

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

EDUARDO JÚNIOR DA CONCEIÇÃO

INVESTIGAÇÃO DAS BIOATIVIDADES DE *Ocimum campechianum* Miller:
ESTUDOS IN VIVO E IN VITRO

Recife

2021

EDUARDO JÚNIOR DA CONCEIÇÃO

INVESTIGAÇÃO DAS BIOATIVIDADES DE *Ocimum campechianum* Miller:
ESTUDOS IN VIVO E IN VITRO

Dissertação de Mestrado, a ser submetida ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.
Área de concentração: Fármacos e medicamentos

Orientadora: Prof^a. Dra. Ivone Antônia de Souza

Coorientadora: Prof^a. Dra. Jane Sheila Higino

Recife

2021

Catálogo na fonte:
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4:1790

C744i Conceição, Eduardo Junior da
Investigação das bioatividades de *Ocimum campechianum*
Miller: estudos *in vivo* e *in vitro* / Eduardo Junior da Conceição. –
2021.
44 f. : il., tab.

Orientadora: Ivone Antônia de Souza.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em
Ciências Farmacêuticas. Recife, 2021.
Inclui referências e anexo.

1. Bioensaio. 2. Extratos vegetais. 3. Toxicologia. I. Souza, Ivone
Antônia de (orientadora). II. Título.

617.6 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2021 - 218)

EDUARDO JÚNIOR DA CONCEIÇÃO

INVESTIGAÇÃO DAS BIOATIVIDADES DE *Ocimum campechianum* Miller:
ESTUDOS IN VIVO E IN VITRO

Dissertação de Mestrado, a ser submetida ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.
Área de concentração: Fármacos e medicamentos

Data da aprovação: 14/05/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Ivone Antônia de Souza (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Ricardo Brandão (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Karine Carvalho (Examinadora externa)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me emprestar diariamente o coração que pulsa, o oxigênio que respiro, o solo em que caminho e o raciocínio e inteligência que me dá.

A minha mãe que nunca se curvou aos desígnios da vida, e com fé, luta e coragem construiu sua própria história. Mãe, jamais olvidarei os valores que norteiam meu caráter, pois como escreveu Dostoiévski o presente é constituído de vários passados!

A professora Doutora Jane Sheila Higino por iluminar meu caminho a uma nova possibilidade acadêmica, por seu esmero, fé, e uma colaboração tão presente ao me repassar seu conhecimento obtido através do anos.

Ao PPGCF e em especial a Nerilin Trajano e a Rilvan Guedes sempre tão disponíveis a orientar e ao repassar as informações, seu apoio foi fundamental na pós-graduação.

Agradeço a minha orientadora professora Ivone Antônia de Souza pela atenção e orientação tão valiosa ao longo do mestrado.

E a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram de alguma forma com a presente dissertação de mestrado.

Eu irei adiante de ti, e endireitarei os caminhos tortuosos; quebrarei as portas de bronze, e despedaçarei os ferrolhos de ferro. 3 Dar-te-ei os tesouros escondidos, e as riquezas encobertas, para que saibas que eu sou o Senhor, o Deus de Israel, que te chama pelo teu nome. (ISAIAS, Cap. 46:1-6).

RESUMO

Ocimum campechium Mill pertence à família Lamiaceae é comumente utilizada na culinária e na medicina popular no Nordeste do Brasil. Esta espécie, é conhecida popularmente como “alfavaca do campo” e “alfavaca de galinha”, sua composição química é rica em óleos essenciais, que são metabolizados principalmente em suas folhas, inflorescências e sementes. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial toxicológico e farmacológico do extrato hidroalcóolico de *Ocimum campechianum*. Para realização do estudo toxicológico foram utilizadas larvas de *Artemia salina* Leach, os ensaios foram realizados em triplicata e as larvas foram obtidas a partir da incubação de 20 mg de cistos, sob luz artificial por 48 horas. Grupos de 10 a 13 metanúplios foram expostos a diferentes concentrações (50 a 1000 µg/mL) do extrato hidroalcóolico e os percentuais de mortalidade das larvas foram determinados após 24 horas de exposição. O estudo toxicológico agudo foi realizado utilizando fêmeas de camundongos *Mus musculus*. As fêmeas apresentaram peso corporal entre 35 e 45 g e com idades entre 90 e 120 dias. Para avaliar a toxicidade aguda do extrato de *Ocimum campechium* e determinar a Dose Letal (DL50) da amostra botânica utilizou-se a metodologia do guia OECD 423/2001, a qual determina utilizar doses fixas de 2.000, 300, 50 e 5 mg kg⁻¹ começando com um dose de 2.000 mg kg⁻¹. Os camundongos foram mantidos em gaiolas, em condições controladas de iluminação (12 horas de fotofase) e temperatura de 22 ± 2 °C. A alimentação foi suspensa 12 horas antes dos ensaios e a água ad libitum. O extrato foi solubilizado com água destilada, antes da administração e a solução estoque do grupo controle foi apenas água destilada. Para administração por via oral a solução foi introduzida no trato digestório dos animais, através de uma cânula metálica. Após aplicar a dose de 2.000 mg kg⁻¹, foi determinada a DL50 e estimada a categoria toxicológica do extrato, seguindo as especificações dos guias GHS e OECD. Os sinais clínicos manifestados pelos animais foram observados e registrados individualmente, após as administrações por um período de 60 minutos e, posteriormente, a cada 24 horas, no total de 14 dias. O ensaio toxicológico sobre *Artemia salina* apresentou uma CL50 de 131 µg /ml, indicando moderada toxicidade do extrato hidroalcóolico de *Ocimum campechianum*. Em relação ao ensaio toxicológico agudo sobre camundongos *Mus musculus*, o extrato hidroalcóolico revelou uma DL50 estimada de 2.500 mg kg⁻¹, sendo portanto classificada na categoria 5 (ausência de toxicidade). Quanto aos sinais clínicos, foram observados efeitos relacionados ao sistema nervoso central e caracterizados como efeitos estimulantes como movimento circular, espasmos, movimento de vibrissas, movimento estereotipado e saltos. Sendo estes sinais os mais intensos. Além desses sinais,

outros efeitos intensos foram observados e relacionados ao sistema nervoso autônomo como postura estática, reação de fuga, distensão abdominal e piloereção. A partir dos resultados toxicológicos obtidos, o extrato hidroalcólico de *Ocimum campechianum* apresenta-se atóxico e poderá ser indicado para uso em formulações farmacêuticas e utilização popular.

Palavras-chave: bioensaio; extratos vegetais; toxicologia.

ABSTRACT

Ocimum campechianum Mill belongs to the family Lamiaceae is commonly used in cooking and folk medicine in northeastern Brazil. This species, is popularly known as "field alphacow" and "chicken alfavaca" its chemical composition is rich in essential oils which are metabolized mainly in their leaves, inflorescences and seeds in view of the above, this study aimed to evaluate the toxicological and pharmacological potential of hydroalcoholic extract de *Ocimum campechianum*. *Artemia* larvae leache were used to carry out the toxicological study the trials were performed in triplicate and the larvae were obtained from the incubation of 20 mg of cysts, under artificial light for 48 hours. Groups of 10 to 13 metanaupliums were exposed to different concentrations (50 to 1000 µg/mL) hydroalcoholic extract and larvae mortality percentages were determined after 24 hours of exposure. The acute toxicological study was conducted using females of *Mus musculus* mice. Females had body weight between 35 and 45 g and aged between 90 and 120 days To evaluate the acute toxicity of *Ocimum campechianum* extract and determine lethal dose (LD50) botanical sample used the methodology of guide OECD 423/2001, which determines to use fixed doses of 2,000, 300, 50 and 5 mg kg⁻¹ The mice were kept in cages under controlled lighting conditions (12 hours of photophase) and temperature of 22 ± 2 °C Feeding was suspended 12 hours before the tests and the water ad libitum. The extract was solubilized with distilled water, before administration and the stock solution of the control group was only distilled water . For oral administration, the solution was introduced into the digestive tract of the animals, through a metal cannula. After applying the dose of 2,000 mg kg⁻¹, the LD50 was determined and the toxicological category of the extract was estimated, following the specifications of the GHS and OECD guides The clinical signs manifested by the animals were observed and recorded individually, after administrations for a period of 60 minutes and, later, every 24 hours, for a total of 14 days. The toxicological assay on *Artemia salina* presented a LC50 of 131 µg /ml, indicating a average toxicity of the hydroalcoholic extract of *Ocimum campechianum* .In relation to the acute toxicological assay on *Mus musculus* mice, hydroalcoholic extract revealed an estimated LD50 of 2,500 mg kg⁻¹, and therefore category 5 (no toxicity). As for clinical signs, effects related to the central nervous system were observed and characterized as stimulating effects such as circular movement spasms, movement of vibrissas, stereotypical movement and jumps. These are the most intense signs In addition to these signs, other intense effects were observed and related to the autonomic nervous system such as static posture, breakout reaction, bloating and piloerection Based on the

toxicological results obtained, the hydroalcoholic extract of *Ocimum campechianum* is nontoxic and may be indicated for use in pharmaceutical formulations and popular use.

keywords: bioassays; plant extract; toxicology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Folhas e Inflorescência de <i>Ocimum campechianum</i> Mill.	16
Quadro 1 - Substancias encontradas em diversas espécies de <i>Ocimum campechinum</i> Mill.....	17
Quadro 2 - Componentes químicos já isolados e identificados em espécies pertencentes ao gênero <i>Ocimum Campechinum</i> Mill.....	19
Figura 2 – Localização geográfica da planta <i>Ocimum campechinum</i>	24
Figura 3 – Extrato pilular <i>Ocimum campechinum</i>	25
Figura 4 – Diluições sucessivas em vidraria do extrato pilular	26
Figura 5 - Gráfico estatístico da CL ₅₀	31
Figura 6 - Larva de <i>Artemia salina</i>	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	American Type Culture Collection
°C	Graus Celsius
CCB	Centro de Ciências Biológicas
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CCS	Centro de Ciências da Saúde
cm ²	centímetro quadrado
DAUFPE	Departamento de Antibióticos da UFPE
DL ₅₀	Dose Letal Média
g	gramas
kg	quilograma
m	metro
mg	miligrama
mL	mililitro
mm	milímetro
nm	nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	partes por milhão
SNC	Sistema nervoso central
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UV	Ultravioleta
µg	micrograma
µL	microlitro
m	micrômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1	Estudo Botânico.....	15
2.2	Estudo fitoquímico.....	17
3	ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	20
3.1	Ação inseticida.....	20
3.2	Atividade antioxidante.....	20
3.3	Atividade antimicrobiana.....	21
3.4	Atividade antitumoral.....	21
3.5	Atividade toxicológica.....	22
4	OBJETIVOS.....	23
4.1	Geral.....	23
4.2	Específicos.....	23
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
5.1	Coleta de material.....	24
5.2	Atividades toxicológicas.....	25
5.3	Ensaio e toxicidade in vivo - Artemia salina Leach.....	26
6	ENSAIOS TOXICOLÓGICOS.....	27
6.1	Obtenção de camundongos.....	27
6.2	Avaliação da atividade toxicológica aguda.....	27
7	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	29
7.1	Toxicidade in vivo – Artemia salina.....	31
7.2	Toxicidade aguda.....	32
8	CONCLUSÃO.....	34
	REFERÊNCIAS.....	35
	ANEXO A – FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DO HERBÁRIO	
	IPA.....	44

1 INTRODUÇÃO

Segundo Correa (2004), as antigas civilizações orientais já demonstravam bastante interesse pelo uso e conhecimento de plantas medicinais. Como da cultura chinesa que tem utilizado do conhecimento popular de ervas medicinal durante os últimos cinco séculos, os romanos usavam largamente as plantas para a higiene e como relaxante muscular durante o banho, enquanto que os antigos egípcios (mais sofisticados) e respeitados no campo da medicina primitiva possuíam uma rica farmacopeia baseada no uso das plantas. Na Grécia Antiga, Hipócrates já recomendava a utilização de remédios de origem vegetal para diversos tipos de doenças (CAMPÊLO, 1990) Hipócrates, considerado o pai da medicina, nascido há 460 anos a.C., mencionou em seus registros cerca de 300 a 400 plantas medicinais (YUNES, PEDROSA e CE- CHINEL, 2001; BANDONI e CZEPACK, 2008; CANTER et al, 2005).

Cotidianamente, o uso de plantas medicinais ou ervas está crescendo na maioria dos países do mundo ocidental e oriental. Este uso é baseado principalmente na ideia de que as plantas são um meio de tratamento natural para doenças crônicas. Ao longo dos séculos, as tradições humanas trouxeram um vasto conhecimento de uso de plantas medicinais. Embora certas práticas pareçam estranhas e mágicas, outras, pelo contrário, parecem mais fundamentadas e mais eficientes. No entanto, todas elas visam superar o sofrimento e melhorar saúde humana (BANDONI e CZEPACK, 2008; LEHMANN, 2013).

O Brasil tem reconhecidamente, uma das maiores biodiversidades de plantas medicinais do mundo, onde um bom percentual pode possuir qualidades terapêuticas. Porém um percentual ínfimo já foi estudado (RIZZO, 1990, MARTINS et al., 1994; CALIXTO, 2003; ALVES, 2013).

Muitas espécies aromáticas têm grande valor econômico no seu uso como condimentos alimentares e também como medicamentos. Até 1959 era ignorada a importância destes óleos essenciais e só depois de 1978 essa importância foi sensivelmente elevada, o que pode ser observado no volume de 13.300 toneladas de exportação de plantas aromáticas para todo o mundo (CRAVEIRO, 1981; ALBUQUERQUE, 1997; EFFENBERGER, BREYER e SCHOBERT, 2010; ADORJAN e BUCHBAUER, 2010).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O uso das plantas medicinais terapêuticas é uma das mais antigas práticas da civilização. Esta utilização não se restringe apenas as zonas rurais ou a regiões onde a assistência médica e farmacêutica é precária; é também adotada no ambiente urbano, como uma forma complementar ao uso dos medicamentos alopáticos químicos (VEIGA-JÚNIOR, 2005) Vários estudos têm demonstrado a potencialidade e a eficácia das plantas medicinais no combate a diversas doenças crônicas. Estima-se que 85% das substâncias químicas extraídas de vegetais e indicadas para fins terapêuticos derivam de espécies de plantas utilizadas na medicina tradicional. Este conhecimento atrelado a modernos equipamentos tem acelerado o processo de desenvolvimento de novos fármacos derivados de plantas (RANGEL; BRAGANÇA, 2009; SAKLANI ; KUTTY, 2008). O Brasil detém um terço da flora mundial e a maior reserva do planeta de produtos naturais com ação fitoterápica, e com isso a oportunidade de estabelecer um modelo de desenvolvimento próprio na área da saúde e uso de plantas medicinais e fitoterápicas. Contudo das 60.000 espécies vegetais superiores catalogadas no país, apenas 6 % 8% foram estudadas para pesquisas de compostos bioativos e 1.100 espécies foram avaliadas em suas propriedades medicinais (SANTOS et al., 2011)

Estudos etnobotânicos permitem conhecer a interação entre o homem e a natureza, e as possíveis aplicações das plantas medicinais na medicina popular (DAVID & PASA, 2017). Já a etnofarmacologia contribui para a descoberta de novos compostos fitoquímicos com ações farmacológicas, fornecendo dados importantes a respeito da segurança na utilização de medicamentos extraídos da flora nativa e invasora (Pio, et al., 2018).

Para Carneiro et al. (2014), disse que o efeito de uma erva medicinal é determinado pela forma farmacêutica, a qual espécie é usada, desde sua posologia e preparo. Assim, para se ter uma garantia no uso desses bioativos e remédios derivados deles é necessário não apenas medidas de controle, mas a realização de campanhas que visem informar a consumidores de seus riscos e benefícios, Estudos com plantas medicinais alternativas tem merecido cada vez mais atenção, devido às informações que fornecem a ciência (Lemnis., 2016)

A fitoterapia é uma forma de tratamento simples e natural, onde busca-se tratar ou prevenir doenças a partir da preparação de vegetais ou aos princípios ativos que deles possam ser extraídos (BRANDÃO, 2015).

As investigações científicas com plantas medicinais envolvem inúmeros elementos, sendo um deles o próprio caráter inter e multidisciplinar que, se por um lado, representa

problemas, obstáculos e cuidados, por outro, permite aos pesquisadores obterem conhecimentos mais amplos e ricos que aqueles obtidos em linhas específicas de pesquisa.

No território brasileiro é comum que as ervas nativas sejam utilizadas sem o devido conhecimento de suas reais propriedades farmacológica e homeopáticas . diversas vezes, inclusive, a planta usada apresenta fins terapêuticos diferentes do objetivo de uso, são utilizadas de maneiras incorretas e acabam não realizando os efeitos esperados . Por isso se torna necessário pesquisas e estudos sobre a finalidade de cada planta no organismo. A OMS diz ser fundamental pesquisas sobre as plantas medicinais e sobre seus princípios químicos naturais, garantindo, portanto, sua eficácia. Em 2006, o Ministério da Saúde do Brasil aprovou pela portaria nº 648 a Política Nacional de Atenção Básica, que inclui plantas medicinais no SUS (BATTISTI et al. 2013; JUNIOR et al., 2005)

O estudo das plantas tóxicas vem ganhando importância, pois, além de esclarecer diferentes aspectos dos casos de intoxicações pode ainda fornecer compostos líderes para o desenvolvimento de fármacos. As plantas podem causar reações diversas, desde alergias na pele e mucosas, até distúrbios cardiovasculares, respiratórios, metabólicos, gastrintestinais, neurológicos e em alguns casos o óbito (Vasconcelos et al .,2009)

Por isso a investigação toxicológica se torna tão importante, para amenizar os riscos cometidos ao se usar um extrato ou fitoterápico indevidamente além da sua fração indevida aquém do permitido ou efeitos cumulativos no organismo ao longo do tempo resultando muitas vezes em óbito .para isso um estudo através da CL_{50} E DL_{50} se torna eficaz na pesquisa clínica com bioativos e extratos de ervas medicinais orientando no uso racional da fração utilizada Atenuado o efeitos deletérios utilizando a medida correta em sua utilização .

2.1 Estudo Botânico

A família Lamiaceae pertence à ordem Tubiflora sendo composta de uma diversidade de 200 gêneros e cerca de 3.200 espécies, dentre estas a nossa espécie de estudo.

Figura 1 – Folhas e Inflorescência de *Ocimum campechianum* Mill



Fonte: Própria do autor.

Segundo Almeida e Albuquerque (2002) a planta *Ocimum campechianum* Mill. ou *Ocimum micranthum* Willd.: “Descreve-se como uma erva de 10 - 60 cm de altura, ciclo anual ou perene, formada de base lenhosa, ramos eretos de secção quadrangular, glabros, subglabros ou pilosos, com indumento formado por pelos retrorsos, ou com pelos eretos e adpresos dispostos em faces opostas, às vezes com pelos maiores sobre os nós. Folhas 1,5 - 11 x 0,8 - 6,5 cm, ovaladas ou amplamente oval-lanceoladas, serreadas, agudas ou cuspidadas, de base atenuada, punteado-glandulosas, pubescentes ou subglabras; pecíolos 0,4-6,0 cm pilosos, às vezes somente na face adaxial. Inflorescência de 3-20 cm de tamanho, delicada, robusta, ramificada, ramos laterais menores ou iguais ao principal. Verticilos separados entre 0,4 a 2,0 cm; eixo da inflorescência sem cicatrizes negras; brácteas 4 - 7 x 2,5 - 5,5 mm. Persistentes, eretas, ovaladas, inteiras, agudas ou cuspidadas, algo cuneadas, pilosas nos bordos; pedicelos 1 - 2,5 mm eretos, levemente achatados, horizontais, ligeiramente curvados, pilosos. Cálice 3 - 4,5 mm na antese, horizontal, algo reflexo, pubescente ou puberulento na face abaxial, lábio superior grande, decorrente até a base, arredondado no ápice; lobos médios do lábio inferior estreitamente lanceolados, cuspidados ou brevemente aristados, lobos laterais deltóides, cuspidados; cálice frutífero 6- 9 mm. Ligeiramente reflexo, de boca aberta, lábio superior acrescente. Corola 4 - 5 mm, branca, internamente purpúrea, incluída no cálice, mesmo que algumas vezes o ultrapasse um pouco. Tubo reto, glabro até a base, ligeiramente infundibuliforme, lobos do lábio superior arredondados, lábio inferior oblongo, inteiro ou levemente sinuoso, de puberulento a pubescente dorsalmente. Estames exsertos entre 1,5 e 3 mm, os posteriores grandes, glabros e sem apêndices. Ovário glabro. Núculas de até 1,5-2 mm, oblongas, uniformemente marrons; pericarpo granuloso, provido de uma copiosa quantidade de mucilagem de aspecto leitoso (ALMEIDA e ALBUQUERQUE, 2002).

O *O. campechianum* Mill usada na culinária e na medicina popular no Nordeste do Brasil, conhecida popularmente como alfavaca do campo, e alfavaca-de-galinha, é rica fonte de óleos essenciais presentes nas folhas, inflorescências e sementes da planta adulta. Foram identificadas as substâncias: eugenol, metil-eugenol, elimicina e linalol, com propriedades medicinais, aromáticas e condimentares, sendo por estas causas reconhecidas e empregadas na Medicina Popular e na culinária regional (CHARLE et al, 1990; ECKELMANN, 2002; AMARAL & SILVA, 2003; SILVA et al., 2004; ZOGHBI et al., 2007; EDRIS, 2007).

2.2 Estudo Fitoquímico

Corroborando os estudos de Eckelmann (2002), Amaral e Silva (2003), Silva e colaboradores (2004), Sousa (2004) e Zoghbi e colaboradores (2007), Bichara Junior e colaboradores (2014) reafirmaram ter encontrado pelo método de Clevenger modificado e original os mesmos componentes eugenol, metil-eugenol, elimicina e linalol. O fenilpropanóide metileugenol foi o constituinte mais abundante encontrado em todos os óleos obtidos, em segundo lugar foram os hidrocarbonetos sesquiterpênicos β -cariofileno (5,34% - 7,53%), β -elemeno (2,17% - 3,67%), β -selineno (3,85% - 4,66%) e α -selineno (2,43% - 3,41%).

A Tabela N °01 apresenta a composição química do óleo essencial das folhas/ramos de *Ocimum campechianum* Mill, em ordem crescente de seus respectivos índices de retenção Luis Baia Figueiredo et ., (2016) O espécime foi cultivado no município de Abaetetuba, Pará. As folhas/ramos do material botânico ainda fresco foram secas em estufa com ventilação constante a 35°C. O óleo essencial foi obtido em duplicata por hidrodestilação, utilizando-se a metodologia descrita por Maia e Andrade (2009).

Quadro 1 - Substâncias encontradas em diversas espécies de *Ocimum campechinum* Mill

IR	COMPOSTO	FOLHAS /RAMOS
978	Octen-3-ol	0,06±0
1029	Limoneno	Tr
1026	1,8-cineol	0.09±0
1035	z- β – ocimeno	0.19±0.03
1044	E- β – ocimeno	0.03±0
1128	Alfo-ocimeno	0.03±0

1199	Metilchavicol	0,43±0
1334	α- elemeno	0,36±0
1350	Eugenol	0,19±0
1388	β- elemeno	3,99±0,03
1407	Metileugenol	85,22±0
1418	β-cariofileno	0,16±0
1428	γ - elemeno	0,02±0
1453	α-humuleno	1,24±0
1486	β-silinenol	3,53±0
1493	α-Silinenol	2,83±0
1628	Selin-11-en-4α-ol	0,13±0
1649	β- eudesmol	0,08±0
1608	Epoxido de humuleno II	0,01±0
1590	Globulol	0,03±0,02
1582	Oxido de cariofileno	0,09±0
1545	Espatuleno	0,05±0
1548	Elemol	0,03±0
1520	7- epi-α- selineno	0,02±0
1509	α-Busneseno	0,23±0
1476	β- chamicreno	0,07±0
1464	9- epi-β – cariofileno	0,16±0
Monoterpenos Hidrocarbonetos		0,25±0,03
Monoterpenos oxigenados		0,09±0
Sesquiterpenos hidrocarbonetos		12,57±0,12
Sesquiterpenos oxigenados		0,42±0,02
Metileugenol		85,84±0
Total		99,23

IR (C) : Índice de Retenção calculado ; tr : traços

O quadro 2 mostra alguns componentes químicos já isolados e identificados em espécies pertencentes ao gênero *Ocimum*.

Quadro 2 - Componentes químicos já isolados e identificados em espécies pertencentes ao gênero *Ocimum Campechinum* Mill

Espécie	Principais Constituintes Químicos	Referência
O.americanun	Metil cinamato	Gonçalves et al.,2015
O.basilicum	Linalol,metil chavicol,metil cinamato,linalol.1,8 cineol,inalol, metil chavicol, metil cinamato, metil chaviol	Pitaro et al.,2012 Araujo et al.,2017
O.campechianum	1,8cineol,β-cariofileno, elemenos,eugenol,β-cariofileno, elimicina,1,8 cineol,metileugenol, sesquiterpenos,alcaloides	Simon ,2000
O.canum	Canfora ,limoneno, metil cinamato,inalol,confora,1,8cineol,metilcinamato,β-pireno	Simon et al.,2004
O.citriodorum	Citral,geraniol.citral	Darrah,1980 Simon et al.,1990
O.gratissimum	Eugenol,Timol,eugenol,ocimeno,eugenol,Timol	Evangelista L.Vet al 2020
O.kilmandscharium	Canfora ,limoneno,1,8-cineol 1,8-cineol	HM Ali et al., 2021
O.sanctum	Eugenol,β-cariofileno metil eugenol,β-cariofileno eugenol,β-cariofileno,β-elemenos	Pattanayak P et al., 2010
O.trichodon	Eugenol	Janssen et al.,2004

*Especies coletadas no Brasil,introduzidas e cultivadas na Universidade de Purdue nos Estados Unidos.

3 ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

3.1 Ação inseticida

Atividade larvicida do óleo essencial de *Ocimum campechianum* Mill contra as larvas do mosquito *Aedes aegypti*, principal vetor de arbovírus causador da febre amarela, dengue, Chikungunya e Zika são amplamente distribuídos todo o mundo, nos trópicos e subtrópicos. Estudo de atividade larvicida frente à fase larvária de *Aedes aegypti* foi desenvolvida por Scalvenzi e colaboradores com ótimos resultados. Os estudo promissores foram realizados in vitro , onde A sensibilidade aos óleos essenciais foi medida de acordo com o protocolo da OMS. Após 24 horas, a porcentagem média de mortalidade variou de 2,2 a 100% para *O. Campechianum* com uma DL_{50} de $69,3\mu L \cdot mL^{-1}$ mostrando uma atividade larvicida rápida e eficaz (TCHOUMBOUGNANG, 2009; AKONO NTONGA, 2014; SCALVENZI, 2019).

3.2 Atividade antioxidante

Segundo Tacchini e colaboradores (2021) foram testados os extratos (metanólico e etanólico a 70%) e o óleo essencial (OE) de *Ocimum campechianum* Mill. (Equador) folhas e ramos quimicamente, também estudados quanto à sua atividade biológica in vitro. A atividade anti-oxidante (sequestrante radical), realizada por espectrofotometria 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e 2,20-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico ácidos) (ABTS), apresentou valores IC_{50} significativos para o EO, extratos e seus principais constituintes (eugenol e ácido rosmarínico).

Quanto à atividade antioxidante, todos os extratos apresentaram notável capacidade antioxidante em ambos os testes realizados (DPPH e ABTS). Em particular, OE quecontem de 44% de eugenol mostrou a maior atividade de eliminação de radicais em ambos os ensaios com um IC_{50} de $7,7 \pm 0,1$ g / mL contra DPPH e $3,18 \pm 0,29$ g / mL contra ABTS, ambos próximos ao valor obtido com o controle positivo (Trolox). Os extratos etanólico e metanólico são ricos em ácido rosmarínico, apresentando valores de IC_{50} próximo a Trolox substância de referência. Desta forma os resultados confirmaram propriedades antioxidantes muito promissoras para todos os extratos. A presença considerável de ácido rosmarínico e eugenol (bem conhecidos na literatura por seu potencial de saúde), e os estudos já em andamento para explorar o alto poder antioxidante potencial das duas últimas moléculas sugere que esses resultados podem ser considerados confiáveis e boas perspectivas para o uso de *O. campechianum*, medicamento

bruto e extratos, no mercado de saúde e bem-estar (NAVARRO et al, 2002; JIN. Et al., 2012; AMORATI; FOTI e VALGIMIGLI, 2013; DE ARAUJO et al., 2018).

3.3 Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana, dos extratos brutos, benzênico EBF(10%, p/v) e metanólico EMF(10%, p/v), de folhas, caules, inflorescências não se mostraram ativos contra *Staphylococcus aureus*. Os estafilococos são importantes agentes causadores de mastites, destacando-se entre eles o *Staphylococcus aureus*, como *Micrococcus flavus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter sp.*, *Candida albicans*, *Candida krusei* (Sousa, 2004).

CAAMAL-HERRERA e colaboradores (2018) testaram dois extratos, um etanólico e outro aquoso das folhas de *O. campechianum*, frente a *Candida albicans* ambos os extratos sensibilizaram o microorganismo porém foi ao etanólico a *Candida albicans* foi mais suscetível. Testando contra o *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*, notaram um efeito antiproliferativo significativo ($p < 0,05$). Esses ensaios mostraram que baixas concentrações de óleo essencial e extratos de *Ocimum micranthum* Willd ou *Ocimum campechianum* Mill. das folhas são suficientes para causar um efeito antiproliferativo na linha celular hFB, mas não teve efeito antimicrobiano contra os microrganismos testados.

O estudo de Tacchini e colaboradores (2021) mostra que o componente eugenol teve atividade notável contra *Pseudomonas syringae* e um efeito discreto contra cepas clínicas do gênero *Candida*, com possível sinergismo em associação ao fluconazol.

3.4 Atividade antitumoral

Segundo estudos de Sousa (2004) a atividade antitumoral de *O. campechianum* Mill. Mostraram resultados bem promissores, com uma inibição significativa dos tumores sarcoma 180 (47,34%) e carcinoma de Ehrlich (84,86%).

Fangjun e Zhijia (2018) em seus estudos evidenciaram que o eugenol, componente majoritário em vários perfis fitoquímicos do óleo essencial de *O. campechianum* Mill. (Bichara Junior, 2014) inibiu a viabilidade celular em células de câncer de pulmão e que notadamente prejudicou a migração e invasão celular. Finalmente, os níveis de expressão de fosfato-Akt e MMP-2 em células de câncer de pulmão foram reduzidos após o tratamento com eugenol. Estes trabalhos demonstraram os papéis supressores tumorais do eugenol na proliferação, migração e invasão de células cancerígenas de pulmão, parcialmente através da via PI3K / Akt e da

atividade de MMP *in vitro*. Afirmaram que tais resultados sugerem o eugenol como potencial agente quimioterápico contra câncer de pulmão humano.

3.5 Atividade Toxicológica

De acordo com Rodrigues et al. (2001), os compostos sintetizados pelas plantas medicinais, a partir dos nutrientes recebidos do ambiente físico, podem apresentar propriedades terapêuticas, ou mesmo provocarem reações tóxicas nos seres vivos, a depender da dosagem utilizada. Esses compostos, produzidos por plantas medicinais, são denominados princípios ativos. São múltiplos os grupos de princípios bioativos produzidos pelas ervas medicinais, podendo ser separados pelas características físicas, propriedades químicas e atividades bioquímicas. Os alcaloides, compostos fenólicos e terpenos são as classes químicas que apresentam maiores potencialidades, muitos deles com propriedades farmacológicas.

Em um experimento de Santos et al. (2001) que realizado com o óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*), sobre fêmeas ingurgitadas de R. (*Boophilus*) microplus, utilizando as seguintes concentrações 1; 5; 10; 25; 50 e 100% do óleo essencial de manjeriço foi observado que obtiveram a eficiência química do produto de 28; 38; 36; 62; 100 e 100% respectivamente, sendo comprovada sua atividade carrapaticida (SANTOS et al., 2012). Em outra pesquisa realizada por Valazquez (2011), com *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* e o óleo essencial do *O. basilicum* observou-se que as espécies *C. Cyminm* e *P. Dioica* foram tóxicas para as larvas do R. (B.) microplus. Foi constatado que *O. basilicum* tem entre seus constituintes o linalol (30,61%), o estragol (20,04%), o α -farneseno (6,96%), o eugenol (6,61%) e o 1,8-cineol (6,2%), todos possuindo atividade repelente. foram analisados os constituintes químicos presentes nas folhas do óleo identificados como sesquiterpenos (33,9%), cujos componentes principais foram: germacreno D (10,1%), β -bourbonene (9,5%), trans- α -cariofileno (7,8%), α -bulnesene (7,1) e α -guaiane (5,6%). Seis compostos foram identificados como sesquiterpenos oxigenados (10,7%), onde epi- α -murolol (2,0%) e 11-selineno-4- α -ol (1,1%) Padalia RC et al.,2011.

Para Simões et al. (2010), a toxicidade de alguns compostos dos óleos voláteis de gênero *Ocimum* constitui uma proteção contra predadores e infestantes. Por exemplo, o mentol e mentona são inibidores do crescimento de vários tipos de larvas. Também existem evidências que alguns insetos utilizam partes desses óleos sequestrados para exercer ação protetora contra predadores. Assim, os vapores de certas substâncias como citronelal e α -pineno podem causar certa irritação suficiente em um predador para fazê-lo desistir de sua presa.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Avaliação da atividade biológica toxicológica, e investigação da espécie *Ocimum campechianum* Mill.

4.2 Específicos

- Realizar ensaios de toxicidade aguda do extrato bruto das folhas;
- Avaliar a atividade toxicologica do extrato bruto das folhas .

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Coleta de Material Vegetal

As folhas de *Ocimum campechianum* mill. Foram coletadas em serra negra - palmeirinha, localizada na cidade de bezerros, Pernambuco imagem N°1. As folhas, caule e as sumidades florais foram triturados e massageasse manualmente colocados numa solução alcoólica, permanecendo em contato com o solvente por um período de 20 dias temperatura ambiente, sendo o conjunto agitado manualmente esporadicamente, e mantido ao abrigo da luz.

O líquido de extração foi filtrado e concentrado a vácuo em um evaporador rotativo acoplado a uma bomba de vácuo sob temperatura constante de 56°C, obtendo-se assim o extrato bruto pilular imagem da figura 2.

Figura 2 - Serra Negra-Bezerros-Pernambuco



Fonte: Google Maps-8.1022908/-35.8968765

Figura 3 - Extrato pilular *Ocimum campechinum*



Fonte: Do autor.

5.2 Atividades toxicológicas

Toxicidade é a propriedade química de uma substância ou biológica associada a sua exposição. (SPRADA,2018). Tem por objetivo caracterizar quantitativamente a relação dose /resposta que conduz ao cálculo da DL50 (Dose letal 50%) ou CL50 (Concentração letal media). (BARROS; DAVINO, 2008; OGA,2014). Quando nos referimos à toxicologia, algumas definições são levadas em consideração, por exemplo, toxicidade aguda e crônica. A primeira resulta da exposição a um agente tóxico, em um curto período, capaz de promover os efeitos indesejáveis, que vão desde uma simples tontura até mesmo à morte. Já a toxicidade crônica está relacionada a exposições repetidas, de longa duração(exposição) e doses frequentemente insuficientes para provocar uma intoxicação aguda, com os sintomas podendo manifestar-se após meses ou anos a partir do contato com o agente tóxico. Vale a pena ressaltar que uma mesma substância pode provocar intoxicação aguda e após certo tempo, desencadear uma intoxicação crônica. Diante do referido cenário da utilização de plantas medicinais como uma alternativa na busca de novos agentes terapêuticos, a determinação da toxicidade aguda é o primeiro passo nas investigações toxicológicas.

5.3 Ensaio e toxicidade in vivo - *Artemia salina* Leach

Neste ensaio biológico foram utilizadas larvas de *Artemia salina*, obtidas a partir da incubação de cerca de 20mg de cistos, sob luz artificial por 48 horas. Grupos de 10 a 13 metanúplios foram expostos aos ensaios foram feitos e triplicata. Os dados foram plotados em gráficos e com isto foi interpolada a CL50 diferentes concentrações (50 a 1000 µg/ml). Da solução mãe previamente preparada, foram feitas diluições sucessivas chegando-se as demais concentrações: 1,25, 2,5, 6,25 e 12,5 mg/ml. Figura N°4 . Após essas 24 horas, foram coletadas com uma pipeta de Pasteur, 10 larvas de metanauplios e transferidas para um tubo graduado, contendo 400 µl de cada concentração do extrato e completadas para 10 ml com água do mar e água destilada (50%/50%).

Figuras 4 - Diluições sucessivas do extrato pilular *Ocimum camoechinum*



Fonte: Do autor

6 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS

6.1 Obtenção dos Camundongos

Camundongos *Mus musculus* foram oriundas do Biotério do Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pesando entre 35 e 45 gramas e com idades entre 90 e 120 dias. Os testes de toxicidade aguda foram efetuados após a aprovação do Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) da UFPE. O manejo e cuidado com os animais seguiram os princípios éticos da experimentação animal segundo critérios estabelecidos pelo CEUA.

6.2 Avaliação da atividade toxicológica aguda

Para avaliar a toxicidade aguda do extrato de *Ocimum campechinum* Mill e determinar a Dose Letal (DL_{50}) da amostra botânica utilizou-se a metodologia preconizada pelo *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals* (GHS) (2011) e pela *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD), adotando-se o guia OECD 423/2001, o qual determina utilizar doses fixas de 2.000, 300, 50 e 5 $mg\ kg^{-1}$. Segundo a OECD, deve-se iniciar o bioensaio com a dose de 2.000 $mg\ kg^{-1}$, caso não haja mortalidade ou sinais clínicos intensos nos animais, recomenda-se a não utilização das demais doses. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental do Departamento de Antibióticos da UFPE. Para realização do bioensaio, as fêmeas adultas de camundongos foram separadas em dois grupos compostos por três animais cada grupo, sendo três animais destinados à dose de 2.000 e administrados por via oral, e três animais separados para o grupo controle, também administrados por via oral.

Os camundongos foram mantidos em gaiolas de polipropileno, em condições controladas de iluminação (12 horas de fotofase) e temperatura de $22 \pm 2\ ^\circ C$. A alimentação foi suspensa 12 horas antes dos ensaios e a água foi liberada *ad libitum*. O extrato foi solubilizado com água destilada, antes da administração e a solução estoque do grupo controle foi apenas água destilada. Para administração por via oral a solução foi introduzida no trato digestório dos animais, através de uma cânula metálica (método de gavagem). O manejo e cuidado com os animais seguiram os princípios éticos da experimentação animal segundo critérios estabelecidos pelo CEUA. Após aplicar a dose de 2.000, foi determinada a DL_{50} e estimada a categoria toxicológica do extrato, seguindo as especificações dos guias GHS e OECD.

Os sinais clínicos manifestados pelos animais foram observados e registrados individualmente, após as administrações por um período de 60 minutos e, posteriormente, a cada 24 horas, no total de 14 dias. Os sinais clínicos observados foram às reações comportamentais relacionadas com o Sistema Nervoso Central (SNC) (efeitos estimulantes e depressores) e com o Sistema Nervoso Autônomo (SNA).

7 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A avaliação da toxicidade aguda do extrato de *Ocimum campechinum* Mill, administrado em camundongos pela via oral, apresentou diversos sinais clínicos, como demonstrado na Tabela 1, efeitos comportamentais e mortalidade em camundongos administrados oralmente com o extrato obtido de *Ocimum campechinum* Mill, em relação à dose de 2.000 mg kg⁻¹ e o grupo controle.

Tabela 1 - Efeitos comportamentais e mortalidade em camundongos

Sinais Clínicos	Via oral (mg kg ⁻¹)	
	2.000	GC ¹
1. Sistema Nervoso Central		
Ausência de coordenação motora	-	-
Convulsão tônica crônica	-	-
Parada cardiorrespiratória	-	-
Refluxo	+	-
1.1 Efeitos estimulantes		
Agressividade	-	-
Ambulação aumentada	-	-
Aumento da respiração	++	-
Autolimpeza	+	-
Escalar	+	-
Movimento circular	+++	-
Ereção de cauda	-	-
Espasmos	+++	-
Frêmito vocal	-	-
Inversão de macha	+	-
Iritabilidade	-	-
Movimento das vibrissas	+++	-
Movimento estereotipado	+++	-
Postura de ataque	++	-
Postura em garra	++	-
Salto	+++	-
Sacudir a cabeça	+	-
1.2 Efeitos depressores		
Ambulação diminuída	-	-
Ataxia	-	-
Catatonía	+	-
Cauda em straub	-	-
Perda do reflexo auricular	+++	+
Ptose palpebral	+	-
Prostração	-	-
Resposta ao toque diminuída	+	-
Sedação	-	-
2. Sistema Nervoso Autônomo		
Cianose	-	-
Contorções	-	-
Diarreia	-	-
Palidez	+	-
Postura estática	+++	-
Reação de fuga	+++	-
Distensão abdominal	+++	-
Diurese	+	+

Edema de focinho	++	-
Excreção fecal	+	+
Piloereção	+++	+
Taquipneia	-	-
Salivação	-	-
3. Mortalidade (%)	0	0

CG¹ Grupo Controle; Resultado negativo (-), Resultado positivo (+), Resultado positivo moderado (++) e Resultado positivo intenso (+++).

Fonte: Resultado da pesquisa.

Na Tabela 1, observa-se que o extrato de *Ocimum campechinum* Mill administrado pela via oral, na dose de 2000 mg kg⁻¹ ocasionou maior número de sinais clínicos relacionados aos efeitos estimulantes como movimento circular, espasmos, movimento de vibrissas, movimento estereotipado e salto. Sendo estes sinais os mais intensos. Além desses sinais clínicos, outros efeitos foram observados sob o SNA, sendo postura estática, reação de fuga, distensão abdominal e piloereção os mais intensos (Tabela 1). Em relação ao SNC os animais apresentaram apenas refluxo como sinal clínico positivo, como demonstrado na Tabela 2.

Os animais do grupo controle administrados pela via oral não apresentaram sinais clínicos intensos e moderados, apresentando uma maior quantidade de resultados negativos (Tabela N°2). Os animais administrados pela via oral, na dose de 2000 mg kg⁻¹, assim como, do grupo controle não apresentaram mortalidade (Tabela 2).

A análise da toxicidade aguda oral do extrato de *Ocimum campechinum* Mill revelou uma DL₅₀ estimada de 2.500 mg kg⁻¹, sendo portanto classificada na categoria 5 (ausência de toxicidade) de acordo com a escala do sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS).

O comportamento estereotipado complexo e o aumento da ambulação tratados com o extrato do *Ocimum campechinum*, sugere uma possível atividade sobre o SNC considerando que a atividade locomotora espontânea neno movimento repetitivo estão relacionados com os noveis de excitabilidade do sistema (DA COSTA JUNIOR et al ., 2011) relataram em seus estudos que sinais como locomoção aumentada podem ser um indicativo de efeito estimulante.

Segundo Sousa, (2004), a avaliação da toxicidade aguda permitiu a observação de várias reações nos animais, como: tremores, piloereção, contorções abdominais e efeitos sobre a respiração. A DL₅₀ resultante, neste ensaio, foi de 1017,4 mg/kg de peso do animal, sabendo-se que, até a dose 625 mg/kg, o extrato bruto hidroalcoólico (70%) das folhas não provocou morte de nenhum animal, quando administrado por via intraperitoneal.

7.1 Toxicidade in vivo – *Artemia salina*

A determinação da CL₅₀, que é realizada através do uso de metanúplios de *Artemia salina* Leach, fornece um indicativo do nível de toxicidade de uma determinada substância. A literatura refere-se que uma CL₅₀ inferior a 1000 µg/mL, Nguta et al. (2011) classificaram os extratos vegetais, em graus de toxicidade contra larvas de *A. salina*, conforme intervalo, no qual são considerados com valores de CL₅₀ menores que 100 µg.mL⁻¹ apresentam alta toxicidade, CL₅₀ entre 100 e 500 µg.mL⁻¹ toxicidade moderada, CL₅₀ entre de 500 e 1000 µg.mL⁻¹ fraca toxicidade e CL₅₀ acima de 1000 µg.mL⁻¹ são considerados atóxicos.

Após 24 horas de exposição da *Artemia salina* Leach, observou-se que houve moderado número de óbitos na maioria das concentrações utilizadas da amostra (Figura 5). Desta forma, através de todos os fatos observados foi comprovado experimentalmente que a amostra apresentou o valor de CL₅₀ de 131 µg/mL o que apresenta uma toxicidade moderada.

Figura 5 - Programa estatístico GraphPadPrism.

Table format:		X	Group A		
XY		X Title	Data Set-A		
		X	A:Y1	A:Y2	A:Y3
1	Title	1000	0	0	0
2	Title	500	0	0	0
3	Title	250	2	4	2
4	Title	100	8	5	4
5	Title	50	10	10	10
6	Title	1	10	10	10

Nonlin 1B		A
Table of results:		
1	log(inhibitor) vs. normalized response – Variable slope	
2	Best fit values	
3	LogIC50	2.119
4	HillSlope	-2.231
5	IC50	131.7
6	95% CI (profile likelihood)	
7	LogIC50	2.038 to 2.212
8	HillSlope	-3.284 to -1.625
9	IC50	167.2 to 162.9
10	Goodness of Fit	
11	Degrees of Freedom	16
12	R squared	0.9422
13	Sum of Squares	1893
14	Sy x	10.88
15	Number of points	
16	# of X values	18
17	# Y values analyzed	18

Fonte: Do autor.

Neste sentido, a utilização de *Artemia salina* (Figura nº6) como organismo bioindicador em um teste de toxicidade aguda é um bioensaio que serve tanto como indicador de toxicidade como de bioatividade de extratos de plantas.

Bioensaios simples têm sido desenvolvidos no intuito de serem usados no monitoramento de extratos e óleos essenciais de ervas medicinais, dentre esses, destaca-se a toxicidade sobre *A. salina*, que é um bioensaio rápido e conveniente como estudo preliminar no monitoramento de espécies vegetais bioativas.

Ele apresenta vantagens como: rapidez, praticidade, simplicidade, baixo custo, requer pouca quantidade de amostra (PARRA et al.2001).

Figura 6 - Larva de Artemia salina



Fonte:www.alamy.com

7.2 Toxicidade aguda

O teste de toxicidade aguda visa determinar se algumas substâncias apresentam caráter nocivo para o organismo vivo. Además, o teste proporciona subsídios para definir a melhor dose a ser testada nas atividades farmacológicas. Os animais foram tratados com uma dose única 2000 mg/kg (v.o.) do extrato de *Ocimum campechianum* mill e observados durante os 14 dias de experimento.

A tabela 2 evidencia os valores de consumo de água, ração e ganho ponderal após 14 dias de experimento. Constatou-se que o *Ocimum campechianum* mill não causou alterações significantes. A massa corporal, o consumo de água e ração do grupo tratado com o *Ocimum campechianum* mill não mostra diferença estatísticas em relação ao grupo controle tratado com solução TweenTM 60.

Tabela 2 - Efeito do extrato sobre o consumo de água, ração e peso corporal em camundongos após os 14 dias da administração oral da dose única de 2.000 mg/kg

Parâmetros	TRATAMENTO	
	Controle (Solução H ₂ O/Tween TM 60 1%)	Extrato (2.000 mg/kg)
Consumo de ração (g)	17,15 ± 2,77	18,01 ± 3,62
Consumo de água (mL)	30,12 ± 5,54	30,27 ± 5,66
Massa inicial (g)	32,33	36,83
Massa final (g)	36,16	40,66
Ganho de Massa (%)	11,8%	10,39%

Fonte: o autor

Constatou-se, de acordo com tabela de N°3, que o *Ocimum campechianum* Mill não causou alterações significantes. A massa corporal, o consumo de água e ração do grupo tratado com o *Ocimum campechianum* Mill não mostram diferenças estatísticas em relação ao grupo controle.

8 CONCLUSÃO

Conclui-se que de acordo com os dados obtidos da CL₅₀ foi comprovado experimentalmente que a amostra apresentou o valor de CL₅₀ de 131 µg/ml, indicando uma letalidade toxicidade moderada para esta planta. E de acordo com os dados obtidos da DL₅₀.

Os animais administrados pela via oral, na dose de 2000 mg kg⁻¹, assim como, do grupo controle não apresentaram mortalidade. Em relação ao SNC os animais apresentaram apenas refluxo como sinal clínico positivo. Esses dados dos ensaios preliminares de toxidade mostram que o estudo dessa planta *Ocimum campechinum* Mill se torna muito promissor contribuindo com resultados positivos e de interesse para inúmeras áreas de pesquisa. Motivando desta forma a continuação de estudos em um futuro próximo.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P. Contribuição ao estudo das alfavacas no Brasil. **Rev. Bras. Farm.**, v. 78, n. 4, p. 74- 78, 1997.
- ALI SS, ABD EL WAHAB MG, AYUOB NN, SULIAMAN M. The antidepressant-like effect of *Ocimum basilicum* in an animal model of depression. **Biotech Histochem.** 2017;92(6):390-401. Doi: 10.1080/10520295.2017.1323276. Epub 2017 Aug 11. PMID: 28800278.
- ALMEIDA, C. de F. C. B. R. de; ALBUQUERQUE, U. P. de. Check-list of the Family Lamiaceae in Pernambuco, Brazil. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 45, n. 3, p.343-353, 2002;
- ALVES, L.F. Produção de fitoterápicos no Brasil: história, problemas e perspectivas. **Revista Virtual de Química**, v.5, n.3, p.450-513, 2013.
- ACAR, K. A.; OGUNLEYE, V. O.; ASHIDI, J. S. Antimicrobial potential *Spondias mombin*, *Croton zambesicus* and *Zygotritonia crocea*. **Phytother. Res.**, v. 13, p. 494-497, 1996.
- AKHTAR, M. S.; MUHAMMAD, M. Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of *Solanum nigrum*, *Brassica oleracea* and *Ocimum basilicum* in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 27, n. 1-2, p. 163-176, 1989.
- ABDO KM, CUNNINGHAM ML, SNELL ML, HERBERT RA, TRAVLOS GS, ELDRIDGE SR, BUCHER JR. 14-Week toxicity and cell proliferation of methyleugenol administered by gavage to F344 rats and B6C3F1 mice. **Food Chem Toxicol.** 2001 Apr;39(4):303-16. doi: 10.1016/s0278-6915(00)00143-5. PMID: 11295478
- ALBUQUERQUE, U. P. Contribuição ao estudo das alfavacas no Brasil. **Rev. Bras. Farm.**, v. 78, n. 4, p. 74-78, 1997.
- ALMEIDA, C. de F. C. B. R. de; ALBUQUERQUE, U. P. de. Check-list of the Family Lamiaceae in Pernambuco, Brazil. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 45, n. 3, p.343-353, 2002.
- ANDRADE, E. H. A.; RIBEIRO, A. F.; SILVA, M. H. L. da; ZOGHBI, M. G. B.;
- ASHA, M. K.; PRASHANTH, D.; MURALI, B.; PADMAJA, R.; AMIT, A. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum sanctum* and eugenol. **Fitoterapia**, v. 72, n. 6, p. 669-670, 2001.
- AYISI, N. K.; NYADEDZOR C. Comparative in vitro effects of AZT and extracts of *Ocimum gratissimum*, *Ficus polita*, *Clausena anisata*, *Alchornea cordifolia*, and *Elaeophorbia drupifera* against HIV-1 and HIV-2 infections. **Antiviral Res.**, v. 58, n. 1, p. 25-33, 2003.
- BANDONI, A.L.; CZEPAK, M.P. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil: seu aproveitamento para a produção de aromas e sabores**. Vitória: EDUFES, 2008. 623p.
- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. Antibiotic susceptibility testing by a standard single disc method. **Am. J. Clin. Pathol.**, n. 45, p. 493-499, 1966.

BEKELE, J.; HASSANALI, A. Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. **Phytochemistry**, v. 57, p. 385–391, 2001.

BHATNAGAR, M., et al. Laboratory evaluation of insecticidal proprieties of *Ocimum basilicum* Linnaeus and *O. sanctum* Linnaeus plant's essential oils their major constituents against mosquito species. **J. Entomol. Res.**, v. 17, p. 21-26, 1993.

BUDAVARI, S. (Ed.). **The Merck Index**. 12 ed. New Jersey: Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, 1996. 3947 p.

CORREIA, A.D.; BATISTA, R.S.; QUINTAS, L.E. **Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica**. 4 ed. Vozes, 2004.

CANTER, D.A.; GUNNING, D.; RODGERS, P. O'CONNOR, L., TRAUNERO, C. ; KEMPTER, C.J. (2005). Remediation of *Bacillus anthracis* contamination in the U.S. Department of Justice Mail Facility. **Biosecur Bioterror** 3, 119–127.

CAMPÊLO, C. R. Contribuição ao estudo das plantas medicinais no Estado de Alagoas I. **Sci. Sap.**, v. 9, p. 18-22, 1990.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1978. 84 p

CARVALHO, J. C. T.; VIGNOLI, V. V.; SOUZA, G. H. B. de; UJIKAWA, K.; NETO, J. J. Antimicrobial activity of essential oils from plants used in brazilian popular medicine. **Acta Hort.**, 501, p. 77-81, 1999.

CHARLES, D. J.; SIMON, J. E.; WOOD, K. V. Essential oil constituents of *Ocimum micranthum* Willd. **J. Agric. Food Chem.**, v. 38, p. 120-122, 1990.

CHATTERJEE, A.; S UKUL, N.C.; LASKAL, S.; GHOSHMAJUMDAR, S. Nematicidal principles from two species of Lamiaceae. **J. Nematol.**, v. 14, p. 118- 120, 1982.

CHOGO, J. B.; CRANK, G. Chemical composition and biological activity of the Tanzanian plant *Ocimum suave*. **J. Nat. Prod.**, v. 44, n. 3, p. 308-311, 1981.

COE, F. G.; GREGORY, J. A. Screening of medicinal plants used by the Garífuna of Eastern Nicaragua for bioactive compounds. **J. Ethnopharmacol.**, v. 53, n. 1, p. 29-50, 1996.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1984. v. 1, p. 63-64.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1978. 84 p.

COURVALIN, P., et al. **L'Antibiogramme**. 1 ed. Paris: MPC-Videom, 1985. 343 p.

CRAVEIRO, A. **Secretory tissue in plant**. New York: Academic Press, 1981. p. 158-222

DALE MM, RANG HP, RITTER JM. *Farmacologia*. 4 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2001.

DARRAH, H. H. **The cultivated basils**. Independence: Buckeye Printing Company, 1980.
DE SOUSA, DP; SILVA, RHN; SILVA, EFD; GAVIOLI, EC. ESSENTIAL OILS AND THEIR CONSTITUENTS: **An Alternative Source for Novel Antidepressants. Molecules**. 2017 Aug 3;22(8):1290. doi: 10.3390/molecules22081290. PMID: 28771213; PMCID: PMC6152054.

DE VINCENZI M, SILANO M, STACCHINI P, SCAZZOCCHIO B. Constituents of aromatic plants: I. **Methyleugenol. Fitoterapia**. 2000 Apr;71(2):216-21. doi: 10.1016/s0367-326x(99)00150-1. PMID: 10727828.

EKUNDAYO, O. Essential oils. VIII. Volatile constituents of leaves of *Ocimum viride*. **Planta Med.**, n. 3, p. 200-202, 1986.

FERNANDES, Ciciane, FELIX, Samuel; NOBRE, Márcia. (2016). Toxicidade dos fitoterápicos de interesse do SUS: uma revisão. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**. 37. 91. 10.5433/1679-0367. 2016, v.37, n.1, p.91.

FIGUEIREDO, P.L.B. BICHARA JUNIOR, T.W. ; SILVA, S.G. NASCIMENTO, L.D RADE, E.H.A. MAIA, J.G.S. Composição química dos voláteis das folhas/ramos e inflorescências de ocimum campechianum (lamiaceae) por HD e DES, **Anais...** 54. Congresso Brasileiro de Química, 2014.

FLORENCIO, D. C.; XAVIER, H. S. Prospeção fitoquímica em farmacognosia II. In: CONGRESSO DE GRADUAÇÃO, 4. 2003. Recife. **Anais...** Recife: UFPE, 2003.

FORZZA, R. C., et al. Introdução. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Rio de Janeiro **Botanical Garden**. 2010b.

GEETA; VASUDEVAN, D. M.; KEDLAYA, R.; DEEPA, S.; BALLAL, M. Activity of *Ocimum sanctum* (the traditional Indian medicinal plant) against the enteric pathogens. **Indian J. Med. Sci.**, v. 55, n. 8, p. 434-438, 472, 2001.

GERAN, R. I.; SCHUMCH, A. M.; ABBOTT, B. J.; GREENBERG, N. H.; MACDONALD, M. M. Protocols for screening chemical agents and natural- products against animal tumors and other biological systems. **Cancer Chemother. Rep.**, part 3, n. 3, v.2, 1972.

GODHWANI, S.; GODHWANI, J. L.; VYAS, D. S. *Ocimum sanctum*: An experimental study evaluating its anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity in animals. **J. Ethnopharmacol.**, v. 21, n. 2, p. 153-163, 1987.

GLOBALLY HARMONIZED SYSTEM OF CLASSIFICATION AND LABELLING OF CHEMICALS (GHS). **Fourth edition revised, United Nations: New York and Geneva**. 2011. Disponível em: http://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev04/English/ST-SG-AC10-30-Rev4e.pdf. Acesso em: 05 jan. 2021.

GUO KF, DAI M, LIU YM, ZHANG JC, CHEN YM, YE H, LI MB, MAO RR, CAO J. Acute administration of methyleugenol impairs hippocampus-dependent contextual fear memory and increases anxiety-like behavior in mice. **J Agric Food Chem.** 2020 Jul 15;68(28):7490-7497. doi: 10.1021/acs.jafc.0c01863. Epub 2020 Jul 1. PMID: 32551566

GRANDI, T. S. M.; TRINDADE, J. A. Plantas medicinais de Minas Gerais, Brasil. In: Congresso Nacional de Botânica, 1989, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso, 1989. 406 p.

GUENTHER, E. **The essential oils.** 3 ed. Florida: Robert E. Krieger Publ. Co. Malabar, 1949. p. 399-433.

HARBORNE, J. B. **Phytochemical methods.** 3ed. London: Chapman & Hall, 1998. 288 p.

HASHIMOTO, Y. Diferenciação de esteróides e triterpenóides pela reação corada. **An. Acad. Bras. de Ciências**, n. 42 (Suplemento), p. 95-96, 1970.

HEDGE, I. C. A global survey of the biogeography of the Lamiaceae. In: HARLEY R. M.; REYNOLDS, T. (eds.). **Advances in Labiatae Science.** UK, 1992. p 7-17.

HEINRICH, M.; ANKLI, A.; FREI, B.; WEIMANN, C.; STICHER, O. Medicinal plants in mexico: healers' consensus and cultural importance. **Soc. Sci. Med.**, v. 47, n. 11, p. 1859-1871, 1998.

JANSSEN, A. M.; SCHEFFER, J. J. C.; NTEZURUBANZA, L.; SVENDSEN, A. B. Antimicrobial activities of some *Ocimum* species grown in Rwanda. **J. Ethnopharmacol.**, v. 26, n. 1, p. 57-63, 1989.

JORGE L. I. F.; ROQUE N. F.; FERRO V. O. *Ocimum micranthum* Willd. – Manjerição do Brasil. Caracterização histológica e química. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 52, n. 1/2, 1992.

KHOSLA, M. K. Study on inter-relationship, phylogeny and evolutionary tendencies in genus *Ocimum*. **J. Plant Anat. Morphol.**, v. 6, n.1, p. 93-106, 1993.

KHOSLA, M. K.; PUSHPANGADAN, P.; THAPPA, R. K.; SOBTI, S. N. Search for new aroma chemicals from *Ocimum* species. III. Studies on genetic variability for essential oil and other allied characters of South American species *O. micranthum* Willd. **Indian Perf.**, v. 24, n. 3, p. 148-152, 1980.

LAWRENCE, B. M.; HOGG, J. W.; TERHUNE, S. J.; PICHITAKUL, N. Essential oils and their constituents. IX. The oils of *Ocimum sanctum* and *Ocimum basilicum* from Thailand. **Flavor Ind.**, p. 47-49, 1972.

LAWRENCE, B. M. Chemical components of Labiatea oils and their exploitation. In: HARLEY R. M.; REYNOLDS, T. (eds.). **Advances in Labiatae Science.** Royal Botanic Gardens, Kew, 1992. p. 399-436.

LAWRENCE, B. M.; **Proceedings of the 11th International Congress of Essential Oils, Fragrance and Flavors**, New Delhi, India, 1989.

LEE, J., SCAGEL, C. F. **Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. Food Chemistry**, vol. 115, no. 2, pp. 650–656, 2009. LEE S. J., UMANO, K., SHIBAMOTO, T., LEE, K. G.

LIMA, E. O.; GOMPERTZ, O. F.; GIEABRECHT A. M.; PAULO M. Q. In Vitro antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. **Mycoses**, v. 36, n. 9/10, p. 333 – 336, 1993.

MARKHAM, K. R. **Techniques of flavanoids identificacion**. London: Acad. Press., 1982. p.52-61.

MARTINS, C. **Avaliação dos efeitos do extrato hidroalcoólico do manjeriço (*ocimum basilicum* l.) sobre parâmetros oxidativos, inflamatórios e genotóxicológicos em cultura de leucócitos humanos**. Dissertação (mestrado) 2014.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 1994. 220 p.

MICHALANY, J. Métodos selecionados de coloração e de impregnação argêntica. In: MICHALANY, J. **Técnica histológica em Anatomia Patológica com instruções para cirurgião, enfermeira e citotécnico**. São Paulo: EPU, 1980. 179 p.

MOOKHERGJEE, B. D.; MUSSIAN, C. J. **Essential oils**. USA: Allurel Publishing Corp., 1979.

MOURA, R. R., et al. **Técnicas de Laboratório**. 3ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992. 263 p.

MAIA, J. G. S. M.; ANDRADE, E. H. A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. *Química Nova*, 32, 595-622, 2009.

MAIA, J. G. S. Plantas medicinais aromáticas usadas pelas populações tradicionais de Caxiuanã. In: Montag, L. F. de A.; Maschio G. F. (eds.). **Livro de Resumos Seminário**. Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi, 2003. n. 6.

MOOKHERGJEE, B. D.; MUSSIAN, C. J. **Essential oils**. USA: Allurel Publishing Corp., 1979.

MOURA, R. R., et al. **Técnicas de Laboratório**. 3ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992. 263 p.

MURILLO, E.; VINÃ, A. Essential oil composition from twelve varieties of basil (*Ocimum spp*) grown in Colombia. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 5, p. 744-749, 2003. MURILLO, E.; VINÃ, A. Essential oil composition from twelve varieties of basil (*Ocimum spp*) grown in Colombia. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 5, p. 744-749, 2003.

MURRAY, P. R.; BAROU, E. J.; FALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of clinical microbiology**. 6 ed. Washington: American Society of Microbiology, 1995.

MURRAY, P. R.; BAROU, E. J.; FALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H.

Manual of clinical microbiology. 6 ed. Washington: American Society of Microbiology, 1995.

NAVARRO, M. C.; MONTILLA, M. P.; CABO, M. M.; GALISTEO, M.; CACERES, A.; MORALES, C.; BERGER, I. Antibacterial, antiprotozoal and antioxidant activity of five plants used in Izabal for infectious diseases. **Phytother. Res.**, v. 17, n. 4, p. 325-329, 2003.

NTEZURUBANZA, L.; SCHEFFER, J. J. C.; LOOMAN, A.; SVENDSEN, A. B. Composition of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum* grown in Rwanda. **Planta Med.**, v. 50, n. 5, p. 385-388, 1984.

NWOSU, M. O.; OKAFOR, J. I. Preliminary studies of the antifungal activities of some medicinal plants against Basidiobolus and some other pathogenic fungi. **Mycoses**, v. 38, n. 5/6, p. 191-195, 1995.

NGUYEN, P. M., NIEMEYER, E. D. **Effects of nitrogen fertilization on the phenolic composition and antioxidant properties of basil (*Ocimum basilicum* L.).** Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol, 56, no. 18, pp. 8685–8691, 2008.

NORTE MC, COSENTINO RM, LAZARINI CA. **effects of methyl-eugenol administration on behavioral models related to depression and anxiety, in rats.** Phytomedicine. 2005 Apr;12(4):294-8. doi: 10.1016/j.phymed.2003.12.007. PMID: 15898707.

OGATA M, HOSHI M, URANO S, Endo T 2000. Antioxidant activity of eugenol and related monomeric and dimeric compounds. *Chem Pharm Bull* 48: 1467-1469

OPALCHENOVA, G.; OBRESHKOVA, D. Comparative studies on the activity of basil – an essential oil from *Ocimum basilicum* L. – against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. **J. Microbiol. Methods**, v. 54, n. 1, p. 105-110, 2003.

ORTOLUZZI, M. M.; SCHMITT, V.; MAZUR, C. E. **Effect of herbal medical plants on anxiety: a brief review.** Research, Society and Development, [S. l.], v. 9, n. 1, p. e02911504, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i1.1504. Disponível em: <https://www.rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/1504>. Acesso em: 15 aug. 2021.

ORAFIDIYA, L. O.; AGBANI, E. O.; IWALEWA, E. O.; ADELUSOLA, K. A.; OYEDAPO, O. O. Studies on the acute and sub-chronic toxicity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. leaf. **Phytomedicine**, v. 11, n. 1, p. 71-76, 2004.

ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT (OECD), 2001. **Guidelines for the Testing of chemicals (OECD/423), Acute oral Toxicity-Acute Toxic Class Method.** Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Disponível em: <http://www.oecd.org/publications>. 2001. Acesso em: 05 jan. 2021.

OTERO, R.; NÚÑEZ, V.; BARONA, J.; FONNEGRA, R.; JIMÉNEZ, S. L.; OSORIO, R. G.; SALDARRIAGA, M.; DÍAZ, A. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. **J. Ethnopharmacol.**, v. 73, p. 233–241, 2000.

PADALIA RC, VERMA RS. **comparative volatile oil composition of four ocimum species from northern india**. Nat Prod Res. 2011 Mar;25(6):569-75. doi: 10.1080/14786419.2010.482936. PMID: 21409717.

PEREIRA W.A, CUTRIM N.L.R, REIS S,T, ALMEIDA P.H.P, MOTTA .E.A.P, **estudo do consumo de plantas medicinais** obtidas em feiras livres de são luís, para o tratamento de doenças crônicas V.30,n.1(2017).

PLANT ANAT. MORPHOL., v. 6, n.1, p. 93-106, 1993.

PRAKASH, J.; GUPTA, S. K. Chemopreventive activity of *Ocimum sanctum* seed oil. **J. Ethnopharmacol.**, v. 72, p. 29–34, 2000.

PRASHAR, R.; KUMAR, A. Chemopreventive action of *Ocimum sanctum* on 2,12 dimethylbenzen (A) ontraceno DMBA-induced papillomagenesis in the skin of mice. **Int. J. Pharmacog.**, v. 33, n. 3, p. 181-187, 1995.

RABELO, M.; SOUZA, E. P.; SOARES, P. M. G.; MIRANDA, A. V.; MATOS, F. J. A.; CRIDDLE, D. N. Antinociceptive properties of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae) in mice. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 36, n. 4, p. 521- 524, 2003.

REUVENI, R.; FLEISHER, A.; PUTIEVSKY, E. Fungistatic activity of essential oils from *Ocimum basilicum* chemotypes. **Phytopath. Z**, v. 110, p. 20-22, 1984.

RIBEIRO, R. de A.; BARROS, F. de; MELO, M. M. R. F. de; MUNIZ, C.; CHIEIA, S.; WANDERLEY, M. das G.; GOMES, C.; TROLIN, G. Acute diuretic effects in conscious rats produced by some medicinal plants used in the state of São Paulo, Brasil. **J. Ethnopharmacol.**, v. 24, p.19-29, 1988.

RIBEIRO, R. de A.; MELO, M. M. R. F. de; BARROS, F.; GOMES, C.; TROLIN, G. Acute antihypertensive effect in conscious rats produced by some medicinal plants used in the state of São Paulo. **J. Ethnopharmacol.**, v. 15, p. 261- 269, 1986.

RIZZO, J. A. Banco de dados – plantas medicinais e tóxicas. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 36., 1990. **Resumos...** Curitiba. v. 2, p. 691-714.

RIZZO, J. A. Banco de dados – plantas medicinais e tóxicas. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 36, **Resumos...** Curitiba. v. 2, p. 691-714,1990.

ROCHA-GONZÁLEZ HI, SÁNCHEZ-MENDOZA ME, CRUZ-ANTONIO L, FLORES-MURRIETA FJ, CORNELIO-HUERTA XI, ARRIETA J. **Intinociceptive interaction and pharmacokinetics of the combination treatments of methyleugenol plus diclofenac or ketorolac. molecules**. 2020 Nov 3;25(21):5106. doi: 10.3390/molecules25215106. PMID: 33153182; PMCID: PMC7663170.

RUSSEL, J. L. **Contribution a l'étude botanique et Chiniotaxonomique du Genre Verbascum em Languedoc-Cevennes**. Tese (Doutorado) - Universidade de Montpellier I. 1983.

SAKINA, M. R.; DANDIYA, P. C.; HAMDARD, M. E.; HAMEED, A. Preliminary

psychopharmacological evaluation of *Ocimum sanctum* leaf extract. **J. Ethnopharmacol.**, v. 28, n. 2, p. 143-150, 1990.

SANTIAGO, R. C. **Aspectos ultra-estruturais e morfométricos de células do pâncreas de ratos albinos submetidos à alcoolização crônica**. 1991. Tese de Doutorado - – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SHARMA, O. P.; DAWRA, R. K. Thin-layer chromatographic separations of lantadens, the pentacyclic triterpenoids from (*Lantana camara*) plant. **J. Chrom.**, 587, p. 351-354, 1991.

SHULTZ, A. R. **Introdução ao estudo da botânica sistemática**. Rio de Janeiro: Editora Globo, 1961. v. 2, 286 p.

SILVA, M. G. de V.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; ALENCAR, J. W.; MATOS, F. J. A.; AURELIO, F. K. F. Essential oils from leaves and inflorescences of *Ocimum micranthum* Willd. from northeastern Brazil. **J. Essent. Oil Res.**, v. 10, n. 1, p. 77-78, 1998.

SILVA, Aline B.L. et al. **Avaliação do efeito antinociceptivo e da toxicidade aguda do extrato aquoso da Hyptis fruticosa Salmz. ex Benth**, 2006.

SIMON, J. E.; CHADWICK, A. F.; CRAKER, L. E. Herbs: an indexed bibliography 1971-1980. In: **The scientific literature on selected herbs, and aromatic and medicinal plants of the temperate zone**. Hamden: Archon Books, 1984.

SIMON J. E.; QUINN J.; MURRAY R. G. Basil: A source of essential oils. In: JANICK J.; SIMON J. E. (eds.). **Advances in new crops**. Portland: Timber Press, 1990. p. 484-489.

SIMON, J. E.; VIEIRA, R. F. Chemical characterization of Basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. **Econ. Bot.**, v. 54, n. 2, p. 207-216, 2000.

SINGH, S.; REHAN, H. M. S.; MAJUMDAR, D. K. Effect of *Ocimum sanctum* fixed oil on blood pressure, bloodclotting time and pentobarbitone-induced sleeping time. **J. Ethnopharmacol.**, v. 78, p. 139–143, 2001.

SINHA, G. K.; GULATI, B. C. Antibacterial and antifungal study of some essential oils and some of their constituents. **Indian Perf.**, v. 34, n. 02, p. 126-129, 1990.

SOBTI, S. N.; PUSHPANGADAN, P.; ATAL, C. K. Clocimum: A new hybrid strain of *Ocimum gratissimum* as a potential source of clove type oil, rich in eugenol. In: ATAL, C. K.; KAPUR, B. M (eds.). **Cultivation and utilization of aromatic plants**. Jammu-Tawi: Reg. Res. Lab., 1982. p. 473-480.

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

STIASNY, E. **The qualitative and differenciation of vegetable tannins**. Collegium, 1912. p. 483-499.

STOCK, C. C., et al. Sarcoma 180 inhibition screening data. **Cancer Res.**, supl. 2, p. 179 – 194, 1955.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analyses. A Thin Layer Chromatography Atlas.** 2ed. Berlin: Springer Verlag, 1996. 384 p.

WANG ZJ, TABAKOFF B, LEVINSON SR, HEINBOCKEL T. **inibição dos canais nav1.7 pelo metil eugenol como um mecanismo subjacente às suas ações antinociceptiva e anestésica.** *Acta Pharmacol Sin.* Julho de 2015; 36 (7): 791-9. doi: 10.1038 / aps.2015.26. Epub 2015, 8 de junho. PMID: 26051112; PMCID: PMC4648112.

WINTER, C. A.; RISHLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenan induced edema en hind paw as an assay for anti-inflammatory drugs. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 3, p. 544-547, 1962.

XAASAN, C. C.; CABDULRAXMAAN, A. D.; PASSANNANTI, S.; PIOZZI, F.; SCHMID, J. Constituents of essential oil of *Ocimum canum*. **J. Nat. Prod.**, v. 44, p. 752–753, 1981.

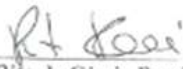
ZAMORA-MARTINEZ, M. C.; PÓLA, C. N. de P. Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. **J. Ethnopharmacology**, v. 35, p. 229-251, 1992.

ANEXO A – FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DO HERBÁRIO IPA

Secretaria de
Agricultura e
Reforma AgráriaPERNAMBUCO
ESTADO DE PERNAMBUCOHERBÁRIO IPA – DÁRDANO DE ANDRADE LIMA
FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

FIB Nº 64/2019

	Nº de Tombo	Nome popular	Família	Nome Científico	Identificada por
i	93548	Erva de galinha; manjerição de galinha	Lamiaceae	<i>Ocimum campechianum</i> Mill.	O. Cano


Dr.ª Rita de Cássia Pereira
Curadora do Herbário IPA

Consulta: Eduardo Júnior da Conceição

tel.: 81 - 32434924

E mail: juniorconceicao32@gmail.com

Coletor: o mesmo.

Data da coleta: 04/08/2019.

Data da entrada no Herbário IPA: 06/08/2019.

Procedência: PE – Bezerros – Palmeirinha - Serra Negra, em mata fechada. (Caatinga).

Lat.: -9,1608702; Long.: -36,0314566

Determinada em: 9/08/2019.

Obs.: Material botânico em estudo dissertação de Mestrado PPG em Ciências Farmacêuticas, no Deptº de Farmácia da UFPE, sob a orientação da Professora Dra. Ivone Antônio de Souza.

Resultado encaminhado por e mail: juniorconceicao32@gmail.com em 09.08.2019.

Instituto Agronômico de Pernambuco - IPA
Vinculado à Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária
Av. Gal. San Martín, 1371 - Bongi - 50781-000 - Recife - PE - C.P. 1022
CNPJ 10.912.293/0001-37 - PABX: (81) 3184-7200 - Fax: (81) 3184-7211
Home Page: www.ipa.br / E-mail: ipa@ipa.br

IPA – 77 anos semeando conhecimento