EFSP pela via do metabolismo do ácido araquidônico (AA).

A aplicação tópica do ácido araquidônico gera uma resposta inflamatória rápida, a qual se deve a ação das enzimas COX e LOX que promovem a formação de mediadores responsáveis pelo edema (YOUNG et al., 1984; CRUMEY et al., 1987). Burchardt & Müller-Peddinghaus (1999) relatam que este agente flogístico é usado comumente para avaliar a atividade anti-inflamatória de compostos inibidores principalmente das lipoxigenases e atribui a formação do edema principalmente ao aumento dos níveis de leucotrienos (LTC_4 e LTB_4) e prostaglandinas (PGE_2).

A aplicação tópica de EFSP na dose 1,0 mg/orelha não inibiu o edema causado pelo ácido araquidônico, apresentando um percentual de inibição de apenas 12%, quando comparado com o controle negativo. A indometacina utilizada como controle positivo apresentou um percentual de inibição de 77%, conforme mostra a Figura 11.

Figura 11 - Efeito tópico do extrato etanólico das folhas de *Solanum paniculatum* no edema de orelha induzido por ácido araquidônico 2,0 mg/orelha. Os resultados foram expressos em média $\pm$ SEM e analisados por ANOVA com pós-teste Bonferroni com significância de $*p < 0,05$; Veículo; EFSP 1,0 mg/orelha; Indo (Indometacina 0,5 mg/orelha) - Controle positivo.



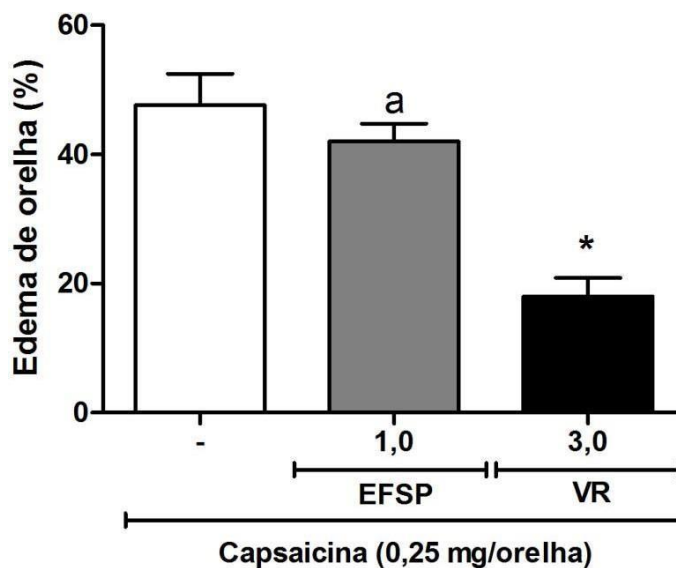
Fonte: Autor

Segundo Young e colaboradores (1984), outros mediadores como a histamina e a serotonina, provenientes da degranulação de mastócitos, também estão envolvidos no processo inflamatório. Sendo assim, se fez necessária à avaliação da atividade anti-inflamatória do EESP frente a estes mediadores através do modelo de edema de orelha induzido por capsaicina.

A capsaicina é encontrada em espécies do gênero *Capsicum* e caracteriza-se por provocar inflamação neurogênica quando em contato com a mucosa ou com a pele. Este agente flogístico é um agonista exógeno potente e altamente seletivo do receptor TRPV1, o qual está associado a liberação de neuropeptídeos, histamina e serotonina responsáveis pelo aumento da permeabilidade vascular, extravasamento plasmático, sensibilização e dor (GÁBOR & RAZGA, 1992; INOUE et al., 1993; ANAND & BLEY, 2011; SARAIVA et al., 2011).

Neste modelo se verificou que o EFSP na dose de 1 mg/orelha não inibiu significativamente o edema, apresentando uma inibição do edema de 12% comparado ao controle negativo e o vermelho de rutênio, utilizado como controle positivo apresentou inibição de 62%, Figura 12.

Figura 12 - Efeito tópico do extrato etanólico das folhas de *Solanum paniculatum* no edema de orelha induzido por capsaicina 0,25 mg/orelha. Os resultados foram expressos em média $\pm$ SEM e analisados por ANOVA com pós-teste Bonferroni com significância de $*p < 0,05$: Veículo; EFSP 1,0 mg/orelha; vermelho de rutênio (3 mg/ ip, 30 min antes da indução) - Controle positivo.



Fonte: Autor

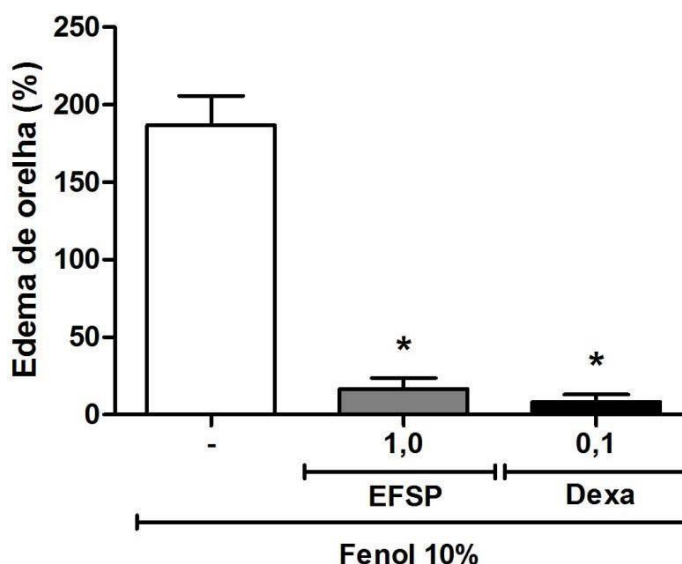
O baixo percentual de redução do edema apresentado pelo EFSP frente a este modelo pode está associado ao baixo potencial de inibição dos receptores TRPV1, o qual é expresso principalmente nos neurônios e está associado ao desenvolvimento de dor neurogênica, assim como da inflamação (SANTOS et al., 2015; TSUJI & AONO, 2012).

O modelo de edema de orelha induzido por fenol se baseia na indução de inflamação cutânea semelhante a uma dermatite (LIM; PARK; KIM, 2004).

O fenol é um agente irritante que ao entrar em contato com a pele causa dano e inflamação, devido à liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, TNF-, and IL- 8), metabólitos do ácido araquidônico e EROS, os quais são resultantes da ruptura da membrana dos queratinócitos

Os resultados apresentados na Figura 13 evidenciam que o EFSP na dose de 1,0 mg/orelha apresentou uma inibição do edema de 91%, quando comparado com o controle negativo, exibindo atividade antiedematogênica semelhante a do fármaco padrão, a dexametasona, utilizado como controle positivo, que teve o percentual de inibição de 96%.

Figura 13 - Efeito tópico do extrato etanólico das folhas de *Solanum paniculatum* no edema de orelha induzido por fenol. Os resultados foram expressos em média $\pm$ SEM e analisados por ANOVA com pós-teste Bonferroni com significância de $*p < 0,05$: Veículo; EFSP 1,0 mg/orelha; Dexa (Dexametasona 0,1 mg/orelha) - Controle positivo.



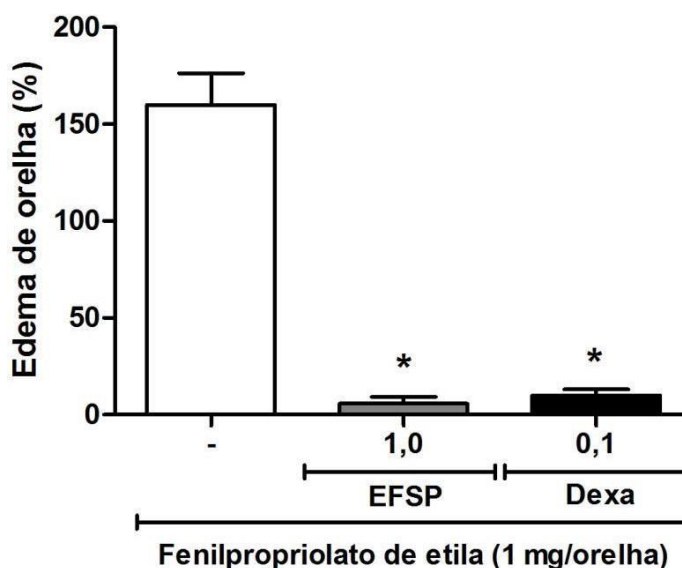
Fonte: Autor

O estudo realizado por Pacheco e colaboradores (2014), no qual avaliou a atividade anti-inflamatória tópica do extrato metanólico de *Cecropia pachystachya* através deste modelo, apresentou uma redução significativa do edema induzido por fenol (91%) quando comparado com a dexametasona (97%). O autor atribuiu esta atividade a capacidade do extrato de modular a produção de metabólitos do AA, através da inibição das enzimas COX e LOX ou através da produção de eicosanoides anti-inflamatórios.

Por fim foi avaliada a atividade anti-inflamatória do EFSP na redução do edema induzido por EPP. Este agente flogístico induz a formação do edema através da liberação de mediadores inflamatórios como a histamina, serotonina, bradicinina e prostaglandinas, os quais atuam causando vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular (PANTHONG et al., 2009; BRATTSAND et al., 1982; CARLSON et al., 1985).

O EFSP na dose 1,0 mg/orelha reduziu significativamente o edema induzido por EPP, exibindo um percentual de inibição de 96,5% quando comparado com o controle negativo, o controle positivo apresentou uma inibição de 93,8%, como mostra a Figura 14.

Figura 14 - Efeito tópico do extrato etanólico das folhas de *Solanum paniculatum* no edema de orelha induzido por EPP 1 mg/orelha. Os resultados foram expressos em média $\pm$ SEM e analisados por ANOVA com pós-teste Bonferroni com significância de $*p < 0,05$: Veículo; EFSP 1,0 mg/orelha; Dexametasona (0,1 mg/orelha) - Controle positivo.



Fonte: Autor

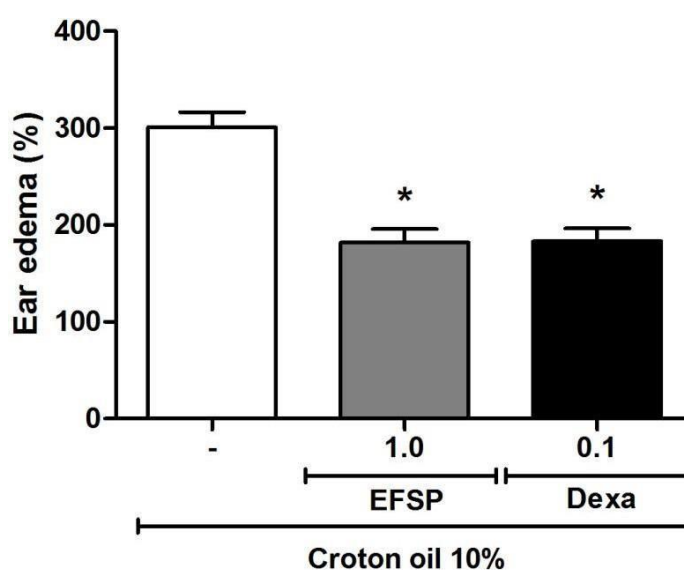
Estes achados estão em consonância com os resultados de Pingsusaen e colaboradores (2014), os quais avaliaram a atividade anti-inflamatória do rizoma de *Stahlianthus involucratus* por este modelo. De acordo com os autores, após 1 hora da indução do edema por EPP, o extrato etanólico de *Stahlianthus involucratus* inibiu a formação do edema em 64%, enquanto o fármaco padrão, diclofenaco, apresentou inibição de 63%. Atribuiu-se este resultado a potencial capacidade do extrato de *Stahlianthus involucratus* de inibir a liberação de mediadores inflamatórios como a histamina, serotonina, cininas e prostaglandinas.

Após avaliar a atividade anti-inflamatória do EFSP através dos modelos de indução de inflamação aguda, descritos anteriormente, avaliou-se a capacidade do extrato em reverter um processo inflamatório já estabelecido, bem como a capacidade de suprimir outros parâmetros inflamatórios como a atividade da enzima mieloperoxidase e os danos teciduais evidenciados pela análise histopatológica.

O modelo de inflamação crônica induzida pela aplicação múltipla de óleo de cróton é caracterizado pela presença de edema, infiltrado inflamatório e hiperproliferação da epiderme (STANLEY et al., 1991). Os resultados apresentados na Figura 15 revelam que o EFSP na dose de 1,0 mg/orelha conseguiu reduzir significativamente o edema induzido pela aplicação múltipla óleo cróton, em um

processo inflamatório crônico, apresentando um percentual de inibição de 39,5%, enquanto o fármaco de referência, a dexametasona, promoveu um percentual de inibição 39,2%.

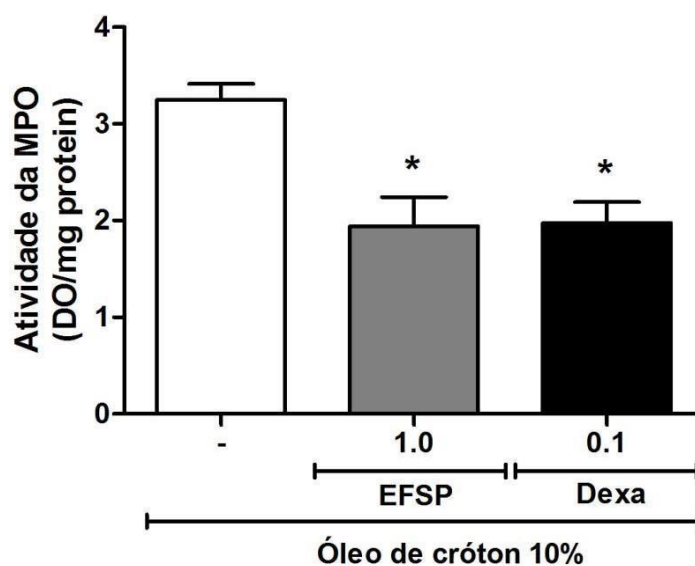
Figura 15 - Efeito tópico do extrato etanólico das folhas de *Solanum paniculatum* no edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton 5%. Os resultados foram expressos em média $\pm$ SEM e analisados por ANOVA com pós-teste Bonferroni com significância de $*p < 0,05$: Veículo; EFSP 1,0 mg/orelha; Dexametasona (0,1 mg/orelha) - Controle positivo.



Fonte: o autor

A atividade da enzima mieloperoxidase também foi mensurada neste estudo e os resultados apresentados na Figura 16 mostram que o EFSP e o fármaco padrão promoveram uma inibição significativa desta enzima exibindo um percentual de inibição de 40,1 e 39,2% respectivamente.

Figura 16 - Efeito tópico do extrato etanólico das folhas de *Solanum paniculatum* na atividade da MPO. Os resultados foram expressos em média $\pm$ SEM e analisados por ANOVA com pós-teste Bonferroni com significância de $*p < 0,05$: Veículo; EFSP 1,0 mg/orelha; Dexametasona (0,1 mg/orelha) - Controle positivo.



Fonte: o autor

As análises morfométrica das amostras submetidas a múltiplas aplicações de óleo de cróton (Tabela 7) apresentaram um significativo aumento na espessura da epiderme e principalmente da derme quando comparadas com o controle normal, que apresentou estas camadas bem preservadas. O EFSP e o fármaco padrão atuaram de forma semelhante, reduzindo de forma significativa a hiperproliferação da camada espinhosa da epiderme, bem como a espessura da derme.

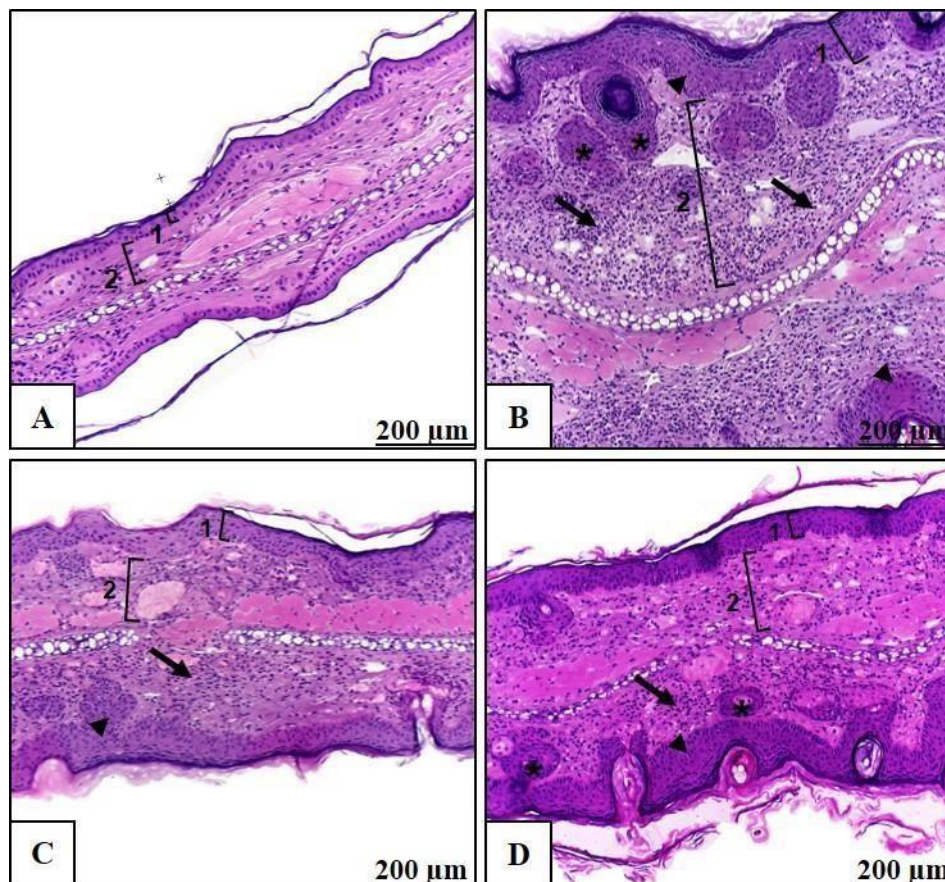
Tabela 7. Análise morfométrica das orelhas submetidas a aplicação múltipla de óleo de cróton tratadas com EFSP. Dados apresentados como média $\pm$ EPM seguidas por letras que diferem significativamente pelo teste de Tukey HSD de 5% de significância.

ANÁLISE MORFOMÉTRICA		
Grupos	Espessura da epiderme (μm)	Espessura da derme (μm)
Controle normal	21,7 $\pm$ 0,4 _a	64,9 $\pm$ 5,0 _a
Controle negativo (Acetona 20 μL /orelha)	107,8 $\pm$ 2,0 _c	208,7 $\pm$ 6,5 _c
EFSP (1,0 mg/orelha)	80,3 $\pm$ 2,1 _b	116,5 $\pm$ 6,0 _b
Dexametasona (0,1 mg/orelha)	74,9 $\pm$ 1,9 _b	106,8 $\pm$ 6,8 _b

Fonte: o autor

Adicionalmente, através da avaliação histopatológica, foi possível evidenciar no controle negativo a presença de infiltrado inflamatório, acantose e acantólise proeminente e considerável hiperplasia epidermal (Fig. 17B). Nos grupos tratados com dexametasona e o EFSP (Fig.17 C e D) foi possível verificar achados histopatológicos semelhantes, com diminuição do infiltrado inflamatório, bem como da hiperplasia epidermal, com poucos pontos de acantose e acantólise. Estes resultados confirmam a capacidade do EFSP em diminuir o infiltrado inflamatório observado na avaliação da atividade da enzima mieloperoxidase.

Figura 17 – Fotomicrografias de cortes transversais de orelha de camundongos dos grupos experimentais corados com hematoxilina-eosina (HE) e examinados em microscopia de luz (escala de 200 μ m). (A) Grupo salina: notar em (A) epiderme (1) e derme (2) bem preservadas. (B) Grupo controle negativo: em (B) evidenciar infiltrado inflamatório (seta), acantose proeminente (cabeça de setas) e acantólise (*). (C) Grupo controle positivo: notar em (c) processo inflamatório discreto (seta) e acantose leve (cabeça de seta). (D) Grupo EFSP: notar em (D) achados histopatológicos semelhantes aos encontrados no grupo controle positivo (C), apesar da presença de alguns pontos de acantólise (*).



O estudo realizado por Horinouch e colaboradores (2013), no qual avaliaram a atividade anti-inflamatória do extrato etanólico das flores de *Combretum leprosum* em um processo inflamatório crônico, mostrou que o extrato e o fármaco padrão conseguiram reverter à formação do edema apresentando inibição de $63 \pm 3\%$ e $77 \pm 2\%$ respectivamente, bem como se mostraram efetivos na diminuição dos danos teciduais. O extrato etanólico das folhas de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) de acordo com Chibli e colaboradores (2014), também apresenta eficácia no tratamento de um processo inflamatório já estabelecido, com percentual de inibição do edema de 57%, os quais atribuíram esta eficácia a presença de flavonoides anti-inflamatórios como rutina, quercetina e luteolina, que têm a capacidade de inibir as enzimas PLA₂, COX e LOX. A atividade anti-inflamatória de *Vernonia scorpioides* em modelos de inflamação crônica

foi avaliada e os resultados evidenciam que o extrato etanólico das folhas desta espécie inibiu a formação do edema em $31 \pm 2\%$, além de inibir a atividade da MPO em $25 \pm 10\%$ e preservar os tecidos, promovendo uma diminuição na hiperproliferação dos queratinócitos e na formação de acantose (Rauh et al., 2011).

Estes estudos ratificam a coerência dos resultados apresentados neste trabalho confirmando, portanto, o efeito anti-inflamatório do extrato etanólico das folhas de *Solanum paniculatum* não só em modelos de inflamação agudos, mas também crônico.

A presença de compostos fenólicos e flavonoides, confirmada pela análise fitoquímica, a atividade antioxidante, bem como a atividade antimicrobiana e anti-inflamatória, verificada neste estudo pelos diversos métodos utilizados, corrobora com a atividade antiséptica e cicatrizante de feridas.

A cicatrização é um processo complexo que envolve uma série de eventos inter-relacionados, o qual pode ser dividido em quatro fases: a fase de hemostasia, (responsável pelos eventos de coagulação), a fase inflamatória (caracterizada pela presença de neutrófilos e de macrófagos, os quais atuam na primeira linha de defesa contra infecções e na eliminação de restos celulares), a fase de proliferação (nesta fase ocorre a angiogênese, deposição de colágeno, formação de tecido de granulação, contração da ferida e epitelização) e por fim a fase de remodelação e proliferação celular (nesta fase ocorre a remodelação e o realinhamento do tecido colágeno, diminuição dos níveis de células imunes e de citocinas inflamatórias e a migração de fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais) (AGYARE et al., 2016).

A atividade antimicrobiana identificada frente a bactérias Gram-positivas neste estudo pode estar associada à presença dos metabólitos secundários encontrados, principalmente os flavonoides (BARBOSA et al., 2008). Esta atividade é importante no processo cicatricial, pois impede o desenvolvimento de infecções locais, as quais são consideradas limitantes do processo cicatricial (SÜNTAR et al., 2011).

A inflamação é uma importante fase do processo cicatricial, na qual há presença de células imune, neutrófilos e macrófagos, responsáveis pela secreção de enzimas proteolíticas, citocinas pró-inflamatórias e EROS. Estudos têm demonstrado que EROS e NO apresentam efeitos benéficos no processo cicatricial, promovendo o aumento da angiogênese. Todavia, quantidades excessivas de EROS apresentam efeitos deletérios, podendo ampliar a resposta inflamatória (SHÄFER; WERNER, 2008). Logo, as atividades antioxidante e anti-inflamatória do EFSP contribuem para atividade cicatrizante de feridas.

6. CONCLUSÃO

Embasados nos resultados obtidos a partir da prospecção fitoquímica e da avaliação da atividade antioxidante podemos concluir que dentre os diferentes extratos estudados, o extrato das folhas de *Solanum paniculatum* apresentou atividade antioxidante superior a dos demais extratos. As folhas exibiram atividade antimicrobiana, apresentando atividade frente a bactérias Gram-positivas.

Relevante atividade anti-inflamatória tópica foi verificada nos modelos de edema de orelha agudos induzidos por óleo de cróton, fenol e EPP, a qual pode está associada à inibição de citocinas pró-inflamatórias, EROS, histamina e serotonina.

O EFSP apresentou uma significativa atividade anti-inflamatória tópica no modelo de inflamação já estabelecido, inflamação crônica. Esta atividade foi ratificada pelas análises histológicas, morfométricas, bem como pela análise da atividade da MPO.

Logo, estes achados demonstram uma potencial atividade cicatrizante de feridas das folhas de *S. paniculatum*, corroborando o uso popular.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. H. I. V. **Imunologia celular e molecular**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- ABBAS, K.; NIAZ, U.; HUSSAIN, T.; SAEED, M.A.; JAVAID, Z.; IDREES, A.; RASOOL, S. Antimicrobial activity of fruits of *Solanum nigrum* and *Solanum xanthocarpum*. **Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research**, v. 71, p. 415-412, 2014.
- AGRA, M. F.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 114-140. 2007
- AGYARE, C.; BOAKYE, Y.D.; BEKOE, E.O.; HENSEL, A.; DAPAAH, S.O.; APPIAH, T. Review: African medicinal plants with wound healing properties. **Journal of Ethenopharmacology**, v.177, p.85-100, 2016.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; RAMOS, M. A.; JUNIOR, W. S. F.; ALMEIDA, A. L. S.; NASCIMENTO, A. L. B.; AVILEZ, W. M. T.; MELO, J. G. Are and ethnopharmacological surveys useful for the discovery development of drugs from medicinal plants?. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p.110–115. 2014.
- ANAND, P.; BLEY, K. Topical capsaicin for pain management: therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8% patch. **British Journal of Anaesthesia**, v.107, p. 490-502, 2011.
- ANDUJAR, I.; RECIO, M.C.; BACELLI, T.; GINER, R.M.; RIOS, J.L. Shikonin reduces the edema induced by phorbol ester by interfering with I κ B α degradation thus inhibiting translocation of NF- κ B to the nucleus. *British Journal of Pharmacology*, v. 160, p. 376-388, 2010.
- ATANAZOV, A.G.; WALTENBERGER, B.; PFERSCHY-WENZIG, E.M.; LINDER, T.; WAWROSC, C.; UHRIN, P.; TEMML, V.; WANG, L.; SCHWAIGER, S.; HEISS, E.H.; ROLLINGER, J.M.; SCHUSTER, D.; BREUSS, J.M.; BOCHKOV, V.; MIHOVILOVIC, M.D.; KOPP, B.; BAUER, R.; DIRSCH, V.M.; STUPPNER, H. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review. **Biotechnology Advances**. v. 33, p. 1582-1614, 2015.
- AVENDAÑO, C.; MENDEZ, C. **Medicinal chemistry of anticancer drugs**. Elsevier, p.400, 2008.
- BADKE, M.R. **Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais e o cuidado de enfermagem**. 2008. 96f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem. Santa Maria, 2008.
- BAGANZ, N.L.; BLAKELY, R.D. A dialogue between the immune system and brain, spoken in the language of serotonin. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 4, p. 48-63, 2013.

BANERJEE, M.; SAXENA, M. Interleukin-1 (IL-1) Family of cytokines: role in type 2 diabetes. **Clinica Chimica Acta**, v. 423, p. 1163-1170, 2012.

BARBOSA, M.H.; ZUFFI, F.B.; MARUXO, H.B.; JORGE, L.L.R. Ação terapêutica da própolis em lesões cutâneas. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 23, p. 318-322, 2008.

BARTON, G.M. A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 118, p. 413-420, 2008.

BARUA, R.S.; SHARMA, M.; DILEEPAN, K.N. Cigarette smoke amplifies inflammatory response and atherosclerosis progression through activation of the H1R-TLR2/4-COX2 axis. **Frontiers in Immunology**, v. 6, p.1-8, 2015.

BAUER, A.M.; KIRBY, W.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p. 493-496, 1966.

BEGHDADI, W.; PORCHERIE, A.; SHNEIDER, B.S.; DUBAYLE, D.; PERONET, R.; HUERRE, M.; WATANABE, T.; OHTSU, H.; LOIUS, J.; MÉCHERI, S. Rôle de l'histamine et des récepteurs histaminiques dans la pathogenèse du paludisme. **Medecine/Sciences**, v. 25, p. 377-381, 2009.

BEHL, T.; KAUR, I.; KOTWANI, A. Role of leukotrienes in diabetic retinopathy. **Prostaglandins & others Lipid Mediators**, v.129, p. 1-9, 2016.

BERGER, M.; GRAY, J.A.; ROTH, B.L. The expanded biology of serotonin. The **Annual Review of Medicine**, v. 60, p. 355-366, 2009.

BRAGA, R. **Plantas do nordeste, especialmente do Ceará**. Fortaleza: ESAM, p. 540, 1976.

BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss u-Technol**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASSEUR & ANGENOT. Un reactif de choix pour la revelation des flavonoïdes: le melange diphenylborate d'aminoethanol -PEG 400. **Journal Chromatography**, v. 351, p.351-355. 1986.

BRITO, P.S. **Avaliação da atividade anti-inflamatória tópica do composto PELLEC1 isolado da *Combretum leprosum***. 2012. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual de Ponta Grossa – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Ponta Grossa. 2012.

BUCKLEY, C.D.; BARONE, F.; NAYAR, S.; BENÉZECH, C.; CAAMAÑO. Stromal cells in chronic inflammation and tertiary lymphoid organ formation. **Annual Review of Immunology**, v. 33, p. 715-745, 2015.

BURCHARDT, E.R.; MÜLLER-PEDDINGHAUS, R. Favorable combination effects of the leukotriene synthesis inhibitor BAY X 1005 and dexamethasone on edema formation in the arachidonic acidinduced mouse ear inflammation test. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 60, p. 5–11, 1999.

CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America a personal view. **Journal Ethnopharmacology**. v. 100, p. 131-134, 2005.

CARLSON, R.P.; O'NEILL-DAVIS, L.; CHANG, J.; LEWIS, A. Modulation of mouse ear oedema by cyclooxygenase and lipooxygenase inhibitors and other pharmacologic agents. **Agents and Actions**, v.17 (2), p. 197-206. 1985.

CARREIRA, B.P.; SANTOS, D.F.; SANTOS, A.I.; CARVALHO, C.M.; ARAÚJO, I.M. Nitric oxide regulates neurogenesis in the hippocampus following seizures. **Hindawi Publishing Corporation**, p. 1-14, 2015.

CHENG, F.; LI, X.; WANG, J.Z. A new alkaloid from *Solanum cathayanum*. **Chinese Chemical Letters**, v.19, p. 68-70, 2008.

CHIBLI, L.A.; RODRIGUES, K.C.M.; GASPARETTO, C.M.; PINTO, N.C.C.; FABRI, R.L.; SCIO, E.; ALVES, M.S.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; SOUSA, Q.V. Anti-inflammatory effects of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken ethanol extract in acute and chronic cutaneous inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 154, p. 330-338, 2014.

CLEMENTINO-NETO, J.; PEREIRA, J.C.; VASCONCELOS, L.H.C.; SOUZA, I.L.L.; SILVA, A.D.S.; SILVA, T.M.G.; RAMOS, N.S.M.; PESSÔA, H.L.F.; SILVA, T.M.S.; SILVA, B.A.; CAVALCANTE, F.A. Toxicological, antidiarrheal and spasmolytic activities of *Solanum paniculatum*. **Planta Med**, 2015

CORADIN, L.; SIMINSHI, A.; REIS, A. (Eds.) **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial**: plantas para o futuro região sul. Brasília: MMA, 2011. 934p. (Biodiversidade, 40).

COSTA, G.; FRANCISCO, V.; LOPES, M.C.; CRUZ, M.T.; BATISTA, M.T. Intracellular signaling pathways modulated by phenolic compounds: application for new anti-inflammatory drug Discovery. **Current Medicinal Chemistry**, v.19, p. 2876 – 2900, 2012.

COSTA, J.O.; ALMEIDA, A.M.; JUNIOR, A.A.G.; CHERCHIGLIA, M.L.; ANDRADE, E.I.G.; ACURCIO, F.A. Tratamnto da artrite reumatoide no Sistema Único de Saúde, Brasil: gastos com infliximab em comparação com medicamentos modificadores do curso da doença sintéticos, 2003 a 2006. **Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro**. v. 30. p 283-295, 2014.

COTRAN, R.S.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; ROBBINS, S.L.; KUMAR, V: Robbins e Cotran: **Patologia- Bases patológicas das doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

COUTINHO, E.M.O. **Estudo fitoquímico e de atividade biológica de espécies de Solanum (Solanaceae)**. 2009. 147f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Rio de Janeiro – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Rio de Janeiro. 2009.

CRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1830, p. 3670-3695, 2013.

- CRUMMEY, A.; HARPER, G.P.; BOYLE, E.A.; MANGAN, F.R. Inhibition of Arachidonic acid-induced ear oedema as a model for assessing topical anti-inflammatory compounds. **Agents and Actions**, v. 20, p. 69-76. 1987.
- CRUVINEL, W.M.; JÚNIOR, D.M.; ARAÚJO, J.A.P.; CATELAN, T.T.T.; SOUZA, A.W.S.; SILVA, N.P.; ANDRADE, L.E.C. Sistema Imunitário – Parte I: Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.4, p. 434-461, 2010.
- DENNIS, E.A.; NORRIS, P.C. Eicosanoid storm in infection and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, p. 511-523, 2015.
- ENDRINGER, D.C.; VALADARES, Y.M.; CAMPANA, P.R.V.; CAMPOS, J.J.; GUIMARÃES, K.G.; PEZZUTO, J.M.; BARAGA, F.C. Evaluation of Brazilian plants on cancer chemoprevention targets *in vitro*. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 928-933, 2010.
- FARO, M. L.; FOX, B.; WHATMORE, J. L.; WINYARD, P. G.; WHITEMAN, M. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. **Nitric Oxide**, v. 41, p. 38–47. 2014.
- FLAVELL, S.J.; HOU, T.Z.; LAX, S.; FILER, A.D.; SALMON, M.; BUCKLEY, C.D. Fibroblasts as novel therapeutic targets in chronic inflammation. **British Journal of Pharmacology**, v. 153, p. 241-246, 2008.
- FRANCISCHETTI, i.; MORENO, J.B.; SCHOLZ, M. YOSHIDA, W.B. Leukocytes and the inflammatory response in ischemia-reperfusion injury. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v.25, p. 575-584, 2010.
- FRANK, J.; KAMAL-ELDIN, A.; RAZDAN, A.; LUNCH, T.; VESSBY, B. The dietary hydroxinnamate caffeic acid and its conjugate chlorogenic acid increase vitamin E and cholesterol concentrations in Sprague-Dawley rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2526-2531, 2003.
- GABOR, M.; RAZGA, Z. “Development and inhibition of mouse ear edema induced with capsaicin”. **Agents and Actions**, v. 36, n. 1-2, p. 83–86. 1992.
- GABOR, M. **Mouse Ear Inflammation Models and their Pharmacological Applications**. Budapest: Akadémiai Kiadó, 2000.
- GANANÇA, L.; OQUENDO, M.A.; TYRKA, A.R.; CISNEROS-TRUJILLO, S.; MANN, J.J.; SUBLETTE, M.E. The role of cytokine in the pathophysiology of suicidal behavior. **Psychoneuroendocrinology**, v.63, p. 296-310, 2016.
- GARAMBONE, E.; ROSA, G. Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. **Alimentos e Nutrição**, v.18, p. 229-235, 2007.
- GARCIA, J.; JACOBSON, T.K.B.; FARIAS, J.G.; BOAVENTURA, R.F. Effectiveness of methods to increase the germination rate of jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) seeds. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.38, p. 223-226, 2008.

GOODMAN, LouisTY; GILMAN, Alfred. **As bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2012. 938-100 p.

HAIADA, K.S.; BARON, A.; HAIADA, K.S.; FACI, D.; HAAS, J.; SILVA, F.J. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de duas variedades de goiaba e arruda. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 28, p. 12-19, 2011.

HARBORNE, J. B. *Phytochemical Methods*. 3^a Ed. Londres: Chapman & Hall, 1998.

HEINRICH, M. *Ethnopharmacology and drug discovery*. **Elsevier**, 2010

HEINRICH, M. Ethnopharmacology: quo vadis? Challenges for the future. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p. 99-102. 2014.

HEINRICH, M.; EDWARDS, S.; MOERMAN, D.E.; LEONTI, M. Ethnopharmacological field studies: a critical assessment of their conceptual basis and methods. **Journal of Ethnopharmacology**, v.124, p. 1-17, 2009.

HORINOUCI, C.D.S.; MENDES, D.A.G.B.; SOLEY, B.S.; PIETROVISKI, E.F.; FACUNDO, V.A.; SANTOS, A.R.S.; CABRINI, D.A.; OTUKI, M.F. *Combretum leprosum* Mart. (Combretaceae): Potential as an antiproliferative and anti-inflammatory agent. **Journal of Ethnopharmacology**, v.145, p. 311-319, 2013.

HOUGHTON, P.J.; HYLANDS, P.J.; MENSAH, A.Y.; HENSEL, A.; DETERS, A.M. *in vitro* tests and ethnopharmacological investigations: Wound healing as an example. **Journal of Etnopharmacology**, v.100, p.100-7, 2005.

HWANG, S.J.; KIM, Y.; PARK, Y.; LEE, H.; KIM, K. Anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. **Inflammation Research**, v. 63, p. 81-90, 2014.

INOUE, H.; NAGATA, N.; KOSHIHARA, Y. Profile of capsaicin-induced mouse ear oedema as neurogenic inflammatory model: comparison with arachidonic acid-induced ear edema. **Brazilian Journal Pharmacology** v.110, p. 1614-1620. 1993

JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11^a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524p.

KAHAN, M.M. Role of cytokines. **Immunopharmacology**, v.14, 266 p. 2008.

KATZUNG, B. G. (Ed). **Farmacologia Básica e Clínica**. 10 ed. São Paulo: McGraw-Hill; Porto Alegre: AMGH, 2007.

KUMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N. **Robbins & Cotran – Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

LEITÃO, F.; LEITÃO, S.G.; FONSECA-KRUEL, V.S.; SILVA, I.M.; MARTINS, K. Medicinal plants traded in the open-air markets in the state of Rio e janeiro, Brazil: an overview on their botanical diversity and toxicological potential. **Brazilian Journal of Phamacognosy**, v. 24. p. 225-247, 2014.

LEVICK, S.P.; LOCH, D.C.; TAYLOR, S.M.; JANICKI, J.S. Arachidonic acid metabolismo as a potencial mediator of cardiac fibrosis associated with inflammation. **The Journal of Immunology**, v. 178, p. 641-646, 2007.

LIM, H.; PARK, H.; KIM, H.P. Inhibition of contact dermatitis in animal models and suppression of proinflammatory gene expression by topically applied flavonoid, wogonin. **Archives of Pharmacol Research**. v. 27, p. 442-448, 2004.

LIMA, G.R.M.; MONTENEGRO, C.A.; ALMEIDA, C.L.F.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; FILHO, J.M.B.; BATISTA, L.M. Database survey of anti-inflammatory plants in South American: a review. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 12, p. 2692-2749, 2011.

LÔBO, K.M.S.; ATHAYDE, A.C.R.; SILVA, A.M.A.; RODRIGUES, F.F.G.; LÔBO, I.S.; BEZERRA, D.A.C.; COSTA, J.G.M. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G.Don) D.F. Austin & Staples, do semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, p. 227-233, 2010.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F.J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 544p. .

MACÊDO-COSTA, M.R.; SETTE-DE-SOUZA, P.H.; SILVA, J.F.; FERNANDES-PEDROSA, M.F.; PEREIRA, M.S.V.; LIMA, K.C. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Solanum paniculatum* Linn. Against planktonic oral bactéria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, p. 1001-1005, 2014.

MARTINS, G.Z. **Estudo farmacognóstico e screening biológico de *Solanum lycocarpum* St. Hill (Solanaceae)**. 2013. 172f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Doutorado em Ciências Farmacêuticas, 2013.

MARTINS, J.L.R.; RODRIGUES, O.R.L.; SOUSA, F.B.; FAJEMIROYE, J.O.; GALDINO, P.M.; FLORENTINO, I.F.; COSTA, E.A. Medicinal species with gastroprotective activity found in the Brazilian Cerrado. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.29. p. 238-251, 2015.

MATOS, F.J.A. **Plantas Mediciniais: guia de seleção e emprego das plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**, 3ª Edição, Fortaleza: Imprensa Universitaria, 2007, 394p.

MATTOS FILHO, T. R. et al. Efeito do Pós-Tratamento com o extrato Bruto Hidroalcolico Desidratado de *Solanum paniculatum* L. em Lesões Hepáticas induzidas Pelo Tetracloreto de Carbono. **Lecta**, 1997, v. 15, p. 143 – 175.

MENDES, F.R.; CARLINI, E.A. Brazilian plants as possible adaptogens: na ethnopharmacology survey of books edited in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 493-500, 2007.

MESIA-VELA, S.; SANTOS, M.T.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; LAPA, A.J. *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba): potent inhibitor of gastric acid secretion in mice. **Phytomedicine**, v.9, p. 508-514, 2002.

MESQUITA JR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C.; CRUVIEL, W de M. Aspectos celulares e moleculares da inflamação. **Sinopse de Reumatologia**, São Paulo, p. 66 -81, 20 ago. 2008.

MOTTA, E.V.S.; PINTO, N.C.C.; DUQUE, A.P.N.; MENDES, R. F.; BELLOZI, P.M.Q.; SCIO, E. Atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória das folhas de *Mucuna pruriens* (L.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 264-272, 2013.

NATHAN, C.; Neutrophils and immunity: challenges and opportunitites. **Nature**, v.6, p.173-182, 2006.

NITA, M.; GRZYBOWSKI, A. The role of the reactive oxygen species and oxidative stress in the pathomechanism of the age-related ocular diseases and other pathologies of the anterior and posterior eye segments in adults. **Hindawi Publishing Corporation**, 23p, 2015.

NUNES, A.P.M.; ARAUJO, A.C. Ausência de genotoxicidade do esteviosídeo em *E. coli*. In. Semana de Iniciação Científica da UERJ, X, 2003, Rio de Janeiro, **Anais da X Semana de Iniciação Científica da UERJ**, p. 15, 2003.

O'SHEA, J.J.; MA, A.; LIPSKY, P. Cytokines and autoimmunity. **Nature Reviews/Immunology**, v. 2, p. 37-45, 2002.

PACHECO, N.R.; PINTO, N.C.C.; SILVA, J.M.; MENDES, R.F.; COSTA, J.C.; ARAGÃO, D.M.O.; CASTAÑON, M.C.M.N.; SCIO, E. *Cecropia pachystachya*: A Species with Expressive *In Vivo* Topical anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant effects. **Hindawi Publishing Corporation**, 10p., 2014.

PANTHONG, A.; PANGAOOP, R.; KHONSUNG, P.; CHIRANTHANUT, N.; NUNTASAEN, N.; JAITHEERAPAPKUT, S.; REUTRAKUL, V. Anti-inflammatry and analgesic effects of the methanol extract from *Garcinia wallichii* choisy in animal models. **Chiang Mai Medical Journal**, v. 48, p. 105-115, 2009.

PARK, C.; MOON, D.; RYU, C.; CHOI, B.T.; LEE, W.H.; KIM, G. CHOI, Y.H. β -Sitosterol sensitizes MDA-MB-231 cells to TRAIL-induced apoptosis. **Acta Pharmacology Sinica**, v.3, p. 341-348, 2008.

PATEL, R. R.; FILER, A.; BARONE, F.; BUCKLEY, C. D. Stroma: Fertile soil for inflammation. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**. v. 28, p. 565-576. 2014.

PEREIRA, A.C.; OLIVEIRA, D.F.; SILVA, G.H.; FIGUEREDO, H.C.P.; CAVALHEIRO, A.J.; CARVALHO, D.A.; SOUZA, L.P.; CHALFOUN, S.M. Identification of the antibacterial substances produced by *Solanum paniculatum* (Solanaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.3, p. 427-432, 2008.

PEREIRA, N.L.F.; AQUINO, P.E.A.; SILVA, M.R.; NASCIMENTO, E.M.; GRANGEIRO, A.R.S.; OLIVEIRA, C.D.M.; TINTINO, S.R.; FIGUEREDO, F.G.; VERAS, H.N.H.; MENEZES, I.R.A. Antibacterial and topical anti-inflammatory effect of methanol extract of *Chenopodium ambrosioides* L. **Revista Fitos**, v.9, p. 73-112, 2015.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, p. 146-152, 2012.

PIANA, M.; CAMPONOGARA, C.; BOLIGON, A.A.; MACHADO, M.M.; BRUM, T.F.; OLIVEIRA, S.M.; BAUERMANN, L.F. Topical anti-inflammatory activity of *Solanum corymbiflorum* leaves. **Journal Ethnopharmacology**, v. 179, p. 16-21, 2015.

PIETRO, P.; M, PINEDA; M, AGUILAR. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Anal Biochem**, -, v. 269, n. -, p.337-341, 1999.

PINGSUSAEN, P.; KUNANUSORN, P.; KHONSUNG, P.; CHIRANTHANUT, N.; PANTHONG, A.; RUJJANAWATE, C. Investigation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of *Stahlianthus involucratus* rhizome ethanol extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, p. 311-319, 2013.

RANG, H.P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. Rang & Dale Farmacologia. 7ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 318-333 p.

RAUH, L.K.; HORINOUCI, C.D.S.; LODDI, A.M.V.; PIETROVSKI, E.F.; NERIS, R.; SOUZA-FONSECA-GUIMARÃES, F.; BUCHI, D.F.; BIAVATTI, M.W.; OTUKI, M.F.; CABRINI, D.A. Effectiveness of *Vernoniascorpoides*ethanolic extract against skin inflammatory processes. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 138, p. 390-397, 2011.

REZNICHENKO, A. KORSTANJE, R. The role of platelet-activating fator in mesangial pathophysiology. *The American Journal of Pathology*, v. 185, p. 888-896, 2015.

RIBEIRO, S.R.; FORTES, C.C.; OLIVEIRA, S.C.C.; CASTRO, C.F.S. Avaliação da atividade antioxidante de *Solanum paniculatum* (Solanaceae). **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v. 11, n3, p. 179-183, 2007.

RIVERA, J.; SELLERS, R.S.; ZENG, W.; ROOIJEN, N.V.; CASADEVALL, A.; GOLDMAN, D.L. Platelet-activating fator contributes to *Bacillus anthracis* lethal toxin-associated damage. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 289, p. 7131-7141, 2014.

ROBERTS, E. A. H.; CARTWRIGHT, R. A; OLDSCHOOL, M. Phenolic substances of manufactured tea. I. Fractionation and paper chromatography of water-soluble substances. **Journal Science of Food and Agriculture**, v.8, p. 72-80. 1957.

ROSA, L.; SCAINI, G.; FURLANETTO, C.B.; GALANT, L.S.; VUOLO, F.; DALL'LGNA, D. M.; SCHUK, P.F.; FERREIRA, G.C.; DAL-PIZZOL, F.; STRECK. Administration of branched-chain amino acids alters the balance between pro-

inflammation and anti-inflammatory cytokines. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v.48, p. 24-30, 2016.

RUBIN, E.; GORSTEIN, F.; RUBIN, R.; SCHWARTING, R.; STRAYER, D. **Patologia; Bases Clinicopatológicas da Medicina**. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 45-84p.

RUBY, K.M.; DWIVEDI, J.; CHAUHAN, R. Secondary metabolites found um *Bergenia* species: a compendious review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.5, p. 9-16, 2013.

SABIR, S.M.; ROCHA, J.B.T. Antioxidante and hepatoprotective activity of aqueous extract of *Solanum fastiatum* (false “Jurubeba”) against paracetamol-induced. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 226-232, 2008.

SANTOS, D.Y.A.C. **Botânica aplicada: metabólitos secundários na interação planta-ambiente**. Universidade de São Paulo-Departamento de Botânica, 2015.

SANTOS, I.J.M.; LEITE, G.O.; COSTA, J.G.M.; ALVES, R.R.N.; CAMPOS, A.R.; MENEZES, I.R.A.; FREITAS, F.R.V.; NUNES, M.J.H.; ALMEIDA, W.O. Topical anti-inflammatory activity of oil from *Tropidurus hispidus* (spix, 1825). **Hindawi Publishing Corporation**, 7p., 2015.

SARAIVA, R.A.; ARARUNA, M.K.A.; OLIVEIRA, R.C.; MENEZES, K.D.P.; LEITE, G.O.; KERNTOPF, M.R.; COSTA, J.G.M.; ROCHA, J.B.T.; TOMÉ, A.R.; CAMPOS, A.R.; MENEZES, I.R.A. Topical anti-inflammatory effect of *Caryocar coriaceum* Wittm. (Caryocaraceae) fruit pulp fixed oil on mice ear edema induced by different irritant agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.136, p. 504-510, 2011.

SCHÄFER, M.; WERNER, S. Oxidative stress in normal and impaired wound repair. **Pharmacological Research**, v. 58, p. 165-171, 2008.

SERHAN, C.N. Inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. **Annual Review of Immunology**, v. 25, p. 101-137, 2007.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**. v. 18, n. 3, p. 385-405, 2004.

SILVA, A. O.; ALVES, A. D.; ALMEIDA, D. A. T.; BALOGUN, O. S.; OLIVEIRA, R. G.; AGUIAR, A. A.; SOARES, I. M.; MARSON-ASCÊNCIO, P. G. ; ASCÊNCIO, S. D.; MARTINS, D. T. O. Evaluation of anti-inflammatory and mechanism of action of extract of *Macrosiphonia ongiflora* (Desf.) Müll.Arg. **Journal of Ethnopharmacology**, v.154, p.319–329. 2014.

SILVA, L.C.N.; JÚIOR, C.A.S.; SOUZA, R.M.; MACEDO, A.J.; SILVA, M.V.; CORREIA, M.T.S. Comparative analysis of the antioxidante and DNA protection capacities of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia férrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits. **Food and Chemical Toxicology**, v.49, p. 2222-2223, 2011.

SIMÕES, C. M. O., E. P. SCHENKEL, G. GOSMANN, J. C. P. MELLO, L. A. MENTZ & P. R. PETROVICK. 2010. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed., Ed. UFRGS/Ed. UFSC, Porto Alegre/Florianópolis.

SOBREVIA, L.; OOI, L.; RYAN, S.; STEINERT, J.R. Nitric oxide: regulator of cellular function in health and disease. **Hindawi Publishing Corporation**, p. 2, 2016.

SOUZA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-Jr, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

SÜNTAR, I.; AKKOL, E.K.; KELES, H.; OKTEM, A.; BASER, K.H.C.; YESILADA, E. A novel wound healing ointment: a formulation of *Hypericum perforatum* oil and sage and oregano essential oils based on traditional TURKISH knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, p. 89-96, 2011.

TAFANI, M.; SANSONE, L.; LIMANA, F.; ARCANGELI, T.; DE SANTIS, M.; POLESE, M.; FINI, M.; RUSSO, M.A. The interplay of reactive oxygen species, hypoxia, inflammation, and sirtuins in cancer initiation and progression. **Hindawi Publishing Corporation**, p. 18, 2015.

TAYLOR, G.S.; KENT, D.S. Potencial economic pests of solanaceous crops: a new species of *Solanum*-feeding psyllid from Australia and first record from New Zealand of *Acizia solanicola* (Hemiptera: Psyllidae). **Zootaxa**, v.3, p. 257-273, 2013.

TENÓRIO, J.A.B.; MONTE, D.S.; SILVA, T.G.; MILITÃO, G.C.G.; SILVA, T.M.S.; RAMOS, C.S. **Análise química e avaliação da citotoxicidade do extrato das raízes de *Solanum paniculatum* L.** In: 52º Congresso Brasileiro de Química, Recife, 2012.

THE PLANT LIST (2013), Versão 1.1. Publicado na Internet; <http://www.theplantlist.org/> (acessado em 25/01/2016).

TIVERON, A.P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidas no Brasil**. 2010. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade e São Paulo – Escola Superior de Agricultura, Piracicaba. 2010.

TSUJI, F.; AONO, H. Role of transient receptor potential vanilloid 1 in inflammation and autoimmune diseases. **Pharmaceuticals**, v.5, p. 837-852, 2012.

TUBARO, A.; DRI, P.; DELBELLO, G.; ZILLI, C.; DELLA-LOGGIA, R. The cróton oil test revisited. **Agents Actions**, v. 17, p. 347-349. 1985.

VEIGA-JÚNIOR, V.F.; PINTO, A.C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v.28, p. 519-528, 2005.

VIEIRA JR, G.; FERREIRA, P.M; MATOS, L.G; FERREIRA, E.C.; RODOVALHO, W.; FERRI, P.H.; FERREIRA, H.D.; COSTA, E.A. Anti- inflammatory effect of *Solanum lycocarpum* fruits. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 892-896, 2003.

VIEIRA, P.M.; MARINHO, L.P.M.; FERRI, S.C.S.; CHEN-CHEN, L. Protective effects of steroidal alkaloids isolated from *Solanum paniculatum* L. against mitomycin cytotoxic and genotoxic actions. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.85, p.553-560, 2013.

VIEIRA-JÚNIOR, G.M.; ROCHA, C.Q.; RODRIGUES, T.S.; HIRUMA-LIMA, C.A.; VILEGAS, W. New steroidal saponins and antiulceractivity from *Solanum paniculatum* L. **Food Chemistry**, v. 186, p. 160-167, 2015.

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drug analysis. 2ed. New York: Springer Verlag. 1996.

WOISKY, R. G; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, São Paulo, v. 37, p.99-105, 1998.

WOYENGO, T.A.; RAMPRASATH, V.R.; JORIES, P.J.H. Anticancer effects of phytosterols. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 63, p. 813-820, 2009.

YOUNG, J. M.; SPIRES, D. A.; BEDORD, C. J.; WAGNER, B.; BALLRON, S. J.; DE YOUNG, L. M. The mouse ear inflammatory response to topical arachidonic acid. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 82, p. 367- 371. 1984.

ANEXO A – PARECER FAVORÁVEL DA COMISSÃO DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 11 de junho 2015.

Ofício nº 59/15

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: Prof. Rafael Mato Ximenes
Departamento de Antibióticos
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076. 021665/2013-00

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado: “**Estudo etnofarmacológico de *Solanum paniculatum* L. (jurubeba)**”.

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Antibióticos; Animais: camundongos; Linhagem: Swiss; Idade: 60 dias; Peso: 20-30g; Sexo: machos e fêmeas; Nº total de Animais: 72.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
SIAPE 1801584
UFPE