



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISILOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**LENISE DE MORAIS NOGUEIRA**

**ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO E SCREENING DE ATIVIDADES  
FARMACOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL EXTRAÍDO DAS FOLHAS DE  
*Croton cordiifolius* Baill.**

**Orientador: Alexandre Havt Bindá**  
**Co-orientador: Rafael Matos Ximenes**

**FORTALEZA**  
**2014**

LENISE DE MORAIS NOGUEIRA

ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO E SCREENING DE ATIVIDADES  
FARMACOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL EXTRAÍDO DAS FOLHAS DE *Croton*  
*cordiifolius* Baill.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Orientador: Alexandre Havt Bindá

Co-orientador: Rafael Matos Ximenes

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

- 
- N71e Nogueira, Lenise de Moraes.  
Estudo etnofarmacológico e screening de atividades farmacológicas do óleo essencial extraído das folhas de *Croton cordiifolius* Baill / Lenise de Moraes Nogueira. – 2014.  
91 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Mestrado em Farmacologia, Fortaleza, 2014.  
Orientação: Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá.  
Coorientação: Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes.
1. Croton. 2. Produtos Biológicos. 3. Nociceptividade. 4. Inflamação. 5. Cicatrização. I. Título.

---

CDD 615.32395

LENISE DE MORAIS NOGUEIRA

ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO E SCREENING DE ATIVIDADES  
FARMACOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL EXTRAÍDO DAS FOLHAS DE *Croton*  
*cordiifolius* Baill.

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-graduação em Farmacologia da  
Universidade Federal do Ceará como  
requisito parcial para obtenção do título  
de mestre em Farmacologia.

Aprovado em: 30/04/2014

Banca Examinadora

---

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Virgínia Cláudia Carneiro Girão  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Mariana Lima Vale  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. René Duarte Martins  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

*À minha Mãe*

## **AGRADECIMENTO**

À minha família, especialmente minha mãe, Maria Luiza, e meu irmão, Lenildo Nogueira, pelo apoio e compreensão em todos os momentos.

Ao meu orientador, Alexandre Havt Bindá, por me aceitar como orientanda, pelos conhecimentos compartilhados, pelo apoio em todos os momentos e pelo exemplo de pesquisador.

Aos Professores Rafael Matos Ximenes (Co-orientador) e René Duarte Martins, sem os quais nada disso teria começado, pelo incentivo em fazer a pós-graduação, pelo apoio durante todo o trabalho e pela amizade.

Ao meu namorado, Eltonreges Ribeiro, por compreender minha ausência em muitos momentos e me incentivar nos momentos de insegurança e incerteza.

À minha amiga Annelise Silva por me acompanhar e ajudar no início dessa jornada, e pela amizade.

Ao Advane Rodrigues pelo acolhimento e carinho desde o momento da seleção, pela ajuda durante todo o mestrado e pelos momentos de descontração.

À Rosa Freitas pela força durante nossas incansáveis tentativas juntas durante o primeiro ano de mestrado e amizade que surgiu dessa convivência.

Aos colegas do Laboratório de Farmacologia de Venenos e Toxinas (UFC) Aline Marinho, João Victor Camelo, Katharine Gurgel, Marco Clementino, Marina Fonseca, Mariana Bona, Natacha Queiroz, Nicolas Marllés, Marcelo Linhares, Pedro Costa, Socorro Nogueira e Roberta Jorge.

Aos colegas do Laboratório de Biologia Molecular, Mara Prata, Vinicius Alves, Paloma e Josy.

Aos Amigos do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia (UFPE) Adenilson Gomes, Glaucia Santos, Igor Ferraz, Izabela Santos, Jaiurte Martins, Leduard Leon, Carlos Renato França e Thaíse Torres.

Ao professor Carlos Francisco Amanajás de Aguiar Junior por ceder o laboratório e os materiais para a análise histológica, bem como pelo auxílio com os procedimentos e análises.

A Rafael Albuquerque pelo ajuda com a histologia.

À Simone Santos e Monalisa pela extração do óleo essencial.

À professora Renata Mendonça pela análise da composição do óleo essencial.

À família Araújo (Renata, Felipe, Wesley, Luana, Dona Rita, Sr. Antonio, Dona Luzinete) que me acolheu com tanto carinho.

Aos professores e funcionários do departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC pelos ensinamentos.

Aos colegas da pós-graduação pelos conhecimentos compartilhados e momentos de descontração.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro

A todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho ou para minha formação pessoal e profissional.

Muito Obrigada!

*"Não importa tanto o tema da dissertação quanto a experiência de trabalho que ela comporta."*

*Adaptada de Umberto Eco.*

*"Sonhos perseguidos com perseverança, sempre acabam em realidade."*

*Augusto Cury*



## RESUMO

A utilização de plantas tem seus princípios oriundos da medicina tradicional. O gênero *Croton* é conhecido pela presença de espécies ricas em metabólitos secundários biologicamente ativos. *Croton cordiifolius* Baill. é um arbusto conhecido como quebra faca encontrado no interior de Pernambuco e utilizado pela população local para diversos fins. Contudo não há estudos que comprove seus efeitos. O presente estudo iniciou-se por um inquérito etnobotânico realizado na área Rural do semiárido Pernambucano, ocasião em que o quebra faca foi citado principalmente como anti-inflamatório e cicatrizante. Portanto foi decido avaliar a toxicidade aguda, atividade anti-inflamatória tópica, cicatrizante, antimicrobiana e antinociceptiva do óleo essencial extraído das folhas frescas desta espécie. Espécimes de *C. cordiifolius* foram coletados, e uma exsicata depositada no herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação e sua composição determinada por cromatografia a gás acoplada a espectrômetro de massa. Para os ensaios *in vivo* foram utilizados camundongos (2-4 meses) e para atividade antimicrobiana *in vitro* cepas de bactérias isoladas de feridas. Análise química do óleo essencial evidenciou, como constituintes majoritários, o 1,8-cineol e o  $\alpha$ -felanreno. O óleo essencial de *Croton cordiifolius* (OECc) apresentou baixa toxicidade (DL50 >1000 mg/kg), atividade anti-inflamatória tópica no edema de orelha induzido por óleo de Cróton e ácido araquidônico, bem como em feridas excisionais. Nas quais também estimulou a angiogênese e deposição de colágeno. Quanto a atividade antinociceptiva, o OECc promoveu redução do número de contorções abdominais por ácido acético e no tempo de lambida de pata em ambas as fases do teste da formalina, evidenciando seu efeito antinociceptivo, que se mostrou independente da via dos opioides e dos receptores TRPV-1, com participação do sistema glutamatérgico. Estes dados evidenciam o potencial farmacológico desta espécie no processo cicatricial, assim como na redução da dor e atenuação da inflamação.

**Palavras-Chave:** *Croton cordiifolius*. Óleo essencial. Produtos naturais. Nocicepção. Inflamação. Cicatrização.

## ABSTRACT

The use of plants has derived its principles from traditional medicine. *Croton* genus is known for the presence of species rich in biologically active secondary metabolites. *Croton cordiifolius* Baill. is a shrub known as “quebra faca” found in the state of Pernambuco and used by local people for various purposes . However, there are no studies to prove its effects. This study started by an ethnobotanical survey in a rural area of semiarid region of Pernambuco, in which “quebra faca” was cited mainly as anti-inflammatory and wound healing. So, it was decided to assess the acute toxicity, topical anti-inflammatory, wound healing, antibacterial and antinociceptive activities of the essential oil extracted from the fresh leaves of this species. Specimens of *C. cordiifolius* were collected, and a voucher specimen deposited in the herbarium of the Agronomic Institute of Pernambuco. The essential oil was extracted by hydrodistillation and its composition determined by gas chromatography to a mass spectrometry gas. For *in vivo* testing mice (2- 4 months) and for *in vitro* antimicrobial activity, clinical isolated from wounds were used. Chemical analysis of the essential oil showed, as major constituents, 1,8-cineole and  $\alpha$ -phellandrene. The essential oil from *Croton cordiifolius* (EOCc) showed low toxicity (LD50 > 1000 mg/kg) , topical anti-inflammatory activity in the ear edema induced by croton oil and arachidonic acid as well as in excisional wounds, in which also stimulated angiogenesis and collagen deposition. Regarding antinociceptive activity, EOCc reduced the number of writhing induced by acetic acid and the licking time in both phases of the formalin test, showing its antinociceptive effect, with no involvement of opioid system and vanilloid receptors (TRPV-1), and participation of the glutamatergic system. These data show the pharmacologic potential of this specie in wound healing process, as well as in pain and inflammation reduction.

**Keywords:** *Croton cordiifolius*. Essential oil. Natural products. Nociception. Inflammation. Healing.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Estrutura da nicotina. ....	21
Figura 02 - Estrutura química do resveratrol, um composto fenólico encontrado nas uvas roxas. ....	22
Figura 03 - Unidade de isopreno .....	22
Figura 04 - Estrutura da pele humana. ....	26
Figura 05 - Visão geral da migração leucocitária na inflamação.....	28
Figura 06- Delineamento experimental do estudo .....	38
Figura 07 - Esquema do aparato para hidrodestilação.....	40
Figura 08 - Foto da ferida no dia da confecção ilustrando o posicionamento da régua ao lado da ferida para utilização como escala.....	43
Figura 09 - Atividade anti-inflamatória do óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> e da dexametasona em modelo de edema de orelha por óleo de cróton em camundongos. ....	52
Figura 10 - Fotomicrografias do edema de orelha por óleo de cróton e o efeito do tratamento com óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> 0,3% e 1% e dexametasona 0,5%.....	52
Figura 11 - Atividade anti-inflamatória tópica do óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> e indometacina em edema de orelha por ácido araquidônico.....	53
Figura 12 - Contração de feridas tratadas com óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> 0,3% e 1% ou com Sulfato de Neomicina 5 mg/g + Bacitracina 250 UI/g.....	54
Figura 13 - Atividade antinociceptiva do óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> , i.p. e indometacina 10mg/Kg, i. p. no modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético 0,6% em camundongos. ....	58

Figura 14 - Efeito antinociceptivo do óleo essencial de <i>Croton cordiifoliuse</i> da Morfina na nocicepção induzida pela injeção intraplantar de formalina 1% quando comparado ao veiculo. ....	59
Figura 15 - Avaliação da atividade antinociceptiva do óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> em modelo de nocicepção induzida por capsaicina. ....	60
Figura 16 - Avaliação do envolvimento do glutamato na atividade antinociceptiva do óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> . ....	60
Figura 17 - Avaliação do envolvimento dos receptores opioides na atividade antinociceptiva do óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> em modelo de contorção abdominal por ácido acético em camundongos. ....	61
Figura 18 - Efeito do tratamento com óleo essencial de <i>Croton cordifolius</i> e diazepam no número de cruzamentos executados por camundongos submetidos ao teste do campo aberto. ....	62
Figura 19 - Efeito do tratamento com óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> e diazepam no número de comportamento de auto-limpeza no teste do campo aberto. ....	62
Figura 20 - Efeito do tratamento com óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> e do diazepam no número de levantamentos executados por camundongos submetidos ao teste do campo aberto. ....	63

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Exemplos de fármacos obtidos a partir de plantas. ....	20
Tabela 02 - Registro dos micro-organismos do departamento de antibióticos da UFPE utilizados na pesquisa. ....	45
Tabela 03 - Distribuição da população entrevistada no estudo etnobotânico quanto à faixa etária e sexo. ....	49
Tabela 04 - Indicações populares da espécie <i>Croton cordiifolius</i> . ....	50
Tabela 05 - Constituintes presentes no óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> analisados através de cromatografia a gás acoplada a espectrômetro de massas. .	51
Tabela 06 - Contração de feridas cirúrgicas excisionais de camundongos submetidos a diferentes tratamentos. ....	54
Tabela 07 - Infiltrado inflamatório em feridas excisionais em camundongos tratados com cremophor, ou óleo essencial de <i>Croton cordifolius</i> (OECc) 0,3 % ou 1%. ....	55
Tabela 08 - Vasos em feridas excisionais em camundongos tratados com cremophor, ou óleo essencial de <i>Croton cordifolius</i> 0,3 % ou 1%. ....	55
Tabela 09 – Densidade de Colágeno em feridas excisionais em camundongos tratados com cremophor, ou óleo essencial de <i>Croton cordifolius</i> 0,3 % ou 1%. ....	56
Tabela 10 - Efeito do óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> (OECc) em granuloma induzido por <i>pellet</i> . ....	56
Tabela 11 - Diâmetro dos halos de inibição (mm) de antibiogramas realizados com óleo essencial de <i>Croton cordiifolius</i> . ....	57

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>19</b>
2.1 Plantas Medicinais .....	19
2.1.1 <i>Considerações Gerais</i> .....	19
2.1.2 <i>Metabólitos secundários e óleo essencial</i> .....	20
2.1.2 <i>O Gênero Croton e a espécie Croton cordiifolius</i> .....	24
2.2 <i>Pele, Inflamação e Cicatrização</i> .....	25
2.2.1 <i>Estrutura da pele</i> .....	25
2.2.2 <i>Inflamação</i> .....	26
2.2.3 <i>Processo de cicatrização</i> .....	29
2.3 <i>Dor e Nocicepção</i> .....	33
2.3.1 <i>Considerações gerais</i> .....	33
2.3.2 <i>Tipos de Dor</i> .....	34
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>37</b>
3.1 <i>Objetivo Geral</i> .....	37
3.2 <i>Objetivos Específicos</i> .....	37
<b>4 MATERIAS E MÉTODOS</b> .....	<b>38</b>
4.1 <i>Inquérito Etnobotânico</i> .....	38
4.2 <i>Material Botânico e Extração do Óleo essencial</i> .....	39
4.3 <i>Análise Química</i> .....	40
4.4 <i>Animais</i> .....	41
4.5 <i>Determinação da DL50</i> .....	41
4.6 <i>Ensaio Inflamatórios</i> .....	42
4.6.1 <i>Edema de orelha por óleo de Cróton</i> .....	42
4.6.1 <i>Edema de orelha por ácido araquidônico</i> .....	42
4.7 <i>Ensaio Cicatrizante</i> .....	42

4.7.1 Ferida Cirúrgica Excisional.....	42
4.8 Atividade Antimicrobiana.....	45
4.8.1 Micro-organismos teste.....	45
4.8.2 Padronização do inóculo.....	45
4.8.3 Teste de difusão em disco de papel.....	46
4.9. Atividade Antinociceptiva.....	46
4.9.1 Contorções Abdominais.....	46
4.9.2 Teste de Formalina.....	46
4.9.3 Nocicepção induzida por Capsaicina.....	47
4.9.4 Nocicepção induzida por Glutamato.....	47
4.9.5 Avaliação do envolvimento dos receptores opioides.....	47
4.9.6 Teste de Campo Aberto.....	47
4.10 Análise Estatística.....	48
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>49</b>
5.1 Inquérito Etnobotânico.....	49
5.2 Análise Química.....	50
5.3 Determinação da DL50.....	50
5.4 Atividade Anti-inflamatória Tópica.....	51
5.4.2 Edema de orelha por óleo de Cróton.....	51
5.4.3 Edema de orelha por ácido araquidônico.....	51
5.5 Atividade Cicatrizante.....	53
5.5.1 Ferida Cirúrgica Excisional.....	53
5.5.2 Granuloma Induzido por Pellet.....	56
5.6 Atividade Antimicrobiana.....	56
5.7 Atividade Antinociceptiva.....	57
5.7.1 Contorção abdominal.....	57
5.7.2 Teste da Formalina.....	58

<i>5.7.3 Nocicepção induzida por Capsaicina.....</i>	<i>59</i>
<i>5.7.4 Nocicepção Induzida por Glutamato.....</i>	<i>60</i>
<i>5.7.5 Envolvimento dos receptores opioides .....</i>	<i>61</i>
<i>5.7.6 Teste do campo aberto .....</i>	<i>62</i>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>64</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>73</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>74</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>85</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de produtos naturais, sejam eles provenientes de plantas, animais ou micro-organismos, é uma prática milenar que surgiu nas primeiras civilizações a partir da necessidade de tratar seus males (DOURADO; DOCA; ARAUJO, 2005; MOREIRA *et al.*, 2002).

O grande conhecimento adquirido pelos primitivos e indígenas sobre os produtos naturais, especialmente de origem vegetal, foi repassado de geração em geração e, embora muito tenha se perdido, continua sendo uma alternativa terapêutica utilizada até hoje, principalmente pelas comunidades com pouco acesso aos medicamentos industrializados (DEVIIENNE; RADDI; POZETTI, 2004; RATES, 2001; VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Esse conhecimento tradicional sobre a utilização de plantas medicinais é considerado uma importante fonte de informações para pesquisas científicas, aumentando a eficiência do processo de investigações e encurtando o tempo de desenvolvimento de uma nova droga (BENINI *et al.*, 2010; FUNARI; FERRO, 2005; MACIEL *et al.*, 2002).

Dentre a diversidade de plantas encontradas no Brasil, as espécies do gênero *Croton* recebem destaque quanto ao potencial medicinal. Pois são conhecidas por serem ricas em metabólitos secundários biologicamente ativos, havendo predomínio de terpenoides, incluindo óleos voláteis contendo mono e sesquiterpenoides, além de compostos fenólicos como flavonoides, ligninas e pro-antocianidinas, e ainda diferentes classes de alcaloides (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007).

Diversas aplicações têm sido descritas para o gênero *Croton*, com destaque para atividades hipolipemiantes, cicatrizante de feridas, protetora gástrica, anti-inflamatória, antinociceptiva, antibacteriana, antidiarreica, antioxidante, antimalárica e anti-hipertensiva (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007), muitas das quais já foram estudadas e comprovadas para algumas espécies (BIGHETTI *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2005).

Esse gênero tem uma expressiva representação na flora de Pernambuco, com um elevado número de espécimes de complexa morfologia (SILVA; SALES; CARNEIRO-TORRES, 2009), algumas com pouco ou nenhum estudo farmacológico.

A espécie *Croton cordiifolius* Bail é frequentemente encontrada em regiões de tabuleiro no interior do Estado de Pernambuco e é utilizada com base no conhecimento empírico da população, pois não há estudos que relatem suas propriedades terapêuticas ou sua toxicidade.

Diante dos relatos populares sobre os diferentes usos das espécies do gênero *Croton*, assim como a carência de estudos que avalie estes efeitos através de ensaios adequados, o presente trabalho busca investigar alguns dos efeitos biológicos atribuídos à espécie *Croton cordiifolius* Bail pela população.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Plantas Medicinais

#### 2.1.1 Considerações Gerais

Países com rica biodiversidade e conhecimentos tradicionais, como é o caso do Brasil, possuem grande potencial para a utilização dos produtos naturais como terapêutica, bem como para a realização de pesquisas que fortaleçam sua utilização (BRASIL, 2006; FUNARI; FERRO, 2005; SILVA, 2008).

A utilização de produtos naturais, especialmente as plantas medicinais, é uma prática que surgiu nas primeiras civilizações e, durante muito tempo, foi a única alternativa terapêutica utilizada para o tratamento de enfermidades. Porém, era baseada apenas no conhecimento empírico (MACIEL; MOREIRA *et al.*, 2002; PINTO; VEIGA JR, 2002).

Estimativas do ministério do meio ambiente sugerem que as populações indígenas brasileiras dominavam a aplicação de cerca de 1300 plantas medicinais (SILVEIRA, 2003).

Com o passar dos anos e o desenvolvimento da química de produtos naturais, as substâncias presentes em muitas plantas foram identificadas, e a partir disso, houve um avanço no conhecimento dos componentes e das atividades biológicas que os produtos naturais poderiam apresentar (FUNARI; FERRO, 2005).

Desde o desenvolvimento da química de produtos naturais, as plantas medicinais têm sido o recurso natural mais importante para o desenvolvimento de drogas, e cerca de 60% dos fármacos hoje disponíveis são direta ou indiretamente derivados de produtos naturais. Na Tabela 1 são apresentados alguns exemplos desses fármacos (FUNARI; FERRO, 2005; HONG-FANG; XUE-JUAN; HONG-YU, 2010).

O conhecimento empírico adquirido sobre o uso de plantas medicinais foi difundido por várias gerações e mantido, principalmente, por comunidades rurais (DOURADO; DOCA; ARAUJO, 2005; MACIEL; PINTO; VEIGA JR., 2002).

Atualmente, a tradição da utilização de plantas medicinais decaiu devido ao

Tabela 01 - Exemplos de fármacos obtidos a partir de plantas.

<b>Fármaco</b>	<b>Classe terapêutica</b>	<b>Espécie vegetal</b>
Ácido acetilsalicílico	AINE	<i>Salix alba</i>
Artemisina	Antimalárico	<i>Artemisia annua</i>
Atropina	Anticolinérgico	<i>Atropa belladonna</i>
Digoxina, digitoxina	Cardiotônico	<i>Digitallis purpurea, D lanata</i>
Dicumarol	Anticoagulante	<i>Melilotus officinales</i>
Ergotamina	Bloqueador adrenérgico	<i>Claviceps purpurea</i>
Escopolamina	Anticolinérgico	<i>Datura spp.</i>
Fisotigmina	Antiglaucomatoso	<i>Physostigma venenosum</i>
Morfina, codeína	Analgésico, antitussígeno	<i>Papaver somniferum</i>
Pilocarpina	Antiglaucomatoso	<i>Pilocarpus jaborandi</i>
Reserpina	Anti-hipertensivo	<i>Rauwolfia spp.</i>
Taxol	Anticâncer	<i>Taxus brevifolia</i>
Tubocurarina	Bloqueador neuromuscular	<i>Chondodendron tomentosum</i>
Vincrisina, vimblastina	Antitumoral	<i>Catharantus roseus</i>

Fonte: Adaptado de Funari; Ferro, 2005.

AINE: Anti-inflamatório não esteroidal

acesso aos medicamentos industrializados. Entretanto, este conhecimento permanece como importante fonte de informações para a seleção de espécies ou família de plantas para pesquisas em busca de novas terapêuticas, pois guiam os cientistas quanto à atividade a ser estudada, o que leva a um percentual de êxito maior do que a escolha aleatória de espécies para estudo (BENINE *et al.*, 2010; HEINRICH, 2006; MACIEL *et al.*, 2000; YUE-ZHONG, 1998).

### 2.1.2 Metabólitos secundários e óleo essencial

As plantas são importantes fontes de substâncias farmacologicamente ativas pela grande variedade de espécies, mas, principalmente, pela produção de uma complexa variedade de metabólitos secundários que sofrem variações de acordo com a parte ou órgão da planta, as estações do ano e o habitat (ESTEVÃO *et a.*, 2013; PATRA *et al.*, 2013; TULP; BOHLIN, 2004).

Os metabólitos secundários são substâncias produzidas pelas plantas que não estão diretamente envolvidos em seu crescimento. Todavia, conferem cor e odor favorecendo a polinização, bem como promovem proteção contra micro-organismos e pragas. Essas substâncias são divididas em três grandes grupos: alcaloides, compostos fenólicos e terpenoides (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000; NEVES; CUNHA 2006; PATRA *et al.*, 2013).

Os alcaloides são moléculas contendo nitrogênio derivadas de aminoácidos que protegem a planta contra micro-organismos ou ataques herbívoros. Muitos alcaloides possuem um alto valor farmacológico e têm sido utilizados na terapêutica, como a viblastina, vincristina, escopolomanina, morfina e codeína (PATRA *et al.*, 2013). No entanto, eles também podem ser tóxicos como o alcaloide da cicuta (*Conium maculatum*) que provocou a morte do filósofo grego Sócrates (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000; PATRA *et al.*, 2013).

Figura 01 - Estrutura da nicotina.

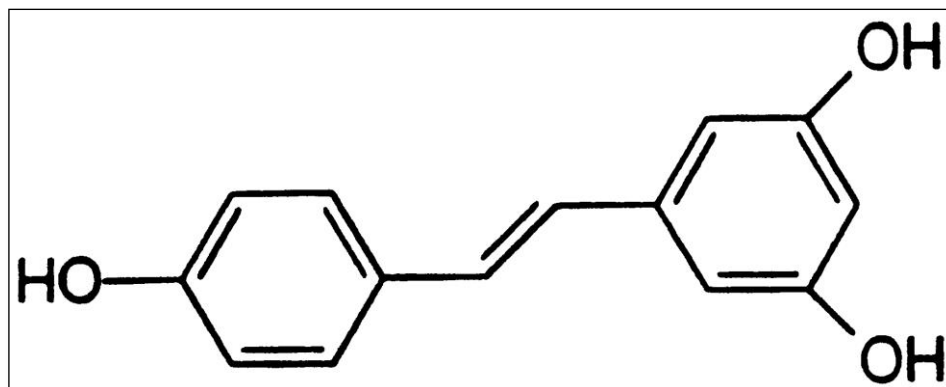


Fonte: OLIVEIRA *et al.*, 2011.

Já os compostos fenólicos (Figura 02) possuem um anel aromático ligado a um grupo hidroxila e são representados por fenilpropanoides, flavonoides, ligninas e lignanas. Estes compostos conferem pigmentação às flores, atraem polinizadores e protege dos raios UV e do estresse oxidativo (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000).

Os terpenoides ou terpenos são derivados da fusão de unidades de cinco carbonos ramificadas denominada de isopreno (figura 03) e apresentam uma grande

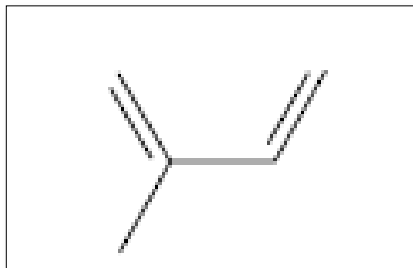
Figura 02 - Estrutura química do resveratrol, um composto fenólico encontrado nas uvas roxas.



Fonte: SUBBARAMAIAH *et al.*, 1997.

variedade estrutural (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000; PATRA *et al.*, 2013). O menor dos terpenos é formado por apenas uma unidade de isopreno e recebe o nome de hemiterpeno (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000; LANGENHEIM, 1994).

Figura 03 - Unidade de isopreno



Fonte: BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000.

Os terpenóides com 10 e 15 carbonos são denominados de monoterpenos e sesquiterpenos, respectivamente. Os monoterpenos chegam a corresponder a cerca de 5% do peso seco das flores ou plantas e muitos dos sesquiterpenos atuam como antibióticos na própria planta (LANGENHEIM, 1994).

Os diterpenos são formados por quatro unidades de isopreno e incluem vários metabólitos de importância farmacológica, como o taxol, encontrado em baixíssimas quantidades no *Taxus brevifolia* (FUNARI; FERRO, 2005). Os triterpenos e tetraterpenos apresentam 6 e 8 unidades de isopreno respectivamente. Os tetraterpenos mais importantes são os carotenóides que apresentam funções essenciais na fotossíntese e são precursores da vitamina A (AMBRÓSIO; CAMPOS;

FARO, 2006; BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000; LANGENHEIM, 1994). Existem ainda os terpenoides com mais de 8 isoprenos, ou 40 carbonos, os politerpenos.

A mistura de variados terpenoides, especificamente monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), alguns diterpenos (C20) e uma grande variedade de hidrocarbonetos alifáticos de baixo peso molecular constituem os óleos essenciais. Estes são também chamados de fragrâncias, essências, óleos voláteis ou etéreos e assim denominados por serem voláteis e conferir odor aromático a diversas plantas podendo variar em sua composição de acordo com a parte da planta (BAKKALI *et al.*, 2008; MATOS, MATOS, 1989; NAMSA *et al.*, 2009).

Os óleos essenciais podem ser obtidos de diferentes partes das plantas incluindo folhas, flores, frutos, sementes, brotos, rizomas, raízes e cascas, principalmente de plantas aromáticas das regiões tropicais e subtropicais (SHAABAN; EL-GHORAB; SHIBAMOTO, 2012).

Após a extração, eles se apresentam normalmente como líquidos à temperatura ambiente, incolor ou levemente amarelado, sabor acre e picante, imiscíveis em água, mas miscível em solventes orgânicos, pouco estáveis na presença de luz, ar, calor e umidade sendo necessário armazená-los em local seco e fresco, em frasco âmbar fechado (MATOS, MATOS, 1989).

Além de conferir odor às plantas, o que é essencial para a atração de polinizadores, os óleos essenciais promovem proteção contra predadores, perda de água e inibição da germinação (SHAABAN; EL-GHORAB; SHIBAMOTO, 2012; SIMÕES *et al.*, 1999).

Essas substâncias têm ganhado utilização crescente pela indústria cosmética em perfumes e produtos de higiene, alimentícia como condimentos e aromatizantes de comidas e bebidas, e farmacêutica em função de suas propriedades terapêuticas e aromatização de formas farmacêuticas de uso oral (MATOS, 1998).

Vários estudos com óleos essenciais demonstraram atividades comuns que incluem antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e cicatrizante (BAKKALI *et al.*, 2008; NAMSA *et al.*, 2009; SHAABAN; EL-GHORAB; SHIBAMOTO, 2012).

### 2.1.2 O Gênero *Croton* e a espécie *Croton cordiifolius*

O gênero *Croton* L. pertence à família *Euphorbiaceae* e possui cerca de 1.200 espécies, o que o torna o segundo maior gênero desta família. As espécies são encontradas na região tropical e subtropical de ambos os hemisférios e a maioria delas é encontrada nas Américas (BERRY *et al.*, 2005; SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007; SILVA *et al.*, 2010).

O Brasil agrupa o maior número de espécies de *Croton* na América do Sul, sendo o cerrado, a caatinga e os campos rupestres os principais ambientes em que estas plantas se desenvolvem (BERRY *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2010). Em Pernambuco foram identificadas 35 espécies do gênero *Croton* e observou-se que dentre estas havia maior frequência de plantas subarborescentes e arbustivas monoicas e em menor frequência das arbóreas (SILVA *et al.*, 2010).

As espécies do gênero *Croton* vêm recebendo destaque por serem ricas em metabólitos secundários farmacologicamente ativos, com predomínio de terpenoides, incluindo os óleos voláteis contendo mono e sesquiterpenoides. (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007).

Diversas aplicações têm sido descritas para o amplo gênero *Croton*, com destaque para atividades hipolipemiantes, cicatrizante de feridas, protetora gástrica, anti-inflamatória, antinociceptiva, antibacteriana, antidiarreica, antioxidante, antimalárica, anti-hipertensiva, dentre outras (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007).

Muitas dessas atividades já foram comprovadas cientificamente para algumas espécies. Entretanto, diante do grande número de espécies no gênero e de morfologias tão complexas, existem muitas espécies completamente desconhecidas e apenas uma mínima parte já foi avaliada quanto ao seu potencial medicinal (SILVA; SALES; CARNEIRO-TORRES, 2009; SILVA, 2008).

Pesquisas realizadas na zona rural do município de Salgueiro-PE, mostraram que uma espécie do gênero *Croton* (*Euphorbiaceae*) denominada de “quebra-faca” foi altamente citada como detentora de propriedades medicinais. Contudo, não havia estudos científicos sobre a mesma.



A espécie em questão foi identificada como *Croton cordiifolius* Baill, e botanicamente é caracterizada como um arbusto ereto alto encontrado nas regiões de tabuleiro do interior de Pernambuco, com galhos e ramos simétricos, finos e flexíveis, em tons avermelhados – furruginosos; folhas com limbo de 6 – 9 cm de comprimento e 2,5 – 3,5 cm de largura, oval lanceolada, de base oblíqua e bordas denticuladas, pubescente a hirta; Flores avermelhadas com cálice de 2 mm, anteras curtas, frequentemente ausentes, e frutos desconhecidos (VON MARTIUS; EICHLER; URBAN, 1864).

## **2.2 Pele, Inflamação e Cicatrização**

### *2.2.1 Estrutura da pele*

A pele é o maior órgão em superfície do corpo e corresponde a cerca de 15% do peso de humanos adultos. Esta exerce diversas funções vitais ao organismo que o protege de agressões ambientais e, portanto, sua estrutura é formada por três camadas de tecidos com características distintas: epiderme, derme e hipoderme (KANITAKIS, 2002).

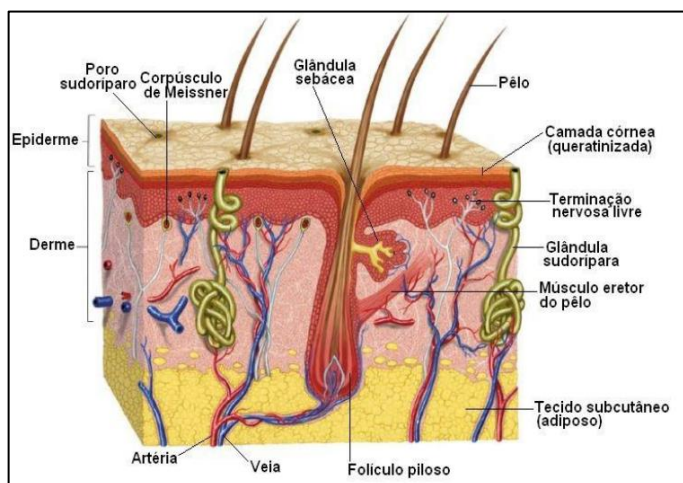
A epiderme é formada por tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado, que tem a função de proteger o organismo contra a penetração de substâncias bem como a perda de água. Ainda na epiderme é possível encontrar os melanócitos, que produzem a melanina para a proteção contra os efeitos danosos da radiação solar, e as células de Langerhans, que são capazes de captar e apresentar antígenos aos linfócitos T com papel importante nas respostas imunológicas cutâneas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; KUPPER; FUHLBRIGGE, 2004).

Abaixo da epiderme encontra-se a derme, constituída por tecido conjuntivo frouxo e denso não modelado, que tem por função unir a epiderme e a hipoderme, abrigar folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas (estruturas derivadas da epiderme), e os vasos sanguíneos responsáveis pela nutrição da epiderme, visto que esta não é vascularizada (FERNANDES, 2010; GANTWERKER; HOM, 2011).

A hipoderme, além do tecido conjuntivo frouxo que a une à derme, é formada por uma camada com espessura variável de tecido adiposo que permite o

deslizamento da pele sobre os órgãos aos quais se apoiam, protege contra o frio e choques mecânicos e modela o corpo (FERNANDES, 2010; GANTWERKER; HOM, 2011).

Figura 04 - Estrutura da pele humana.



Fonte: FERNANDES, 2010.

Como a pele é a barreira primária entre o organismo e o meio ambiente, ela está sempre sujeita a injúrias de origem química, ou física, ou invasão por patógenos. Em busca de manter ou recuperar a integridade do indivíduo uma resposta inflamatória é desencadeada em resposta a estas a injúrias (MURPHY; ROBERT; KUPPER, 2000; OUTUKI *et al.*, 2005).

### 2.2.2 Inflamação

A resposta imediata da inflamação desencadeia cinco sinais descritíveis, denominados de sinais cardinais da inflamação: dor, calor, tumor, rubor, e a perda da função da região afetada. Esses sinais são consequências de eventos vasculares e celulares desencadeados pela liberação de mediadores químicos que mantêm e modulam todo o processo inflamatório (COTRAN *et al.*, 2000).

As alterações vasculares ocorrem visando facilitar a saída das células circulantes e proteínas plasmáticas para o local da lesão, que podem ocorrer em grau variável de acordo com a gravidade da lesão. A primeira manifestação é a constrição vascular transitória seguida de vasodilatação. Esta ocorre como consequência da liberação, principalmente, da histamina e óxido nítrico (NO), e

promove o aumento do fluxo sanguíneo local responsável pelo calor e rubor da inflamação (LAWRENCE; WILLOUGHBY; GILROY, 2002; ROBBINS *et al.*, 2005).

Em seguida à vasodilatação, há o aumento da permeabilidade vascular levando ao extravasamento de líquidos e proteínas para o tecido intersticial gerando o edema. O aumento da permeabilidade pode envolver diversos mediadores e mecanismos, sendo os mais comuns, ocasionados pela ligação de mediadores químicos (histamina, bradicinina, leucotrienos, substância P e citocinas) aos seus receptores levando a contração das células endoteliais e separação das junções ou por lesão direta do agressor sobre os vasos (PEREIRA, 2006; ROBBINS *et al.*, 2005).

Como consequência da saída de líquidos e da vasodilatação ocorre o aumento da viscosidade sanguínea o que leva a estase sanguínea e a marginação de leucócitos que rolam e migram (Figura 05) através da parede vascular para o interstício acumulando-se no local da lesão (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; PEREIRA, 2006).

O processo de adesão e transmigração celular é regulado pela ligação de moléculas de adesão aos leucócitos e por mediadores químicos, como bradicinina, TNF- $\alpha$ , eicosanoides e frações livres do complemento, principalmente C5<sub>a</sub>, e por epítopos de micro-organismos, que formam um gradiente quimiotático, bem como modulam a expressão e avidéz das moléculas de adesão (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; PEREIRA, 2006).

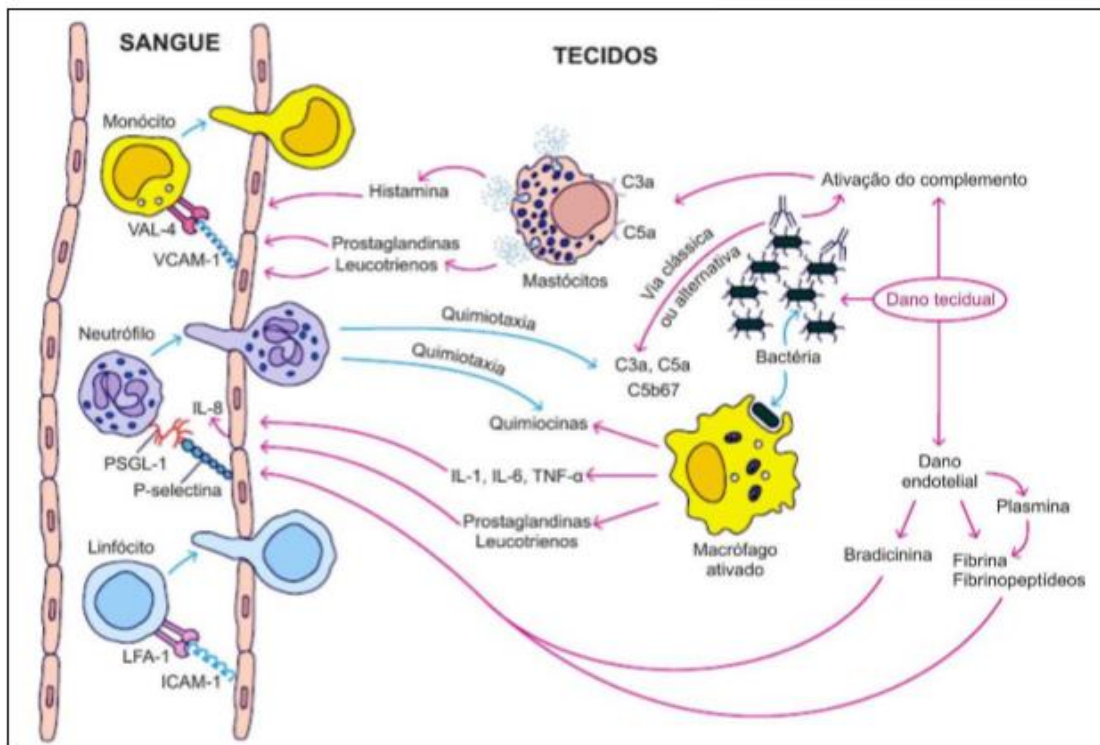
Essas moléculas de adesão são agrupadas em quatro grandes grupos: Selectinas, glicoproteínas semelhantes à mucina, integrinas e a família das imunoglobulinas.

As selectinas não uma família de glicoproteínas de superfície celular expressas em leucócitos (L-selectina), células endoteliais (E-selectina e P-selectina) e plaquetas (P-selectina) que se ligam a várias glicoproteínas semelhantes à mucina como a PSGL-1 (Ligante-1 da P-selectina) promovendo o rolamento a adesão de neutrófilos, monócitos e linfócitos (SHERWOOD *et al.*, 2004; ROBBINS, 2005)

Já as integrinas são uma família de proteínas heterodiméricas compostas de unidades alfa e beta constitutivamente presentes na superfície de leucócitos e das células endoteliais, mas sua expressão é aumentada durante o processo inflamatório, promovendo a transição de rolamento para adesão que é caracterizada por uma forte adesão dos leucócitos ao endotélio (SHERWOOD et al, 2004).

E as moléculas de adesão da família das imunoglobulinas que inclui a ICAM-1 (Molécula de Adesão Intrcelular-1) e VCAM-1 (Molécula de Adesão Celular Vascular-1) e são ligantes para as integrinas dos leucócitos.

Figura 05 - Visão geral da migração leucocitária na inflamação.



Fonte: KINDT *et al.*, 2008.

Os leucócitos rolam na superfície do endotélio, aderem se ao mesmo e migram para o local da lesão. A P-selectina auxilia no rolamento e adesão; os mediadores químicos e epítomos de bactéria ativam os leucócitos e formam o gradiente quimiotático; as integrinas (LFA-1 e VLA-4) são fundamentais na adesão leucocitária ao endotélio; o VCAM-1 e ICAM-1 são ligantes das integrinas aos leucócitos e o PSGL-1 promove a ligação da P-selectina a célula.

O tipo de célula que predomina no sítio inflamatório nos dois primeiros dias geralmente é o neutrófilo. Porém depende do estímulo, pode haver alterações

prevalecendo desde eosinófilos até macrófagos. Os neutrófilos têm como principal função a eliminação de microrganismos através da fagocitose. Já os macrófagos prevalecem do segundo ao quinto dia e possuem comportamento e funções distintas de acordo com os estímulos aos quais são submetidos (GANTWERKER; HOM, 2011; SINGER; CLARK, 1999).

A etapa final do processo inflamatório visa a eliminação do agente e a reparação da estrutura tecidual lesada, com a regeneração de células parenquimatosas nativas, e/ou a formação de fibroblastos, que vão repor as substâncias intercelulares na região (CORMACK, 1991).

Essa resposta inflamatória descrita é comum para qualquer tipo de agressão ao organismo. Não obstante, quando a agressão promove a perda da continuidade da pele, a inflamação é precedida por eventos que buscam cessar a perda sanguínea (LAWRENCE; WILLOUGHBY; GILROY, 2002).

### *2.2.3 Processo de cicatrização*

A cicatrização é um processo natural do organismo que pode restaurar as estruturas originais de um tecido ou órgão, mas que envolve a deposição de colágeno e formação da cicatriz. Esse processo ocorre como uma resposta tecidual a um ferimento, na pele normalmente, ou aos processos inflamatórios em órgão internos (ROBBINS *et al.*, 2005).

Quando o ferimento atinge apenas a epiderme, a recuperação do tecido se dá por regeneração, ou seja, há a substituição do tecido perdido por tecido com as mesmas características prévias ao dano devido à alta capacidade proliferativa do tecido epitelial. Entretanto, quando o ferimento atinge a derme, em ferimento excisional ou incisional, o restabelecimento da continuidade do tecido ocorre por cicatrização e as estruturas anexas não são recuperadas (GANTWERKER; HOM, 2011; ROBBINS, 2005).

A cicatrização envolve uma série de eventos que de forma dinâmica promovem a interação de células e moléculas para assim ocorrer a reconstituição do tecido (DAVIDSON, 2007; EMING; KRIEG; MEANA-INFUESTA; LLAMES, 2003). Esse processo pode ser dividido, para fins didáticos, nas seguintes fases: inflamação,

proliferação e remodelagem. Mas todos podem estar acontecendo, ao mesmo tempo, em diferentes áreas de uma lesão (ISAAC *et al.*, 2010; MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003; YAMAG; UCHI; YOSHIKAWA, 2001).

### Inflamação

A injúria tecidual leva a rupturas nos vasos sanguíneos culminando com o extravasamento de seus constituintes. Em busca de manter a homeostase, quase que concomitante ao estímulo lesivo, ocorrem descargas adrenérgicas e liberação de mediadores oriundos da desgranulação dos mastócitos promovendo a constrição dos vasos (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; GANTWERKER; HOM, 2011).

A exposição do colágeno pela ruptura dos vasos desencadeia a deposição de plaquetas que são, posteriormente, ativadas por uma gama de substâncias presentes na matriz subendotelial (colágeno subendotelial exposto) e na corrente sanguínea (trombina, tromboxano A2, PAF, fator de Von Willebrand e fibrinogênio) promovendo o recrutamento de mais plaquetas. Forma-se então um coágulo branco rico em plaquetas que é rapidamente infiltrado por fibrina, transformando-se em coágulo fibrinoso. As redes de fibrina capturam os eritrócitos e forma-se o coágulo vermelho, principal responsável pela oclusão do espaço lesado, cessando a perda de seus constituintes e fornecendo uma matriz para o processo de reparo e a resposta inflamatória segue, como descrita anteriormente (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; SHAW; MARTIN; 2009).

A resposta inflamatória é essencial para o processo de cicatrização, pois promove a eliminação de células mortas, bactérias e qualquer substância estranha encontrada na ferida, e assim, permite a continuidade do processo de reparo (HENRY; GARNER, 2003; WITTE; BARBUL, 1997). Entretanto, se processo for prolongado por mais de 3 semanas a inflamação impede a cicatrização formando uma ferida crônica, que pode ser causada por alta contaminação microbiana, traumas repetidos ou a presença de corpos estranhos (GANTWERKER; HOM, 2011; HENRY, GARNER, 2003).

## Proliferação

A proliferação ocorre entre o primeiro e o décimo dia após a lesão tecidual e envolve a re-epitelização, fibroplasia e angiogênese. A fibroplasia é o processo de substituição da matriz extracelular por um tecido conjuntivo com maior elasticidade e força, formado pela deposição de colágeno por fibroblastos. Como estas células estão em intensa atividade metabólica, a angiogênese é essencial para fornecer a troca de gases e os nutrientes essenciais ao processo (HOSGOOD, 2006; MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Para que ocorra a angiogênese, as células endoteliais dos capilares intactos secretam colagenases e o ativador do plasminogênio, que promovem aberturas na membrana basal ocorrendo a migração das células endoteliais que se direcionam à região da lesão. Uma vez na região externa do vaso, elas passam pelo processo de diferenciação para aquisição da capacidade de formação de capilares. As células endoteliais migratórias diferenciam-se e formam, no exterior do vaso, um broto capilar maciço que se une ao capilar de origem, passa por um processo de remodelação formando a luz vascular e reestabelece o fluxo sanguíneo. A angiogênese também pode ocorrer pelo recrutamento de células precursoras endoteliais da medula óssea para o local da lesão (HOSGOOD, 2006; ROBBINS *et al.*, 2005).

A fibroplasia e a angiogênese formam o tecido de granulação composto por macrófagos, fibroblastos, vasos neoformados e a matriz extracelular imatura. Este tecido é edematoso e caracterizado pela presença de muitos espaços vazios, devido à imaturidade dos vasos, os quais são extremamente exsudativos e sangram com facilidade (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003; SINGER; CLARK, 1999).

Nas feridas em que a perda tecidual atinge a derme completa ou chega até a camada subcutânea é necessário a formação de grande quantidade de tecido de granulação, que ocorre apenas a partir das margens da ferida tornando o processo lento. Entretanto, o tamanho da ferida é reduzido pela contração das margens da ferida pelo miofibroblastos podendo reduzir até 60 % da área da ferida. Essa retração das fibras colágenas se inicia por volta do 3º dia após a lesão tecidual e

pode ter uma duração de até 30 dias dependendo do tamanho da ferida (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; MARTIN, 1997).

A re-epitelização é um processo que inicia quase concomitantemente à lesão tecidual através da migração de queratinócitos não danificados das bordas da ferida. Porém, esse processo é ineficiente até que o tecido de granulação chegue à altura da epiderme e forneça os substratos necessários para a migração dos queratinócitos (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

### Remodelamento

Uma vez que a ferida está preenchida por tecido de granulação, inicia-se o processo de remodelação em que fibras colágenas são adicionadas ao tecido de granulação e a maioria das células sofre apoptose. Assim, o tecido começa a se apresentar como uma cicatriz (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003; SINGER; CLARK, 1999).

Esse processo de remodelação envolve a produção, digestão e orientação das fibras de colágeno tipo I. A remodelação continua acontecendo até que o tecido se torne o mais semelhante possível ao tecido de origem. Entretanto os anexos da pele (como folículos pilosos e glândulas) e os melanócitos não se regeneram completamente, a cicatriz torna-se hipovascularizada e possui resistência diminuída, atingindo no máximo 80% da resistência do tecido original (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; MEANA-INFUESTA, 2003; SHAW; MARTIN, 2009).

Todas essas fases possuem características particulares que podem ser influenciadas por agentes intrínsecos e extrínsecos, ocasionando alterações benéficas ou não ao processo geral (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007; MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009).

As terapêuticas para feridas cutâneas visam o fechamento precoce das mesmas através da identificação e controle de co-morbidades (fatores intrínsecos) do paciente e de cuidados como, manutenção do leito da ferida úmido, eliminação de micro-organismos invasores e controle da inflamação (BRANCO-NETTO *et al.*, 2006; NAUDE, 2011).



## 2.3 Dor e Nocicepção

### 2.3.1 Considerações gerais

A dor é um mecanismo homeostático que possui o papel fisiológico de alertar os indivíduos acerca de possíveis ameaças ao bem-estar e a integridade do organismo, mas que pode tornar-se persistente constituindo uma importante causa de incapacitação (KLAUMANN *et al.*, 2008; LIMA, 2008; TEIXEIRA, 2001).

O fenômeno doloroso envolve, além da experiência sensorial (nocicepção) associada a uma injúria real ou potencial, experiências emocionais, dando uma conotação individual a dor. Assim sendo, estímulos semelhantes podem levar a sensações dolorosas distintas (ALMEIDA; ROIZENBLATT; LOESER MELZACK, 1999; TUFIK, 2004; TRACY, 2005).

O primeiro passo na sequência dos eventos que originam o fenômeno doloroso é a ativação de neurônios sensoriais primários (nociceptores) por estímulos químicos, térmicos ou mecânicos capazes de provocar lesão tecidual. Esses estímulos são transformados em potenciais de ação e transmitidos pelas fibras periféricas ao sistema nervoso central (SNC) (CARR; GOUDAS, 1999; KLAUMANN *et al.*, 2008; LIMA, 2008; TEIXEIRA, 2001).

Os nociceptores são neurônios com terminações livres, extensamente presentes na pele, mucosas, fáscias profundas, tecido conectivo de órgãos viscerais, ligamentos, cápsulas articulares, periósteo, músculos, tendões e vasos (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004).

As fibras periféricas são classificadas em quatro tipos de acordo com suas características. Fibras do tipo C são amielínicas com diâmetro de 0,4 – 1,2  $\mu\text{m}$  e velocidade de condução de 0,4 - 2,0 m/s; fibras A $\delta$  são pouco mielinizadas com diâmetro de 2,0 - 6,0  $\mu\text{m}$  e velocidade de condução de 12 – 30 m/s, A $\beta$  e A $\alpha$  que são intensamente mielinizadas de grande diâmetro e elevada velocidade de condução (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004; SERPELL, 2006).

A maioria das fibras C e A $\delta$  são nociceptivas, enquanto apenas cerca de 20% das A $\beta$  e A $\alpha$  o são. As fibras C medeiam a dor secundária referida como dor em queimação, que ocorre após a injúria tecidual, e é responsável pelo comportamento

de proteção da região danificada favorecendo a recuperação tecidual. As  $A\delta$  medeiam a dor primária que é bem delimitada, rapidamente induzida, descrita como em picada e tem o objetivo retirar o estímulo doloroso a fim de evitar ou reduzir o dano ao tecido (SERPELL, 2006).

Já as  $A\beta$  e  $A\alpha$  estão mais relacionadas à percepção de estímulos não nocivos de tato e propriocepção, respectivamente. Mas, por desencadarem respostas rápidas, são importantes para a integridade dos indivíduos (SIQUEIRA *et al.*, 2009).

### 2.3.2 Tipos de Dor

Além da dor provocada por estímulos que oferecem risco para a integridade do corpo (dor transitória) alertando os indivíduos acerca dessas ameaças e produzindo reações de defesa, fuga ou remoção do agente causal, existe a dor aguda e crônica (KLAUMANN *et al.*, 2008; LIMA, 2008; LOESER; MELZACK 1999; TEIXEIRA, 2001).

A dor aguda é provocada por lesão substancial de tecido e consequente ativação dos nociceptores. Porém tem um percurso curto e é cessada antes mesmo do reparo completo do tecido lesado, que normalmente ocorre sem a necessidade de intervenção medicamentosa. No entanto, intervenções medicamentosas podem ser úteis para reduzir a dor aguda, após trauma ou intervenções cirúrgicas e favorecer o bem estar do paciente (BASBAUM *et al.*, 2009; CARR; GOUDAS, 1999; LOESER; MELZACK 1999; SIQUEIRA *et al.*, 2009 ).

Ao passo que na dor crônica ocorre estimulação persistente dos aferentes nociceptivos induzindo alterações no sistema somatossensorial, seja a nível do SNC ou periférico, que prolonga o estado doloroso. A dor crônica é indicativa de uma disfunção orgânica que pode ser neurogênica ou inflamatória, e uma importante causa de incapacitação (SIQUEIRA *et al.*, 2009; KLAUMANN *et al.*, 2008; LIMA, 2008; TEIXEIRA, 2001).

A dor ainda pode ser classificada quanto a sua origem em neuropática ou nociceptiva. A dor neuropática é provocada por uma lesão primária ou disfunção do sistema nervoso que gera dor espontânea na ausência de estímulo periférico, que

pode ser contínua ou paroxística e, frequentemente, descrita como em queimação, facada ou formigamento (SERPELL, 2006; STEEDS, 2009).

Enquanto na dor nociceptiva a causa de lesão é identificável e acompanhada de estimulação dos nociceptores em estruturas somáticas ou viscerais, como no momento de uma queimadura ou em pós-operatórios. A dor neuropática pode ser fisiológica (mecanismo de proteção), ou inflamatória (SIQUEIRA *et al.*, 2009).

A dor inflamatória, resultante de estímulos térmicos, químicos, ou mecânicos, que danificam o tecido provocando recrutamento de células e resposta inflamatória local com liberação de mediadores. Esses mediadores (prostanoides, citocinas, peptídeos, aminas e fatores de crescimento) interagem com os nociceptores promovendo a ativação ou sensibilização dos mesmos (KLAUMANN *et al.*, 2008; LIMA, 2008; ROCHA *et al.*, 2007; SERPELL, 2009).

Diferente do que se acreditava, os mediadores inflamatórios não são liberados de forma desorganizada. Alguns causam a ativação direta dos nociceptores, como o ATP, enquanto outros fazem parte de uma cascata de mediadores intermediários e finais. Os mediadores intermediários são liberados no início e durante a resposta inflamatória, e estimulam a liberação dos mediadores finais responsáveis pela sensibilização e ativação dos nociceptores (SIQUEIRA *et al.*, 2009).

O fator de necrose tumoral- alfa (TNF- $\alpha$ ), as interleucina-1 (IL-1) e 8 (IL-8) são os principais mediadores inflamatórios intermediários conhecidos e responsáveis pela indução de enzimas e receptores, bem como a liberação de vários mediadores finais como prostaglandinas e leucotrienos. (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998; OKUSE, 2007; SIQUEIRA *et al.*, 2009).

Esses mediadores finais possuem receptores acoplados à proteína G, que estimulam vias de sinalização intracelular como da adenilato ciclase e fosfolipase C, que subsequentemente leva a ativação de proteínas quinase (A e C) levando ao desenvolvimento da sensibilidade neuronal devido à fosforilação de canais de  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$  e  $Na^+$ . Tais modificações induzem alterações nos potenciais de repouso e uma diminuição do limiar de ativação da membrana, facilitando a ação de estímulos

anteriormente inócuos ou muito pouco efetivos (OKUSE, 2007; SIQUEIRA *et al.*, 2009).

A sensibilização dos nociceptores pode ser classificada em dois tipos: Alodinia que é uma resposta dolorosa a um estímulo indolor decorrente de alterações nos neurônios com redução no limiar de ativação dos nociceptores. Enquanto a hiperalgesia/hipernocicepção é a resposta dolorosa aumentada a um estímulo previamente doloroso (CARR, GOUDAS, 1999; SERPELL, 2009; TEIXEIRA, 2001).

A dor crônica, seja ela de origem inflamatória ou neuropática, por vezes, se mostra resistente à terapia farmacológica existente, ou estas apresentam efeitos indesejáveis ao paciente que impedem ou dificultam a continuidade do tratamento. Portanto, a busca por novas terapêuticas deve ser contínua (NGUELAFAK *et al.*, 2010; SOSTRES *et al.*, 2010).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

A partir das informações obtidas no inquérito etnobotânico, avaliar a atividade anti-inflamatória, cicatrizante, antinociceptiva e antimicrobiana do óleo essencial de *Croton cordiifolius* Baill.

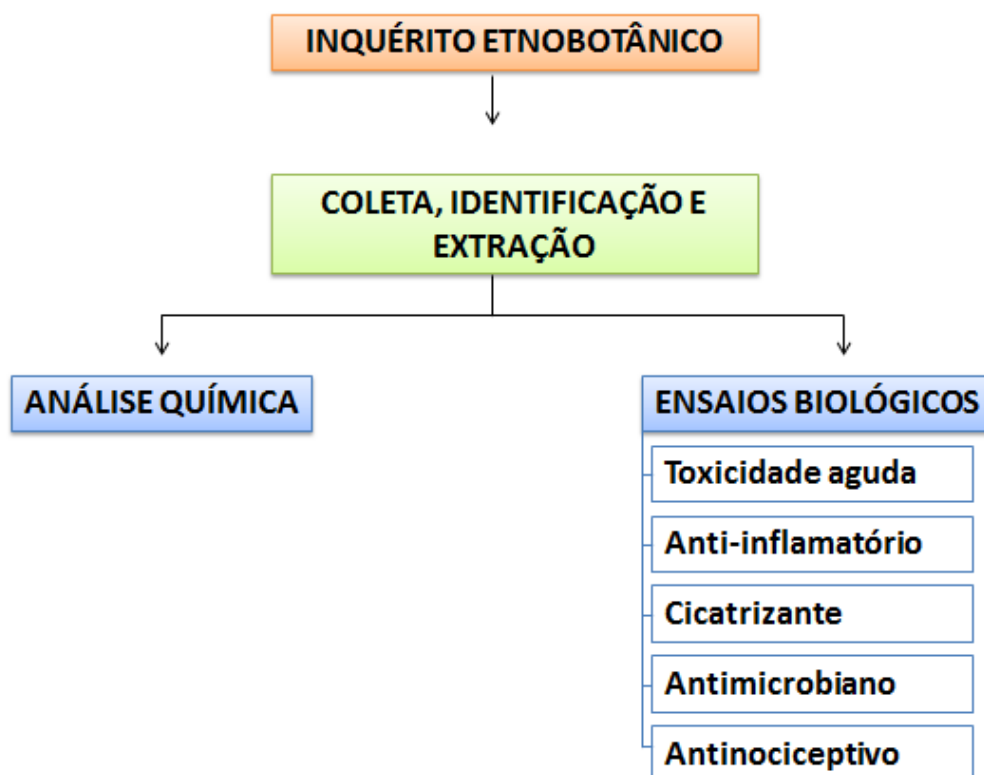
#### 3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Realizar inquérito etnobotânico sobre plantas medicinais;
- ✓ Extrair o óleo essencial de *Croton cordiifolius* e analisar sua composição química;
- ✓ Avaliar a toxicidade aguda do óleo essencial de *C. cordiifolius*;
- ✓ Avaliar a atividade anti-inflamatória tópica do óleo essencial de *C. cordiifolius* em modelo de edema de orelha induzido por óleo de cróton e ácido araquidônico;
- ✓ Avaliar a atividade cicatrizante do óleo essencial de *C. cordiifolius* sobre área da ferida cirúrgica excisional e suas características histológicas e no modelo de espaço morto;
- ✓ Estudar a atividade antinociceptiva do óleo essencial de *C. cordiifolius* em modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético, teste de formalina, e nocicepção por capsaicina e glutamato;
- ✓ Testa o efeito do óleo essencial sob o sistema nervoso central de camundongos através do teste do campo aberto.
- ✓ Testar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *C. cordiifolius* frente a isolados clínicos de sítio de infecção de ferida por *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus* MRSA e *Staphylococcus aureus* Teste D positivo.

## 4 MATERIAS E MÉTODOS

Toda a experimentação deste trabalho foi seguida de acordo com o delineamento experimental abaixo (Figura 06).

Figura 06- Delineamento experimental do estudo



Fonte: Autor.

### 4.1 Inquérito Etnobotânico

A Coleta de dados foi realizada de Janeiro a Março de 2011 na zona rural das cidades Pernambucanas, Salgueiro, Terra-Nova, Parnamirim e Serrita, todas localizadas na região central do Nordeste Brasileiro. Neste período foram entrevistadas 100 pessoas de ambos os sexos. Os voluntários participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as normas éticas legais estabelecidas na resolução 196/96 do Comitê de Ética em Pesquisa Humana.

Dados etnobotânicos foram coletados através de entrevistas com formulário semiestruturado em duas fases (ALMEIDA *et al.*, 2010). Na primeira fase foi realizada entrevista para caracterização da amostra estudada e conhecimento sobre

plantas medicinais cicatrizantes e anti-inflamatórias. Na etapa seguinte, após análise dos dados coletados na primeira fase, um espécime de *Croton* L. foi mostrado aos entrevistados para o reconhecimento e estes foram inquiridos sobre as aplicações empíricas dessa planta.

O valor de uso (VU) das espécies foi calculado através da versão modificada da fórmula proposta por Rossato *et al.* (1999), em que:

$$VU = \frac{\sum U}{n}$$

Onde U é o número de usos dados por cada informante e “n” número total de informantes.

#### **4.2 Material Botânico e Extração do Óleo essencial**

Após a identificação através das entrevistas, o material vegetal foi coletado pela manhã, e uma exsicata da planta foi identificada por Maria Olívia de Oliveira Cano no Herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) como *Croton cordiifolius*, e depositada com número de registro 85.609.

As folhas frescas foram imediatamente submetidas à hidrodestilação (Craveiro *et al.* 1981).

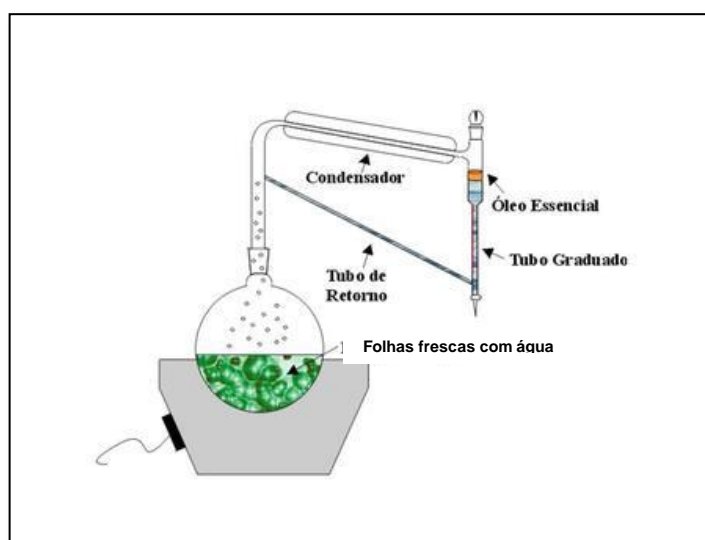
Neste método o material vegetal é triturado e colocado dentro de um balão de fundo redondo contendo água destilada, e mantido sob aquecimento. Quando a mistura de água e material vegetal entra em ebulição, os vapores de água arrastam os compostos voláteis conduzindo-os em direção ao condensador, onde é realizada a troca de calor, condensando os vapores com a água de refrigeração, conforme ilustrado na Figura 7.

Nessa etapa, podem ser visualizadas, no tubo separador do extrator, as formas líquidas do óleo essencial e da água. Como o óleo essencial é menos denso que a água, há a formação de fases, e desta forma é possível realizar a separação do óleo e da água.

Após a separação, o óleo essencial foi tratado com sulfato de sódio para remoção de resíduos de água, mantido protegido da luz e congelados em  $-20^{\circ}\text{C}$  até o uso.

Para a determinação da dose utilizada nos ensaios farmacológicos, o óleo essencial foi pesado, sua densidade calculada e diluído em Cremophor 0,5%.

Figura 07 - Esquema do aparato para hidrodestilação.



Fonte: Núcleo de Estudo e Pesquisa de Plantas Medicinais (UNIVASF), 2014.

### 4.3 Análise Química

A análise dos constituintes do óleo essencial de *Croton cordiifolius* foi realizada por cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massas, utilizando um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (Shimadzu<sup>®</sup> GCMS QP2010s) no Parque de Desenvolvimento Tecnológico da Universidade Federal do Ceará.

Uma coluna capilar não polar (W Scientific DB-5 ms, 50 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ) foi utilizada. A temperatura de aquecimento foi programada para  $70^{\circ}\text{C}$  com um aumento de  $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$  até  $280^{\circ}$ , e mantida por 15min. O gás carreador utilizado foi o hélio, com um fluxo constante de 1,4 mL/min. A temperatura da fonte de ionização foi mantida em  $280^{\circ}\text{C}$ , energia de ionização de 70 eV e corrente de 0,7 kV. Os espectros de massa foram registrados de 30 a 450 m/z.



Os componentes foram identificados individualmente por comparação dos espectros de massas 70 eV com a base de dados do espectrômetro, utilizando a biblioteca L-Built da Wiley e comparando os índices de retenção com os da NIST (STEIN, 1997) e com os padrões de fragmentação relatados na literatura (ADAMS, 2001).

Os índices de retenção também foram comparados com aqueles obtidos por Craveiro *et al.* (1981) para outras espécies de *Euphorbiaceae* e simulados utilizando o método descrito por Alencar *et al.* (1990).

#### **4.4 Animais**

Foram utilizados camundongos *Swiss* ou *Balb/c* (apenas do edema de orelha por ácido aracdônico) machos e fêmeas (25 - 35 g), adultos, procedentes do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, e mantidos no biotério do Centro Acadêmico de Vitória, com ciclo claro/escuro de 12 h, à temperatura de 22° C, recebendo água e comida *ad libitum*.

Todos os experimentos com uso de animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Pernambuco, sob o protocolo de nº 23076.020508/2010-26.

#### **4.5 Determinação da DL50**

Para a determinação da toxicidade aguda do óleo essencial de *C. cordiifolous* foi realizado o teste de dose limite de 1000 mg/kg de acordo com a diretriz 425 da OECD (OECD, 2001).

A dose testada foi fracionada em 4 aplicações e administradas no período de 12 hs.

O óleo essencial (1000 mg/kg, i.p.) foi administrado a um animal, seguido por 24hs de observação. Como o animal não morreu, mais três animais foram testados com a mesma dose e sob as mesmas condições. Após um período de observação de 14 dias, os animais foram sacrificados e a necropsia realizada.

## 4.6 Ensaio Inflamatórios

### 4.6.1 Edema de orelha por óleo de Cróton

O edema de orelha foi induzido através da aplicação de 20  $\mu$ L de óleo de Cróton 2 % diluído em acetona na orelha direita dos camundongos (n = 8). Nos grupos testes foi adicionado a esta solução a dexametasona (0,5 %), ou o óleo essencial de *C. cordiifolius* 0,3 ou 1 %. Na orelha esquerda dos animais de todos os grupos foi aplicado o mesmo volume de acetona (controle negativo) (DE YOUNG *et al.*, 1989)

Seis horas após o tratamento, os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical e um fragmento de 6 mm de diâmetros foi retirado de cada uma das orelhas com o auxílio de um *punch* de biopsia e imediatamente pesados. A formação do edema foi avaliada através da diferença de peso entre os dois fragmentos.

### 4.6.1 Edema de orelha por ácido araquidônico

O edema de orelha foi induzido através da aplicação de 20  $\mu$ L de ácido araquidônico (2 mg/orelha) diluído em acetona na orelha direita dos camundongos (n = 8). Nos grupos testes foi adicionado a esta solução a indometacina (0,5 mg/orelha), ou o óleo essencial de *C. cordiifolius* 1 %. Na orelha esquerda dos animais de todos os grupos foi aplicado o mesmo volume de acetona (controle negativo) (OPAS *et al.*, 1985).

Uma hora após o tratamento, os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical e um fragmento de 6 mm de diâmetros foi retirado de cada uma das orelhas com o auxílio de um *punch* de biopsia e imediatamente pesados. A formação do edema foi avaliada através da diferença de peso entre os dois fragmentos.

## 4.7 Ensaio Cicatrizante

### 4.7.1 Ferida Cirúrgica Excisional

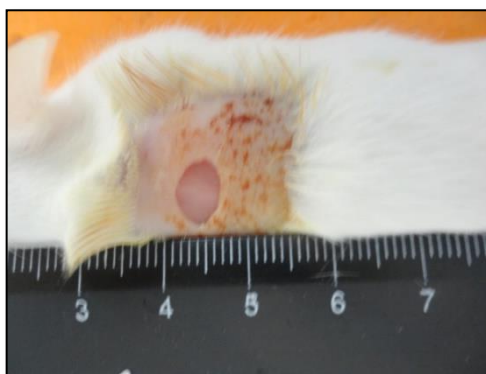
Os animais (n = 18) foram anestesiados (Xilazina 10mg/Kg e Cetamina 100mg/Kg, i.p) e tiveram o dorso tricotomizado. A assepsia da área foi realizada

utilizando-se iodo ativo a 1%. As feridas foram induzida com o uso de um *punch* de biópsia de 6 mm de diâmetro e deixadas abertas, sem qualquer cobertura (DAVIDSON, 1998).

Após a recuperação da anestesia, os animais foram acondicionados em caixas individuais e o suprimento de ração e água foi restabelecido. Aos animais do grupo controle negativo foi aplicado 40 µL Cremophor EL 0,5 %; ao controle positivo pomada contendo Sulfato de Neomicina 5 mg/g + Bacitracina 250 UI/g; e aos animais do grupo tratado 40 µL do óleo essencial de *Croton cordiifolius* previamente diluído em Cremophor EL 0,5% na concentração de 0,3 e 1 %. Todos os grupos foram tratados a cada 12 horas (as 7:00 e as 19:00 horas) durante 3 dias.

As feridas foram fotografadas, usando uma régua como escala (Figura 08), no momento da confecção e após 3, 7 e 14 dias para a avaliação da contração das feridas (TONG *et al.*, 2008). Após as fotografias os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e as feridas excisadas e armazenadas em formol tamponado 10% para posterior análise histológica.

Figura 08 - Foto da ferida no dia da confecção ilustrando o posicionamento da régua ao lado da ferida para utilização como escala.



Fonte: Autor

### **Contração de Feridas**

As feridas fotografadas tiveram sua área medida com auxílio do programa ImageJ® (NIH, EUA) e o percentual de contração das feridas calculado de acordo com a seguinte fórmula (TONG *et al.*, 2008).

$$\% \text{ de contração} = 100 - \frac{(\text{área final} \times 100)}{\text{área inicial}}$$

### **Análise Histológica**

Os fragmentos de tecidos coletados foram desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizadas pelo xilol, impregnados, incluídos em parafina, cortados em micrótomo e corados com Hematoxilina e Eosina (HE) para a contagem de infiltrado inflamatório e vasos sanguíneos, e com Picrosirius-Hematoxilina para a quantificação de colágeno.

Com um microscópio óptico acoplado a um câmera fotográfica foram fotografados 15 campos aleatórios de cada lâmina e a contagem do infiltrado inflamatório e vasos, bem como a quantificação de colágeno.

Infiltrado inflamatório, vasos sanguíneos e o colágeno foram quantificados por um observador previamente treinado para reconhecimento das estruturas e o uso do *software* ImageJ<sup>®</sup>.

As células do infiltrado e os vasos foram identificados nas fotografias por suas características morfológicas. Enquanto para a quantificação do colágeno foi aplica um filtro de cores no image J que selecionava a área da foto corada em vermelho e apresentava o valor correspondete a seleção em percentagem da área da foto.

#### 4.7.2 Granuloma induzido por pellet

Com os animais devidamente anestesiados com pentobarbital sódico (60 mg/kg), um pellet de esponja de celulose (20 mg) foi implantado sob a pele da região dorsal de cada camundongo (DAVIDSON, 1998; NAYAK; PEREIRA, 2006). Esses animais foram então tratados com o veículo (Cremophor 0,5%, 10 mg/mL, i.p); ou óleo essencial de *C. cordiifolius* (50 mg/kg, i.p.) diariamente.

No décimo dia após a indução do granuloma, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e o tecido de granulação formado no pellet implantado foi removido cuidadosamente. Os pesos dos tecidos foram registrados imediatamente e secados a 60°C por 12 horas. Após esse período uma segunda pesagem foi utilizado para determinação da relação peso úmido/peso seco.

## 4.8 Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi realizada pelo método do teste de difusão de Bauer *et al.* (1966).

Para realização dos testes de avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial foi utilizado o meio de cultura Mueller Hinton (MH).

### 4.8.1 Micro-organismos teste

Foram utilizados os isolados clínicos de (sítio de infecção ferida) *Staphylococcus aureus* MRSA, *Staphylococcus aureus* Teste D positivo, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter aerogenes* obtidas da Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os registros dos micro-organismos da coleção se encontram na Tabela 02.

Tabela 02 - Registro dos micro-organismos do departamento de antibióticos da UFPE utilizados na pesquisa.

Microrganismos	Registros
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	(UFPEDA700)
<i>Staphylococcus aureus</i> Teste D positivo	(UFPEDA679)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(UFPEDA736)
<i>Enterobacter aerogenese</i>	(UFPEDA739)

MRSA: *Staphylococcus aureus* Meticilina Resistente;

### 4.8.2 Padronização do inóculo

As suspensões microbianas foram padronizadas de acordo com a turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de Macfarland, que corresponde a aproximadamente  $10^8$  UFC/mL para bactérias.

#### 4.8.3 Teste de difusão em disco de papel

A atividade antimicrobiana do óleo essencial foi avaliada pelo método de difusão em disco de papel (BAUER *et al.*, 1966). Discos de 6 mm de diâmetro foram impregnados com 10 µL da solução do óleo essencial a 1% ou do óleo essencial puro e colocados sobre a superfície do meio semeado em placas de Petri com as suspensões microbianas padronizadas. As placas foram incubadas a 35° C, por um período de 24 horas. Após o período de incubação foi realizada a leitura dos resultados, pela medição do diâmetro do halo de inibição formado em volta do disco. Os discos padrões utilizados foram de gentamicina (10 µg), cefepime (30 µg) e amoxicilina + clavulonato (30 µg). Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos pela média aritmética dos diâmetros dos halos em milímetros.

### 4.9. Atividade Antinociceptiva

#### 4.9.1 Contorções Abdominais

Camundongos *Swiss* machos (n = 8) foram utilizados para investigar a ação do óleo essencial de *C. cordiifolius* no modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético. Para isso, o óleo essencial foi administrado nas doses de 50 e 100 mg/kg por via intraperitoneal 30 minutos antes da administração do ácido acético a 0,6 % (10 mL/kg, i.p.). Após 10 minutos da administração do ácido acético, o número de contorções foi registrado durante 20 minutos. O grupo controle recebeu o veículo e o grupo controle positivo foi tratado com indometacina (10 mg/kg, i.p.) (KROSTER, *et al.*, 1959).

#### 4.9.2 Teste de Formalina

Os animais (n = 8) receberam o óleo essencial de *C. cordiifolius* nas doses de 50 e 100 mg/kg por via intraperitoneal 30 minutos antes da injeção intraplantar de 20 µL da solução de formalina 1 % na pata traseira direita. O tempo (em segundos) gasto pelo animal lambendo a pata, foi registrado durante os primeiros 5 minutos (fase inicial ou 1ª fase) e de 20 a 25 minutos (fase tardia ou 2ª fase) após a administração da formalina. O grupo controle recebeu apenas o veículo, enquanto que os animais do grupo controle positivo receberam morfina na dose de 7,5 mg/kg por via intraperitoneal (HUNSKAAR; HOLE *et al.*, 1987).

#### 4.9.3 Nocicepção induzida por Capsaicina

Os animais (n = 8) receberam o óleo essencial de *C. cordiifolius* nas doses de 50 e 100 mg/kg por via intraperitoneal 30 minutos antes da injeção intraplantar de 20 µL da solução de capsaicina (2 nmol) na pata traseira direita. O tempo (em segundos) gasto pelo animal lambendo a pata foi registrado durante os primeiros 5 minutos após a administração intraplantar. O grupo controle recebeu apenas o veículo (SANTOS *et al.*, 2003).

#### 4.9.4 Nocicepção induzida por Glutamato

Os animais (n = 8 por grupo) receberam uma injeção intraplantar de 20 µL de glutamato (20 µmol/pata preparado em tampão fosfato salina) na pata traseira direita. O tempo gasto pelo animal lambendo a pata injetada nos 15 min seguintes a injeção foi registrado com um cronômetro e considerado como indicativo de nocicepção. (GUGINSKI *et al.*, 2009).

Os animais foram tratados com veículo (10 mL/kg, i.p.) ou OECc (50 e 100 mg/kg, i.p.) 30 min antes da administração do glutamato.

#### 4.9.5 Avaliação do envolvimento dos receptores opioides

Para avaliar o envolvimento dos receptores opioides no efeito antinociceptivo do óleo essencial de *C. cordiifolius*, os camundongos foram tratados com naloxona (1 mg/kg, i.p.) 15 min antes da administração do OECc (100 mg/kg/ i.p.), morfina (7,5 mg/kg, i.p.), ou veículo (10 ml/Kg, i.p.) Trinta minutos depois, os animais receberam solução de ácido acético 0,6 % (10 mL/kg, i.p.). Após 10 minutos, o número de contorções foi registrado por 20 min (KROSTER, *et al.*, 1959).

#### 4.9.6 Teste de Campo Aberto

O teste do campo aberto foi usado para avaliar o efeito do OECc na atividade locomotora de camundongos. Foi utilizada uma caixa acrílica (com paredes transparentes e piso preto) medindo 30 × 30 × 15 cm e dividida em 9 quadrantes de áreas iguais. Os camundongos foram colocados na caixa durante 5 min e o número de quadrantes cruzados com as 4 patas, levantamentos e comportamento de auto-limpeza foi registrado e utilizado como indicativo da atividade locomotora

(LOPES *et al.*, 2013). Os animais ( $n = 8$ ) foram tratados com veículo (10 mL/kg, i.p.), OECc (100 mg/kg, i.p.) ou diazepam (2 mg/kg, i.p.) 30 min antes do teste.

#### **4.10 Análise Estatística**

Os resultados foram expressos com média  $\pm$  E.P.M. e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni através do *software* (GraphPadPrism<sup>®</sup> 5.0) e intervalo de significância fixado em  $p < 0,05$ .



## 5 RESULTADOS

### 5.1 Inquérito Etnobotânico

Na avaliação etnobotânica realizada na zona rural do interior de Pernambuco, houve uma distribuição semelhante de homens (intervalo de confiança: 34,2 - 54,3) e mulheres (intervalo de confiança: 45,7 - 65,8), bem como de adultos e idosos.

Quanto ao grau de escolaridade a população possuía predominantemente até ensino fundamental (89%). Todavia 6% possuíam ensino médio, 2% ensino superior e 3% eram analfabetos. A profissão mais encontrada foi agricultor (96%), com 3% professores (3%) e 1% enfermeira.

No que se refere ao conhecimento sobre plantas medicinais anti-inflamatórias e cicatrizantes foram citadas 73 espécies, das quais as mais citadas foram aroeira (99 citações), ameixa (99 citações), quixabeira (97 citações) e quebra-faca (61 citações). Entretanto após amostragem da planta, 99% dos inquiridos reconheceram a espécie medicinal quebra-faca, relatando inúmeros usos (Tabela 04), dos quais, anti-inflamatório e cicatrizante foram os mais citados correspondendo a 35,13% e 20,72% das citações, respectivamente. Deve-se considerar ainda que uma série das outras indicações cursam com quadro inflamatório, reparo tecidual e dor.

Tabela 03 - Distribuição da população entrevistada no estudo etnobotânico quanto à faixa etária e sexo.

Faixa etária	Sexo		Total
	Mulheres	Homens	
Adultos (20 – 59anos)	29	27	56
Idosos (>60 anos)	27	17	44
Total	56	44	100

Fonte: Autor

Tabela 04 - Indicações populares da espécie *Croton cordiifolius*.

<b>Indicações</b>	<b>Número</b>
Inflamação	39
Ferimentos	23
Problemas intestinais	19
Problemas no fígado	7
Prurido	4
Gripe	4
Problemas nos rins	4
Febre	3
Afrodisíaco	3
Problemas no estômago	2
Sinusite	1
Hemorragia	1
Diabetes	1
<b>Total de Citações</b>	<b>111</b>
<b>Valor de uso</b>	<b>1,11</b>

Fonte: Autor

## 5.2 Análise Química

A análise da composição química do OECc permitiu identificar 100% do conteúdo de óleos voláteis, sendo o 1,8-cineol e  $\alpha$ -felandreno os componentes encontrados em maior concentração, conforme demonstrado na Tabela 05.

## 5.3 Determinação da DL50

O teste de toxicidade com dose única foi realizado e durante os 14 dias de observação apenas um animal, dos cinco testados, veio a óbito. Esta única morte indicou que a dose letal média (DL50) é maior que 1000 mg/kg.

Tabela 05 - Constituintes presentes no óleo essencial de *Croton cordiifolius* analisados através de cromatografia a gás acoplada a espectrômetro de massas.

Pico	Tempo de retenção (min)	Composto	Percentual
1	13,883	α-pineno	4,96
2	16,150	β-felandreno	4,68
3	18,017	α -felandreno	15,43
4	19,217	Cimeno	8,02
5	19,508	D-limoneno	5,22
6	19,725	1,8-cineol	25,09
7	23,667	β-linalol	2,34
8	29,525	α-terpineol	3,41
9	43,408	β-cariofileno	6,58
10	47,492	γ-elemeno	7,36
11	49,550	Espatulenol	6,68
12	49,692	Óxido de β-cariofileno	4,72
13	50,583	Cadinol	5,51
<b>Total</b>			<b>100,00</b>

Fonte: Autor

## 5.4 Atividade Anti-inflamatória Tópica

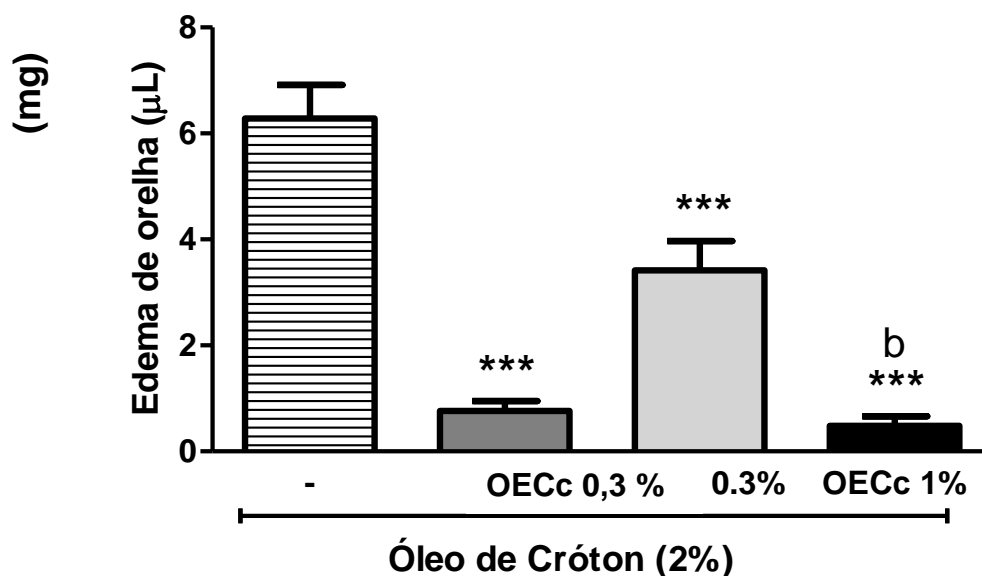
### 5.4.2 Edema de orelha por óleo de Cróton

O óleo essencial de *C. cordiifolius* reduziu a formação do edema de orelha por óleo de Cróton (Figura 9 e 10), tanto na concentração de 0,3% ( $3,42 \pm 0,55$  mg) quanto 1% ( $0,49 \pm 0,18$  mg) quando comparado ao grupo controle ( $6,28 \pm 0,63$  mg) que recebeu apenas o óleo de Cróton diluído em acetona. Entretanto a concentração de 1% promoveu redução maior do que 0,3% e bem semelhante à dexametasona ( $0,77 \pm 0,18$  mg).

### 5.4.3 Edema de orelha por ácido araquidônico

O OECc 1% ( $2,95 \pm 0,44$  mg) inibiu a formação do edema de orelha por ácido araquidônico quando comparado ao grupo controle negativo ( $5,94 \pm 0,59$  mg) de forma semelhante à indometacina 0,5 mg/orelha ( $2,66 \pm 0,25$  mg), conforme ilustrado na Figura 11.

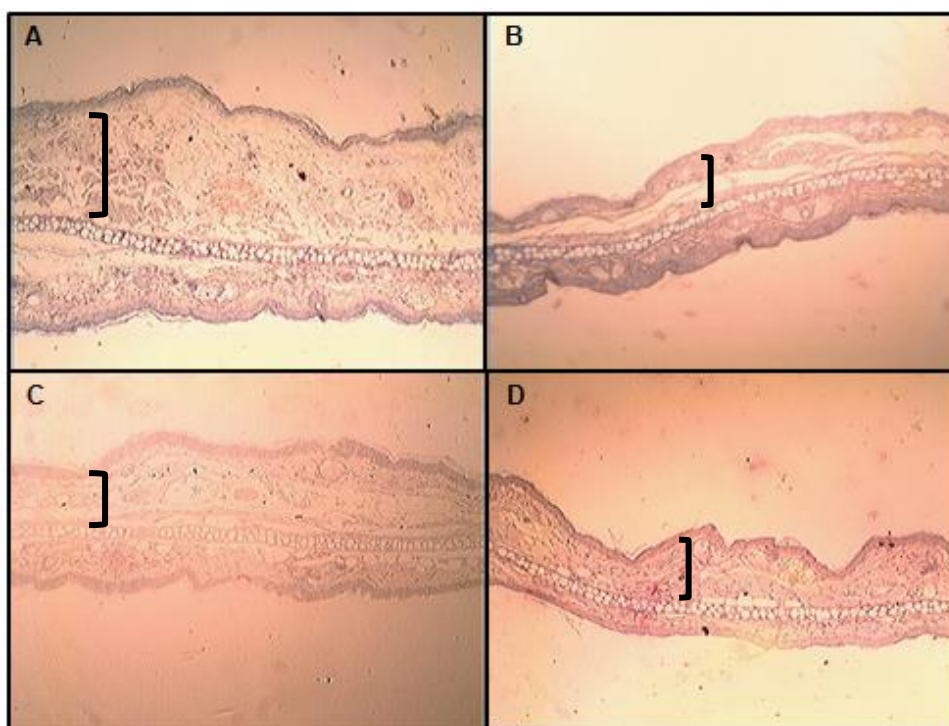
Figura 09 - Atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *Croton cordiifolius* e da dexametasona em modelo de edema de orelha por óleo de cróton em camundongos.



Fonte: Autor

\*\*\* Diferença significativa em relação ao grupo óleo de cróton (OECc) ( $P < 0,0001$ ); <sup>b</sup>Diferença significativa em relação ao grupo óleo essencial de *Croton cordiifolius* 0,3% ( $P < 0,05$ ). Dados expressos como média  $\pm$  EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni. Dexametasona (Dexa)

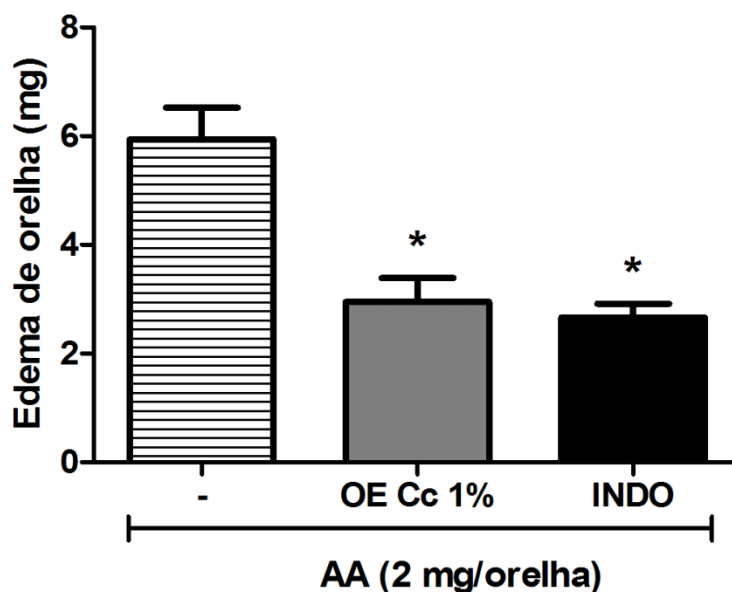
Figura 10 - Fotomicrografias do edema de orelha por óleo de cróton e o efeito do tratamento com óleo essencial de *Croton cordiifolius* 0,3% e 1% e dexametasona 0,5%.



Fonte: Autor.

A- edema induzido pelo óleo de cróton 2 %; B- edema induzido por óleo de cróton 2 % e tratado com dexametasona 0,5%; C- edema induzido por óleo de cróton e tratado com OECc 0,3%; D- edema induzido por óleo de cróton e tratado com OECc 1%. ]- edema.

Figura 11 - Atividade anti-inflamatória tópica do óleo essencial de *Croton cordiifolius* e indometacina em edema de orelha por ácido araquidônico.



Fonte: Autor

OECc: Óleo essencial de *Croton cordiifolius*; INDO: Indometacina \*Diferença significativa em relação ao grupo Veículo (-) ( $P < 0,05$ ). Dados expressos como média  $\pm$  EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

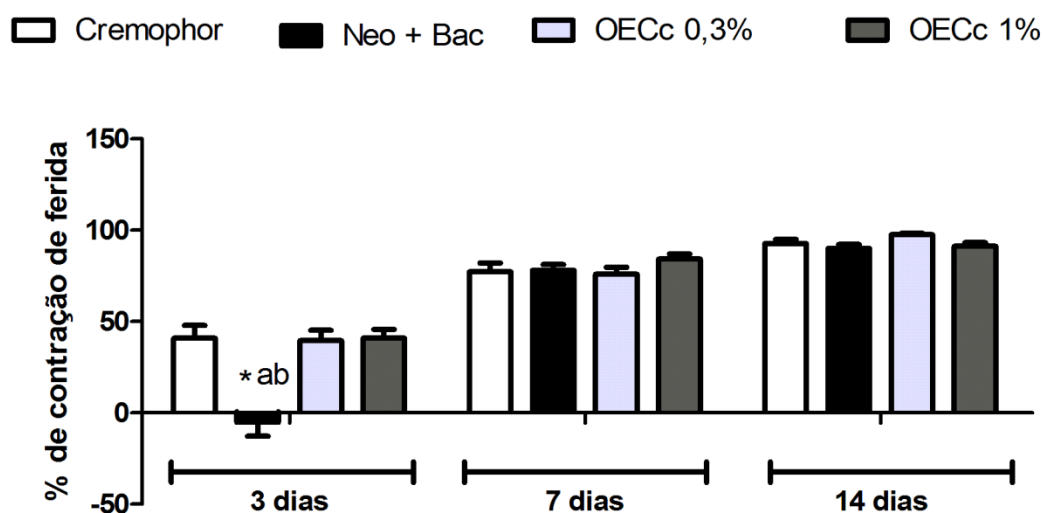
## 5.5 Atividade Cicatrizante

### 5.5.1 Ferida Cirúrgica Excisional

O óleo essencial de *Croton cordiifolius* nas concentrações de 0,3 % e 1% não promoveu alterações quanto à porcentagem de contração das feridas ao 3º, 7º e 14º dias quando comparado ao grupo controle, conforme demonstrado na Tabela 06 e ilustrado na Figura 12.

A análise histológica demonstrou alterações promovidas pelo óleo essencial em todos os parâmetros avaliados. O OECc 0,3 % promoveu redução no número de células inflamatórias no 7º dia e aumento aos 14 dias, enquanto o OECc 1 % reduziu no 3º e 7º dia quando comparado ao Cremophor (controle negativo), conforme demonstrado na Tabela 07. Portanto o OECc apresenta efeito anti-inflamatório quando aplicado por via tópica em feridas excisionais.

Figura 12 - Contração de feridas tratadas com óleo essencial de *Croton cordiifolius* 0,3% e 1% ou com Sulfato de Neomicina 5 mg/g + Bacitracina 250 UI/g.



Fonte: Autor

OECc: Óleo essencial de *Croton cordiifolius*; Neo+Bac: Neomicina 5 mg/g + Bacitracina 250 UI/g.

\* Diferença significativa em relação ao grupo veículo; <sup>a</sup> Diferença significativa em relação ao grupo OECc 0,3%; <sup>b</sup> Diferença significativa em relação ao grupo OECc 1%. Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

Tabela 06 - Contração de feridas cirúrgicas excisionais de camundongos submetidos a diferentes tratamentos.

Grupos	% de contração		
	3º dia	7º dia	14º dia
Cremophor	40,98 ± 6,91	77,21 ± 4,90	92,83 ± 2,20
Neo + Bac	-5,49 ± 7,685* <sup>ab</sup>	78,11 ± 3,12	90,12 ± 2,20
OECc 0,3%	39,63 ± 5,55	75,88 ± 3,89	97,58 ± 0,87
OECc 1,0%	40,97 ± 4,79	84,18 ± 2,85	91,19 ± 2,02

Fonte: Autor

OECc: Óleo essencial de *Croton cordiifolius*; Neo + Bac: Sulfato de Neomicina 5mg/g + Bacitracina 250 UI/g. \* Diferença significativa em relação ao grupo veículo; <sup>a</sup> Diferença significativa em relação ao grupo OECc 0,3%; <sup>b</sup> Diferença significativa em relação ao grupo OECc 1%. Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

Tabela 07 - Infiltrado inflamatório em feridas excisionais em camundongos tratados com cremophor, ou óleo essencial de *Croton cordifolius* (OECc) 0,3 % ou 1%.

Grupos	Células inflamatórias (n°)		
	3 dias	7 dias	14 dias
Cremophor	124,1 ± 5,07	164,9 ± 8,74	64,85 ± 2,26
OECc 0,3%	112,9 ± 5,14	95,18 ± 2,61*	94,08 ± 6,11*
OECc 1%	103,3 ± 3,73*	110,4 ± 3,65*	57,29 ± 3,20

Fonte: Autor

OECc: Óleo essencial de *Croton cordifolius*. \* Diferença significativa em relação ao grupo veículo. Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

Quanto a formação de vasos sanguíneos, OECc promoveu, em ambas as concentrações, aumento no número de vasos sanguíneos no 3º dia. Contudo, o aumento do número de vasos sanguíneos ao 7º dia só ocorreu na presença da concentração de 1 %, sem efeitos ao 14º dia (Tabela 08).

Tabela 08 - Vasos em feridas excisionais em camundongos tratados com cremophor, ou óleo essencial de *Croton cordifolius* 0,3 % ou 1%.

Grupos	Vasos Sanguíneos (n°)		
	3 dias	7 dias	14 dias
Cremophor	1,29 ± 0,16	2,73 ± 0,26	2,97 ± 0,31
OECc 0,3%	3,17 ± 0,25*	2,52 ± 0,20	3,37 ± 0,34
OECc 1%	2,50 ± 0,19*	4,16 ± 0,36*	3,11 ± 0,32

Fonte: Autor

OECc: Óleo essencial de *Croton cordifolius*. \* Diferença significativa em relação ao grupo veículo. Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

Outro parâmetro avaliado foi o percentual de fibras colágenas em cada campo fotografado. Foi observado que o OECc estimulou a formação precoce das fibras colágenas, ou seja, na concentração 0,3 % aumentou o percentual de colágeno ao 3º dia e em ambas as concentrações ao 7º dia (Tabela 09).

Tabela 09 – Densidade de Colágeno em feridas excisionais em camundongos tratados com cremophor, ou óleo essencial de *Croton cordifolius* 0,3 % ou 1%.

Grupos	Densidade de Colágeno (%)		
	3 dias	7 dias	14 dias
Cremophor	30,34 ± 0,91	45,07 ± 1,185	53,99 ± 0,75
OECc 0,3%	34,17 ± 0,59*	55,56 ± 1,378*	53,29 ± 0,74
OECc 1%	27,46 ± 0,85	60,10 ± 1,021*	39,96 ± 1,33

Fonte: Autor

OECc: Óleo essencial de *Croton cordifolius*. \* Diferença significativa em relação ao grupo veículo. Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

### 5.5.2 Granuloma Induzido por Pellet

O óleo essencial na dose de 50 mg/kg aumentou o peso úmido e seco do tecido de granulação formado, com redução do conteúdo de água conforme demonstrado na Tabela 10.

Tabela 10 - Efeito do óleo essencial de *Croton cordifolius* (OECc) em granuloma induzido por *pellet*.

Grupos	Tecido de Granulação		
	Peso úmido (mg)	Peso seco (mg)	Conteúdo de água (%)
Cremophor	156,8 ± 12,98	58,23 ± 11,61	62,70 ± 4,85
OECc (50mg/Kg)	208,1 ± 26,41*	102,9 ± 19,81*	47,20 ± 5,56*

Fonte: Autor

\* Diferença significativa em relação ao grupo veículo; Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

### 5.6 Atividade Antimicrobiana

De acordo com os ensaios antimicrobianos realizados o óleo essencial de *Croton cordifolius* 1% não promoveu inibição de nenhuma das cepas estudadas. Contudo o óleo essencial puro promoveu inibição das duas cepas resistentes de bactérias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA) e *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina e Oxacilina (*S. aureus* teste D +).

A inibição do crescimento da cepa de MRSA promovida pelo óleo essencial puro formou halos menores do que os tratamentos com gentamicina, a combinação de amoxicilina + clavulanato e o cefepime, entretanto foi a única das substâncias



testadas que promoveu a formação de halo de inibição na cepa de *S. aureus* teste D +.

Tabela 11 - Diâmetro dos halos de inibição (mm) de antibiogramas realizados com óleo essencial de *Croton cordiifolius*.

	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>S. aureus</i> MRSA	<i>S. aureus</i> D+
OECc Puro	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	11,0 ± 1,0	12,4 ± 0,5
OECc 1%	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Gentamicina	10,0 ± 0,0	18,0 ± 0,0	24,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Amoxicilina + Clavulonato	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	23,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Cefepime	0,0 ± 0,0	34,0 ± 0,0	26,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Fonte: Autor

MRSA: *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina; *S. aureus* Teste D +: *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina e Oxacilina

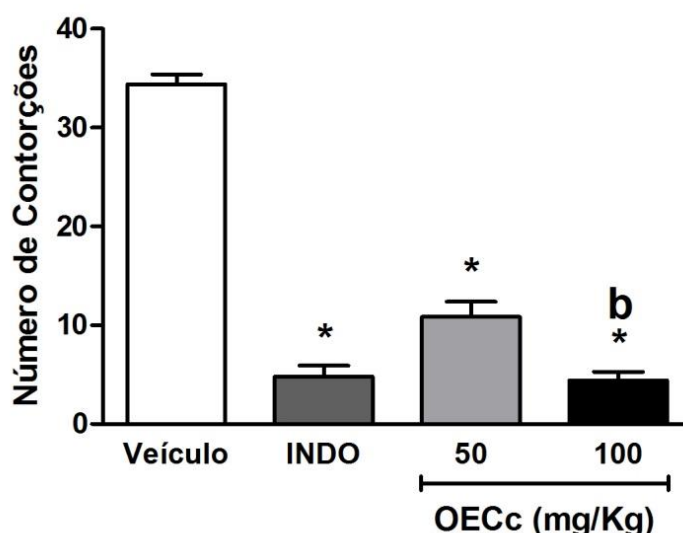
## 5.7 Atividade Antinociceptiva

### 5.7.1 Contorção abdominal

O tratamento com o OECc nas doses de 50 e 100 mg/Kg reduziu significativamente o número de contorções abdominais quando comparado ao grupo controle conforme demonstrado na Figura 13.

Os animais do grupo controle apresentaram  $34,38 \pm 1,01$  contorções durante os 20 minutos de observação, enquanto os tratados com indometacina apresentaram  $1,37 \pm 0,37$  contorções. O óleo essencial 50 e 100 mg/Kg apresentou  $10,86 \pm 1,51$  e  $4,42 \pm 0,84$  contorções respectivamente. A dose de 50 mg/Kg apresentou uma resposta menor do que a dose de 100 mg/Kg o que sugere uma possível relação dose-resposta.

Figura 13 - Atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Croton cordiifolius*, i.p. e indometacina 10mg/Kg, i. p. no modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético 0,6% em camundongos.



Fonte: Autor.

OECc: Óleo essencial de *Croton cordiifolius*; INDO: indometacina 10 mg/Kg \*Diferença significativa em relação ao grupo veículo; <sup>b</sup> Diferença significativa em relação ao grupo OECc 50mg/kg. Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

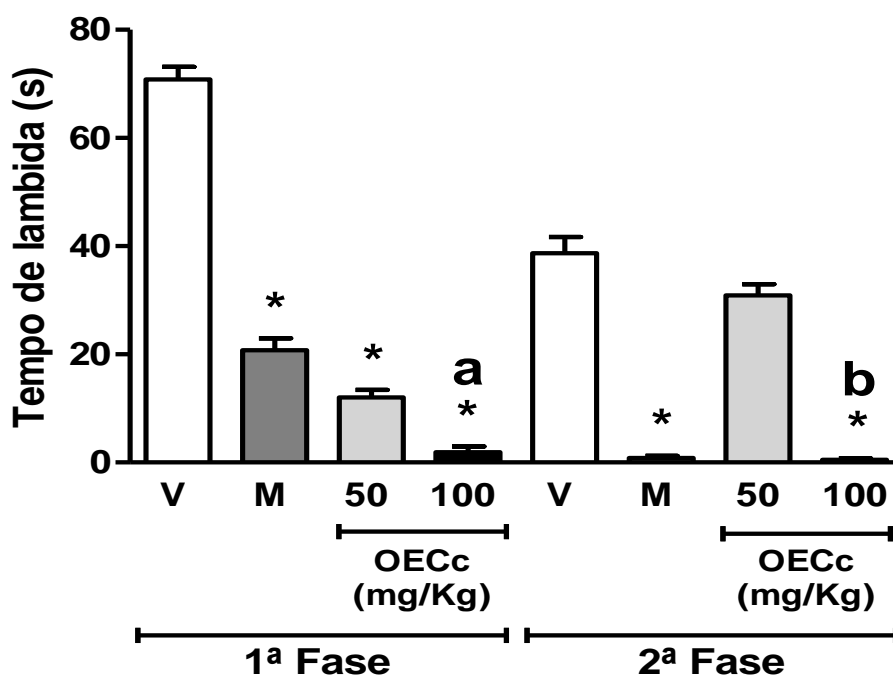
### 5.7.2 Teste da Formalina

Os animais que receberam o OECc 50 mg/Kg e 100 mg/Kg apresentaram redução significativa do tempo de lambida da pata quando comparado ao grupo controle na primeira fase do teste, entretanto na segunda fase apenas o grupo que recebeu 100mg/kg apresentou redução (Figura 14).

O tempo de lambida na primeira fase foi de  $70,88 \pm 3,29$  s e na segunda  $38,00 \pm 4,11$  s para o grupo controle, enquanto o tempo de lambida nos animais que receberam o óleo essencial na dose de 50 mg/Kg foi de  $12,0 \pm 1,43$  e  $30,88 \pm 2,11$  s na primeira e segunda fase, respectivamente. Naqueles que receberam 100 mg/Kg os valores foram de  $1,87 \pm 1,09$  s na primeira fase e  $0,50 \pm 0,26$  s na segunda.

Os animais que receberam a morfina 30 minutos antes da formalina apresentaram redução significativa no tempo de lambida em ambas as fases, a duração foi de  $16,00 \pm 2,95$  s para a primeira e  $0,57 \pm 0,57$  s na segunda fase.

Figura 14 - Efeito antinociceptivo do óleo essencial de *Croton cordiifolius* da Morfina na nociceção induzida pela injeção intraplantar de formalina 1% quando comparado ao veículo.



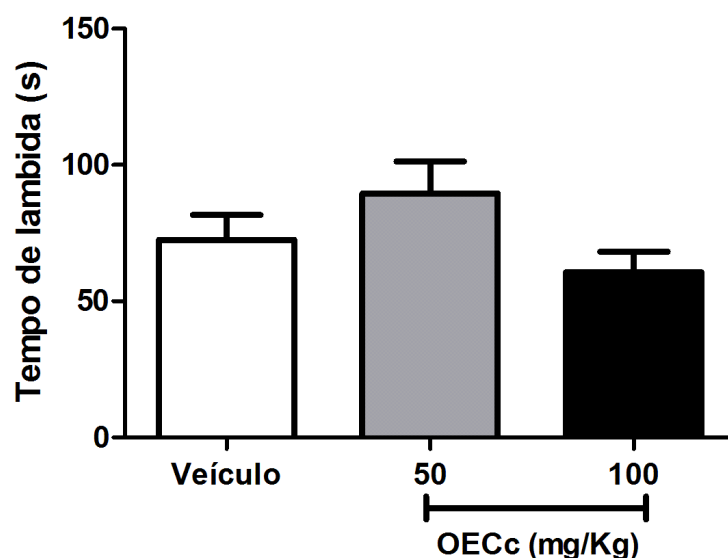
Fonte: Autor

OECc: óleo essencial de *Croton cordiifolius*; M: Morfina 7,5 mg/Kg; V: veículo. \*Diferença significativa em relação ao grupo V; <sup>a</sup> Diferença significativa em relação ao grupo M; <sup>b</sup> Diferença significativa em relação ao grupo OECc 50mg/Kg. Dados expressos como média  $\pm$  EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni

### 5.7.3 Nociceção induzida por Capsaicina

A administração do OECc não promoveu alteração no tempo de lambida de pata quando comparado ao grupo controle (Figura 15). Os animais do grupo controle passaram  $72,57 \pm 9,15$  s lambendo a pata, enquanto os grupos tratados com óleo nas doses de 50 mg/Kg e 100 mg/Kg levaram  $89,50 \pm 11,83$ , e  $60,71 \pm 7,51$  segundos lambendo a pata, respectivamente.

Figura 15 - Avaliação da atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Croton cordiifolius* em modelo de nocicepção induzida por capsaicina.



Fonte: Autor

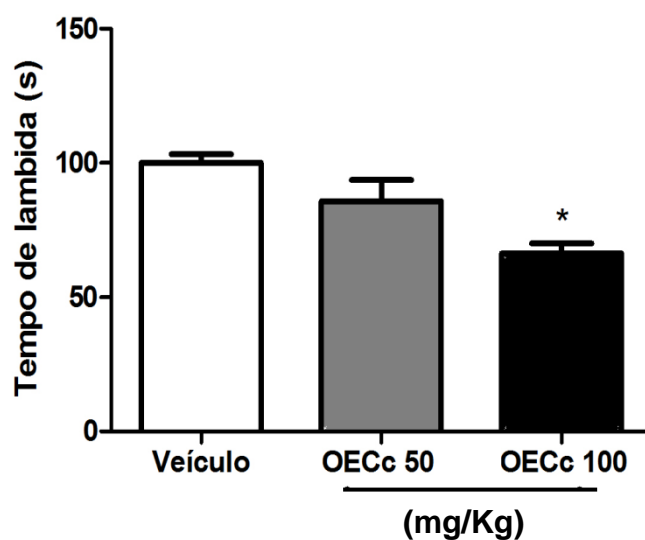
OECc: óleo essencial de *croton cordiifolius*

Dados expressos como média  $\pm$  EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni

#### 5.7.4 Nocicepção Induzida por Glutamato

O OECc inibiu a nocicepção por glutamato apenas na maior dose testada (veículo:  $100,00 \pm 3,26$ ; OECc 50 mg/Kg:  $85,81 \pm 7,88$ ; CcEO 100 mg/kg:  $66,33 \pm 3,70$ ) sugerindo o envolvimento do glutamato no efeito antinociceptivo do OECc.

Figura 16 - Avaliação do envolvimento do glutamato na atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Croton cordiifolius*.



Fonte: Autor

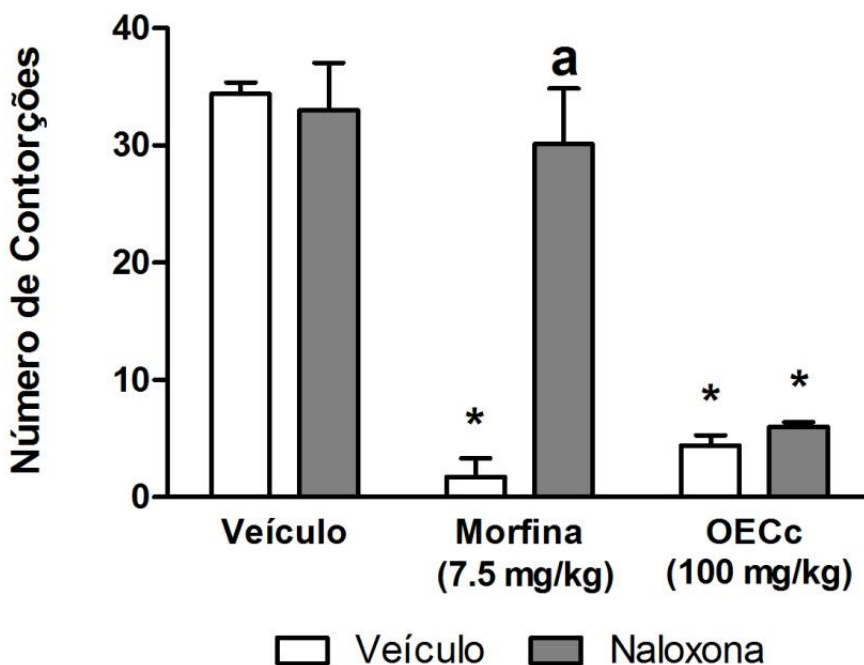
OECc: óleo essencial de *Croton cordiifolius*

\* Diferença significativa em relação ao grupo veículo; Dados expressos como média  $\pm$  EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

### 5.7.5 Envolvimento dos receptores opioides

Quanto ao envolvimento dos receptores opioides na antinocicepção promovida pelo óleo essencial de *Croton cordiifolius* foi possível observar que a naloxona ( $33,00 \pm 4,04$  contorções), um antagonista opioide, não promoveu alteração no número de contorções abdominais induzida pelo ácido acético quando comparado ao número de contorções do grupo que recebeu apenas o veículo ( $34,38 \pm 1,02$  contorções). A morfina promoveu redução significativa do número de contorções ( $1,75 \pm 1,56$  contorções), efeito antinociceptivo este que foi inibido pela administração prévia da naloxona ( $30,13 \pm 4,71$  contorções). Já o óleo essencial na dose de 100 mg/Kg promoveu a redução no número de contorções tanto quando administrado sozinho ( $4,43 \pm 0,841$  contorções) como quando administrado após a naloxona ( $6,00 \pm 0,42$  contorções).

Figura 17 - Avaliação do envolvimento dos receptores opioides na atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Croton cordiifolius* em modelo de contorção abdominal por ácido acético em camundongos.



Fonte: Autor

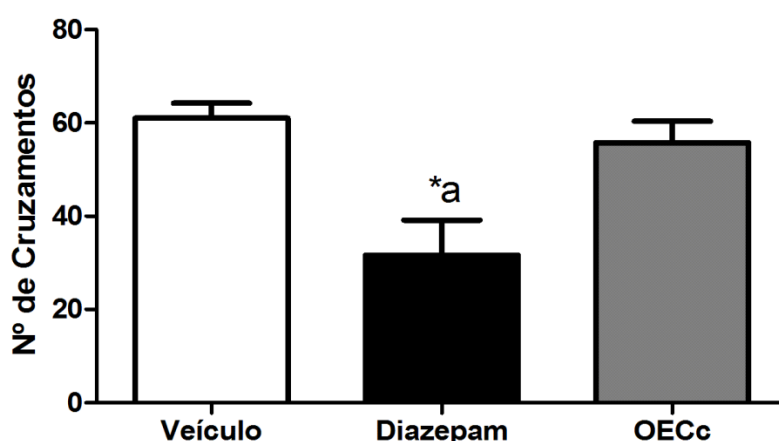
OECc: óleo essencial de *Croton cordiifolius*

\* Diferença significativa em relação ao grupo veículo; <sup>a</sup> Diferença significativa em relação ao grupo M. Dados expressos como média  $\pm$  EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

### 5.7.6 Teste do campo aberto

O OECc na dose 100 mg/Kg, i.p., não alterou o número de cruzamentos, levantamos e auto-limpeza dos camundongos quando comparados ao veículo. Por outro, os que foram tratados com diazepam 2mg/kg, v. o., apresentaram redução no parâmetro avaliado, conforme ilustrado nas Figuras 18, 19 e 20.

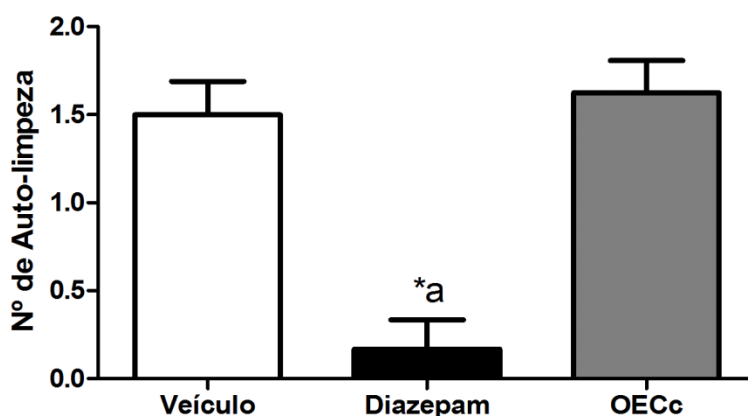
Figura 18 - Efeito do tratamento com óleo essencial de *Croton cordifolius* e diazepam no número de cruzamentos executados por camundongos submetidos ao teste do campo aberto.



Fonte: Autor

OECc: óleo essencial de *Croton cordifolius*\* Diferença significativa em relação ao grupo veículo; <sup>a</sup> Diferença significativa em relação ao OECc; Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

Figura 19 - Efeito do tratamento com óleo essencial de *Croton cordifolius* e diazepam no número de comportamento de auto-limpeza no teste do campo aberto.

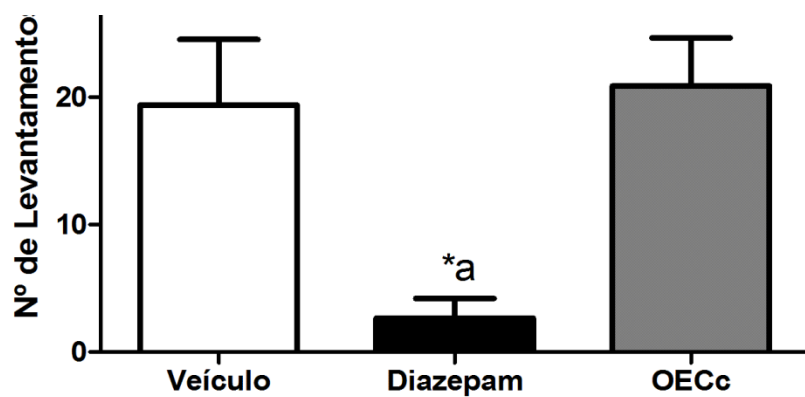


Fonte: Autor

OECc: óleo essencial de *Croton cordifolius*

\* Diferença significativa em relação ao grupo veículo; <sup>a</sup> Diferença significativa em relação ao OECc. Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

Figura 20 - Efeito do tratamento com óleo essencial de *Croton cordiifolius* e do diazepam no número de levantamentos executados por camundongos submetidos ao teste do campo aberto.



Fonte: Autor

(OECc): óleo essencial de *Croton cordiifolius*

\* Diferença significativa em relação ao grupo veículo; <sup>a</sup> Diferença significativa em relação ao grupo OECc. Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

## 6 DISCUSSÃO

As pesquisas com plantas medicinais através da etnobotânica, ciência que estuda as inter-relações entre seres humanos e plantas, vêm sendo reconhecida como um dos caminhos que mais evoluiu nos últimos anos para a descoberta de produtos naturais e bioativos (MACIEL *et al.*, 2002).

Quando a pesquisa é guiada pelas indicações da medicina tradicional o sucesso na busca por substâncias ativas aumenta (HEINRICH, 2006). Este trabalho foi conduzido baseado nos resultados obtidos no inquérito etnobotânico que indicou a espécie *Croton cordiifolius*, conhecida como quebra faca, como sendo utilizada pela população do interior de Pernambuco.

O valor de uso para o *Croton cordiifolius* no interior de Pernambuco (1,11) foi superior ao encontrado por Lozano *et al.* (2010) na área rural adjacente à Floresta Nacional do Araripe (CE) para espécies bem conhecidas cientificamente como *Anacardium occidentale* (0,418), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (0,451) e *Lippia alba* Mill (0,576).

As principais indicações para a espécie em estudo foram como anti-inflamatório e cicatrizante. Vários estudos atribuindo estas atividades ao gênero *Croton* já foram documentados (BIGHETTI *et al.*, 1999; CAVALCANTI *et al.*, 2012; MIRABEAU *et al.*, 2013; NARDI *et al.*, 2003; PIETERS *et al.*, 1995).

Muitas espécies de *Croton* são conhecidas pela presença de óleos voláteis, os quais são compostos por terpenoide e fenilpropanoides (CAVALCANTI; ALBUQUERQUE, 2013; SALATINO *et al.*, 2007).

A análise química do óleo essencial extraído das folhas de *Croton cordiifolius* mostrou como compostos majoritários os monoterpenos 1,8-cineol e  $\alpha$ -felandreno. O 1,8-cineol, também conhecido como eucaliptol, é o principal constituinte de vários óleos essenciais, dentre eles, os óleo de espécies de *Croton*, *Eucalyptus*, *Psidium*, *Hyptis*, *Pectis*, *Melaleuca* e muitos outros (SANTOS; RAO, 2000) e descrito como estimulante da expectoração nos casos de bronquites crônicas e como moderado e suave anestésico local e antisséptico (FABROWSKI, 2002).



O 1,8-cineol foi o componente encontrado em maior quantidade por Magalhães *et al.* (1998) no óleo essencial da espécie *Croton nepetaefolius*, o que pode sugerir atividades semelhantes entre os óleos essenciais de ambas as espécies.

Pouca informação foi encontrada a respeito do  $\alpha$ -felandreno. Entretanto, alguns autores sugerem que plantas medicinais que possuem o composto  $\alpha$ -felandreno apresentam atividade antimicrobiana (SILVA *et al.*, 2010; TINOCO; MARTINS; CRUZ-MORAIS, 1994) e antinociceptiva (LIMA *et al.*, 2012).

A toxicidade aguda do OECc foi determinada através do teste limite proposto pela OECD (2001) que indicou a DL50 como superior a 1000 mg/Kg. Diante do exposto as doses de 50 e 100mg/Kg foram escolhidas para os teste antinociceptivos.

A inflamação é uma reação complexa à presença de um agente estranho ao organismo, como micro-organismos ou restos teciduais resultantes de danos, que consiste em respostas vasculares e celulares acompanhada da liberação de diversos mediadores (óxido nítrico, peptídeos, prostanoídes, citocinas, monoaminas e fatores do complemento) com o objetivo de eliminar o corpo estranho e, se necessário, desencadear uma série de eventos para reconstruir o tecido danificado (HENRY; GARNER, 2003; WITTE; BARBUL, 1997).

O óleo de Cróton contém o 12-o-tetracanoilforbol-13-acetato (TPA) e outros ésteres de forbol irritantes. O TPA ativa a proteína Kinase C (PKC) desencadeando outras cascatas enzimáticas como proteína kinase mitogéno ativada (MAPK), e fosfolipase A2, levando a liberação de fator de ativação plaquetária (PAF) e do ácido araquidônico. Esta cascata de eventos promove aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação, migração de células inflamatórias, liberação de histamina e serotonina e síntese moderada de eicosanóides a partir das cicloxigenases e lipoxigenases (MITUL; PATEL; SHIVALINGE; GOWDA, 2001; SARAIVA *et al.*, 2011). No presente estudo o óleo essencial de *Croton cordiifolius* reduziu a formação do edema provocado pelo óleo de Cróton e esta redução foi maior na concentração de 1% do que 0,3%, sendo o efeito na dose maior semelhante à dexametasona.

O óleo essencial 1% também apresentou atividade anti-inflamatória em edema de orelha por ácido araquidônico. A aplicação tópica do ácido araquidônico induz a produção de prostaglandinas E2, leucotrienos C4 e D4, com predomínio da participação destes últimos, que é inibida pelo uso de agentes anti-inflamatórios (OPAS *et al.*, 1985). Diante desse fato poderíamos sugerir que o OECc também possua efeito sobre a produção ou atuação destes mediadores.

A ação anti-inflamatória aguda sistêmica do óleo essencial de outras espécies do gênero *Croton* já foi estudada. Amaral (2004) observou que o pré-tratamento com o óleo de *Croton sonderianus* na dose de 100 e 200 mg/kg inibiu a formação do edema de orelha. Enquanto Bighitti *et al.* (1999) observaram ação anti-inflamatória aguda do óleo essencial de *Croton cajucara* em edema de pata induzido por carragenina na dose 100 mg/Kg. Atividade anti-inflamatória também já foi encontrada para o 1,8 cineol em edema de pata (Santos; Rao, 2000).

O efeito anti-inflamatório do OECc também foi observado na análise histológica das amostras de feridas cujo tratamento com OECc reduziu o infiltrado inflamatório. Especificamente na cicatrização de feridas, a inflamação tem papel de evitar o estabelecimento de uma infecção, visto que a barreira da pele foi rompida o que permite a entrada dos micro-organismos.

Contudo, a resposta das células inflamatórias não é específica para os patógenos e, por vezes, pode causar danos teciduais com repercussão, não só no tempo de fechamento da ferida, mas também na qualidade da ferida cicatrizada. Diante disso, o efeito anti-inflamatório do OECc pode repercutir em uma cicatriz de melhor qualidade (WILGUS; ROY; MCDANIEL, 2013).

Em contrapartida à redução das células inflamatórias, o OECc promoveu aumento no número de vasos sanguíneos ao 3º e 7º dia, outro efeito positivo do óleo sobre as feridas, uma vez que a angiogênese é fundamental para suportar a alta demanda metabólica para o debridamento e fibroplasia na ferida (ARNOLD; WEST, 1991). Além disso, as células endoteliais produzem fatores de crescimento e citocinas que regulam a deposição e remoção de colágeno na maturação da matriz (HOOSGOD, 2006).

O aumento no número de vasos pode ter colaborado para a maior quantidade de colágenos nas feridas devido à liberação de fatores como inibidores das metaloproteinases teciduais, assim como a redução na resposta inflamatória, por reduzir a produção de proteinases (ARNOLD; WEST, 1991; HOOSGOD, 2006; WILGUS; ROY; MCDANIEL, 2013).

O colágeno é uma proteína que confere resistência à ferida e o OECc promoveu uma aumentou na sua densidade já ao 3º dia, bem como aumentou o peso seco do tecido de granulação, que é indicativo de aumento no conteúdo proteico (NAYAK; UDUPA; UDUPA, 1999). Embora o OECc não tenha apresentado efeitos sobre a área da ferida, os efeitos apresentados são indicativos de atividade cicatrizante.

Ximenes *et al.* (2013) estudando o óleo essencial de *Croton adamantinus* observou redução da área de ferida excisional ao 3º e 7º dias com área final, ao 14º dia, semelhante ao grupo controle e maior peso seco do tecido de granulação removido, semelhante ao encontrado para o óleo essencial de *Croton cordiifolius*.

A infecção de feridas é uma das mais importantes causas de comprometimento do processo de cicatrização. No presente trabalho o óleo essencial não foi efetivo contra as bactérias gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter aerogenes*). Entretanto, quando testado puro promoveu inibição das gram-positivas (*Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina e *S. aureus* teste D +).

A ausência de atividade para as bactérias gram-negativas pode ser devido à presença da membrana externa formada por lipopolissacarídeos em torno da parede celular, que atua como uma barreira hidrofílica restringindo a difusão de compostos hidrofóbicos, como o óleo essencial, através da camada de lipopolissacarídeos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2004).

Entretanto, o resultado apresentado para as bactérias Gram positivas resistentes é de grande importância, visto que o *Staphylococcus aureus* é o agente causal de diversas doenças e de infecções de feridas cutâneas, e que a aquisição de resistência a muitas classes de antibióticos por esta espécie vem se mostrando

como um grave problema, principalmente por provocar infecções nosocomiais (RUSHDY *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007).

Diversos estudos têm demonstrado a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de diferentes plantas (ARAUJO *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2006; SCHUCK *et al.*, 2001) inclusive do gênero *Croton*. Almeida *et al.* (2013) estudou a atividade antimicrobiana do *Croton campestris* e observou atividade contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Enquanto Costa *et al.*, (2008) encontrou atividade do óleo de *Croton zehntneri*, variedade estragol, sobre *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, e *Streptococcus β-haemolyticus*.

O mecanismo pelo qual os óleos essenciais apresentam atividade antimicrobiana pode ser devido a sua hidrofobicidade e capacidade de ficar particionado entre as camadas lipídicas interferindo na cadeia respiratória e produção de energia, ou (no caso de sinergismo) tornando-a mais permeável à entrada de substâncias (RODRIGUES; COSTA; COUTINHO, 2009).

Frequentemente o processo de reparo tecidual e inflamatório provoca dor ao individuo, bem como algumas das outras indicações dadas pela população, como sinusite, gripe e problemas intestinais. Diante disto nós avaliamos a atividade antinociceptiva do OECc.

O modelo de contorção por ácido acético é amplamente utilizado para a triagem de novas substâncias com atividade anti-inflamatória, pois o comportamento de contorção provocado pelo ácido acético é inibido por substâncias analgésicas que atuam tanto por mecanismos centrais como anti-inflamatório (KAHANNA *et al.*, 2003; MORUCCI *et al.*, 2012; TRONGSAKUL *et al.*, 2003).

O óleo essencial de *Croton cordiifolius* ao provocar uma redução no número de contorções abdominais induzidas por ácido acético poderia estar causando a inibição da liberação de diferentes mediadores ou até produzindo efeito no sistema nervoso central, uma vez que a aplicação intraperitoneal de ácido acético promove o aumento da liberação de mediadores inflamatórios como TNF- $\alpha$  e prostaglandinas E2 no fluido intraperitoneal acarretando a dor (RIBEIRO *et al.*, 2000). Os anti-inflamatórios tradicionais, como a indometacina, promovem a inibição das cicloxigenases e conseqüentemente a diminuição da produção das prostaglandinas

(DANIEL *et al.*, 2009; DUTRA *et al.*, 2006; VILLALBA *et al.*, 2007) causando uma menor sensibilização dos nociceptores peritoneais.

O óleo essencial também apresentou atividade antinociceptiva no teste da formalina que provoca uma reação bifásica. A 1ª fase compreende os primeiros 5 minutos e ocorre pela ativação direta dos nociceptores e propagação imediata de impulsos neurais periféricos para o sistema nervoso central. A 2ª fase inicia-se após 15 min, e é caracterizada pelo surgimento de um processo inflamatório local com a liberação de mediadores inflamatórios (ABDON *et al.*, 2002; DUTRA *et al.*, 2006; LIMA, 2008; VILLALBA *et al.*, 2007).

A atividade antinociceptiva ocorreu nas duas fases sugerindo que o óleo essencial tem efeito na dor inflamatória e neurogênica. Entretanto, foi necessária uma dose maior do óleo para obter uma resposta significativa na fase inflamatória.

Esses efeitos apresentados pelo óleo essencial de *Croton cordiifolius* provavelmente têm participação do monoterpeno majoritário 1,8-cineol bem como do  $\alpha$ -felandreno. Santos e Rao (2000) verificaram que a administração oral de 100 - 400mg de 1,8 cineol mostrou-se ativa na redução do tempo de lambida de pata induzida por formalina e no número de contorções abdominais induzida por ácido acético. Enquanto que o  $\alpha$ -felandreno reduziu as contorções abdominais, mas não promoveu efeito em ambas as fases do teste da formalina (LIMA *et al.*, 2012).

Outras espécies de *Croton* também apresentaram atividade antinociceptiva nesses modelos. Santos *et al.* (2005) observaram atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Croton sonderianus* nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg, por via oral, utilizando o modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético e o modelo da formalina. Enquanto Bighetti *et al.* (1999) verificaram que elevadas doses do óleo essencial de *Croton cajucara* (1000 mg/Kg) reduziu contorções abdominais induzidas por agente químico (ácido acético) e dor associada ao calor, através do modelo da placa quente. Abdon *et al.* (2002), em estudo anterior aos citados, já havia revelado atividade antinociceptiva do óleo essencial extraído de *C. nepetaefolius* nos modelos de nocicepção por ácido acético e formalina.

A fim de investigar a participação dos receptores vaniloides do tipo- 1 (TRPV-1) no efeito antinociceptivo do óleo essencial foi utilizado o modelo de nocicepção

por capsaicina. Este é o principal componente pungente da pimenta e sensibiliza tanto as fibras C quanto as fibra A $\delta$  ao ligar-se aos TRPV-1 permitindo a entrada de Ca<sup>2+</sup> e Na<sup>+</sup> nos nociceptores e promovendo a liberação do aminoácido excitatório glutamato e do neuropeptídeo substancia P (AMARAL, 2004; SAKURADA *et al.*, 2003).

O óleo essencial de *Cróton cordiifolius* não apresentou efeito antinociceptivo no modelo de nocicepção por capsaicina. Portanto seu efeito antinociceptivo parece ser independente dos receptores TRPV1. Resultado diferente foi encontrado por Santos *et al.* (2005) em que o óleo essencial de *Croton sonderianus* apresentou atividade antinociceptiva nesse modelo nas doses de 50, 100, 200mg/Kg.

Outro teste foi realizado para avaliar o papel do sistema glutamatérgico nas propriedades antinociceptivas do OECc. A resposta nociceptive causada pelo glutamato envolve sítios de ação periférica, espinal e supra-espinal mediada pelos receptores NMDA e não NMDA (GUGINSKI *et al.*, 2009).

Neste modelo o OECc apresentou atividade apenas na dose de 100 mg/Kg, demonstrando um possível envolvimento do glutamato no efeito antinociceptivo apresentado.

Quando o envolvimento da via dos opiodes foi avaliado quanto ao efeito antinociceptivo do óleo essencial no modelo de contorções, o bloqueio com a naloxona não promoveu alteração significativa da resposta antinociceptiva sugerindo que o mecanismo antinociceptivo não envolve a ativação de receptores opioides ou a liberação de opioides endógenos.

A avaliação da atividade antinociceptiva de extratos ou compostos isolados é realizada através de testes de comportamento. Várias drogas, como relaxantes musculares e sedativos, podem alterar o comportamento levando a resultados falsos positivos (MELO *et al.*, 2012). Para eliminar essa possibilidade, o teste do campo aberto foi realizado e o OECc 100mg/Kg não promoveu alterações no número de cruzamentos, levantamentos e comportamento de auto-limpeza quando comparado com o veículo sugerindo que o OECc não possui efeito sedativo ou estimulante do sistema nervoso central (GOMES *et al.*, 2005; MELO *et al.*, 2012).

O OECc apresentou diversas atividades nesse estudo, que em sua maioria estavam correlacionadas com efeitos conferidos ao seus principais constituintes, entretanto deve-se considerar que o óleo essencial é composto por vários terpenoides, e portanto os efeitos podem ser decorrentes do sinergismos entre esses compostos (HONG-FANG; XUE-JUAN; HONG-YU, 2009).

De acordo com as metodologias utilizadas, o OECc apresenta os principais usos atribuídos pela população (anti-inflamatório, cicatrizante e analgésico), entretanto mais estudos são necessários para melhor esclarecimento dos mecanismos envolvidos e validação da segurança de seu uso pela população.





## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente trabalho sugerem que o óleo essencial extraído das folhas de *Croton cordiifolius* apresenta:

- Atividade anti-inflamatória tópica com envolvimento da via do ácido araquidônico.
- Atividade anti-inflamatória e angiogênica em feridas cirúrgicas excisionais sem alteração na contração das mesmas, mas com favorecimento a deposição de colágeno em feridas cirúrgicas excisional e em granuloma induzido por *pellet*.
- Atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA) e *Staphylococcus aureus* Teste D<sup>+</sup> quando testado puro.
- Atividade antinociceptiva para estímulos nociceptivos diretos e inflamatórios, sem envolvimento da via dos opioides e dos receptores TRPV, mas com envolvimento do sistema glutamatérgico.
- Não apresenta efeito estimulante ou sedativo do sistema nervoso central.

Diante destes resultados, torna-se evidente que estudo etnobotânico realizado foi importante para o delineamento experimental, visto que a espécie *croton cordiifolius* apresentou os efeitos predominantemente atribuídos pela população.

## REFERÊNCIAS

- ABDON, A. P. V.; LEAL-CARDOSO, J. H.; COELHO-DE-SOUZA, A. N.; MORAIS, S. M.; SANTOS, C. F. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* on mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p.1215 - 1219, 2002.
- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. 3<sup>rd</sup>. ed. **Allured Publishing Corporation, Carol Stream**, 2001.
- ALMEIDA, Tatiana F; ROIZENBLATT, Suely; TUFIK, Sergio. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**, v.1000, p. 40–56, 2004.
- ALMEIDA, Thiago Silva de; ROCHA, João Batista T; RODRIGUES, Fabíola Fernandes G; CAMPOS, Adriana Rolim; COSTA, José Galberto M. da. Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 630– 633, 2013.
- AMARAL. Jefersson Falcão do. Atividade anti-inflamatória, antinociceptiva e gastroprotetora do óleo essencial de *Croton sonderianus* Mull. Arg. Antinociceptivo. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, 2004.
- AMBRÓSIO, C. L. B; SIQUEIRA, F. A. C; CAMPOS; FARO, Z. P. Carotenoides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Rev. Nutr**, v.19, n. 2, Campinas, 2006.
- ARAUJO, José Carlos L. V.; LIMA, Edeltrudes de O.; CEBALLOS, Beatriz S. O.; FREIRE, Kristerson R. de L.; SOUZA, Evandro L.; SANTOS FILHO, Lauro. Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microrganismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. **Revista de patologia Tropical**, v. 33, n.1, 2004.
- BAKKALI, F; AVERBECK, S; AVERBECK, D; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446–475, 2008.
- BALBINO, Carlos Aberto; PEREIRA, Leonardo Madeira; CURI, Rui. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, 2005.
- BASBAUM, Allan I; BAUTISTA, Diana M; SCHERRER, Grégory; JULIUS, David. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. **Cell**, v.139, 2009.
- BENINI, Emanoelli Bassani; SARTORI, Marco Antônio Bortoli; BUSCH, Grasiela Cassiana; REMPEL, Claudete; SCHULTZ, Glauco; STROHSCHOEN,
- BERRY, Paul E; HIPPEL, Andrew L; WURDACK, Kenneth J; VANE, Benjamin E; RIINA, Ricarda. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe crotonae (euphorbiaceae Sensu stricto) using its and *trnI-trnF* DNA Sequence data. **American Journal of Botany**, v.92, n.9, p.1520–1534, 2005.

BRANCO NETO, M.L.C. et al. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21 (supl. 2), p. 17-22, 2006.

BRASIL. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília, 2006.

BIGHETTI, Eliete J. B; LIA A, Cleâ; HIRUMA-LIMA; GRACIOSO Juliano S; BRITO, Alba R. M. Souza. Anti-inflammatory and Antinociceptive Effects in Rodents of the Essential Oil of *Croton cajucara* Benth. **J. Pharm. Pharmacol**, v.51, p.1447-1453, 1999.

BUCHANAN, B; GRUISSEM, W; JONES, R. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, 2000.

BAUER AW, KIRBY W. M, SHERRIS J. C, TURCK M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am J Clin Pathol** v.45, p.493 –496, 1966.

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 20, nº 1, p. 51-58, 2007.

CARR, Daniel B; GOUDAS, Leonidas C. Acute pain. **The Lancet**, v. 353, 1999.

CAVALCANTI, D. R; ALBUQUERQUE, U. P. The “Hidden Diversity” of Medicinal Plants in Northeastern Brazil, Diagnosis and Prospects for Conservation and Biological Prospecting. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-29, 2013.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins – Patologia estrutural e funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 1251 p.

COSTA, José G. M. DA; RODRIGUES, Fabíola F. G; ANGÉLICO, Elissandra C.; PEREIRA, Carla K. B; SOUZA, Erlânio O. DE; CALDAS, Germana F. R; Monalisa R; SILVA, Nara K. A. SANTOS, Magaly L; MOTA, Paula F. dos Santos. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n. 4, p.583-586, 2008.

CRAVEIRO, A. A, RODRIGUES, C. H, ANDRADE, C. H. S, MATOS, F. J. A, ALENCAR, J. W; MACHADO, MIL. Volatile constituents of brazilian *Euphorbiaceae* genus *Croton*. **J Nat Prod**, v.44, p. 602–608, 1981.

CRAIG, A.D. (Bud). A new view of pain as a homeostatic emotion. **Trends in Neurosciences**, v. 26, n. 6, 2003.

DANIEL, Aparecido N; SARTORETTO, Simone M; SCHMIDT, Gustavo; CAPARROZ-ASSEF, Silvana M.; BERSANI-AMADO, Ciomar A.; CUMAN, Roberto Kenji N. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of eugenol essential oil in

experimental animal models. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n1b, p. 211-217, 2009.

DAVIDSON, J. M. Animal models for wound repair. **Arch Dermatol Res**, v.290, 1998.

DEVIENNE, K. F; RADDI, K. S. G; POZETTI, G. L. Das plantas medicinais aos fitofármacos. **Rev. Bras.Pl. Med**, v. 6, n. 3, p11-14, Botucatu 2004.

DE YOUNG, L. M.; KHEIFETS, J. B.; BALLARON, S. J.; YOUNG, J. M. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents Actions**, v. 26, p. 335-34, 1989.

DOURADO, E. R; DOCA, K. N. A. P; ARAUJO, T. C. C. Comercialização de plantas medicinais por “raizeiros” na cidade de anápolis-go. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n.2, p. 67-69, 2005.

DUTRA, Rafael C.; TAVARES, Carolina Z; FERRAZ, Sávio O; SOUSA, Orlando V; PIMENTA, Daniel S. Investigação das atividades analgésica e anti-inflamatória do extrato metanólico dos rizomas de *Echinodorus grandiflorus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p. 469-474, 2006.

EMING, S. A.; KRIEG, T; DAVIDSON, J. M. inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, p. 514–25, 2007.

FABROWSKI, F. J. *Eucalyptus smiïhii* R. T. Baker (myrtaceae) como espécie produtora de óleo essencial no sul do Brasil. Curitiba, UFPR. 2002.

FERNANDES, E. F. M. **Estudo das condições de contacto com atrito envolvendo a pele humana**. 2010. 73p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, 2010.

FUNARI C.S; FERRO, V.O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v15, n. 2, p.178-182, 2005.

GANTWERKER, ERIC A.; HOM, DAVID B. Skin: Histology and Physiology of Wound Healing. **Facial Plast. Surg. Clin. N. Am**, v.19, p. 441–453, 2011.

GOMES, P. B; OLIVEIRA, M. M. S.; NOGUEIRA, C. R. A; NORONHA, E. C; CARNEIRO, L. M. V; BEZERRA, J. N. S.; NETO, M. A; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; VIANA, G. S. B.; SOUSA, F. C. F. Study of Antinociceptive Effect of Isolated Fractions from *Petiveria alliacea* L. (tipi) in Mice, **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, p. 42 - 46, 2005.

GUIMARÃES, Andreia Aparecida. Valorização da flora nativa quanto ao potencial fitoterápico. **Revista destaques acadêmicos**, v. 2, n. 3, 2010.

GUGINSKI, G; LUIZ , A. P; SILVA, M. D; MASSARO, M. ; MARTINS, D. F; CHAVES, J; MATTOS, R. W; SILVEIRA, D; FERREIRA, V. M. M; CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R.S. "Mechanisms involved in the antinociception caused by ethanolic extract obtained from the leaves of *Melissa officinalis* (lemon balm) in mice," **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 93, p. 10–16, 2009.

HEINRICH, M. Ethnobotany and ethnopharmacology – Interdisciplinary links with the historical sciences. **J. Ethnopharmacol.**, v. 107, p. 157-160, 2006.

HENRY, Ginard; GARNER, Warren L. Inflammatory mediators in wound healing. **Surg Clin N Am**, v. 83. p. 483–507, 2003.

HONG-FANG, JI; XUE-JUAN, LI; HONG-YU ZHANG. Natural products and drug discovery. **European molecular biology organization reports**, v. 10, n.3, 2009.

HOSGOOD, Giselle. Stages of Wound Healing and Their Clinical Relevance. **Vet Clin Small Anim**, v. 36, p. 667–685, 2006.

HUNSKAAR S; HOLE K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, n.1, p. 103-14, 1987.

ISAAC, C.; LADEIRA, P. R. S.; REGO, F. M. P.; ALDUNATE, J. C. B.; FERREIRA, M.C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, v. 89, nº ¾, p. 125-31, 2010.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, p. 359 – 365.

YAMAGUCHI, Y; YOSHIKAWA, K. Cutaneous wound healing: an update. **Journal of Dermatology**, v. 28, p. 521–34, 2001.

KHANNA N; BHATIA J. Antinociceptive action of *Ocimum sanctum* (tulsi) in mice: possible mechanisms involved. **Jornal of Ethnopharmacology**, v. 88, p. 293-296, 2003.

KANITAKIS, Jean. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. **European Journal of Dermatology**. v. 12, n 4, p. 390-401, 2002,

KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. **Imunologia de Kuby**. 6. ed. Trad.: Ana Cristina Arámburu da Silva [et al]. Porto Alegre: Artmed, 2008.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Fisiopatologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n.1, p.1-12, 2008.

KOSTER, R; ANDERSON, M; DE BEER J. Acetic acid for analgesic screening. **Fed. Proc**, v.18, p. 412- 417, 1959.

KUPPER, Thomas S.; FUHLBRIGGE, Robert C. Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences, **Imunology**, v.4, 211-222, 2004.

- LANGENHEIM, J. H. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, n. 6, 1994.
- LAWRENCE, Toby; WILLOUGHBY, Derek A.; GILROY, Derek W. Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation *Immunology*, v. 2, 2002.
- LIMA, Denise Aparecida Nogueira. **Efeito antinociceptivo e antiinflamatório do acuponto kunlun (bl60) em camundongos**. Monografia (Graduação em medicina) Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.
- LIMA, D. F; BRANDÃO, M. S; MOURA, J. B; LEITÃO, J. M. R. S; CARVALHO, F. A. A; MIÚRAB, L. M. C. V; LEITE, J. R. S. A; SOUSA D. P; ALMEIDA, F. R. C. Antinociceptive activity of the monoterpene  $\alpha$ -phellandrene in rodents: possible mechanisms of action, **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, p. 283–92, 2012.
- LOESER, John D; MELZACK, Ronald. Pain: an overview. **The Lancet**, v, 353, 1999.
- LOPES, S. C. ; SILVA, A. V. L.; ARRUDA, B. R; MORAIS, T. C; RIOS, J. B; TREVISAN, M. T. S; RAO, V. S; SANTOS, F. A. Peripheral antinociceptive action of mangiferin in mouse models of experimental pain: Role of endogenous opioids, KATP-channels and adenosine. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 110, p. 19–26, 2013.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, V. 25, N. 3, p. 429-438, 2002.
- MACIEL, Maria Aparecida M.; PINTO, Angelo C.; ARRUDA, Alberto C; PAMPLONA, Sônia G.S.R.; VANDERLINDE, Frederico A.; LAPA, Antonio J.; ECHEVARRIA, Aurea; GRYNBERG, Noema F; CÔLUS, Ilce M.S.; FARIAS, Rômulo A.F.; COSTA, Angelica M. Luna; RAO, Vietla S.N. Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, p.41–55, 2000.
- MAGALHAÃES, Pedro J. C. ; CRIDDLE, David N.; TAVARES, Raquel A.; MELO, Edna M.; MOTA, Ticiano L; LEAL-CARDOSO, Jose H. Intestinal Myorelaxant and Antispasmodic Effects of the Essential Oil of *Croton nepetaefolius* and its Constituents Cineole, Methyl-eugenol and Terpeneol. **Phytotherapy Research**, v. 12, p.172–177, 1998.
- MATOS, F.J. A. Plantas medicinais: Guia de seleção e aproveitamento de plantas medicinais usadas no Nordeste do Brasil. Fortaleza: IOCE, 1989
- MATOS, F. J. A. Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. Fortaleza: EUFC, 1998.
- MATOS, F. J. A; MATOS, MEO. Farmacognosia: curso teórico-prático. Fortaleza: EUFC, 1989.

MANDELBAUM, Samuel Henrique; DI SANTIS, Érico Pampado; MANDELBAUM, Maria Helena Sant'ana. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares-Parte I. **An. Bras. Dermatol**, v.78(4), p. 393-410, 2003.

MARTIN. Paul Wound Healing-Aiming for Perfect Skin Regeneration. **Science**, v. 276, 1997.

MENDONÇA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, nº 3, p. 257-62, 2009.

MEANA-INFUESTA, A; LLAMES, S. Tratamientos futuros de las úlceras cutáneas crónicas. **Angiología**. v. 3, n. 55, p. 288-290, 2003.

MELO, F. H. C.; RIOSA, E. R.V.; ROCHA, N. F. M.; CITÓ, M. C. O.; FERNANDES, M. L.; SOUSA, D. P. VASCONCELOS, S. M. M.; SOUSA, F. C. F. Antinociceptive activity of carvacrol (5-isopropyl-2- methylphenol) in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, p. 1722–17291, 2012.

MITUL PATEL, MURUGANANTHAN, SHIVALINGE GOWDA K, P. *In Vivo* Animal Models in Preclinical Evaluation of Anti-Inflammatory Activity- A Review. **International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences**, v. 1, n. 2, p. 01-05, 2012.

MOREIRA, Rita de Cássia Teixeira; COSTA, Larissa Corrêa do Bomfim; COSTA, Renata Cristina Silva; ROCHA, Emerson Antônio. Abordagem Etnobotânica acerca do Uso de Plantas Medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 21, n. 3, p. 205-11, 2002.

MORUCCI, Florencia; LOPEZ, Paula; MIÑO, Jorge Ferraro ; GORZALCZANY, Susana; Antinociceptive activity of aqueous extract and isolated compounds of *Lithrea molleoides*. **Journal of Ethnopharmacology** v.142, p. 401–406, 2012.

NAYAK, B. S; PEREIRA, L. M. P. *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. **BMC Complement Altern Med** v. 6, p.1–6, 2006.

NARA, K. A; SANTOS, M. L; MOTA, P. F. S. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n. 4, p. 583-586, 2008.

NAMSA, N. D. T. A. G. H; MANDAL, M; KALITA, P; DAS, A. K. N. ethnobotanical study of traditional anti-inflammatory plants used by the Lohit community of *Arunchal Pradesh*, India. **J. Ethnopharmacology**, v.125, p. 234-245, 2009.

NEVES, J. M; CUNHA, S. Plantas medicinais. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, v. 3, p. 50-57, 2006.

NAUDE, L. The practice and science of wound healing: wound bed preparation utilising the guidelines. **Journal Professional Nursing Today**, v. 15, n 1, p. 22-30, 2011.

Núcleo de Estudos e Pesquisa de Plantas Mediciniais, Universidade Federal Vale do São Francisco. <<http://www.neplame.univasf.edu.br/oacuteteleos-essenciais.html>>. Acessado em: 09/04/2014.

OECD guidelines for the testing of chemicals/section 4: health effects. Test no. 425: acute oral toxicity: up-and-down procedure. The Organisation for Economic Co-operation and Development Publishing, 2001.

OLIVEIRA, A. C; LEAL-CARDOSO, J. H.; SANTOS, C. F.; MORAIS, S. M.; COELHO-DE-SOUZA, A. N. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p.1471- 1474, 2001.

OKUSE, Kenji. Pain signalling pathways: From cytokines to ion channels. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 490–496, 2007.

OLIVEIRA, Carlindo Baeta de; KNISS, Claudia Terezinha; DIAS, Luciana Baltazar; BACAICOA, Maria Helena. Estudo da nicotina através da quimioprevenção, *Rev. Ibirapapuera*, n. 1, p. 26-30, 2011.

OLIVEIRA, Fillipe Pereira; LIMA, Edeltrudes de Oliveira; SIQUEIRA JÚNIOR, José Pinto; SOUZA, Evandro Leite; SANTOS, Bernadete Helena Cavalcante; BARRETO, Humberto Medeiros. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 510-516, 2006.

PATRA, Barunava; SCHLUTTENHOFER, Craig; YONGMEIWU, Sitakanta; PATTANAİK, Ling Yuan. Transcriptional regulation of secondary metabolite biosynthesis in plants. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1829, p. 1236–1247, 2013.

PERREIRA, Angela Lema. **Revisão sistemática de literatura sobre produtos utilizados no tratamento de feridas, Goiana, 2006**. Dissertação (Mestrado em Enfermagem). Universidade Federal de Goiás, 2006.

PFAFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic Acids Res.**, v. 29, n. 9, e. 45, 2001.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Rev. bras. farmacogn.**, v. 11, n. 2, 2001.

RIBEIRO, R. A. VALE, M. L.; THOMAZZI, S. M.; PASCHOALATO, A. B. P.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H. ; CUNHA, F. Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 387, p. 111–18, 2000.



ROBBINS, S. L., et al. – **Patologia estrutural e funcional**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005, p. 1422.

ROSSATO, Silvia C.; LEITAO-FILHO, Hermogenes DE F.; BEGOSSI, ALPINA. Ethnobotany of caíçaros of the atlantic forest coast (brazil). **Economic Botany**, v.53, n. 4, p. 387-395,1999.

RUSHDY, Abeer A.; SALAMA, Mohamed S.; OTHMAN, Amal S. Detection of Methicillin/Oxacillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Some Clinical Hospitals in Cairo Using *MecA/Nuc* Genes and Antibiotic Susceptibility Profile. **Int. J. Agri. Biol.**, v. 9, n. 6, 2007.

SAKURADAA, Tsukasa; MATSUMURAA, Toshihiro; MORIYAMAA, Tomoko; SAKURADAA, Chikai; UENOB, Shinya; SAKURADA. Shinobu. Differential effects of intraplantar capsaizepine and ruthenium red on capsaicin-induced desensitization in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 75, p. 115 – 121, 2003.

SALATINO, Antonio; SALATINO, Maria L. Faria; NEGRI, Giuseppina. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, n. 1, p. 11-33, 2007.

SANTOS, A. R.; TRENTIN, A. P.; FERREIRA, J.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Mechanisms involved in the antinociception caused by compound MV8612 isolated from *Mandevilla velutina* in mice. **Brain Research**, v. 961, n.2, p. 269-76, 2003.

SANTOS, F. A.; JEFERSON, F. A.; SANTOS, C. C.; SILVEIRA, E. R.; Rao. Antinociceptive effect of leaf essential oil from *Croton sonderianus* in mice. **Life Sciences**, v. 77, p. 2953–2963, 2005.

SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cinole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. **Phytotherapy Research**, v.14, p. 240-244, 2000.

SARAIVA, Rogério A; ARARUNA, Mariana K. A; OLIVEIRA, Romagna C; MENEZES, Kleber D. P.; LEITE; Gerlânia O.; KERNTOPFA, Marta R.; COSTA, José G. M; ROCHA, João B. T.; TOMÉ, Adriana R.; CAMPOS, Adriana R.; MENEZES, Irwin 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.

SERPELL, Mick. Anatomy, physiology and pharmacology of pain. **Surgery**, v. 24, n.10, 2009.

SHAW, TANYA J; MARTIN, PAUL. Wound repair at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 122, p. 3209-3213, 2009.

SHAABAN, Hamdy A. E; EL-GHORAB, Ahmed H; SHIBAMOTO, Takayuki. Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: Review. **The Journal of Essential Oil Research**, V. 24, N. 2, p. 203–212, 2012.

SILVA, F. L. A.; OLIVEIRA, R. A.G; ARAÚJO, E.C. Uso de plantas medicinais pelos idosos em uma Estratégia de Saúde da Família. **Rev.Enferm UFPE OnLine**. v. 2, nº1, p.9-16,2008; Disponível em: <<http://www.ufpe.br/revistaenfermagem/index.php/revista/article/viewArticle/400>>. Acessado em: 01 nov.2010, as 11:12.

SILVA, J. S; SALES, M. F; CARNEIRO-TORRES, D. S.O gênero *cróton* (euphorbiaceae) na microrregião do vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, n. 4, p. 879-901, 2009.

SILVA, Jackeline G. da; SOUZA, Ivone A.; HIGINO, Jane S.; SIQUEIRA-JUNIOR, José P. Jozinete; PEREIRA, V; PEREIRA, Maria do Socorro V. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 572-577, 2007.

SILVA, M. A.; PESSOTTI, B. M. S.; ZANINI, S. F.; COLNAGO, G. L.; NUNES, L. C.; RODRIGUES, M. R. A.; FERREIRA, L.; Uso de óleo de aroeira-vermelha sobre o desempenho e a morfometria intestinal de frangos de corte. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v.40, n.10, 2010.

SILVA, M. D. **Estudo farmacológico de três espécies medicinais da caatinga de Pernambuco**. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, 2008.

SILVEIRA, P. F. BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p. 618-626, 2008.

SINGER, ADAM J.; CLARK, RICHARD A. F. C. cutaneous wound healing. **The New England Journal of Medicine**, 1999.

SIQUEIRA, Manoel Jacobsen Texeira; TESSEROLI, José Tadeu; ALVES NETO, Onofre; COSTA, Carlos Maurício de Castro. **Dor: Princípios e práticas** 1. Ed., 2009.

STEEDS, Charlotte E. The anatomy and physiology of pain. **Surgery**, v. 27, 2009.

STEIN, S; MALLARD, G; LEVITSKY, A; FATECY, O. **NIST MS Library Database**. NIST, Gaithersburg, 1997.

SUBBARAMAIAH, Kotha; CHUNG, Wen Jing; MICHALUARTI, Pedro; TELANG, Nitin; TANABE, Tadashi; INOUE, Hiroyasu; JANG, Meishiang; PEZZUTO, John M; DANNENBERG, Andrew J. Resveratrol Inhibits Cyclooxygenase-2 Transcription and Activity in Phorbol Ester-treated Human Mammary Epithelial Cells. **Journal of biological chemistry**, v. 273, n. 34, p. 21875–21882, 1998.

TEIXEIRA, M. J. Fisiopatologia da nocicepção e da supressão da dor. **JBA**, Curitiba, v. 1, n. 4, p. 329-334, 2001.

- TINOCO, M. T., MARTINS, M. R. & CRUZMORAIS, J. Atividade antimicrobiana do óleo essencial do *Foeniculum vulgare* Miller. **Livro de Resumos - Jornadas ICAM**, Évora, Portugal, p.143. 2005.
- TOLEDO JR., Jose Carlos; AUGUSTO, Ohara. Connecting the Chemical and Biological Properties of Nitric Oxide. **Chemical Research in Toxicology**, v, 25, p. 975 - 989, 2012.
- TONG, M; ZBINDAEN, M. M; HEKKING, I. J. M; VERMEIJ, M; BARRITAUULT, D VAN NECK, J, W. RGTA OTR 4120, a heparan sulfate proteoglycan mimetic, increases wound breaking strength and vasodilatory capability in healing rat full-thickness excisional wounds. **Wound Repair Regen**, v. 16, p. 294–299, 2008.
- TRACEY, Irene. Nociceptive processing in the human brain. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 15, p. 478–487, 2005.
- TRONGSAKUL, S; PANTHONG, A; KANJAAPOTHI, D; TAESOTIKUL, T. The analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activity of *Diospyros variegata* Kruz. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, p. 221-225, 2003.
- TULP, Martin; BOHLIN, Lars. Unconventional natural sources for future drug discovery. **DDT**, v. 9, n. 10, May 2004.
- VIEGAS JR, Cláudio; BOLZANI, Vanderlan da Silva; BARREIRO, Eliezer J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quim. Nova**, v 29, n. 2, p. 326-337, 2006.
- VILLALBA, Milcíades A; CARMO, Maria I; LEITE, Magda N; SOUSA, Orlando V. Atividades farmacológicas dos extratos de *Zanthoxylum chiloperone* (Rutaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 236-241, 2007.
- VANDEBROEK, I.; REYES-GARCÍA, V.; ALBUQUERQUE, U. P.; BUSSMANN, R.; PIERONI, A. Local knowledge: Who cares? **J. Ethnobiol. Ethnomed.**, v. 7, p. 35, 2011.
- XIMENES, R. M.; NOGUEIRA, L. M.; CASSUNDÉ, N. M. R; JORGE, R. J. B.; SANTOS, S. M.; MAGALHÃES, L. P. M.; SILVA, M. R.; VIANA, G. S. B.; ARAÚJO; R. M. SENA, K. X. F. R. ; ALBUQUERQUE, J. F. C.; MARTINS, R. D. Antinociceptive and wound healing activities of *Croton adamantinus* Müll. Arg. essential oil. **Journal of Natural Medicines**, v. 67, l. 4, p. 758-764, 2013.
- YAMAGUCHI, Y; YOSHIKAWA, K. Cutaneous wound healing: an update. **Journal of Dermatology**, v. 28, p. 521–34, 2001.
- YUE-ZHONG, Shu. Recent Natural Products Based Drug Development: A Pharmaceutical Industry Perspective. **J. Nat. Prod**, v. 61, p.1053-1071, 1998.
- WILGUS, T. A.; ROY, S.; MCDANIEL, J. C. Neutrophils and Wound Repair: Positive Actions and Negative Reactions. *Advances in wound care*, v. 2, n. 7, 2013.

WITTE, Maria B.; BARBUL, Adrian. General principles of wound healing. *Surgical Clinics of North America*. v. 77, 1997.

## APÊNDICE

### Apêndice A- Questionário Semiestruturado



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

#### “Conhecimento popular de plantas medicinais anti-inflamatórias e cicatrizantes”

NOME: _____	DATA DE NASCIMENTO: _____
SEXO: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	MORADIA: <input type="checkbox"/> ZONA URBANA <input type="checkbox"/> ZONA RURAL
ESTADO CIVIL: <input type="checkbox"/> SOLTEIRO <input type="checkbox"/> CASADO <input type="checkbox"/> DIVORCIADO <input type="checkbox"/> OUTRO	
ESCOLARIDADE: <input type="checkbox"/> NÃO ALFABETIZADO <input type="checkbox"/> FUNDAMENTAL <input type="checkbox"/> MÉDIO <input type="checkbox"/> SUPERIOR <input type="checkbox"/> PÓS-GRADUAÇÃO	
PROFISSÃO: <input type="checkbox"/> DO LAR <input type="checkbox"/> AGRICULTOR <input type="checkbox"/> AUTÔNOMO <input type="checkbox"/> FUNC. EMPRESA PRIVADA <input type="checkbox"/> FUNC. PÚBLICO <input type="checkbox"/> DESEMPREGADO <input type="checkbox"/> OUTRO	
RENDA (SALÁRIOS MÍNIMOS): <input type="checkbox"/> ATÉ 1 <input type="checkbox"/> DE 1 A 2 <input type="checkbox"/> DE 3 A 4 <input type="checkbox"/> MAIS DE 5	
VOCÊ TEM ACESSO A ATENDIMENTO MÉDICO NA REDE PÚBLICA? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO	
VOCÊ NORMALMENTE RECEBE MEDICAMENTOS PELO SUS? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO	
VOCÊ CONHECE AS PLANTAS MEDICINAIS DA REGIÃO? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO	
VOCÊ NORMALMENTE FAZ USO DE PLANTAS MEDICINAIS? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO	

QUAIS PLANTAS MEDICINAIS CICATRIZANTES (PARA USAR EM FERIDAS, GARGAREJOS E BANHOS) QUE VOCÊ USA (OU CONHECE)?

---



---



---

QUAIS AS PLANTAS MEDICINAIS ANTI-INFLAMATÓRIAS (PARA PANCADA, DOR, INFLAMAÇÃO) QUE VOCÊ USA (OU CONHECE)?

---



---



---

Nome	Outros	Parte	Forma de	Quantidade	Posologia	Onde
------	--------	-------	----------	------------	-----------	------

Popular	Usos	Utilizada	Uso	Usada		adquirir?
		<input type="checkbox"/> planta toda <input type="checkbox"/> folha <input type="checkbox"/> casca do caule <input type="checkbox"/> casca da raiz	<input type="checkbox"/> chá <input type="checkbox"/> tintura <input type="checkbox"/> macerada <input type="checkbox"/> pó <input type="checkbox"/> outros			<input type="checkbox"/> compra <input type="checkbox"/> cultivada <input type="checkbox"/> coleta
		<input type="checkbox"/> planta toda <input type="checkbox"/> folha <input type="checkbox"/> casca do caule <input type="checkbox"/> casca da raiz	<input type="checkbox"/> chá <input type="checkbox"/> tintura <input type="checkbox"/> macerada <input type="checkbox"/> pó <input type="checkbox"/> outros			<input type="checkbox"/> compra <input type="checkbox"/> cultivada <input type="checkbox"/> coleta
		<input type="checkbox"/> planta toda <input type="checkbox"/> folha <input type="checkbox"/> casca do caule <input type="checkbox"/> casca da raiz	<input type="checkbox"/> chá <input type="checkbox"/> tintura <input type="checkbox"/> macerada <input type="checkbox"/> pó <input type="checkbox"/> outros			<input type="checkbox"/> compra <input type="checkbox"/> cultivada <input type="checkbox"/> coleta

PARA A PLANTA MAIS USADA:

VOCE CONHECE ESSA PLANTA MEDICINAL?  SIM  NÃO

POR QUAL NOME?

---

PARA QUE VOCÊ USA ESSA PLANTA?

---

**Apêndice B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### PROJETO DE PESQUISA

#### “Conhecimento popular de plantas medicinais anti-inflamatórias e cicatrizantes”

Venho através deste, convidar o Senhor(a) a participar do Projeto de Pesquisa intitulado: “Conhecimento popular de plantas medicinais anti-inflamatórias e cicatrizantes”, em que o objetivo será caracterizar o conhecimento popular sobre espécies anti-inflamatórias e cicatrizantes para comprovação científica da eficácia e segurança do uso da espécies mais citadas.

Os resultados obtidos na pesquisa serão publicados no meio científico e divulgados para a população participante do estudo, para tanto garantimos ao participante:

- Anonimato das informações obtidas, sendo os mesmos tratados por identificação numérica e iniciais;
- Acesso dos voluntários aos seus dados;
- Garantia de transparência em todas as etapas do processo, com esclarecimento de quaisquer dúvidas por parte dos envolvidos;
- Liberdade de recusar a minha participação ou retirar o meu consentimento em qualquer fase da pesquisa
- Caso haja necessidade poderei entrar em contato com o pesquisador pelo telefone: (81)8761.5904 (Oi) ou (81)9713.1861 (Tim).

Atenciosamente,

**Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes**  
Coordenador do Projeto  
Av. Prof. Artur de Sá, s/n  
Cidade Universitária, Recife-PE  
Fone: (81) 2126.8866  
**Email:** ximenesrm@gmail.com

Após leitura do termo, eu \_\_\_\_\_, declaro para os devidos fins acima esclarecidos, aceitação de participação na pesquisa “Conhecimento popular de plantas medicinais cicatrizantes”, com autorização da utilização e divulgação dos dados obtidos, de maneira anônima, em relatórios, eventos e publicações científicas.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Local  
Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Voluntário (a)

---

Testemunha 1

---

Testemunha 2

---

Pesquisador Responsável

Este projeto será submetido ao:

**Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE)**

Av. Prof. Moraes Rêgo, s/n - 1º andar, Cidade Universitária

CEP: 50670-901 Recife - PE, Brasil.

Telefone/Fax do CEP: (81) 2126-8588

E-mail do CEP: [cepccs@ufpe.br](mailto:cepccs@ufpe.br)



## Apêndice C - Figuras suplementares

Figura A1 - Análise de Cromatografia Gasosa acoplada à espectrômetro de massas do óleo essencial de *Croton cordifolius*.

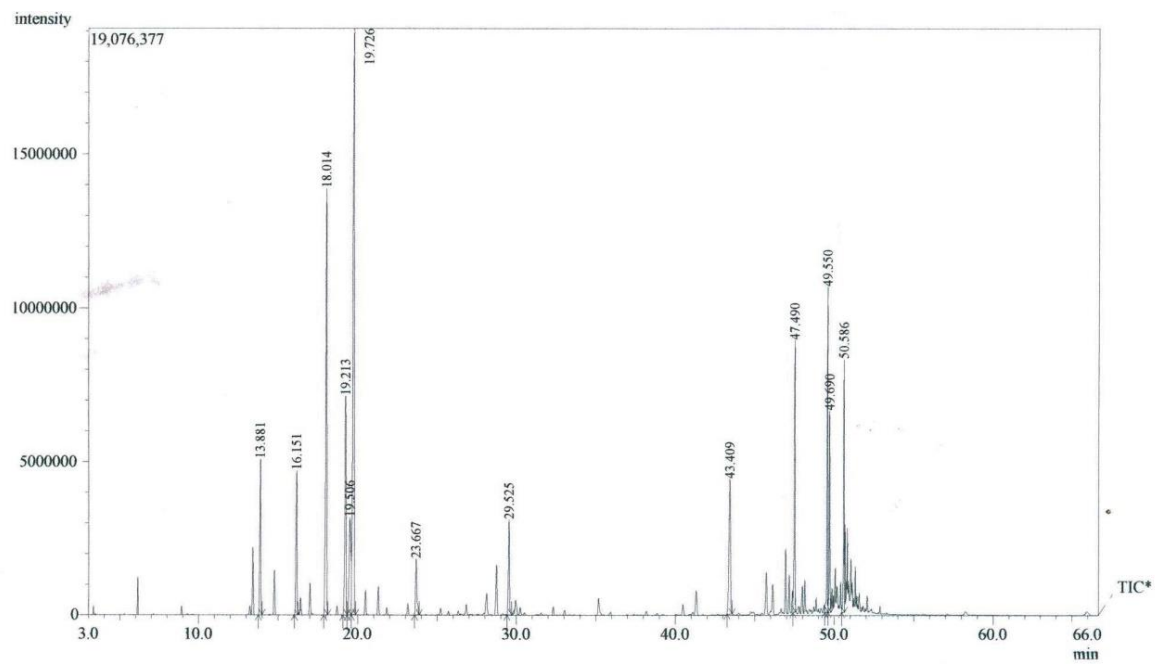


Figura A2 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do óleo essencial de *Croton cordifolius* ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz).

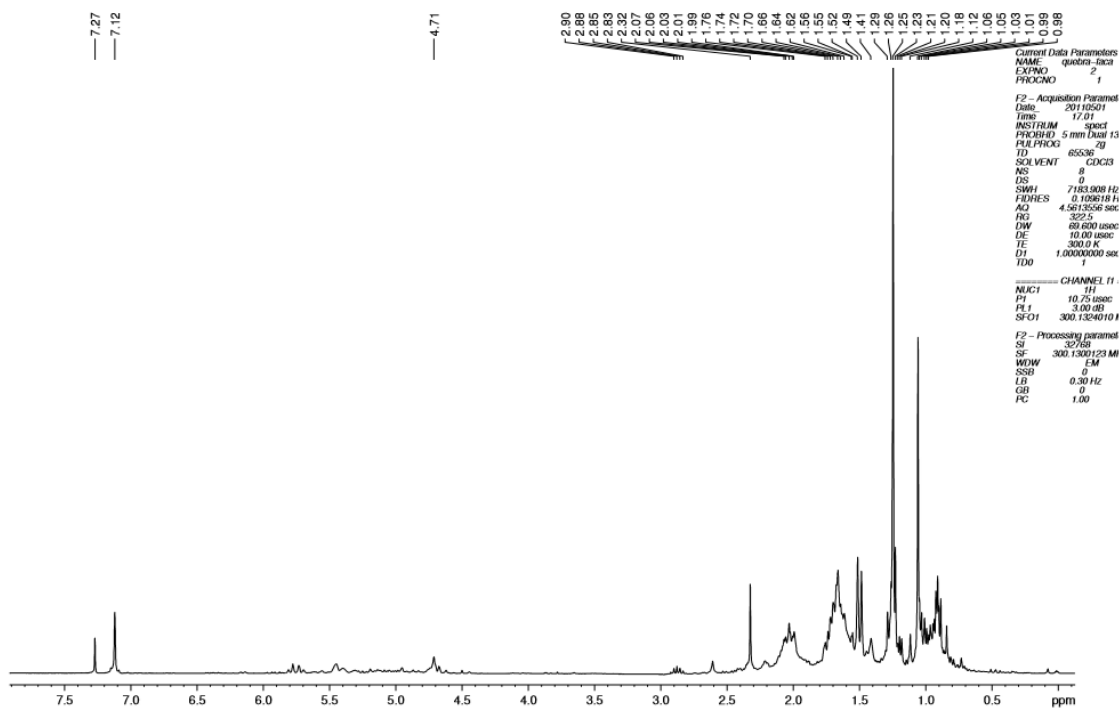


Figura A3 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  NMR do essencial de *Croton cordiifolius* (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz).