



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE
SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS**



ÁDDLA THAINE SANTOS OLIVEIRA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL
FARMACOLÓGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia*
*hermannioides***

Feira de Santana – BA

2021

ÁDDLA THAINE SANTOS OLIVEIRA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL
FARMACOLÓGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia*
*hermannioides***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Dra. Angélica Maria Lucchese.
Coorientadora: Dra. Marilene Lopes da Rocha.

Feira de Santana – BA

2021

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado - UEFS

Oliveira, Áddla Thaine Santos
O48c Composição química e potencial farmacológico do óleo essencial de
Lippia hermannioides / Áddla Thaine Santos Oliveira. - 2021.
69f. : il.

Orientadora: Angélica Maria Lucchese
Coorientadora: Marilene Lopes Rocha

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2021.

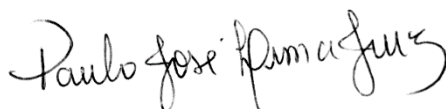
1. Óleo essencial. 2. Atividade antinociceptiva. 3. Efeito anti-
inflamatório. 4. Cromatografia a gás. 5. Espectrometria de massas. 6.
Lippia hermannioides. I. Lucchese, Angélica Maria, orient. II. Rocha,
Marilene Lopes, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana.
IV. Título.

CDU: 582.949.1

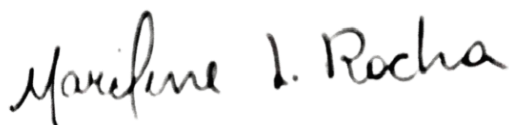
BANCA EXAMINADORA



Prof^ª. Dr^ª. Pollyana de Souza Siqueira Lima
(Rede UniFTC - IMES - Instituto Mantenedor de Ensino Superior da Bahia)



Prof. Dr. Paulo José Lima Juiz
(Universidade Federal do Recôncavo da Bahia)



Prof^ª. Dr^ª. Marilene Lopes da Rocha
(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)
Coorientadora e Presidente da Banca

Dedico este trabalho àqueles que me apresentaram o sertão e as primeiras plantas medicinais da minha vida: meu vizinho (Antônio Queiroz) e minha vizinha (Maria de Lourdes), que deixaram de viver entre nós, mas que vivem eternamente em mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus, agradeço pela vida, pela graça e pelas misericórdias que se renovam todas as manhãs.

À pessoa que, no processo de autoconhecimento, descobri como a mais importante da minha vida: EU! Por me permitir iniciar esta etapa, por ter conseguido levar de forma leve esse processo (tudo bem que eu ter dado algumas surtadas rsrs), e por ter me doado para finalizá-lo.

À Vida, por me devolver a mim mesma, por me impulsionar a voar alto, por me mostrar que posso ir além e por me revelar, diariamente, que felicidade é questão de SER.

Aos meus avós (*in memoriam*), aos que dedico esse trabalho, por valorizarem a educação e terem se orgulhado de mim em todas as etapas que me acompanharam. Por sonharem em ter uma neta “doutora” e, apesar de eu não ter formado em medicina (como era o sonho deles), hoje chego um pouco mais próximo desse título.

À Arlete, minha mãe, por todo amor, dedicação e por todas as abdições que me permitiram ter acesso a educação e oportunidades, para que eu me tornasse privilegiada. Gratidão e admiração eternas!

À minha irmã (Thaís), meu cunhado (Renato) e meu sobrinho (Arthur), por todo apoio em todos os momentos, por todo amor dedicado e por terem compreendido minhas ausências nesse período. “Eu sou porque nós somos!”

Às minhas filhas de quatro patas, por me escolherem e me ensinarem sobre amor e dedicação. Em especial, à Nina, por ter sido minha companhia em muitas madrugadas de estudo: “Ô Preta, ainda bem que tu existe”.

À minha orientadora, Prof. Dra. Angélica Lucchese, por mesmo sem me conhecer, abrir as portas para esse sonho, dividindo conhecimentos, compartilhando tempo, sendo paciente e se dedicando para me ajudar a crescer. Ufa! Conseguimos!

À minha coorientadora, Prof. Dra. Marilene Lopes, minha mãe científica, que me acompanha desde a graduação, que enxergou em mim e em Débora um potencial enorme e nos ajudou a desenvolver pessoal e profissionalmente. Obrigada, mais uma vez!

Aos colegas do LAPRON: Lucas e Júlia por me ajudarem na obtenção do óleo e na análise da composição química.

Às meninas do LAFAR: Amanda, Carla e Cássia, por terem dedicado um pouco do tempo delas para me auxiliar nos testes com os animais.

Aos funcionários do Biotério: Orestes, Verônica, Silvano, Zé Carlos, Antonio Cezar, Edleuza e, em especial, Júnior e Beth. Sem o trabalho de vocês, nada disso seria possível. Vocês são excepcionais!

Aos amigos que fiz no Programa: Andressa, Aritana, Dani, Gu, Jeu, Jô, Jhon, Lua, Marinho, Mau (e Amandinha rsrs), Rubens, Simônica, Rose e Uaslei. Vocês provaram que a gente não precisa passar por essa fase só! Obrigada por toda ajuda, por todas as angústias

compartilhadas, por todos os nossos momentos de resenha e por todas as figurinhas do Whatsapp (rsrs). Esse período sem vocês, com certeza, não teria o mesmo sabor.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em RGV, pelas contribuições e por todo conhecimento compartilhado, em especial, o professor Lenaldo Muniz.

Aos técnicos administrativos do Programa de Pós Graduação em RGV, pela presteza e pela dedicação de sempre.

Às minhas amigas, minhas Bimbinhas: Aline, Debby e Lary, por todo apoio, pelo ombro amigo nos momentos de desespero, pelas comemorações a cada pequena conquista. Obrigada, obrigada e obrigada! Agradeço, em especial, a Debby, pelas contribuições nos seus dias de folga.

A Michela Almeida, minha psicóloga, por ter me apresentado a vida de outra forma e me ajudar a levar esse processo de maneira mais leve.

A Márcio Oliveira, meu personal, que com toda dedicação, preparou todos os treinos realizados durante esse período, os quais elevaram a endorfina e me traziam uma sensação de prazer incalculável. Com certeza, sem isso, eu não teria conseguido.

A Livia, Mel, Lícia e Samuelzinho, por todas as orações, por toda torcida e por todas as vezes que aliviaram as tensões com brincadeiras e resenhas.

A Limão, meu amigo, que vibrou comigo desde a inscrição da seleção, sem nem saber o resultado, que me apoiou e me ajudou desde então, inclusive, lendo minhas escritas. Tadinho! kkkk

Aos meus amigos, que são também meus chefes, Kerdoval e Leandro, por terem me incentivado o tempo inteiro na realização desse sonho e por terem feito o possível para oportunizá-lo. Não foi fácil conciliar o trabalho (em outra cidade) e fazer mestrado, mas consegui!

Aos amigos do IF Serrinha, em especial, Carla, Ana, Brenda, Laércio, Othon, Sheila, Tamires (Sariguê), Gonzaga e Edu. Obrigada por todo apoio nesse período!

A Roger, a pessoa que tem um dos corações mais belos que já vi, pela disposição de sempre, por nunca negar nenhum pedido das pessoas ao seu redor e por todo apoio na tradução.

Ao Google tradutor, meu fiel companheiro. Sem ele, com certeza, essa dissertação não teria saído! Minha eterna gratidão! Rsr

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para esta dissertação, meu muito obrigada!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

RESUMO

O gênero *Lippia*, pertencente à família Verbenaceae, tem um elevado potencial na medicina popular, com espécies utilizadas no tratamento de diversas enfermidades, principalmente as ligadas aos sistemas respiratório e gastrointestinal. *Lippia hermannioides* Cham. é uma espécie endêmica do Brasil e já teve sua atividade antioxidante e antimicrobiana revelada. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição química do óleo essencial das folhas de *Lippia hermannioides* (OELH), através da utilização de métodos cromatográficos e espectrométricos, e o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório pela realização de modelos químicos (ácido acético e formalina) e térmicos (placa quente) de nocicepção. Os resultados revelaram o germacreno D (18,39%), biciclogermacreno (11,72%), 1,8-cineol (11,24%), sabineno (10,38%), *E*-cariofileno (8,33%), β -pineno (7,37%) e α -pineno (6,18%) como os compostos majoritários presentes no óleo. A administração intraperitoneal do OELH nas doses 300 e 2000 mg/kg não mostrou sinais de toxicidade em camundongos. Nas doses 75 e 300 mg/kg, o OELH não afetou a coordenação motora dos animais no teste do *rota-rod*, diminuiu o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético, reduziu o tempo de lambida da pata em ambas as fases do teste da formalina, bem como aumentou o tempo de latência no teste da placa quente. Esses resultados indicam que o óleo essencial estudado apresenta atividade antinociceptiva e anti-inflamatória e sugerem que sua ação pode ser mediada por mecanismos periféricos e centrais, fornecendo, dessa forma, subsídios para futuras pesquisas com a finalidade de utilizar este recurso fitogenético na saúde.

PALAVRAS-CHAVE: Atividade antinociceptiva. Efeito anti-inflamatório. Cromatografia a gás com detecção por ionização de chama (CG/DIC). Cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG/EM).

ABSTRACT

The genus *Lippia*, which belongs to the Verbenaceae family, has a high potential in folk medicine, with species used in the treatment of various illnesses, especially those linked to the respiratory and gastrointestinal systems. *Lippia hermannioides* Cham. is an endemic species from Brazil and it has already had its antioxidant and antimicrobial activity revealed. The objective of this work was to determine the chemical composition of the essential oil from the leaves of *Lippia hermannioides* (OELH), through the use of chromatographic and spectrometric methods, and the antinociceptive and anti-inflammatory potential through the realization of chemical models (acetic acid and formalin) and thermal (hot plate) of nociception. The results revealed germacrene D (18.39%), bicyclogermacrene (11.72%), 1.8-cineol (11.24%), sabinene (10.38%), *E*-caryophyllene (8.33%), β -pinene (7.37%) and α -pinene (6.18%) as the major compounds present in the oil. The intraperitoneal administration of OELH at doses 300 and 2000 mg/kg did not show signs of toxicity in mice. At doses 75 and 300 mg/kg, the OELH did not affect the motor coordination of the animals in the test *rota-rod*, it decreased the number of abdominal contortions induced by acetic acid, reduced the paw licking time in both phases of the test formalin, as well as increased latency time in the hot plate test. These results indicate that the studied essential oil has antinociceptive and anti-inflammatory activity and suggest that its action can be mediated by peripheral and central mechanisms, thus providing support for future research with the purpose of using this phylogenetic resource in health.

KEYWORDS: Antinociceptive activity. Anti-inflammatory effect. Gas chromatography with flame ionization detection (GC/DIC). Gas chromatography coupled with mass spectrometry (CG/MS).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1. Recursos Fitogenéticos na saúde	11
2.1.1. Recursos Fitogenéticos no SUS	14
2.2. Plantas Medicinais: o metabolismo secundário como fonte de compostos bioativos	17
2.2.1. Óleos essenciais: composição química e potenciais terapêuticos e comerciais	21
2.3. Gênero <i>Lippia</i> (Verbenaceae): um enfoque na composição química e no potencial antinociceptivo e anti-inflamatório	26
2.3.1. <i>Lippia hermannioides</i>	33
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1. Coleta e preparação do material vegetal	34
3.2. Obtenção do óleo essencial	35
3.3. Análise da composição química	35
3.4. Testes farmacológicos gerais	36
3.4.1. Animais de experimentação	36
3.4.2. Toxicidade aguda	37
3.4.3. Teste da barra giratória (<i>rota-rod</i>)	38
3.5. Testes farmacológicos específicos para avaliação da atividade antinociceptiva e/ou anti-inflamatória	39
3.5.1. Teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético	39
3.5.2. Teste da formalina	40
3.5.3. Teste da placa quente	40
3.6. Tratamento estatístico de dados	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5. CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	54

1. INTRODUÇÃO

Desde o início da civilização humana, seres humanos exploram recursos genéticos de modo a atender as suas necessidades de sobrevivência. Esses recursos genéticos, em especial os fitogenéticos, são utilizados há milênios para o tratamento de doenças e/ou sintomas físicos e psiquiátricos (JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEIL, 2018; WRIGHT, 2019). Tais recursos ainda constituem uma importante alternativa para a medicina tradicional nacional e internacional, principalmente em países subdesenvolvidos, nos quais, na última década, 70% a 95% da população dependem dos produtos naturais a base de plantas na atenção primária à saúde (ROBINSON; ZHANG, 2011). No Brasil, estima-se que 82% da população depende das plantas medicinais para tal utilização (BRASIL, 2012).

Entre as plantas medicinais usadas na medicina popular, o gênero *Lippia*, que pertence à família Verbenaceae, tem alguns representantes, que são usados tradicionalmente no tratamento de distúrbios gastrointestinais e respiratórios, como analgésicos, anti-inflamatórios, antipiréticos, antiespasmódicos, anti-hipertensivos, antissépticos, entre outros (PASCUAL et al., 2001; SANTOS et al., 2016). Estudos para elucidar a fitoquímica e o potencial farmacológico de espécies do gênero *Lippia* vêm sendo realizados e atividades antimicrobianas, antifúngicas, anti-hiperlipidêmicas, virucidas, antioxidantes, ansiolíticas, antinociceptivas, anti-inflamatórias, anestésicas, antiparasitárias já foram evidenciadas. A utilização popular e os resultados obtidos em pesquisas demonstram uma enorme potencialidade para espécies deste gênero como recurso terapêutico, todavia, mesmo com o avanço destas pesquisas, diante da diversidade de espécies que temos nesse gênero e do número de espécies que são endêmicas do Brasil, ainda há muito a ser estudado.

Lippia hermannioides Cham., por exemplo, é um arbusto aromático terrícola, endêmico do Brasil (SALIMENA et al., 2015), representante do gênero, porém pouco estudado. O extrato metanólico desta espécie já teve indicativo de atividade antimicrobiana e antioxidante (FABRI et al., 2011) e, diante disso, pode representar uma importante solução para o tratamento de inflamação e dor. Sendo assim, tendo em vista a importância de estudos mais aprofundados para elucidar e garantir a eficácia desta espécie como recurso terapêutico, bem como fornecer subsídios para futuras pesquisas com a finalidade de estabelecer um fitoterápico com grande potencial biotecnológico, o objetivo deste trabalho foi analisar a composição química e investigar o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório do óleo essencial extraído das folhas de *L. hermannioides*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Recursos Fitogenéticos na saúde

De acordo com a Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB), assinada durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento (1992) e aprovada pelo Decreto Legislativo nº 02/1994, biodiversidade ou diversidade biológica pode ser definida como a variabilidade de organismos vivos de todas as origens, abrangendo desde a diversidade dentro e entre espécies, até a diversidade de ecossistemas. A diversidade biológica está intimamente associada à diversidade genética dos organismos vivos. O material originário de um ser vivo que tenha unidades funcionais de hereditariedade constitui um material genético, o qual, quando possui valores reais ou potenciais para a humanidade, é considerado um recurso genético (Art. 2º, CDB, 1992).

A biodiversidade, além dos seus valores intrínsecos, como evidenciado no preâmbulo da CDB, apresentam outros valores que, com base na forma de utilização por seres humanos, podem ser divididos em diretos ou indiretos: os valores diretos (ou de uso) são aqueles envolvidos com a satisfação nas necessidades humanas, podendo a utilização do recurso estar associado ao consumo (como no caso da utilização como alimento ou como fonte de princípios ativos de substâncias) ou não (como na utilização para fins recreativos) (GUERRA; ROCHA; NODARI, 2015). Os valores indiretos, no entanto, estão relacionados ao suporte que a biodiversidade pode fornecer às atividades econômicas, como a regulação do clima e a polinização, por exemplo (GUERRA; ROCHA; NODARI, 2015).

Os valores da biodiversidade constituem-se como indispensáveis à humanidade, uma vez que fornecem serviços essenciais. Durante milênios, seres humanos administram recursos genéticos para os mais variados fins, de modo a atender as suas necessidades de sobrevivência, utilizando, inclusive, produtos derivados de fontes biológicas no tratamento de doenças e/ou sintomas físicos e psiquiátricos (PRAKASH; KUJUR; YADAV, 2018). O conhecimento sobre atividades biológicas e potenciais medicinais desses remédios tradicionais foi conquistado, ao longo dos anos, através de métodos de tentativa e erro clínicos, e os resultados dessas experiências acumuladas somado aos costumes de curandeiros foram transmitidos para as gerações posteriores nas comunidades (WRIGHT, 2019).

Grande parte dos medicamentos utilizados tradicionalmente pelas comunidades eram misturas de produtos vegetais, os quais eram consumidos/aplicados diretamente ou após processamentos simples de extração de ativos, como chás, tinturas ou fermentações

(WRIGHT, 2019). Produtos naturais podem ser definidos como compostos com atividades biológicas provenientes de fontes naturais como microrganismos, plantas e animais, por exemplo (BAKER et al., 2007) e desempenham um papel fundamental no processo de descoberta e desenvolvimento de medicamentos para o tratamento de doenças humanas. (NEWMANN; CRAGG, 2016).

A maioria dos medicamentos modernos foi baseada na medicina tradicional (BERNARDINI et al., 2018). Os ensinamentos de descrição da produção tradicional de medicamentos formaram, por milênios, a base do conhecimento sobre farmacologia (WRIGHT, 2019). O uso tradicional de compostos naturais como medicamentos foi ganhando cada vez mais força. Por volta de 1804, o isolamento da morfina, tornou-se um marco muito importante na descoberta de medicamentos provenientes de fontes naturais, porém foi após o descobrimento da penicilina, no início do século XX, que possibilitou o aumento dos esforços para o isolamento de produtos naturais de fontes microbianas (BERNARDINI et al., 2018). Essa tendência foi a precursora do surgimento da indústria farmacêutica moderna, que desenvolveu, na segunda metade do século XX, um programa de descoberta de produtos naturais que poderiam ser usados para tratamento de várias doenças (BERNARDINI et al., 2018).

O sucesso do descobrimento de drogas provenientes de produtos naturais gerou uma pressão para que se aumentasse o número de medicamentos disponibilizados (BERNARDINI et al., 2018), no entanto, as indústrias enfrentavam muitas dificuldades para atingir tais objetivos, uma vez que para identificar compostos ativos, muitas vezes, faz-se necessário purificar produtos naturais, geralmente disponíveis em quantidades muito pequenas, a partir de misturas complexas (WRIGHT, 2019). Além das dificuldades enfrentadas, nos anos 80 e 90, o surgimento de técnicas de química combinatória e computacional acarretou a mudança do fluxo da indústria farmacêutica, abrindo espaço para a produção de muitas drogas sintéticas (BERNARDINI et al., 2018; WRIGHT, 2019).

Apesar das indústrias terem se dedicado na produção de drogas por síntese química, a natureza, de certa forma, continuou a influenciar o design de pequenas moléculas, de forma que as expectativas criadas em torno da síntese química de drogas não foram satisfeitas (NEWMANN; CRAGG, 2016). De acordo com estes autores (Figura 1), 48% das drogas aprovadas entre 1981 e 2014 tem origem ou influência natural, sendo elas: macromoléculas biológicas (“B”, 16%), produtos naturais (“N”, 4%), drogas botânicas (“NB”, 1%), derivados de produtos naturais (“ND”, 21%) ou vacinas (“V”, 6%). Além disso, dos 52% de drogas

sintéticas (“S”) aprovadas no período, 11% delas são drogas que imitam produtos naturais (“/NM”) e 14% são drogas sintéticas produzidas por síntese total, mas com o farmacóforo oriundo de um produto natural (“S*”), sendo que, dentre os 14%, 4% também imitam de produtos naturais.

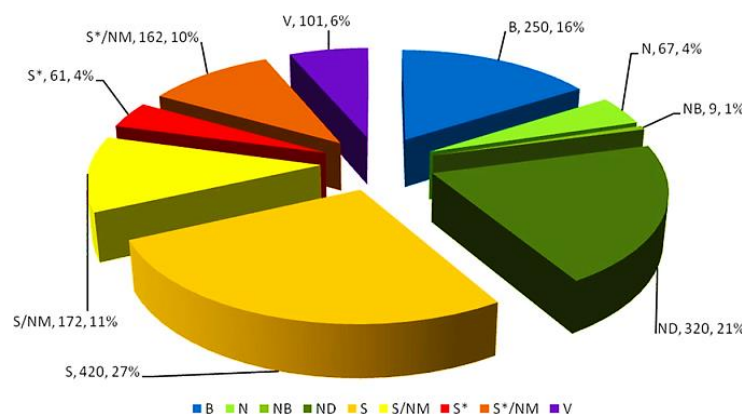


Figura 1. Novos medicamentos aprovados entre 1981 – 2014; n= 1562 (NEWMANN; CRAGG, 2016).

Legenda: “B”: macromoléculas biológicas; “N”: produtos naturais; “NB”: drogas botânicas; “ND”: derivados de produtos naturais; “V”: vacinas; “S”: drogas sintéticas; “/NM”: drogas que imitam produtos naturais; “S*”: drogas sintéticas produzidas por síntese total, mas com o farmacóforo oriundo de um produto natural.

Entre as fontes de produtos naturais de grande relevância para a medicina tradicional e para a indústria farmacêutica, se encontram as plantas. Produtos naturais provenientes de plantas são utilizados em quase todas as culturas nos tratamentos de doenças (JAMSHIDIKIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEIL, 2018). A história da utilização de plantas medicinais por seres humanos, assim como a de produtos naturais de outras fontes, é milenar. No Brasil, populações indígenas faziam uso extensivo de plantas para tratamentos de problemas de saúde, entretanto, os primeiros registros de utilização de recursos fitogenéticos na medicina são do período colonial, referente às “boticas dos colégios” preparadas pelos jesuítas, que, inicialmente, eram abastecidas por medicamentos provenientes do Reino, no entanto, com a dificuldade de reposição, ao longo do tempo eles adquiriram muito conhecimento dos povos nativos sobre os recursos naturais da nova terra e passaram a cultivar muitas espécies de caráter curativo (CALAINHO, 2005).

Plantas medicinais, ainda hoje, constituem um importante recurso de assistência farmacêutica para a medicina tradicional nacional e internacional, principalmente em países subdesenvolvidos e, de acordo com Dra. Margaret Chan, a então diretora Geral da Organização Mundial de Saúde (OMS), os tratamentos e práticas medicinais tradicionais, bem como os medicamentos fitoterápicos ainda representam a principal fonte (ou única) de

atenção sanitária para milhões de pessoas (WHO, 2013). Na última década, estimava-se que 70% a 95% da população dos países em desenvolvimento dependiam dos produtos naturais a base de plantas na atenção primária à saúde (ROBINSON; ZHANG, 2011). A nível nacional, a utilização de plantas medicinais nos cuidados com a saúde abrangia cerca de 82% da população (BRASIL, 2012).

Diante dessa abrangência, a OMS, que tem como missão ajudar a salvar vidas e melhorar a saúde, apoia Estados Membros no desenvolvimento de políticas nacionais envolvendo medicina tradicional e complementar (MTC) nos sistemas de saúde, inclusive, desenvolvendo diretrizes e estabelecendo padrões (WHO, 2013). Em 1978, na Declaração de Alma-Ata, a OMS já havia se posicionado no sentido de valorizar a utilização de plantas medicinais no âmbito sanitário (BRASIL, 2006a).

2.1.1 Recursos fitogenéticos no SUS

O Brasil, Estado-Membro da OMS, ao longo dos anos, vem tomando medidas para pôr em prática as orientações recebidas por ela, principalmente no sentido de incorporar algumas práticas de saúde, como a Fitoterapia, na assistência farmacêutica pública (BRASIL, 1996). As ações do Brasil nesse sentido começaram com a participação e a realização de conferências e passaram para a construção de documentos normativos nessa área. Em 1988, o então Ministério da Previdência e Assistência Social, através da Resolução CIPLAN nº 8, implantou a Fitoterapia nos Serviços de Saúde e orientou que as Unidades Federadas buscassem incluir a Fitoterapia nas Ações Integradas de Saúde e/ou nas programações do Sistema Unificado e Descentralizado de Saúde (SUDS), com o intuito de que a fitoterapia possa ser utilizada de maneira complementar à prática oficial da medicina moderna. Posteriormente, o Ministério da Saúde (MS) continuou agindo nesse propósito e estipulou, no Relatório da 12ª Conferência Nacional de Saúde, a necessidade de investir em pesquisas e desenvolvimento de medicamentos baseados na flora brasileira, como uma de suas diretrizes (BRASIL, 2004).

O MS, no início do século XX, publica duas políticas muito importantes no processo de valorização da utilização de plantas medicinais e da fitoterapia: a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares para o SUS – PNPIC (aprovada pela Portaria n 971/GM/MS, de 03 de maio de 2006) e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (aprovada pelo Decreto 5.813 de 22 de junho de 2006). A PNPIC visa incluir, no âmbito do SUS, a Medicina Tradicional e Complementar proposta pela OMS, ampliando o

acesso da população a serviços e produtos, como: a homeopatia, a medicina tradicional chinesa/acupuntura, a medicina antroposófica, plantas medicinais e fitoterapia, entre outros (BRASIL, 2006a). Com relação às medicinais e à fitoterapia, a PNPIC propõe o provimento do acesso a estes recursos aos usuários do SUS e, para tanto, indica que sejam tomadas todas as medidas para que plantas medicinais e/ou fitoterápicos sejam disponibilizados nas Unidades de Saúde, de forma complementar, nas formas: “in natura” (fresca), de droga vegetal, fitoterápico manipulado ou industrializado (BRASIL, 2006a).

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos vem nesse contexto com o objetivo de garantir à população acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, expondo e desenvolvendo algumas diretrizes, entre as quais estão a necessidade de regulamentar o cultivo, o manejo sustentável, a produção, a distribuição e o uso de plantas medicinais e fitoterápicos e a de garantir e promover a segurança, a eficácia e a qualidade no acesso a plantas medicinais e fitoterápicos (BRASIL, 2006b). Para materializar essa segunda diretriz, uma das ações planejadas foi a de incluir plantas medicinais e fitoterápicos na lista de medicamentos da “Farmácia Popular”¹ e atualizar permanentemente a Relação Nacional de Fitoterápicos (RENAME-FITO) e a Relação Nacional de Plantas Medicinais (BRASIL, 2006b).

No contexto dessas relações de plantas, em 2009, o MS divulga a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (Renuisus), a qual atualmente conta com 71 espécies da flora, entre as quais se encontra a *Lippia sidoides*, espécie do gênero *Lippia*, o qual apresenta grande potencial terapêutico, como veremos na sessão 2.3 (BRASIL, 2009). A utilização de plantas medicinais no SUS ganha ainda mais força quando, em 2017, a Portaria GM/MS n.º 704 atualiza a lista de produtos estratégicos para o SUS e inclui 12 fitoterápicos na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), também presentes na RENAME publicada em 2020 (BRASIL, 2017; BRASIL, 2020).

Conforme consta na RENAME, fitoterápicos constantes na relação podem ser industrializados ou manipulados, estes, por sua vez, podem ser adquiridos pela população em farmácias de manipulação do SUS, Farmácias Vivas ou farmácias de manipulação que possuam convênio com o sistema (BRASIL, 2020). Fitoterápicos feitos à base de plantas constantes nessas relações são, inclusive, fornecidos à população em alguns municípios no Brasil através do Programa Farmácia Viva, criado, há mais de 20 anos, pelo professor da Universidade Federal do Ceará, o Sr. Francisco José de Abreu Matos e instituído no âmbito

¹ Programa do Ministério da Saúde, regulamentado pelo Decreto nº 5.090, de 20 de maio de 2004, que visa oferecer à população alternativas de acesso a medicamentos essenciais.

do SUS, em 2010, através da Portaria nº 886/GM/MS (SILVA et al., 2006; BRASIL, 2010; PEREIRA et al., 2015).

O Programa Farmácia Viva é resultado da PNPIC e da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e tem a missão de contribuir no suprimento da necessidade da população no que diz respeito à oferta de fitoterápicos e de plantas medicinais. A Farmácia Viva, nos termos da RDC nº 18, de 03 de abril de 2013, é responsável por todas as etapas da produção dos fitoterápicos a serem disponibilizados pelos seus usuários, incluindo o cultivo, coleta, processamento, armazenamento, preparação e distribuição e tem a obrigação de seguir todos os procedimentos necessários para assegurar a qualidade, dentro dos padrões exigidos, dos seus produtos.

Como pode ser verificado, apesar do uso milenar dos recursos fitogenéticos nos cuidados com a saúde, diante da relevância que plantas medicinais e a fitoterapia tem para um país em desenvolvimento como o Brasil, o MS vem trabalhando nos últimos anos no aumento de Políticas Públicas no SUS, de modo a reduzir as distorções sociais e garantir acesso universal e igualitário a assistência farmacêutica. Diante desse avanço nas Políticas, de acordo com Ribeiro (2019), o número de programas de fitoterapia vem aumentando no Brasil desde os anos 80, tendo sua taxa de crescimento acentuada entre 2006 e 2008 e alcançando o número de 815 municípios em 2012. Entretanto, apesar disso, verificou-se também uma elevada taxa de mortalidade, interrupções e descontinuidades dos mesmos devido a algumas dificuldades enfrentadas, como: mudanças de gestão municipal, gerando descontinuidades e rupturas; dificuldade de aquisição de insumos e matéria-prima de qualidade; e a dificuldade de adesão e apoio aos programas por parte dos profissionais de saúde (RIBEIRO, 2019), devido à ausência de formação relativa à fitoterapia na formação profissional (ANTONIO; TESSER; MORETTI-PIRES, 2013) e à escassez de pesquisas com o objetivo de elucidar a farmacocinética, farmacodinâmica e a toxicologia das plantas medicinais, além do desconhecimento das propriedades apresentadas por elas (PEREIRA et al., 2015).

Diante das justificativas para a resistência dos profissionais de saúde para a adesão aos programas e prescrição de fitoterápicos, é importante frisar que Políticas Públicas ligadas a fitoterapia só são possíveis quando aliadas a pesquisas na área de plantas medicinais, uma vez que fitoterápicos são caracterizados pela validação de sua eficácia e segurança (LEITE, 2009). A flora brasileira possui mais de 36.000 espécies de plantas registradas até então (FLORA DO BRASIL, 2020), todavia, desse total, apenas 71 espécies estão presentes na Renisus e, como falado anteriormente, tem 12 fitoterápicos incluídos na RENAME (BRASIL, 2020). Diante da

biodiversidade que possui, o Brasil constitui-se como uma fonte potencial para novos medicamentos.

É inegável que os avanços nesse tema no Brasil são bem relevantes, principalmente nos últimos 15 anos. Entretanto, não se pode deixar de observar que os desafios que o Ministério da Saúde tem a enfrentar na materialização das políticas construídas são imensos. O apoio e a pressão popular espontânea e organizada (por meio de associações, movimentos sociais, por exemplo) é um dos pilares que sustentam a fitoterapia no SUS, mas além da ampla aceitação popular, algumas estratégias já vêm sendo tomadas a fim de manter e fortalecer os programas de fitoterapia no SUS, como: criação de Farmácias Vivas, prestação de cursos de capacitação para profissionais da saúde e profissionais vinculados à produção de plantas medicinais; realização de eventos e campanhas de divulgação, entre outros (RIBEIRO, 2019). Por outro lado, além das estratégias que já vem sendo tomadas, o Brasil precisa avançar ainda no incentivo a pesquisas com a finalidade de elucidar novas espécies de plantas medicinais, garantir a eficácia e segurança destas como recurso terapêutico e/ou de estabelecer novos fitoterápicos ou de isolar compostos para novos fármacos.

2.2. Plantas medicinais: o metabolismo secundário como fonte de compostos bioativos

Todos os ambientes habitáveis do planeta são ocupados por plantas, nos quais, elas precisam garantir sua sobrevivência e propagação, além de interagir com uma diversidade de organismos. Para viver, crescer e reproduzir, as plantas, assim como todos os seres vivos, precisam sintetizar e desassimilar substâncias a fim de produzir a energia necessária para estes fins. O metabolismo é o conjunto de reações, mediadas e reguladas por enzimas e organizadas em vias (vias metabólicas), que torna os seres capazes de realizar as transformações nas substâncias, essenciais para sua sobrevivência (DEWICK, 2009). Nas plantas, os produtos produzidos pelo metabolismo podem ser divididos em dois grupos: os metabólitos primários e os metabólitos secundários (ou especiais) (VON POSER, 2017).

Os metabólitos primários, ou macromoléculas, estão envolvidos em funções vitais e, por isso, são considerados essenciais a todos os seres vivos, dentre eles estão os carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (DEWICK, 2009; VON POSER, 2017). Os metabólitos secundários ou produtos naturais são produzidos a partir do metabolismo primário, por rotas metabólicas diversas e com gasto energético (VON POSER, 2017). Em contraste com os metabólitos primários, as micromoléculas são encontradas em baixas concentrações, apenas

em organismos ou grupos de organismos específicos e são produzidos em condições específicas (DEWICK, 2009; VON POSER, 2017). Entretanto, é importante destacar que a linha que divide os dois grupos de metabólitos é tênue, uma vez que há compostos, como ácidos graxos e açúcares que são majoritariamente descritos como primários, mas possuem representantes raros que são encontrados em determinadas espécies e são, portanto, considerados secundários (DEWICK, 2009).

Os produtos naturais vegetais não estão necessariamente envolvidos com as necessidades de sobrevivência, no entanto contribuem significativamente para a aptidão da população em determinados ambientes, dessa forma, a presença de plantas diferentes biomas/meios do planeta está intimamente relacionada com a expansão do metabolismo especializado (WENG; PHILIPPE; NOEL, 2012). A produção desses metabólitos está relacionada com as interações pelas quais a planta está submetida no ambiente natural, sejam elas com o meio biótico ou abiótico. Mesmo havendo um controle genético associado à produção desses compostos, a expressão gênica pode ser influenciada por processos ecológicos, fisiológicos, bioquímicos e evolutivos presentes no ambiente (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; YANG et al., 2018).

Entre os fatores que podem coordenar ou alterar o conteúdo dessas micromoléculas nas plantas estão as variações sazonais, o ritmo circadiano, o nível de desenvolvimento em que a planta se encontra, a temperatura, a disponibilidade hídrica, a incidência de radiação ultravioleta, a fertilidade do solo, a altitude, a poluição atmosférica, a salinidade, além dos estímulos mecânicos e ataques de patógenos; os quais estão correlacionados, atuando em conjunto sob as taxas de metabólitos secundários (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; YANG et al., 2018).

O papel ecológico dos produtos naturais vegetais é diverso. Apesar de não estarem envolvidos nos processos vitais, os metabólitos especiais são de extrema importância para que as plantas tenham sucesso no ciclo vital. A ação de alguns metabólitos secundários na planta pode estar relacionada com a proteção contra foto-destruição causada pelas radiações ultravioleta, atuando na absorção e dissipação da energia solar (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

A polinização e a dispersão de sementes, processos indispensáveis à reprodução e propagação das plantas, também envolvem esses componentes orgânicos, pois alguns metabólitos especiais possuem odores, cores ou sabores que servem para atrair polinizadores e/ou dispersores (BAKKALI et al., 2008; VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). A

atividade dessas micromoléculas pode, inclusive, regular a atividade de microrganismos com os quais vivem em simbiose, como no caso de plantas que, pela produção de exsudados da raiz, podem regular a quantidade de sideróforos e antibióticos produzidos por rizobactérias (TAIZ et al., 2017).

Além disso, produtos do metabolismo secundário podem, dentre outras funções, estar envolvidos nas defesas induzidas de plantas, em resposta a ataques de herbívoros ou patógenos (TAIZ et al., 2017). Essas defesas podem acontecer de algumas maneiras: pela produção de compostos que podem repelir herbívoros; ou que podem ser tóxicos, trazendo efeitos negativos ao crescimento e desenvolvimento dos organismos que o consomem; ou ainda, alguns que podem atrair predadores naturais dos organismos que atacam as plantas (TAIZ et al., 2017). A ação dessas substâncias na defesa induzida em plantas pode ter amplitude maior ainda, tendo em vista que alguns compostos voláteis produzidos a partir de um ataque podem servir como sinal sistêmico na planta atacada, induzindo a produção destes em outras partes dela, além de poderem atuar como sinais de longa distância, induzindo a expressão de genes de defesa em plantas vizinhas (TAIZ et al., 2017).

Como vimos, são variadas as funções ecológicas desempenhadas por esses produtos nas plantas, mas, por serem específicos de determinados grupos, diante da enorme biodiversidade de plantas na Terra, a quantidade de compostos secundários diferentes produzidos é bem vasta. Esses compostos possuem enorme potencial farmacológico para humanos que, muitas vezes, está relacionado com o papel desempenhado por eles nas suas produtoras, como nos casos em que os compostos que naturalmente atuam na defesa da planta contra microrganismos mas que podem, dependendo do nível de citotoxicidade, servir como medicamentos antibióticos (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). Dentre estes metabólitos especiais, de acordo com sua composição química, podemos citar os compostos fenólicos, alcaloides e terpenos.

Os compostos fenólicos são definidos pela presença de um ou mais grupos hidroxila ligados diretamente a um anel aromático e, de acordo com a composição e/ou estrutura química, são subdivididos em classes, dentre as quais se encontram os flavonoides e suas subclasses, taninos de diferentes tipos, lignanas, ácidos fenólicos, entre outras (VERMERRIS; NICHOLSON, 2006). Esses metabólitos secundários conferem às plantas que os produzem significativa importância medicinal. Martins et al. (2011) afirmam que diante da diversidade de benefícios que os compostos fenólicos trazem à saúde humana, pesquisas com o objetivo de encontrar fontes naturais desses compostos tem sido intensificadas. Os benefícios desse

grupo de metabólitos à saúde podem ser verificados, por exemplo, através das atividades atribuídas aos flavonoides. Wang, Li e Bi (2018), na revisão sobre flavonoides bioativos, trazem inúmeras pesquisas que atribuem a esta classe de compostos fenólicos atividades antivirais, antibacterianas, antitumorais, antioxidantes, cardioprotetoras, anti-inflamatórias, hipolipoglicêmicas, entre outras.

Os alcaloides são compostos nitrogenados, contendo um ou mais átomos de nitrogênio, de baixo peso molecular (DEWICK, 2009). Esses compostos, de acordo com sua estrutura e/ou origem do nitrogênio, são subdivididos em alcaloides verdadeiros, aqueles derivados de aminoácidos e que possuem nitrogênio em heterociclo; protoalcaloides, os que possuem nitrogênio fora do heterociclo; e pseudoalcaloides, aqueles que não se originam de aminoácidos mas incorporam nitrogênio por meio de reações diversas (KLEIN-JÚNIOR; HENRIQUES, 2017). De acordo com estes autores, o uso terapêutico dos alcaloides é milenar, sendo tradicionalmente utilizados para o tratamento de diversas patologias, além de utilizações em rituais religiosos, feitiçaria e assassinatos, por conta dos efeitos psicotróficos e pela toxicidade apresentados por alguns desses metabólitos. Assim como a variedade estrutural, o potencial farmacológico desses compostos é extenso. Apesar de alguns alcaloides poderem apresentar propriedades hepatotóxicas, neurotóxicas e carcinogênicas (FALCÃO et al., 2008), outros podem manifestar alguns efeitos medicinais relevantes como: analgésicos (por exemplo morfina, extraída da papoula); antitumorais (por exemplo, vimblastina e vincristina, extraídos de *Catharanthus roseus*) (KLEIN-JÚNIOR; HENRIQUES, 2017); anti-inflamatórios (BARBOSA-FILHO et al., 2006); antibacterianos e antivirais (CUSHNIE; CUSHNIE; LAMB, 2014), antidepressivos (HAMID; RAMLI; YUSOFF, 2017); antimaláricos (ONGUÉNÉ et al., 2013).

Terpenos constituem-se como um grande grupo de produtos naturais derivados do isopreno (5C) (DEWICK, 2009). O isopreno é produzido naturalmente no citoplasma ou nos plastídeos, mas a formação de terpenos depende da ligação de radicais fosfatos a este composto, formando duas unidades isoprenoativas: o difosfato de isopentenila (IPP) e o difosfato de dimetilalila (DMAPP) (DEWICK, 2009; HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017). Os terpenoides, através da condensação de unidades isoprenicas, em ligações do tipo cabeça cauda, e podem ser classificados como hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), esteresterpenos (C25), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40), sendo os mono e sesqui os principais componentes de óleos essenciais (DEWICK, 2009; HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017). Não diferente dos outros

grupos de metabólitos, estudos apontam uma série de atividades potencialmente terapêuticas para representantes deste grupo. Entre as propriedades biológicas atribuídas aos terpenóides estão: atividades antimicrobianas, antifúngicas, antivirais, anti-hiperglicêmicas, anti-inflamatórias, ação quimiopreventiva e quimioterápica (PADUCH et al., 2007), algumas atividades sobre o SNC (antinociceptiva, ansiolítica, sedativa, anti-convulsivante, entre outras) (PASSOS et al., 2009); antiparasitária, com ação antiesquistossomática (SILVA et al., 2014) e antileishmaniose *in vitro* (ARRUDA et al., 2005), por exemplo; entre outras.

2.2.1. Óleos essenciais: composição química e potenciais terapêuticos e comerciais

Óleos essenciais (OE) são líquidos hidrofóbicos de alta volatilidade, por isso, são também chamados de óleos voláteis (PANDEY et al., 2017). Esses óleos são constituídos por uma mistura complexa de compostos aromáticos, geralmente com odor forte, são solúveis em lipídios e solventes orgânicos, possuem uma densidade geralmente menor que a da água e são produzidos naturalmente como metabólitos secundários por plantas, geralmente localizadas em países temperados a quentes, como países mediterrâneos e tropicais (BAKKALI et al., 2008; PANDEY et al., 2017; VALDIVIESO-UGARTE et al., 2019). OE podem ser obtidos a partir de diferentes órgãos das plantas aromáticas como folhas, brotos, flores, caules, sementes, raízes, frutos, cascas e madeira por exemplo, sendo armazenados em células secretoras, células epidérmicas, cavidades, canais ou em tricomas glandulares (BAKKALI et al., 2008; TARIQ et al., 2019).

Os óleos voláteis podem ser constituídos por vários compostos com diferentes concentrações (BAKKALI et al., 2008; TARIQ et al., 2019). A maioria dos componentes presentes nesses óleos possuem estrutura classificada como terpenoide² ou fenilpropanoide (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017), sendo, os primeiros, os mais representativos, principalmente os monoterpenos (10C) e os sesquiterpenos (15C) (BAKKALI et al., 2008; VALDIVIESO-UGARTE et al., 2019). Dentre os componentes dos óleos voláteis, geralmente entre 2 e 3 são majoritários, os quais representam 20-70% da sua composição, além de outros componentes aromáticos e alifáticos em baixas concentrações (BAKALLI et al., 2008; TARIQ et al., 2019). É importante destacar, no entanto, que apesar de via de regra os OE apresentarem constituintes majoritários, a composição destes e a quantidade de compostos presentes é variável, tendo em vista a variabilidade genética intraespecífica e a influência que

² Nome dado ao terpeno que contém oxigênio (BAKKALI et al., 2008).

fatores bióticos e abióticos podem ter sobre a expressão gênica, como evidenciado anteriormente.

O OE de três quimiotipos de *Lippia alba*, espécie do mesmo gênero do objeto deste trabalho, provenientes do Rio de Janeiro, Ceará e São Paulo, por exemplo, apresentaram diferenças na quantidade total de compostos, bem como no constituinte majoritário, mesmo sendo cultivados lado a lado em um mesmo canteiro (TAVARES et al., 2005). Neste trabalho de Taveres e colaboradores (2005) foram identificados 29 componentes no quimiotipo proveniente do Rio de Janeiro, sendo o citral (geranial + neral) seu componente majoritário; 26 componentes no óleo extraído do quimiotipo vindo do Ceará, o qual tinha a carvona como constituinte majoritário; e 42 constituintes no terceiro, que teve uma maior concentração de linalol em comparação aos demais compostos. Uma ligeira diminuição nas concentrações dos constituintes majoritários durante a época de floração nos três quimiotipos analisados foi também observada, sem alteração da composição qualitativa dos óleos essenciais, evidenciando a influência do estágio de desenvolvimento da planta no seu metabolismo secundário.

Os compostos presentes nos óleos essenciais são os responsáveis pelas atividades desempenhadas por eles (VALDIVIESO-UGARTE et al., 2019). Para as plantas, os óleos voláteis, assim como outros metabólitos secundários, apresentam papel ecológico diverso, podendo tanto favorecer a polinização e/ou a dispersão de sementes, através da atração de agentes, como podendo atuar na defesa das plantas agindo de modo a repelir insetos indesejáveis ou protegendo as plantas contra bactérias, fungos, vírus e até mesmo contra herbívoros, por meio da redução da sua palatabilidade (BAKALLI et al., 2008). É importante lembrar que o papel ecológico desempenhado pelos metabólitos secundários está diretamente relacionado com o potencial biotecnológico deles.

Óleos voláteis são conhecidos por diversas propriedades que conferem a eles significativo potencial comercial e terapêuticos, como, por exemplo, o de *Pogostemon cablin* Benth, fonte de matérias-primas para indústrias de fragrâncias, cosméticos e perfumaria (SWAMY; SINIAH, 2015; TARIQ et al., 2019). Outros podem apresentar efeitos inseticidas (LIAO et al., 2016) e alelopáticos (ABD EL-GAWAD; EL-AMIER; BONANOMI, 2018), que podem torná-los potenciais substitutos de inseticidas e herbicidas sintéticos. Com relação aos potenciais medicinais dos OE, várias são as formas de utilização e os efeitos apresentados pelos óleos nos cuidados com a saúde humana. A aromaterapia consiste na aplicação (sistêmica ou tópica) de OE para que seja atingida ou mantida a

sensação de bem-estar físico, mental e/ou espiritual de pacientes (CORAZZA et al., 2019). A utilização de óleos voláteis na aromaterapia, bem como nos sistemas tradicionais e complementares de medicina, tem aumentado consideravelmente nos EUA, Europa, África e países asiáticos (RAUT; KARUPPAYIL, 2014). Apesar de não terem sido evidenciados os mecanismos, massagens com aromaterapia, além de afetarem emoções, parecem apresentar efeitos sob o relaxamento muscular e melhoria da circulação sanguínea (KAWABATA; HATA; AOKI, 2020).

Uma propriedade medicinal de OE que se destaca é a antimicrobiana, tendo em vista que alguns deles estão conseguindo agir contra cepas bacterianas resistentes a medicamentos, podendo atuar de maneira bacteriostática ou bactericida (TARIQ et al., 2019). Alguns OE têm se mostrado eficazes tanto contra bactérias gram-positivas quanto contra as gram-negativas, inclusive contra bactérias difíceis de serem combatidas como a *Helicobacter pylori*, que coloniza estômagos humanos, e contra biofilmes microbianos (TARIQ et al., 2019). No artigo de revisão de Valdivieso-Ugarte e colaboradores (2019), 49 artigos publicados entre dezembro de 2014 e abril de 2019 que tratavam do potencial antimicrobiano, dos quais, 43 descreveram resultados positivos de óleos de diversas espécies sobre várias bactérias. Alguns se destacaram pelos efeitos potentes de seus óleos frente a bactérias, como: o orégano cultivado (*Origanum vulgare*), a sálvia (*Salvia officinalis*) e o tomilho (*Thymus vulgaris*) (VALDIVIESO-UGARTE et al., 2019).

Óleos produzidos por plantas aromáticas tem se mostrado eficientes também contra fungos (RAUT; KARUPPAYIL, 2014). A eficiência de OE contra bactérias e fungos patogênicos se estende também a agentes fitopatogênicos, que são capazes de causar enorme perda de qualidade e quantidade durante o cultivo, transporte e armazenamento de cereais, leguminosas e frutas, por exemplo, gerando grandes prejuízos econômicos (PANDEY et al., 2017). Por esse motivo, tem crescido nos últimos anos pesquisas sobre a utilização de óleos voláteis na preservação de alimentos e tem sido observado que o uso de OE, em formas puras ou formuladas, tem aumentado significativamente a validade de alguns produtos alimentícios (PANDEY et al., 2017). O OE de *Lippia alba*, por exemplo, apresentou efeito fungistático e fungicida, reduzindo também a produção de aflatoxina, em estudo com sementes de *Vigna radiata* (PANDEY; SONKER; SINGH; 2016). Este fungicida natural pode ser uma alternativa aos fungicidas comerciais, trazendo grandes benefícios econômicos, uma vez que *Vigna radiata*, em condições inadequadas de trânsito e armazenamento, possui perda de produção estimada entre 30 – 40%.

Vírus e protozoários também podem ser combatidos por alguns óleos aromáticos provenientes de plantas (RAUT; KARUPPAYIL, 2014). No artigo de revisão de Tariq e colaboradores (2019), são evidenciados alguns OE, obtidos de folhas ou partes aéreas de plantas, que possuem relevantes atividades antivirais contra vírus com genoma de RNA e DNA que são considerados patogênicos para seres humanos. A revisão bibliográfica de Raut e Karuppaiyl (2014) também traz alguns OE com atividade antivirais, os quais podem apresentar diferentes efeitos sobre estes parasitas, como: a inativação de partículas, prevenção ou inibição da replicação, inativação viral, bem como efeito virucida. Com relação à ação antiprotozoários, alguns óleos apresentam resultados significativos contra causadores de protozooses humanas (RAUT; KARUPPAYIL, 2014), como é o caso do OE de *Origanum onites* que, em estudo *in vitro*, apresentou efeitos antileishmaniais e antiplasmodiais moderados e mostrou-se significativamente ativo contra o *Trypanosoma brucei rhodesiense*, protozoário causador da tripanossomíase humana africana (TASDEMIR et al., 2019).

O potencial terapêutico de OE, no entanto, vai muito além das ações contra patógenos. O estresse oxidativo devido à superprodução de espécies reativas de oxigênio é considerado um mecanismo patogênico associado a diversos problemas de saúde, como a doença de Parkinson e o câncer (RAUT; KARUPPAYIL, 2014; WEI et al., 2020). Além disso, a oxidação lipídica pode estar associada à deterioração de alimentos, reduzindo a segurança e qualidade nutricional através da formação de compostos tóxicos com odores e sabores desagradáveis (DEL RÉ; JORGE, 2012). Agentes antioxidantes, como alguns OE e/ou substâncias isoladas de óleos, entretanto, são capazes de manter o equilíbrio celular, eliminando radicais livres (RAUT; KARUPPAYIL, 2014; MIGUEL, 2010) e/ou suprimir a deterioração de alimentos (VALDIVIESO-UGARTE et al., 2019). Esta propriedade, então, confere a alguns óleos voláteis potencial medicinal e comercial, já que além de poderem agir na prevenção de doenças (RAUT; KARUPPAYIL, 2014), alguns OE, como é o caso dos óleos florais de *Fagopyrum esculentum*, *F. tataticum* e *F. cymosum*, por apresentarem notável atividade antioxidante, tem possibilidade de serem usados futuramente na agricultura ou indústria de alimentos, como alternativa aos sintéticos (ZHAO et al., 2018).

A ação de OE ou de substâncias isoladas a partir destes, relacionadas ao câncer, vai além da quimioprevenção obtida através da atividade antioxidante. Outras formas de atividade de certos óleos ou de substâncias isoladas a partir deles os tornam capazes também de agir na redução de certos tumores, como os pulmonares, mamários, hepáticos, de cólon, entre outros (RAUT; KARUPPAYIL, 2014); e na indução de apoptose (SAJID et al., 2018). A atividade

anticâncer de OE pode ser exemplificada pelo OE de *Pinus roxburghii* que, no estudo *in vitro* de Sajid e colaboradores (2018), demonstrou indução de citotoxicidade em algumas células de câncer, causando morte de células, inibição de proliferação e induzindo apoptose, em baixas concentrações.

O OE de *Pinus roxburghii* também foi capaz de inibir a inflamação induzida *in vitro*, no estudo supracitado. A ação anti-inflamatória de óleos essenciais é outra atividade muito relevante para a área medicinal e conhecida há um tempo considerável. Em 1989, Ocete e colaboradores já relatavam tal efeito para o OE de *Bupleurum gibraltarium*, a partir de testes realizados em animais. O interesse no estudo deste efeito em óleos voláteis permanece, e os resultados tem sido relevantes tanto *in vitro* (ALVES-SILVA et al., 2020) quanto *in vivo* (SALDANHA et al., 2019). A atividade anti-inflamatória de OE já era esperada por conta da atividade antioxidante que eles apresentam, já que a explosão oxidativa que ocorre em diversas células (monócitos, neutrófilos, eosinófilos e macrófagos) é uma das respostas que o corpo pode dar ao se deparar com um processo inflamatório (MIGUEL, 2010). Contudo, a atividade anti-inflamatória de alguns óleos voláteis não está associada apenas com a atividade antioxidante, eles podem, dentre outras ações, atuar na expressão de genes pró-inflamatórios e interagir com cascatas de sinalização que envolvem citocinas e com fatores reguladores de transcrição (MIGUEL, 2010).

A atuação de alguns óleos na área farmacológica pode também estar associada à diminuição da nocicepção, que está presente em diversos táxons animais e pode ser entendida como o mecanismo que os permite reconhecer, através de neurônios especializados (nociceptores), estímulos (térmicos, mecânicos, químicos) potencialmente perigosos aos tecidos, que podem desencadear comportamentos de proteção e serem percebidos pelo cérebro como dolorosos (TRACEY JR., 2017). A Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) está buscando propor uma nova definição para dor, e segundo esta nova proposta, dor pode ser entendida como uma experiência sensorial e emocional causada, geralmente, por lesão tecidual real ou potencial ou por causas semelhantes a estas (IASP, 2020). Quando a IASP define dor, ela traz uma separação entre este termo e o termo nocicepção, uma vez que, ao contrário da nocicepção, a dor envolve também experiências emocionais, sendo, portanto, mais aplicável a humanos do que a animais (KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008).

Saldanha e colaboradores (2019) relatam, além da atividade anti-inflamatória citada acima, relevante efeito antinociceptivo para o OE de *Duguetia furfuracea* em camundongos. Diversos estudos recentes têm apontado esse efeito para outros óleos essenciais (DONALD;

FERNANDES; BOYLAN, 2016; DE OLIVEIRA JR et al., 2017; COELHO-DE-SOUZA et al., 2018), inclusive através da inalação (SCUTERI et al., 2018). Mesmo levando em consideração que, de acordo com Tracey Jr. (2017), a dor pode ocorrer na ausência de nocicepção e vice-versa, atividades antinociceptivas de óleos essenciais podem trazer grandes indicativos de possíveis efeitos analgésicos em humanos. Como a dor é uma sensação extremamente desagradável, medicamentos que a aliviem são sempre muito requisitados. Analgésicos extremamente poderosos já foram isolados a partir de espécies vegetais, como é o caso da morfina; e o isolamento desta culminou em um direcionamento à descoberta de novos fármacos a partir de plantas, como vimos na sessão 2.1 (BERNARDINI et al., 2018).

Além de todas as atividades citadas, os óleos voláteis podem apresentar outros efeitos extremamente relevantes para a medicina, como: antimutagênicos, antidiabéticos, imunomoduladores, por exemplo (RAUT; KARUPPAYIL, 2014; VALDIVIESO-UGARTE et al., 2019). Óleos essenciais, todavia, podem também promover efeitos citotóxicos em células, o que pode provocar efeitos colaterais indesejáveis (RAUT; KARUPPAYIL, 2014). Muitos estudos estão sendo feitos com o intuito de explorar as aplicações comerciais e o amplo espectro de atividades biológicas apresentadas pelos óleos essenciais e, como vimos, os resultados tem se mostrado muito promissores, contudo, a utilização segura de OE na saúde humana ainda depende de avaliações para desvendar e isolar os constituintes ativos (ou avaliar se eles possuem efeito sinérgico), confirmar efeitos positivos, avaliar possíveis efeitos adversos e determinar doses seguras de uso.

2.3. Gênero *Lippia* (Verbenaceae): um enfoque na composição química e no potencial antinociceptivo e anti-inflamatório

Verbenaceae é uma família de angiospermas que engloba plantas geralmente aromáticas que podem se apresentar desde a forma de ervas até arvoretas, podendo algumas delas se apresentarem como trepadeiras também (SALIMENA; FRANÇA; SILVA, 2009). Verbenaceae era uma família de grandes proporções, todavia estudos filogenéticos reorganizaram-na, colocando muitas espécies de Verbenaceae em outras famílias, em especial a Lamiaceae (MARX et al., 2010). Apesar da reorganização e da perda de muitas espécies, atualmente, Verbenaceae continua relativamente grande e conta com 34 gêneros e 1200 espécies no mundo, muito presente em regiões temperadas quentes e tropicais das Américas no Norte e Sul (FRANÇA; ATKINS, 2009; MARX et al., 2010). No Brasil, essa família pode ser encontrada em todo o território nacional, nos mais diversos tipos de vegetação, dividida

em 16 gêneros e possuindo 286 espécies, das quais 187 são endêmicas (SALIMENA et al., 2015).

A importância de Verbenaceae é diversificada, inclui espécies usadas em ornamentações, como especiarias, como fonte de madeira, espécies consideradas daninhas (MARX et al., 2010), além daquelas utilizadas tradicionalmente nos cuidados com a saúde (SANTOS et al., 2016). Entre os gêneros de Verbenaceae de grande importância, encontra-se o gênero *Lippia*, com cerca de 200 espécies (PASCUAL et al., 2001), das quais 82 estão presentes no Brasil e 61 são endêmicas (SALIMENA; MULGURA, 2015). Espécies do gênero *Lippia* são tradicionalmente utilizadas para diversos fins, entre os quais se encontram o uso como tempero culinário, inclusive substituindo o orégano em vários pratos; como cosmético; como larvicida ou repelente; e, principalmente, no tratamento de enfermidades ou sintomas, principalmente distúrbios gastrointestinais, doenças respiratórias, no tratamento da dor, inflamação e febre, sendo também usados como antiespasmódicos, anti-hipertensivos; antissépticos, por exemplo; utilizando-se, na maioria das vezes, o chá das folhas (PASCUAL et al., 2001; AGRA et al., 2008; SANTOS et al., 2016; SIQUEIRA-LIMA et al., 2019).

Algumas espécies do gênero *Lippia* já começaram a receber reconhecimento do Ministério da Saúde por suas propriedades terapêuticas, demonstrando também a possibilidade de gerar produtos biotecnológicos a partir destas. Fitoterápicos a base de *Lippia alba* e *Lippia sidoides*, por exemplo, já são produzidos e distribuídos à população no interior do Piauí através do Programa Farmácia Viva (PEREIRA et al., 2015). Antissépticos bucais produzidos a partir de folhas de *Lippia sidoides* também são distribuídos à população de Maracanaú (CE), através do mesmo programa, para o tratamento de aftas, halitose e inflamações na boca e garganta (SILVA et al., 2006). Além disso, é importante lembrar que *Lippia sidoides* já consta na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (Rênisus), divulgada pelo Ministério da Saúde em 2009 (BRASIL, 2009).

O uso tradicional de espécies do gênero tem despertado, nas últimas décadas, o interesse de muitos pesquisadores da área de plantas medicinais, que tem buscado investigar as propriedades desse gênero de plantas aromáticas e/ou os metabólitos secundários que poderiam ser responsáveis por elas. Entre as partes da planta, as folhas correspondem as partes mais investigadas, possivelmente pela forte utilização popular. A composição química do gênero é variável e depende de diversos fatores bióticos e abióticos, como citados na sessão 2.2. Os óleos essenciais de *Lippia*, investigados na maioria dos trabalhos do levantamento dessa pesquisa, são geralmente ricos em monoterpenos e sesquiterpenos, entre

os quais o carvacrol, timol e o ρ -cimeno, por exemplo, foram encontrados com bastante frequência, corroborando com as revisões feitas por Pascual e colaboradores (2001) e Siqueira-Lima e colaboradores (2019).

De acordo com Siqueira-Lima et al. (2019), terpenos e terpenoides são os principais constituintes de óleos essenciais de muitas plantas e flores medicinais, sendo entidades com baixo peso molecular e geralmente com baixa solubilidade em água que possibilitam penetrar a corrente sanguínea e produzir diversos efeitos. As propriedades apontadas para este gênero são diversificadas, envolvem tanto aquelas para uso na saúde humana, quando algumas para uso veterinário, além daquelas que podem servir para a agricultura e para indústria alimentícia. Propriedades antimicrobianas, antifúngicas, anti-hiperlipidêmicas, virucidas, antioxidantes, ansiolíticas, antinociceptivas, anti-inflamatórias, anestésicas, antiparasitárias já foram apontadas. Algumas dessas pesquisas e um resumo dos seus resultados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Atividade e/ou composição química atribuídas a espécies de *Lippia* (continua)

Espécie	Atividade	Parte estudada	Produto testado	Principais compostos	Referência
<i>Lippia alba</i>	Antinociceptiva e anti-inflamatória	Folhas de dois quimiotipos	OE	Citral (I); Carvona (II)	Viana et al., 1998
	Antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Listeria innocua</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i>	Folhas	OE	NA	Machado; Pereira; Batista, 2014
	Virucida <i>in vitro</i> contra o DENV-1,2,3 e 4.	NI	OE	Carvona e limoneno	Ocazionez et al., 2010
	Ansiolítica	Folhas de três quimiotipos	OE	citral, β -mirceno e limoneno (I); citral e limoneno (II); carvona e limoneno (III);	Vale et al., 1999
	Acaricida contra <i>Rhipicephalus microplus</i>	Folhas	OE, quimiotipos citrais, quimiotipos de carvona, citral purificado e enantiômeros	Carvona, limoneno e citral	Peixoto et al., 2015

			de carvona e limoneno		
	Anestésico e redutor de estresse	Folhas	OE	Linalol, β -mirceno e eucaliptol	Sena et al., 2016
	Anticonvulsivante para os quimiotipos I, III e VI	Folhas de sete quimiotipos	EE	Linalol (I); geranial e acetato de mirtenil (III e VI)	Neto et al., 2009
	Amebicida contra trofozoítos de <i>Acanthamoeba polyphaga</i>	Folhas	OE e carvona isolada	Carvona e limoneno	Santos et al., 2016
	Antioxidante; antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bartonella cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> e <i>Shigella sonnei</i> ; e ausência de toxicidade pelo bioensaio de letalidade de camarão em salmoura	Folhas	EM	Alcalóides, esteróides, taninos e saponinas e flavonóides	Fabri et al., 2011
<i>Lippia berlandieri</i>	Antifúngica contra <i>Aspergillus niger</i> e <i>Penicillium digitatum</i>	NI	Vapor de OE	NA	Avila-Sosa et al., 2010
<i>Lippia citriodora</i>	Virucida <i>in vitro</i> contra o DENV-1,2,3 e 4.	NI	OE	Geranial e neral	Ocazionez et al., 2010
<i>Lippia dulcis</i>	Anti-inflamatória	Partes aéreas	EE	NA	Pérez et al., 2005
<i>Lippia grandis</i>	Antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Escherichia coli</i> entre outras.	Folhas	OE	Carvacrol, ρ -quimeno e timol	Sarrazin et al., 2012
<i>Lippia gracilis</i>	Antinociceptiva, anti-inflamatória e moderada atividade antioxidante	Folhas	OE	Timol, ρ -quimeno, metil-timol e carvacrol (sob estresse hídrico); timol, ρ -cimeno, metil-timol, γ -terpineno (sem estresse hídrico)	Mendes et al., 2010

	Amebicida contra trofozoítos de <i>Acanthamoeba polyphaga</i>	Folhas	OE e carvacrol isolado	Carvacrol, ρ -quimeno e γ -terpineno	Santos et al., 2016
	Antinociceptiva, anti-inflamatória e ausência de toxicidade para as doses testadas	Folhas	OE	Carvacrol, o-cimeno, γ -terpineno e β -cariofileno	Guilhon et al., 2011
	Anti-inflamatório e cicatrizante	Folhas	Timol isolado de OE	NA	Riella et al., 2012
	Antimicrobiana contra <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> , entre outras.	Folhas	OE	Timol e carvacrol	Bitu et al., 2012
	Acaricida contra <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	Folhas de quatro genótipos	OE	Timol (I) Carvacrol (II, III e IV)	Cruz et al., 2013
<i>Lippia grata</i>	Anti-hiperalgésica e antioxidante	Folhas	OE complexado com β -ciclodextrina	Cânfora, trans-cariofileno e biciclogermacreno	Siqueira-Lima et al., 2017
<i>Lippia graveolens</i>	Antiprotozoária contra <i>Entamoeba histolytica</i>	Folhas	EM, frações e carvacrol isolado	NA	Quintanilla-Licea et al., 2014
	Antimicrobiana moderada, espasmolítica e ausência de toxicidade	Folhas	OE	Carvacrol e eucaliptol	Rivero-Cruz et al., 2011
<i>Lippia hermannioides</i>	Antioxidante, antimicrobiana contra <i>Bartonella cereus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e ausência de toxicidade pelo bioensaio de letalidade de camarão em salmoura	Folhas	EM	Alcaloides, triterpenóides, taninos, saponinas e flavonoides	Fabri et al., 2011
<i>Lippia javanica</i>	Antifúngica contra fungos fitopatogênicos	Partes aéreas	EAq, ED, EH e EM	NA	Thembo et al., 2010
<i>Lippia lasiocalycina</i>	Fungicida contra <i>Candida albicans</i>	Folhas	OE	Óxido de piperiteno e limoneno	De Almeida et al., 2018
<i>Lippia multiflora</i>	Analgésica e antipirética	Folhas	OE	ρ -quimeno, timol e acetato de timil	Abena et al., 2003

<i>Lippia nodiflora</i>	Anti-hiperlipidêmica	Planta inteira	γ -sitosterol isolado de EM	NA	Balamurugan; Duraipandiyan; Ignacimuthu, 2011
<i>Lippia pedunculosa</i>	Amebicida contra trofozoítos de <i>Acanthamoeba polyphaga</i>	Folhas	OE e rotundifolona isolada	Rotundifolona e limoneno	Santos et al., 2016
<i>Lippia pseudothea</i>	Antioxidante, antimicrobiana contra <i>Bartonella cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i> , bem como ausência de toxicidade pelo bioensaio de letalidade de camarão em salmoura	Folhas	EM	Alcaloides, triterpenóides, taninos, saponinas e flavonoides	Fabri et al., 2011
<i>Lippia rehmannii</i>	Antifúngica contra fungos fitopatogênicos	Partes aéreas de dezesseis amostras	OE	Linalol (Z07), geranial e neral (demais amostras)	Linde et al., 2010
<i>Lippia rubella</i>	Antioxidante, antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bartonella cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> e <i>Shigella sonnei</i>	Folhas	EM	Alcaloides, triterpenóides, taninos, saponinas e flavonoides	Fabri et al., 2011
<i>Lippia sidoides</i> (= <i>L. origanoides</i>)	Anti-inflamatória tópica	Folhas	OE e timol	Timol, ρ -quimeno e etil-metil-carvacrol	Veras et al., 2013
	Potencializadora do efeito antibiótico de aminoglicosídeos e β -lactâmicos	Folhas	OE e timol isolado	Timol	Veras et al., 2017
	Antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Folhas	OE e timol isolado	Timol	Veras et al., 2012
	Amebicida contra trofozoítos de <i>Acanthamoeba polyphaga</i>	Folhas	OE e carvacrol isolado	Carvacrol, ρ -quimeno e γ -terpineno	Santos et al., 2016
	Antifúngica contra <i>Candida sp.</i>	Folhas	EE	Compostos fenólicos e esteróides	Farias et al., 2012

	Antinociceptivo	Partes aéreas	EHE	NA	Oliveira et al., 2014
	Leishmanicida <i>in vitro</i>	Folhas de dois acessos	OE, timol e carvacrol isolados	Timol (I) e carvacrol (II)	Scher et al., 2012
	Antioxidante, acaricida, larvicida e inseticida	Folhas		Carvacrol, ρ -quimeno e timol	Mar et al., 2018
	Antioxidante, antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bartonella cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>Cryptococcus neoformans</i> , bem como ausência de toxicidade pelo bioensaio de letalidade de camarão em salmoura	Folhas	EM	Alcaloides, triterpenóides, taninos e flavonoides	Fabri et al., 2011
	Acaricida contra <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	Folhas de quatro genótipos	OE	Timol (I, II e III); carvacrol (IV)	Soares et al., 2016
<i>Lippia thymoides</i>	Antioxidantes, antimicrobiana, antipirética, sem toxicidade	Folhas e caule	EM, ED, EH e EAE	EM e EAE com maiores teores de compostos fenólicos totais	Silva et al., 2015
<i>Lippia triplinervis</i>	Acaricida contra <i>Rhipicephalus microplus</i>	Partes aéreas	OE	Carvacrol, timol e ρ -quimeno	Lage et al., 2013
<i>Lippia turbinata</i>	Antioxidante e anti-lipase	NI	OE	α - limoneno, 1,8 - cineol, óxido de cariofileno, β - pineno e sabineno	Quiroga et al., 2013
Legenda: OE (óleo essencial); EAE (extrato acetato de etila), EAq (extrato aquoso), ED (extrato diclorometano), EE (extrato etanólico); EH (extrato hexânico), EHE (Extrato hidrometanólico), EM (extrato metanólico); NI (não informado); NA (não analisado).					

Dentre as diversas propriedades farmacológicas do gênero, merecem destaque as atividades antinociceptivas e anti-inflamatórias. A dor pode ser entendida como uma alerta de alguma alteração biológica e, muitas vezes, pode gerar estresse físico e emocional a quem sente (RUVIARO; FILIPPIN, 2012). A dor, dentre outras causas, pode ser um dos sinais clínicos de um processo inflamatório, que também é uma alerta do sistema imunológico e pode envolver outros sintomas como o calor, o rubor e o edema, por exemplo. O alívio da

sensação dolorosa, associada ou não a inflamação, e a cessação dos sintomas do processo inflamatório sempre foram grandes preocupações dos seres humanos, desde os primórdios da humanidade. A dor, inclusive, continua sendo um sintoma bastante referido por pacientes da atenção primárias à saúde (RUVIARO; FILIPPIN, 2012).

Na medicina convencional, geralmente os tratamentos de dores e inflamações são feitos com medicamentos sintéticos, que podem apresentar inúmeros efeitos adversos. Na medicina tradicional, no entanto, as plantas continuam sendo grandes aliadas. Como vimos na Tabela 1, a potencialidade do gênero *Lippia* com relação aos efeitos analgésicos e anti-inflamatórios já vem sendo revelado. Viana e colaboradores, em 1998, já relatavam o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório do óleo essencial de dois quimiotipos de *Lippia alba*, espécie popularmente conhecida como “cidreira” (VIANA et al., 1998) e uma das mais estudadas deste gênero. O óleo essencial das folhas de *Lippia gracilis*, por exemplo, foi capaz de reduzir significativamente os efeitos fisiológicos da dor e da inflamação em camundongos (MENDES et al., 2010; GUILHON et al., 2011), validando o uso tradicional desta espécie.

Efeitos analgésicos e antipiréticos significativos do OE de *Lippia multiflora* já foram verificados em ratos (ABENA et al., 2003). Potencialidades anti-inflamatórias de *Lippia dulcis* (PÉREZ et al., 2005) e *Lippia sidoides* (VERAS et al., 2013) também já foram reveladas, esta última, inclusive, de forma tópica. Embora o gênero possua um enorme potencial, pesquisas com o objetivo de investigar essas atividades ainda são escassas. Na revisão de literatura feita por Siqueira-Lima e colaboradores (2019), cujo objetivo era levantar estudos pré-clínicos em modelos animais que investigassem espécies de *Lippia* com ação no Sistema Nervoso Central (SNC), foram identificadas apenas nove espécies estudadas. Confrontando este número com a quantidade de espécies de *Lippia* registradas, o contraste é bem perceptível. O fato de o Brasil ser um grande centro de diversidade e contar com mais de 180 espécies endêmicas, traz uma responsabilidade ainda maior aos pesquisadores brasileiros e reforça a necessidade de compreender melhor o gênero, suas propriedades farmacológicas, seus componentes químicos, sua toxicidade, de modo a fornecer subsídios para uma utilização popular segura e para produção de novos fitoterápicos a base de *Lippia*.

2.3.1. *Lippia hermannioides*

Lippia hermannioides Cham. é um arbusto aromático terrícola, endêmico do Brasil, distribuído nas regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, nos biomas Caatinga e Cerrado, que tem como sinônimo heterotípico *Lippia microcephala* Cham (SALIMENA et al., 2015). Esta

espécie, até o presente momento foi pouco estudada³, entretanto, a composição química e potencial terapêutico de suas folhas já começaram a ser revelados. Fabri e colaboradores (2011) relataram, após uma triagem fotoquímica, presença de alcaloides, triterpenóides, taninos, saponinas e flavonoides no extrato metanólico das folhas de *L. hermannioides*. Neste estudo, foi possível constatar também que o extrato apresentou atividade antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa* e, ainda mais forte, contra *Bartonella cereus*, além de significativa atividade antioxidante através dos métodos de eliminação do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e do poder redutor. É importante lembrar que uma atividade antioxidante pronunciada pode ser indicativa de atividade anti-inflamatória (MIGUEL, 2010). Considerando que o processo inflamatório envolve uma série de sintomas, incluindo a dor, e que o tratamento geralmente é feito com medicamentos sintéticos que podem apresentar efeitos colaterais adversos, *L. hermannioides*, assim como outras espécies do gênero, pode representar uma importante solução para o tratamento dos efeitos fisiológicos da dor e da inflamação. No entanto, são necessários estudos para elucidar tais atividades, possíveis efeitos adversos e os componentes químicos que podem estar envolvidos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta e preparação do material vegetal

O acesso de *Lippia hermannioides* Cham foi coletado na estrada de Mucugê-Ibicoara, no município de Mucugê (BA) (Latitude 13° 0' 46" S; longitude 41° 29' 5" W), a 1120m de altitude, em abril de 2018. Após coleta, foi seguido todo o tratamento convencional de herborização, o material botânico foi identificado pela Dra. Tânia Regina Santos Silva, especialista na família Verbenaceae, e a exsiccata (Figura 2) foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS), sob voucher nº 243182. Tendo realizada a identificação da espécie, por se tratar de uma espécie endêmica do Brasil, o acesso foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob nº A8EE138, nos termos da Lei nº 13.123/2015.

³ Levantamento realizado em maio de 2020 através do Portal de Periódicos da Capes, utilizando o termo indexador "*Lippia hermannioides*" encontrou apenas três pesquisas citando a espécie e nenhuma delas tratava sobre investigação das suas propriedades medicinais. Ao utilizar o termo "*Lippia microcephala*", nenhuma pesquisa foi localizada.



Figura 2. Exsicata de *Lippia hermannioides* Cham (HUEFS, 2018).

3.2. Obtenção do óleo essencial

As folhas coletadas de *Lippia hermannioides* Cham. foram secas à temperatura ambiente, ao abrigo da luz, sendo posteriormente pesadas. As folhas (727 g) foram divididas em três partes (duas partes de 245g e a outra de 237g) e trituradas, sendo posteriormente submetidas à hidrodestilação por 3 horas, utilizando o aparelho de Clevenger. Após a extração, o óleo recebeu a adição de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), para remoção de água residual, sendo posteriormente transferido para recipiente de vidro âmbar e armazenado a -22°C . O teor do óleo essencial de *Lippia hermannioides* (OELH) foi determinado pela relação entre o volume do óleo e a biomassa vegetal seca.

3.3. Análise de composição química

A análise da composição química do OELH, objetivando identificar os constituintes, o número e a concentração destes, foi feita através de cromatografia a gás com detecção por

ionização de chama (CG/DIC) e por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG/EM).

As análises por CG/DIC foram realizadas com um Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 equipado com detector de ionização de chama (DIC) e as análises foram realizadas com uma coluna capilar DB -5 (30 m x 0,25 mm X 0,25 µm), as temperaturas do injetor e do detector foram de 220°C e 240°C, respectivamente. Foi utilizado gás hélio (vazão 1 mL/min) como gás de arraste e a temperatura do forno foi programada de 60°C a 240°C (3°C/min), mantendo 240°C por 20 minutos. Na CG/EM foi utilizado um Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 acoplado a Espectrômetro de Massas CG/MS-QP 2010 Shimadzu®, com coluna capilar BPX-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), temperatura do injetor de 220°C, temperatura da interface e da fonte de ionização de 240°C. O gás hélio na vazão de 1 mL/min foi usado para arraste, a energia de ionização foi 70 eV, corrente de ionização de 0,7 kV e, assim como na CG/DIC, a temperatura do forno foi de 60°C a 240°C (3°C/min), mantendo a 240°C por 20 minutos.

As análises dos óleos foram precedidas de diluição, na qual 20 mg de cada amostra do OELH foi diluída em 1 mL de diclorometano, sendo injetado 1 µL desta solução com razão de split de 1:100. Conforme metodologia utilizada por Silva et al. (2018), foi realizada por comparação com o banco de dados (NIST 21 e NIST107) do CG/EM para identificação dos constituintes, dados da literatura (ADAMS, 2007) e através do cálculo do Índice de Kovat's (calculado pela co-injeção da amostra com uma série homóloga de n-alcenos C8-C24).

Os resultados foram expressos em porcentagem relativa de cada composto, obtida pelo método da normalização da área (%) com base nas áreas dos picos cromatográficos.

3.4. Testes farmacológicos gerais

3.4.1. Animais de experimentação

As atividades experimentais foram realizadas utilizando camundongos *Mus musculus* Linnaeus, 1758, adultos, pesando entre 25 e 35 gramas, obtidos da colônia do Biotério Central da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Em todos os testes, foram utilizados camundongos machos, exceto o teste de toxicidade aguda, que foram utilizadas fêmeas nulíparas e não grávidas, por serem mais sensíveis (OECD, 2002).

Sobre as condições de criação e alojamento dos animais no biotério, os mesmos foram mantidos em sistema convencional para biotério (*Open Caging System*), tendo o macroambiente mantido sob condições controladas: a temperatura foi mantida de 22 ± 2 ° C, a

umidade relativa (UR) do ar foi mantida em $50 \pm 10\%$ e a iluminação era mantida com ciclos de 12h claro/12h escuro, tendo o ciclo claro iniciado às 6h (FONTES; DOS SANTOS, 2013). Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, contendo cama de serragem e grade em aço inoxidável com comedouro e encaixe para bebedouro e tiveram, até o momento da saída para sala de experimentação, livre acesso a água e ração.

Quando da realização dos experimentos, no laboratório de experimentação, as bancadas e aparelhos foram higienizadas com etanol a 70% antes da chegada dos animais experimentais, os animais foram transferidos com pelo menos 1 (uma) hora de antecedência para aclimação, de forma a reduzir o estresse decorrente da mudança de ambiente. O laboratório de experimentação foi climatizado utilizando temperatura similar a usada na sala de alojamento e foram evitados ruídos e odores, para evitar qualquer tipo de interferência nos resultados.

Os animais foram usados uma única vez e depois foram eutanasiados pelo método de câmara de gás sob responsabilidade do médico veterinário do Biotério Central da UEFS. Nos termos do Art. 10, II da Lei nº 11.794/2008, a pesquisa foi submetida e aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Feira de Santana (CEUA - UEFS) sob protocolo nº 10/2019.

3.4.2. Toxicidade aguda

O teste foi baseado no guia 420 da Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD, 2002), com ligeiras adaptações e teve o objetivo de avaliar a toxicidade aguda do OELH, ou seja, verificar se, imediatamente ou alguns dias após a sua administração, ele foi capaz de causar algum efeito adverso em animais (JAMES; ROBERTS; WILLIAMS, 2000).

Camundongos fêmeas (n=5) foram deixados em jejum 4h antes do teste e foram aleatoriamente divididos em três grupos, com base nos tratamentos recebidos. Após jejum, os mesmos foram pesados e tratados, via intraperitoneal (i.p)⁴, com o OELH nas doses 300 e 2000 mg/kg (em solução salina + Tween 80 5% v/v) ou veículo (solução salina + Tween 80 5% v/v, 0,1 mL/10g).

Ao receberem os respectivos tratamentos, os camundongos permaneceram em jejum por 2h e foram observados nas primeiras 24h (principalmente nos primeiros 30, 60, 120, 180 e

⁴ Esta pesquisa optou por tratar os animais durante todos os experimentos pela via intraperitoneal, inclusive no teste de toxicidade, tendo em vista a maior rapidez no início dos efeitos e a maior biodisponibilidade desta forma de administração em comparação à administração oral.

240 minutos), para monitoramento de sinais comportamentais gerais, como alterações na pele e pelos, olhos e mucosas, alterações nos sistemas respiratório e nervoso (central e autônomo), conforme protocolo utilizado para triagem farmacológica comportamental (ALMEIDA et al., 1999). Os animais seguiram em observação por 14 dias seguidos, nos quais foram feitas as pesagens também nos 1^o, 7^o e 14^o dias, sendo eutanasiados após o término.

3.4.3. Teste da barra giratória (*rota-rod*)

Proposto por Dunham e Miya (1957), o teste do *rota-rod* é uma importante ferramenta no diagnóstico de agentes farmacológicos com efeitos relaxantes sobre músculos esqueléticos, convulsivantes ou depressores do Sistema Nervoso Central (SNC). A realização deste teste teve o objetivo de investigar se o OELH tem alguma influência sobre a atividade motora em animais e seguiu a metodologia utilizada por Bonjardin et al. (2011), com adaptações. Para tanto, os animais foram colocados numa barra giratória não escorregadia (aparelho de *rota-rod* – modelo EFF – 411 - INSIGHT- Brasil), a uma velocidade constante, para avaliação da sua capacidade de movimentação e equilíbrio na mesma (Figura 3) (MATTEI; FRANCA, 2006).

A fim de evitar uma interpretação errônea dos resultados, por uma possível incapacidade natural dos animais em manter-se na barra, 24 horas antes da realização do teste, sem administração dos tratamentos, foi feita uma seleção dos animais, na qual foram considerados aptos aqueles que permanecerem na barra giratória (à velocidade de 7 r.p.m.), em até três tentativas, por 180 segundos.

Os animais considerados aptos foram, no dia seguinte, randomicamente divididos em grupos (n=8): controle (solução salina + Tween 80 5% v/v, 0,1 mL/10g), padrão (Diazepam a 1,5 mg/kg) e experimentais (OELH nas doses 75 ou 300 mg/kg em solução salina + Tween 80 5% v/v) e após 30, 60, 90, 120 minutos da administração intraperitoneal dos tratamentos, foi registrado o tempo de permanência de cada animal na barra giratória em até 180 segundos.



Figura 3. Teste do *rota-rod*

3.5. Testes farmacológicos específicos para avaliação da atividade antinociceptiva e/ou anti-inflamatória

Os testes de avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do OELH seguiram o mesmo padrão descrito até então. Os camundongos (n=8 por grupo) foram randomicamente distribuídos em controle (solução salina + Tween 80 5% v/v, 0,1 mL/10g), padrão (indometacina 10 mg/kg ou morfina 10 mg/kg, no caso do teste da placa quente) e experimentais (OELH nas doses de 75 ou 300 mg/kg em solução salina + Tween 80 5% v/v) e, após 30 minutos da administração via intraperitoneal dos tratamentos, receberam os indutores químicos de nocicepção, dando início às observações e registros dos parâmetros de cada metodologia.

3.5.1. Teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético

O teste do ácido acético é um modelo de busca por drogas analgésicas e se baseia no fato de que a administração de ácido acético na cavidade peritoneal de modelos animais induzem contorções abdominais, um comportamento nociceptivo característico e quantificável que consiste na contração do músculo abdominal ou rotação do tronco, que pode ser seguida pelo alongamento dos membros posteriores ou rotação do tronco (COLLIER et al., 1968; PAVÃO-DE-SOUZA et al., 2012).

Neste teste, adaptado da metodologia descrita por De Oliveira Júnior et al. (2017), cada camundongo recebeu a administração de uma solução de ácido acético 0,85% (0,1 mL/10g, i.p.). Após 05 (cinco) minutos da injeção do indutor, os animais foram observados por 15 (quinze) minutos, período em que foi registrado o número de contorções abdominais exibidas por cada indivíduo.

3.5.2. Teste da Formalina

O teste foi baseado na metodologia descrita por Hunskaar e Hole (1987), com adaptações e consiste em um modelo válido e confiável de nocicepção que é sensível a anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e outras classes de drogas analgésicas leves. O teste consiste na administração de formalina na pata, provocando uma resposta espontânea indicativa de dor, na qual o animal passa a lamber a pata ou a perna injetada. O teste é bifásico, provavelmente refletindo diferentes tipos de dor, tendo uma fase inicial (Fase 1), possivelmente resultante da estimulação direta dos nociceptores, a qual é inibida por analgésicos de ação central; e, após um período de interfase, decorrente de uma ativação de mecanismos inibitórios de nocicepção, inicia-se a fase tardia (Fase 2), que consiste uma resposta inflamatória mediada parcialmente por prostaglandinas, que é inibida por AINEs, esteróides e medicamentos de ação central (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Para realização deste teste, os animais receberam uma injeção de 20 µL de formalina 2,5% na região intraplantar da pata posterior direita e foram individualmente colocados numa caixa de observação triangular (25 x 25 x 25 cm), onde o tempo de lambida da pata ou perna injetada (em segundos) foi registrado por 5 minutos (Fase 1), e após um intervalo de 10 minutos, esse mesmo parâmetro foi registrado durante 15 minutos (Fase 2).

3.5.3. Teste da Placa Quente

O teste da placa quente, descrito por Woolfe e Macdonald (1943), tem como objetivo analisar a capacidade de determinadas drogas com ação central de inibir respostas reflexas de camundongos colocados em contato com uma placa mantida a temperaturas constantes entre 55 e 70° C (Figura 4) (ANKIER, 1974). Os sinais de desconforto apresentados pelos animais submetidos ao estímulo térmico e o tempo de permanência na placa podem variar de acordo com a temperatura utilizada, sendo que o primeiro comportamento é o de sentar sobre as patas traseiras e lamber ou soprar as patas dianteiras e, que é seguido, em poucos segundos, por movimentos nas patas posteriores, nos quais os animais chutam, dançam sobre a placa ou

tentam pular para fora dela; estes últimos, utilizados como critério de desconforto agudo (WOOLFE; MACDONAL, 1943).

O teste foi realizado conforme metodologia descrita por Santos et al. (1999), com modificações. A fim de evitar uma interpretação equivocada dos resultados por uma inadaptação dos animais à placa ou por uma possível resistência dos mesmos ao estímulo térmico, 24 horas antes da realização dos testes, sem administração de substâncias, os animais foram submetidos a uma triagem, usando o tempo de corte de 15 segundos. O aparelho da placa quente foi mantido a uma temperatura de $50 \pm 1^\circ\text{C}$ e o tempo de reação (levantar, lamber as patas traseiras, chutar ou pular) foi avaliado, sendo considerados aptos aqueles que manifestaram reação antes do período de corte.

No dia seguinte, após 30, 60 e 120 minutos da administração dos tratamentos, os animais foram expostos ao estímulo térmico ($50 \pm 1^\circ\text{C}$) e observados individualmente para o registro do tempo (segundos) entre a colocação dos mesmos e a manifestação de comportamento de desconforto agudo, sendo o tempo máximo de permanência na placa de 30s, para evitar danos teciduais aos indivíduos (PIETROVSKI et al., 2006).

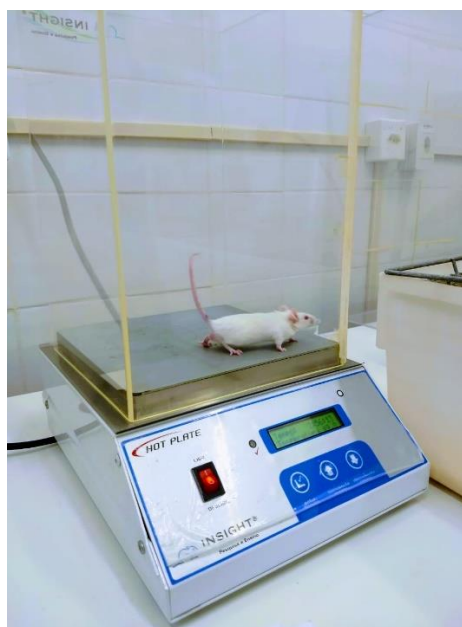


Figura 4. Placa quente (INSIGHT – BRASIL)

3.6. Tratamento estatístico dos dados

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o *software* GRAPH PAD PRISM, versão 8.0, para Windows. Os dados expressos por média \pm erro padrão da média foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Tukey ou

Dunnett. Os resultados foram considerados significativos quando apresentaram um valor de $p < 0,05$. O percentual de inibição de nocicepção/inflamação promovido pelos tratamentos foi calculado da seguinte forma:

$$\% \text{ inibição} = [(\text{controle} - \text{experimental}) / \text{controle}] \times 100$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial das folhas *L. hermannioides* teve rendimento médio de $1,23 \pm 0,21\%$ (V/m) e foi possível identificar vinte e nove compostos, que juntos representam aproximadamente 93,18% da composição total do óleo. Os constituintes do OELH foram apresentados subdivididos nos seguintes grupos: monoterpenos hidrocarbonetos (29,17%), monoterpenos oxigenados (14,55%), sesquiterpenos hidrocarbonetos (46,74%) e sesquiterpenos oxigenados (2,71%) (Tabela 2). Os constituintes encontrados nele se mostram muito similares aos encontrados em outros óleos essenciais de plantas do mesmo gênero, como os de *Lippia chevalieri* (MEVY et al., 2007), *Lippia alba* (TELES et al., 2012), *Lippia aff. microphylla*, *L. aristata*, *L. martiana* e *L. salviifolia* (SILVA et al., 2010), *Lippia sericea* e *Lippia brasiliensis* (MONTANARI et al., 2011) e, em especial, o de *Lippia javanica* (NGASSAPA et al., 2003), no qual foram observados, dentre outros compostos, 23 (vinte e três) dos 29 (vinte e nove) compostos identificados neste estudo.

Dentre os constituintes verificados no OELH, os mais abundantes foram os sesquiterpenos germacreno D (18,39%) e biciclogermacreno (11,72%), seguidos pelo monoterpeno 1,8-cineol (11,24%), depois pelo monoterpeno sabineno (10,38%), pelo sesquiterpeno E-cariofileno (8,33%) e pelos monoterpenos β -pineno (7,37%) e α -pineno (6,18%). A presença preeminente de germacreno-D foi também observada no óleo das partes aéreas de *Lippia lupulina* (ZOGHBI et al., 2002) e no óleo das folhas de *Lippia aff. microphylla* (SILVA et al., 2010).

Germacreno-D também já foi identificado entre os constituintes majoritários de *Lippia alba* (LORENZO et al., 2001; TELES et al., 2012; MARQUES et al., 2018), *Lippia javanica* (NGASSAPA et al., 2003; KAMANULA et al., 2017), *Lippia chevalieri* (MEVY et al., 2007) e *Lippia brasiliensis* (MONTANARI et al., 2011). Os demais componentes majoritários do OELH (biciclogermacreno, 1,8-cineol, sabineno, E-cariofileno, β -pineno e α -pineno) já foram igualmente identificados entre os constituintes predominantes de óleos essenciais de *Lippia*.

Biciclogermacreno foi observado em *L. lupulina* (ZOGHBI et al., 2002), *L. aff. microphylla*, *L. aristata* (SILVA et al., 2010) e *L. sericea* (MONTANARI et al., 2011);

1,8-cineol em *L. lupulina* (ZOGHBI et al., 2002), *L. adoensis* (KASALI et al., 2004), *L. alba* (BARROS et al., 2009), *L. citriodora* (OLIVERO-VERBEL; GÜETTE-FERNANDEZ; STASHENKO, 2009) e *L. turbinata* (QUIROGA et al., 2013); sabineno em *L. multiflora* (OWOLABI et al., 2009); E-cariofileno em *L. alba* (LORENZO et al., 2001), *L. sericea* e *L. brasiliensis* (MONTANARI et al., 2011); β -pineno em *L. graveolens* (HERNÁNDEZ et al., 2009) e *L. turbinata* (QUIROGA et al., 2013); e α -pineno em *L. aff. microphylla*, *L. aristata* e *L. martiana* (SILVA et al., 2010).

A similaridade encontrada entre estes óleos corrobora com a afirmação de Wink (2003) de que grupos filogeneticamente relacionados frequentemente possuem metabólitos secundários semelhantes. No entanto, como pôde ser observado, considerando a variabilidade interespecífica, e que a expressão gênica é influenciada por fatores ecológicos, a presença de determinados compostos e a majoração das substâncias se expressa de forma diferente entre os óleos. O óleo essencial das folhas de *Lippia aff. microphylla* avaliado por Silva et al. (2010), por exemplo, corroborando com os resultados obtidos neste estudo, também apresentou uma quantidade considerável dos sesquiterpenos germacreno-D e biciclogermacreno, no entanto, o germacreno-D só foi o constituinte majoritário do óleo das folhas coletadas no período chuvoso, seguido pelo α -pineno, também presente em quantidade considerável no OELH.

Tabela 2: Análise da composição química dos óleos essenciais obtidos das folhas de *Lippia hermannioides*

Constituintes	IK _{lit}	IK _{calc}	Média±DP
Monoterpenos hidrocarbonetos			29,17±0,32
α-tujeno	930	929	1,23±0,14
α-pineno	939	937	6,18±0,60
sabineno	975	976	10,38±1,01
β-pineno	979	980	7,37±0,80
β-mirceno	990	990	0,79±0,09
α-terpineno	1017	1018	0,45±0,09
p-cimeno	1024	1026	0,38±0,06
limoneno	1029	1031	1,19±0,12
γ-terpineno	1059	1061	0,79±0,15
terpinoleno	1088	1093	0,41±0,18
Monoterpenos oxigenados			14,55±0,44
1,8-cineol	1031	1034	11,24±1,57
hidrato de cis-sabineno	1070	1075	0,24±0,05
linalol	1098	1098	0,67±0,05
terpinen-4-ol	1177	1178	1,77±0,43
α-terpineol	1188	1191	0,63±0,08
Sesquiterpenos hidrocarbonetos			46,74±0,44
δ-elemeno	1338	1341	0,34±0,06
α-copaeno	1376	1382	0,67±0,14
β-bourboneno	1388	1394	1,57±0,20
β-cubebeno	1388	1395	0,49±0,09
β-elemeno	1390	1395	0,61±0,08
E-cariofileno	1419	1423	8,33±0,91
α-humuleno	1454	1457	3,15±0,19
allo-aromadendreno	1460	1470	0,90±0,06
γ-muroleno	1479	1484	0,56±0,04
germacreno D	1485	1491	18,39±2,09
biciclogermacreno	1500	1505	11,72±1,00
Sesquiterpenos oxigenados			2,71±0,08
espatulenol	1578	1580	1,98±0,13
óxido de cariofileno	1583	1586	0,52±0,04
viridiflorol	1592	1595	0,22±0,07
Total de compostos identificados			93,18±0,36

Legenda: IK_{lit}: (índice de Kovats descrito na literatura); IK_{calc} (índice de Kovats determinado na coluna); DP (desvio padrão).

Tendo em vista que foram encontrados no OELH compostos similares aos encontrados em outras espécies de *Lippia* que apresentaram efeitos significativos contra a nocicepção e inflamação, foram iniciados os testes para avaliação de possíveis efeitos adversos e para avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória deste óleo.

No ensaio toxicológico realizado com o OELH nas doses 300 e 2000 mg/kg, durante todo o período de observação não foram verificadas alterações comportamentais relevantes que evidenciassem uma possível toxicidade para o tratamento, bem como não houve alteração significativa na massa corporal dos animais após os 7º e 14º dias da administração ($p > 0,05$) (Figura 5). Além disso, não foi observada letalidade em nenhuma das doses testadas, não sendo possível determinar a LD_{50} .

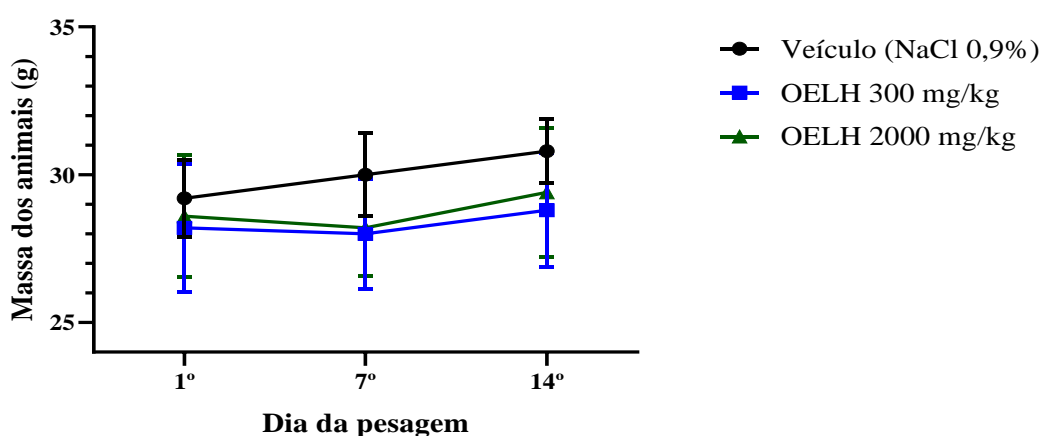


Figura 5. Efeito do OELH (300 e 2000 mg/kg) sobre a massa corporal de camundongos no teste da toxicidade aguda. Resultados expressos como média \pm e.p.m. $p > 0,05$ não constatando diferenças significativas na alteração de peso. (ANOVA two-way).

Os resultados obtidos a partir dos parâmetros avaliados sugerem ausência de toxicidade para o OELH até a dose testada e corroboram com os dados apresentados por Fabri et al. (2011) para o extrato metanólico de *Lippia hermannioides*, que demonstrou ausência de toxicidade através do bioensaio de letalidade de camarão em salmora, bem como se mostraram similares aos obtidos em outros estudos em que deixou demonstrada a ausência de toxicidade aguda na administração de óleos voláteis de outras espécies de *Lippia* em roedores, como é o caso do OE de *L. gracilis* na dose única de 500 mg/kg (GUILHON et al., 2011), do OE de *L. graveolens* nas doses 10, 100, 1000, 1600, 2900 e 5000 mg/kg (RIVERO-CRUZ et al., 2011) e do OE de *L. origanoides* nas doses 30, 60 e 120 mg/kg (ANDRADE et al., 2014).

Tais resultados são animadores, tendo em vista que muitos medicamentos utilizados para tratamento de dor e/ou inflamação podem causar diversos efeitos colaterais indesejados (CORUZZI; MENOZZI; DOBRILLA, 2004), entretanto, é válido salientar que as respostas

obtidas até então são insuficientes para garantir o uso seguro e contínuo deste óleo para fins terapêuticos, já que, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) recomenda, para desenvolvimento de novos medicamentos, vários ensaios toxicológicos de diferentes níveis de complexidade, incluindo estudos de toxicidade de dose única, estudos de toxicidade de doses repetidas, estudos de toxicidade reprodutiva, estudos de genotoxicidade, estudos de tolerância local, estudos de carcinogenicidade, estudos de interesse para a avaliação da segurança farmacológica e estudos de toxicocinética (ANVISA, 2013).

Dando continuidade à investigação dos efeitos do OELH, a fim de verificar alguma influência do OELH sobre a atividade motora em animais (SHIOTSUKI et al., 2010), foi realizado o teste do *rota-rod*. Neste teste, quando utilizada uma velocidade constante (como é o caso desta pesquisa), alterações na coordenação motora são diagnosticadas a partir de um menor tempo de latência (BROOKS; DUNNET, 2009). Nesta pesquisa, os animais tratados com o OELH nas duas doses testadas (75 e 300 mg/kg) não apresentaram alterações significativas no desempenho motor (Figura 6).

Os resultados alcançados corroboram com os obtidos no teste anterior e reforçam o indicativo de ausência de toxicidade do OELH em camundongos, dado que, estudos anteriores sugerem que uma alteração na atividade motora diagnosticada no teste do *rota-rod* pode ser indicativa de toxicidade (DUNHAM; MIYA, 1957; LOPES et al., 2014). Ademais, uma diminuição de latência neste teste pode revelar uma ação depressora sobre o SNC (BONJARDIN et al., 2011), por isso que, como esperado, o grupo tratado com diazepam, em todos os períodos analisados (30, 60, 90 e 120 min), permaneceu por menos tempo na barra giratória, em comparação ao grupo controle.

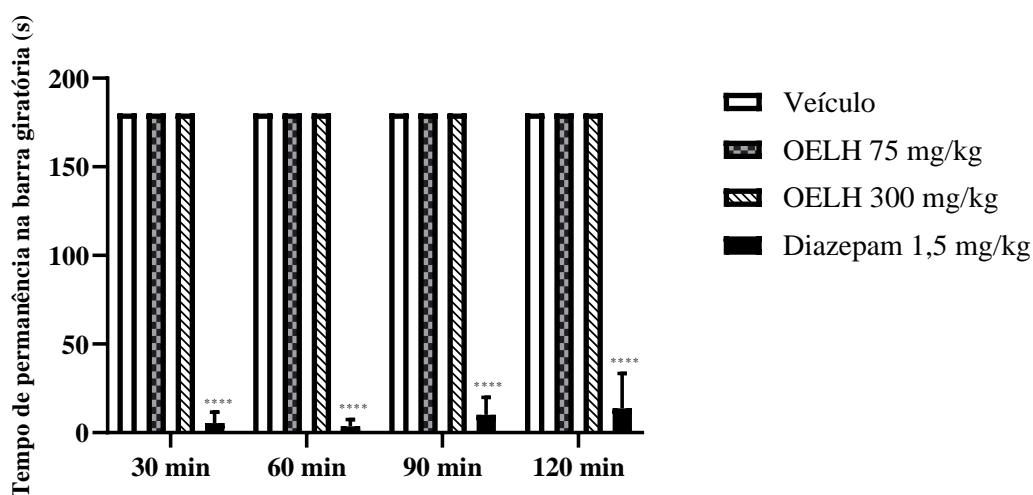


Figura 6. Efeito do OELH (75 ou 300 mg/kg) no teste do *rota-rod*. Resultados expressos como média \pm e.p.m. **** $p < 0,0001$. (ANOVA two-way seguido do teste de Tukey).

A ausência de alterações significativas no desempenho motor de camundongos já foi observada em extrato de folhas de *Lippia gracilis* (GUIMARÃES et al., 2012) e em um complexo de β -ciclodextrina contendo OE de folhas de *Lippia grata* (SIQUEIRA-LIMA et al., 2013), no entanto, os resultados obtidos contrastam com os observados em *Lippia alba*, espécie com indicativo de atividade ansiolítica (VALE et al., 1999).

Diante destes resultados, foram iniciados os testes farmacológicos específicos para avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória. O primeiro teste realizado foi o teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético, no qual, os dados obtidos demonstraram que o OELH, nas doses 75 e 300 mg/kg, reduziu significativamente o número de contorções abdominais em comparação ao grupo controle (Veículo – NaCl 0,9%) (Figura 7). Enquanto que animais do grupo controle tiveram em média $39,13 \pm 3,35$ contorções abdominais, camundongos tratados com o OELH nas doses 75 e 300 mg/kg tiveram, respectivamente, $24,75 \pm 3,51$ e $17,38 \pm 3,55$. O percentual de inibição apresentado pelo óleo foi de 36,75% (75 mg/kg) e 55,58% (300 mg/kg). A indometacina, como previsto, reduziu significativamente o parâmetro analisado, manifestando uma inibição de 90,74% ($3,625 \pm 2,17$).

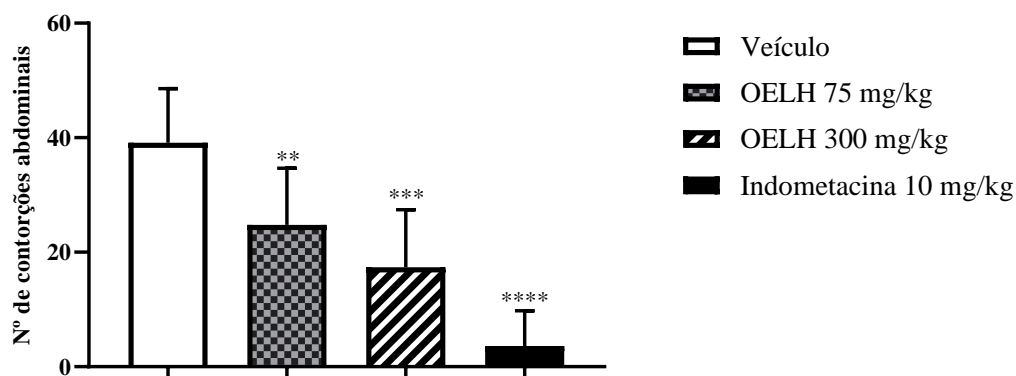


Figura 7. Efeito do OELH (75 ou 300 mg/kg) no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos. Resultados expressos como média \pm e.p.m. **** $p < 0,0001$. (ANOVA one-way seguido do teste de Dunnet).

O teste de contorções abdominais induzidas pela administração intraperitoneal de ácido acético é um modelo de nocicepção amplamente utilizado para rastrear e determinar o mecanismo de ação de novos fármacos (PAVÃO-DE-SOUZA et al., 2012). A aplicação intraperitoneal de ácido acético causa dor por ação direta ou indireta na produção de alguns mediadores nos terminais livres dos neurônios polimodais sensoriais (IKEDA et al., 2001) e provoca liberação de quantidades consideráveis de substâncias algogênicas, como

prostaglandinas (DERAEDT et al., 1980) e um conjunto de citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-8) que agem sinergicamente na indução da resposta contorcida liberadas por macrófagos peritoneais residentes e mastócitos (RIBEIRO et al., 2000; PAVÃO-DE-SOUZA et al., 2012).

Entretanto, a resposta contorcida pode ser reduzida por algumas drogas, entre as quais estão os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (DERAEDT et al., 1980), os quais podem apresentar uma gama de efeitos adversos principalmente envolvendo o trato gastrointestinal (CORUZZI; MENOZZI; DOBRILLA, 2004), o que fortalece a importância da busca por novas drogas com danos colaterais diminuídos. Nesta busca, produtos naturais obtidos a partir de espécies de *Lippia* também já se demonstraram capazes de reduzir a resposta após administração de ácido acético, em conformidade com os dados obtidos nesta pesquisa, como é o caso dos OE's de *L. alba* (Viana et al., 1998), *L. multiflora* (ABENA et al., 2003), *Lippia gracilis* (MENDES et al., 2010; GUILHON et al., 2011), do extrato metanólico desta mesma espécie (GUIMARÃES et al., 2012), e do extrato etanólico de *L. origanoides* (OLIVEIRA et al., 2014).

Embora o teste do ácido acético seja uma importante ferramenta para descoberta de novas drogas, uma de suas desvantagens é a dificuldade de se distinguir o efeito antinociceptivo do efeito anti-inflamatório (COLLIER et al., 1968). Sendo assim, com o intuito de avaliar melhor a atividade do OELH, foi realizado o teste da formalina. Este teste se configura como um modelo bifásico de nocicepção, possuindo uma fase inicial, resultante da estimulação química direta dos nociceptores (SHIBATA et al., 1989), por meio de uma ação direta e específica no Receptor Potencial Transiente Ankiryn 1 (TRPA1), um canal catiônico muito importante para desencadear a dor inflamatória por acionar um disparo de uma subpopulação de fibras C, conduzindo a sensibilização do SNC (MCNAMARA et al., 2007) seguida pela liberação de substância P e bradicinina (DOS SANTOS et al., 2014); uma interfase decorrente de uma ativação de mecanismos inibitórios de nocicepção e uma fase tardia decorrente de uma resposta inflamatória (HUNSKAAR; HOLE, 1987) mediada por histamina serotonina, prostaglandina e bradicinina (SHIBATA et al., 1989).

A administração de formalina na pata do animal induz a resposta de lambe a pata injetada (HUNSKAAR; HOLE, 1987) e, neste teste, em todas as doses testadas, os camundongos tratados com o OELH tiveram um tempo de lambida da pata significativamente menor aos apresentados pelos animais do grupo controle em ambas as fases. Na fase inicial (Figura 8), a média do parâmetro analisado para os animais tratados com o óleo nas doses 75 e 300 mg/kg foi, respectivamente, de $24,67 \pm 1,71$ e $17,17 \pm 2,15$ segundos, comparados ao

grupo controle ($42,83 \pm 3,22$). Nesta fase, o óleo de *L. hermannioides* reduziu o tempo de lambida da pata em aproximadamente 42,40%, para a dose de 75 mg/kg e 59,91%, para a dose de 300 mg/kg. A indometacina, apesar de ser uma droga de ação periférica e, conseqüentemente, ter um resultado mais pronunciado na segunda fase, também reduziu significativamente o parâmetro analisado em comparação ao grupo controle.

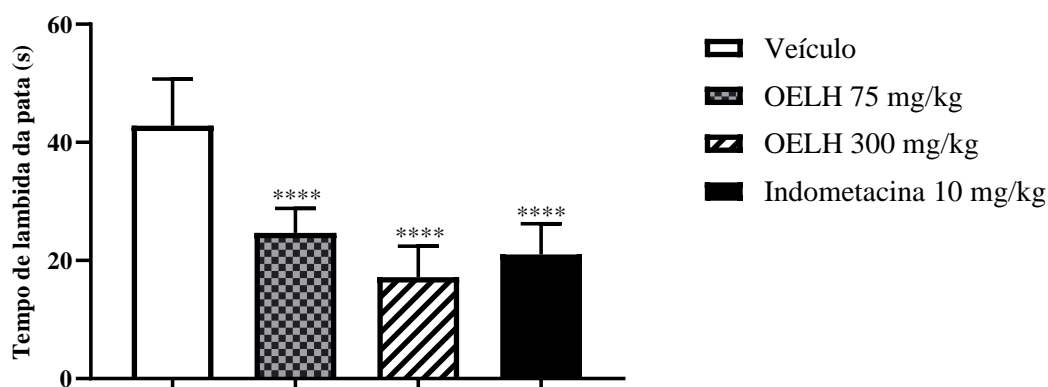


Figura 8 - Efeito do OELH (75 ou 300 mg/kg) na fase inicial do teste da formalina em camundongos. Resultados expressos como média \pm e.p.m. **** $p < 0,0001$. (ANOVA one-way seguido do teste de Dunnet).

Na fase tardia (Figura 9), o óleo essencial testado também reduziu o tempo de lambida da pata nos animais de forma dose dependente, apresentando valores médios de $105,7 \pm 10,31$ e 75 ± 16 segundos (75 e 300 mg/kg, respectivamente), quando comparados ao grupo controle ($166,5 \pm 7,02$ s). O percentual de redução do tempo de lambida da pata apresentado pelo óleo nesta fase foi de aproximadamente 36,52% (75 mg/kg) e 54,95% (300 mg/kg).

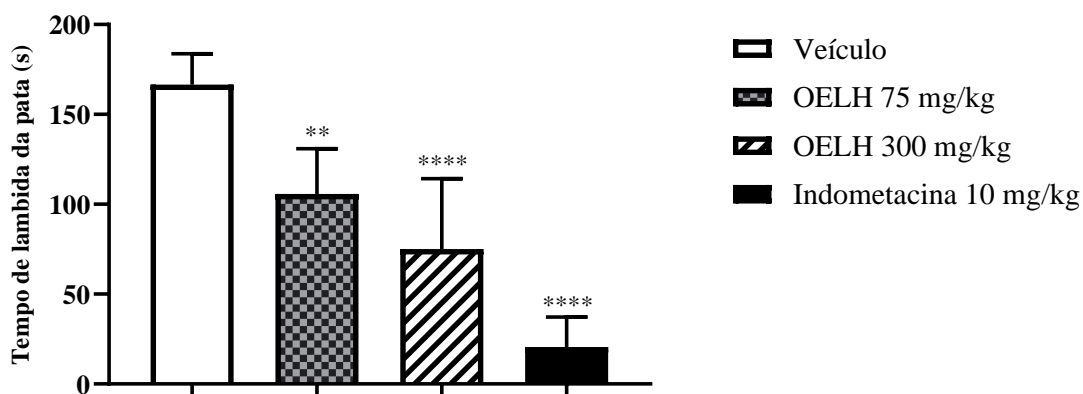


Figura 9 - Efeito do OELH (75 ou 300 mg/kg) na fase tardia do teste da formalina em camundongos. Resultados expressos como média \pm e.p.m. **** $p < 0,0001$. (ANOVA one-way seguido do teste de Dunnet).

A capacidade do OELH de reduzir o parâmetro avaliado na fase inicial deste teste, que corresponde à nocicepção aguda (SHIELDS et al., 2010), sugere uma atividade antinociceptiva para o mesmo e a ação pronunciada do mesmo na segunda fase do teste, somada à capacidade de diminuir o número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, são indicativas de um efeito anti-inflamatório (GUILHON et al., 2011), que pode estar relacionado a uma redução ou supressão na biossíntese de substâncias pró-inflamatórias.

A atividade anti-inflamatória sugerida para o óleo avaliado a partir dos modelos experimentais realizados está em consonância com o efeito antioxidante verificado por Fabri et al. (2011) para o extrato metanólico das folhas de *L. hermannioides*, uma vez que, de acordo com Miguel (2010), uma atividade antioxidante pronunciada pode ser indicativo de uma atividade anti-inflamatória, já que a explosão oxidativa que ocorre em diversas células (monócitos, neutrófilos, eosinófilos e macrófagos) é uma das respostas que o corpo pode dar ao se deparar com um processo inflamatório.

Em contraste com os resultados aqui apresentados, os OEs de *L. gracilis* (GUILHON et al., 2011) e *L. alba* (VIANA et al., 1998) só foram capazes de reduzir significativamente o tempo de lambida da pata apenas na segunda fase do teste da formalina. Essa diferença pode estar relacionada com a composição dos óleos essenciais e a proporção desses constituintes que, por sua vez, podem apresentar efeitos farmacológicos e mecanismos de ação diferentes. No estudo de Viana et al. (1998), foram utilizados dois quimiotipos de óleo de *L. alba*, um rico em citral e outro rico em carvona; no trabalho de Guilhon et al. (2011), o constituinte majoritário do óleo de *L. gracilis* foi o carvacrol (44,43%), enquanto que no óleo aqui estudado, os principais foram o germacreno D (18,39%), o biciclogermacreno (11,72%) e o oxigenado 1,8-cineol (11,24%), sabineno (10,38%), E-cariofileno (8,33%), β -pineno (7,37%) e α -pineno (6,18%).

Os dados alcançados pelo OELH nos testes do ácido acético e da formalina reforçam seu potencial antinociceptivo e anti-inflamatório, bem como sugerem que sua ação pode ser mediada por mecanismos periféricos e centrais. A indicação de uma possível atividade central se dá pela resposta inibitória nas duas fases, característica de drogas de ação central (HUNSKAAR; HOLE, 1987; GUILHON et al., 2011). A fim de melhor avaliar a ação deste óleo sobre o SNC, foi realizado o teste da placa quente, pois nele, assim como outros testes de estimulação térmica, a aplicação do estímulo ativa fibras sensoriais de alto limiar presentes na pele, as quais ativam neurônios do corno dorsal da lâmina espinhal superficial que seguem ativando neurônios da medula, mesencéfalo e tálamo (ALLEN; YAKSH, 2004).

A aplicação do estímulo térmico neste teste provoca alguns sinais de desconforto nos animais: primeiramente, eles sentam nas patas traseiras e lambem as patas dianteiras; depois demonstram desconforto agudo ao lamber, bater os pés ou tentar pular da placa (WOOLFE; MACDONALD, 1943; LE BARS; GOZARIU; CADDEN, 2001). A latência da resposta a este estímulo, no entanto, pode ser aumentada por drogas que podem atuar diminuindo a atividade dos neurônios espinhais ativados (ALLEN; YAKSH, 2004).

Neste trabalho, assim como a droga padrão (morfina 10 mg/kg), o óleo testado apresentou efeito antinociceptivo aumentando significativamente o tempo de latência em camundongos após 30, 60 e 120 minutos da sua administração (Figura 10). O OELH na dose de 75 mg/kg aumentou o tempo de permanência dos camundongos na placa em 85,92%, 75,77% e 90,50% após 30, 60 e 120 minutos da sua administração, respectivamente, enquanto que o aumento deste parâmetro para o óleo na dose de 300 mg/kg foi de 150,70%, 138,63% e 117,95% nos respectivos tempos de observação.

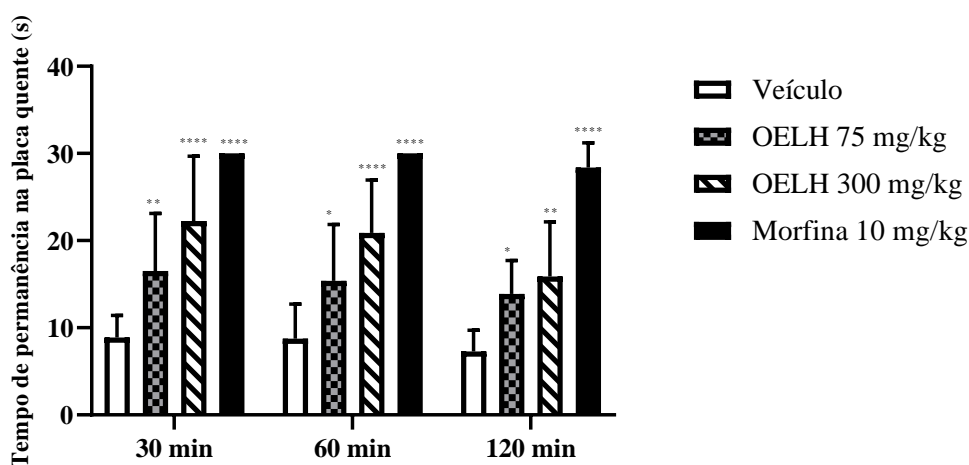


Figura 10 - Efeito do OELH (75 ou 300 mg/kg) no teste da placa quente em camundongos. Resultados expressos como média \pm e.p.m. **** $p < 0,0001$. (ANOVA two-way seguido do teste de Dunnet).

Os resultados do OELH neste experimento fortalecem os dados anteriores e indicam uma antinocicepção de ação central, que reduz com o tempo quando comparado à morfina. Segundo Allen e Yaksh (2004), ao testar um tratamento no teste da placa quente, se ele não tiver efeito sobre a função motora, como vimos que não tem através do teste do *rota-rod*, e for observado um aumento da latência, ele é considerado antinociceptivo. Estes resultados diferenciam do manifestado pelo OE de *L. gracilis*, que manifestou uma resposta central transitória, pois os efeitos começaram a declinar após 60 minutos da administração do tratamento (GUILHON et al., 2011), mas estão em conformidade com os dados obtidos por

Oliveira et al. (2014) para o extrato etanólico de *L. origanoides*, evidenciando as propriedades antinociceptivas das plantas deste gênero.

Como falado anteriormente, apesar da similaridade de composição química entre espécies do mesmo gênero, a manifestação dos efeitos dos tratamentos testados é determinada pela composição química dos mesmos. Levando em consideração que os constituintes majoritários do OELH foram o germacreno-D, o biciclogermacreno, o 1,8-cineol, sabineno, E-cariofileno, β -pineno e α -pineno, é interessante ressaltar que efeitos similares aos obtidos nesta pesquisa já foram observados para o OE de *Senecio rufinervis*, rico em germacreno-D (40,19%), β -pineno (12,23%), β -cariofileno (6,21%) e β -longipineno (4,15%) (MISHRA et al., 2010, grifo nosso) nos testes do ácido acético e placa quente; para o OE de *Croton argyrophyllus*, cujos componentes principais foram o biciclogermacreno (14,8%), E-cariofileno (8%), espatulenol (7,9%), β -felandreno (6,5%), mirceno (5,9%), germacreno B (4,9%), β -elemeno (4,9%), α -pineno (4,6%) e δ -elemeno (4,4%) (RAMOS et al., 2017, grifo nosso) nos testes do ácido acético, formalina e placa quente.

O 1,8-cineol e β -pineno isolados a partir do OE de *Eucalyptus camaldulensis* (LIAPI et al., 2007) também aumentaram o período de latência no teste da placa quente. O β -cariofileno (E-cariofileno), isolado a partir de *Tagetes lucida* (HERNANDEZ-LEON et al., 2020), em como o α -pineno, isolado a partir de *Psidium guajava* (SANTOS; RAO; SILVEIRA, 1998) foram capazes de reduzir o parâmetro avaliado em ambas as fases da formalina.

A semelhança dos resultados entre espécies de gêneros distintos pode indicar responsabilidade deste(s) composto(s) sobre os efeitos observados nos testes realizados nesta pesquisa. Entretanto, os resultados obtidos nesta pesquisa são insuficientes para determinar se os efeitos são determinados pela presença de um determinado composto, se são de responsabilidade de algum outro composto presente no óleo ou resultado de efeito sinérgico dos compostos, assim, estudos posteriores para elucidar o princípio ativo capaz de exercer os efeitos farmacológicos apontados são necessários.

5. CONCLUSÕES

O óleo essencial de *Lippia hermannioides* mostrou-se rico em monoterpenos e sesquiterpenos, sendo que os mais abundantes foram o germacreno D (18,39%), o biciclogermacreno (11,72%), o 1,8-cineol (11,24%), o sabineno (10,38%), o E-cariofileno (8,33%), β -pineno (7,37%) e α -pineno (6,18%). As avaliações farmacológicas gerais

demonstraram que este óleo não mostrou sinais de toxicidade por via intraperitoneal em camundongos, segundo os parâmetros analisados no estudo, bem como não afetou a coordenação motora dos animais.

Os testes de triagem específicos de avaliação farmacológica sugerem que o OELH possui propriedades antinociceptivas e anti-inflamatórias e há indicativo de que sua ação pode ser mediada por mecanismos periféricos e centrais. Embora seja necessária a realização de outros testes para se determinar os mecanismos de ação envolvidos, os receptores e mediadores associados, bem como os compostos químicos responsáveis por tais efeitos, os resultados obtidos aquiescem os dados da literatura para o gênero *Lippia* e reforçam o seu potencial enquanto recurso fitogenético a ser utilizado para o tratamento da dor e inflamação.

REFERÊNCIAS

- ABD EL-GAWAD, A. M.; EL-AMIER, Y. A.; BONANOMI, G. Essential oil composition, antioxidant and allelopathic activities of *Cleome droserifolia* (Forssk.) Delile. **Chemistry & biodiversity**, v. 15, n. 12, p. e1800392, 2018.
- ABENA, A.A. et al. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*. **Fitoterapia**, v. 74, p. 231–236, 2003.
- ADAMS, R. P. et al. **Identificação de componentes de óleos essenciais por cromatografia gasosa / espectrometria de massa**. Carol Stream, IL: Allured publishing corporation, 2007.
- AGRA, M. de F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.
- ALLEN, J. W.; YAKSH, T. L. Assessment of acute thermal nociception in laboratory animals. In: **Pain Research**. Humana Press, 2004. p. 11-23.
- ALMEIDA, R. N. et al. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no sistema nervoso central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.80, n. 3/4, p. 72-76, 1999.
- ALVES-SILVA, J. M. et al. Chemical composition of *Crithmum maritimum* L. essential oil and hydrodistillation residual water by GC-MS and HPLC-DAD-MS/MS, and their biological activities. **Industrial Crops and Products**, v. 149, n. 112329, 2020.
- ANDRADE, V. A. et al. Antimicrobial activity and acute and chronic toxicity of the essential oil of *Lippia origanoides*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 1153-1161, 2014.
- ANKIER, S. I. New hot plate tests to quantify antinociceptive and narcotic antagonist activities. **European Journal of Pharmacology**, v. 27, p. 1-4, 1974.
- ANTONIO, G.D.; TESSER, C.D.; MORETTI-PIRES, R.O. Contributions of medicinal plants to care and health promotion in primary healthcare. **Interface**, Botucatu, v.17, n.46, p.615-33, jul./set. 2013.
- ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos**, versão 2. Brasília, 2013.

ARRUDA, D. C. et al. Antileishmanial activity of the terpene nerolidol. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 49, n. 5, p. 1679-1687, May/2005.

AVILA-SOSA, R. et al. Fungal Inactivation by Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) Essential Oil Added to Amaranth, Chitosan, or Starch Edible Films. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 3, p. 127-133, 2010.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BAKER, D. D. et al. The value of natural products to future pharmaceutical discovery. **Natural product reports**, v. 24, p. 1225-1244, May/2007.

BALAMURUGAN, R.; DURAI PANGIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S. Antidiabetic activity of γ -sitosterol isolated from *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced diabetic rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 667, p. 410–418, 2011.

BARBOSA-FILHO, J. M. et al. Anti-inflammatory activity of alkaloids: A twenty-century review. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 1, p. 109-139, Jan/Mar. 2006.

BARROS, F.M.C. et al. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 861-867, 2009.

BERNARDINI, S. et al. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. **Natural Product Research**, v. 32, n. 16, p. 1926-1950, 2018.

BITU, V. et al. Phytochemical screening and antimicrobial activity of essential oil from *Lippia gracillis*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n.1, p. 69-75, Jan/Feb. 2012.

BONJARDIM, L. R. et al. *Sida cordifolia* Leaf extract reduces the orofacial nociceptive response in mice. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 8, p. 1236-1241, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Relatório final da 10ª Conferência Nacional de Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde; 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **12.ª Conferência Nacional de Saúde: Conferência Sergio Arouca: Brasília, 7 a 11 de dezembro de 2003: relatório final**. Brasília: Ministério da Saúde; 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS - RENISUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 886, de 20 de abril de 2010. Institui a Farmácia Viva no âmbito do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, p.75, 22 abril 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. **Diário Oficial União**: Seção 1, Brasília, DF, p. 52, 14 maio 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: RENAME 2017**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 210 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: RENAME 2020**. Brasília: Ministério da Saúde, 2020. 217 p.

BROOKS, S. P.; DUNNETT, S. B. Tests to assess motor phenotype in mice: a user's guide. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 7, p. 519-529, 2009.

CALAINHO, D. B. Jesuítas e medicina no Brasil colonial. **Tempo**, Rio de Janeiro, n. 19, p. 61-75, 2005.

COELHO-DE-SOUZA, A.N. et al. Essential oil of *Pterodon polygalaeflorus* Benth attenuates nociception in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 11, e7356, p. 1-9, 2018 .

COLLIER, H. O. J. et al. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 32, n. 2, p. 295-310, 1968.

CORAZZA, M. et al. Aromatherapy and occupational allergic contact dermatitis: Two further cases caused by lavender oil and other essential oils. **Contact dermatitis**, v. 81, p. 378-379, 2019.

CORUZZI, G.; MENOZZI, A.; DOBRILLA, G. Novel non-steroidal anti-inflammatory drugs: what we have learned from animal studies. **Current Drug Targets-Inflammation & Allergy**, v. 3, n. 1, p. 43-61, 2004.

CRUZ, E. M. d. O. et al. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 195, p.198–202, 2013

CUSHNIE, T. P. T.; CUSHNIE, B.; LAMB, A. J. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 44, p. 377-386, 2014.

DE ALMEIDA, W. S. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia lasiocalycina* Cham. (Verbenaceae). **Industrial Crops & Products**, v. 125, p. 236–240, 2018.

DE OLIVEIRA JÚNIOR, R. G. et al. Antinociceptive effect of the essential oil from *Croton conduplicatus* Kunth (Euphorbiaceae). **Molecules**, v. 22, n. 900, p. 1-14, 2017.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012.

DERAEDT, R. et al. Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. **European journal of pharmacology**, v. 61, p. 17-24, 1980.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3ª Edição. John Wiley & Sons Ltd, 2009. 539 p.

DONALD, G. R.; FERNANDES, P. D.; BOYLAN, F. Antinociceptive Activity of *Zanthoxylum piperitum* DC. Essential Oil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, p. 1-8, 2016.

DOS SANTOS, G.C.M. et al. Essential oil from *Myrcia ovata*: chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory properties in mice. **Planta medica**, v. 80, p. 1588-1596, 2014.

DUNHAM, N. W; MIYA, T.S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of The American Pharmaceutical Association**, v. 46, p. 208-209, 1957.

FABRI, R. L. et al. Identification of antioxidant and antimicrobial compounds of *Lippia* species by bioautography. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 0, p. 1-7, 2011.

FALCÃO, H. d. S. et al. Gastric and duodenal antiulcer activity of alkaloids: a review. **Molecules**, v. 13, p. 3198-3223, 2008.

FARIAS, E.M.F.G. et al. Antifungal activity of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) against clinical isolates of *Candida* species. **Journal of Herbal Medicine**, v. 2, p. 63-67, 2012.

Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 17 fev. 2020.

FONTES, R. S.; DOS SANTOS, R. A. Seção de Produção de Animais Specified Pathogen Free (SPF). In: Neves, Silvânia M. P et al. (Ed.). **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**. São Paulo : FCF-IQ/USP, 2013, p. 43-72.

FRANÇA, F.; ATKINS, S. **Neotropical Verbenaceae**. In: Milliken, W., Klitgård, B. & Baracat, A. (2009 onwards), Neotropikey - Interactive key and information resources for flowering plants of the Neotropics, 2009. Disponível em: <<http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Verbenaceae.htm>.> Acesso em 27 mai. 2020.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GUERRA, M.P.; ROCHA, F.S.; NODARI, R.O. Biodiversidade, recursos genéticos vegetais e segurança alimentar em cenário de ameaças e mudanças. In: VEIGA, R.F. de A.; DE

QUEIRÓZ, M.A. (Ed.). **Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável no Brasil**. 2015. p.39-52.

GUILHON, C. C. et al. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of *Lippia gracilis* essential oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, p. 406-413, 2011.

GUIMARÃES, A. G. et al. Phytochemical characterization and antinociceptive effect of *Lippia gracilis* Schauer. **Journal of natural medicines**, v. 66, n. 3, p. 428-434, 2012.

HAMID, H. A.; RAMLI, A. N. M; YUSOFF, M. M. Indole alkaloids from plants as potential leads for antidepressant drugs: A mini review. **Frontiers in pharmacology**, v. 8, n. 96, p. 1-7, 2017.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C.M.O. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Ed) **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017, p. 310-337.

HERNANDEZ, T. et al. Composition and antibacterial activity of essential oil of *Lippia graveolens* HBK (Verbenaceae). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 8, n. 4, p. 295-300, 2009.

HERNANDEZ-LEON, A et al. Role of β -caryophyllene in the antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Tagetes lucida* Cav. Essential oil. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 675, 2020.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, p. 103-114, 1987.

IASP. IASP's Proposed New Definition of Pain Released for Comment. **Disponível em:** <<https://www.iasp-pain.org/PublicationsNews/NewsDetail.aspx?ItemNumber=9218>>. **Acesso em 05 abr. 2020.**

IKEDA, Y. et al. Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice. **Life sciences**, v. 69, p. 2911-2919, 2001.

JAMSHIDI-KIA, F. ; LORIGOOINI, Z. ; AMINI-KHOEI, H. Medicinal plants: Past history and future perspective. **Journal of Herbmmed Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2018.

JAMES, R C.; ROBERTS, S. M.; WILLIAMS, P. L. General principles of toxicology. In: WILLIAMS, P. L.; JAMES, R C.; ROBERTS, S. M. **Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications**, John Wiley & Sons , 2000. p. 3-34.

KAMANULA, J. F. et al. Chemical variation and insecticidal activity of *Lippia javanica* (Burm. f.) Spreng essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Industrial Crops and Products**, v. 110, p. 75-82, 2017.

KASALI, A. A. et al. Chemical constituents of the essential oil of *Lippia adoensis* Hochst. ex Walp. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 19, n. 3, p. 210-212, 2004.

KAWABATA, N.; HATA, A.; AOKI, T. Effect of aromatherapy massage on quality of sleep in the palliative care ward: a randomized controlled trial. **Journal of Pain and Symptom Management**, p. 1-7, 2020.

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

KLEIN-JÚNIOR, L. C. ; HENRIQUES, A.T. Alcaloides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Ed) **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017, p. 566-589.

LAGE, T. C. de A. et al. Activity of essential oil of *Lippia triplinervis* Gardner (Verbenaceae) on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research Journal**, v. 112, p. 863-869, 2013.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S.W. Animal models of nociception. **Pharmacological Reviews**, v. 53, n. 4, p. 597-652, 2001.

LEITE, J. P. V. Desenvolvimento da Fitoterapia. In: LEITE, J. P. V (Ed). **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 03-20.

LIAO, M. et al. Insecticidal activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and RNA-Seq analysis of *Sitophilus zeamais* transcriptome in response to oil fumigation. **Plos One**, v. 11, n. 12, p. 1-19, 2016.

LIAPI, C. et al. Antinociceptive properties of 1, 8-cineole and β -pinene, from the essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* leaves, in rodents. **Planta medica**, v. 73, p. 1247-1254, 2007.

LINDE, J. H. et al. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lippia rehmannii* from South Africa. **South African Journal of Botany**, v. 76, p. 37-42, 2010.

LOPES, J. R.G. et al. Administração de diferentes concentrações de folhas de *Ipomoea asarifolia* na ração de camundongos. **Ciência Rural**, v. 44, n. 5, p. 872-877, 2014.

LORENZO, D. et al. Composition of a new essential oil type of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown from Uruguay. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 16, n. 5, p. 356-359, 2001.

MACHADO, T. F.; PEREIRA, R. de C. A.; BATISTA, V. C. V. Seasonal variability of the antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia alba*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 3, p. 515-519, 2014.

MAR, J. M. et al. *Lippia origanoides* essential oil: An efficient alternative to control *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. **Industrial Crops Products**, v. 111, p. 292-297, 2018.

MARTINS, S. et al. Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review. **Biotechnology advances**, v. 29, p. 365-373, 2011.

MARQUES, C.T.S. et al. Improvement of biomass and essential oil production of *Lippia alba* (Mill) NE Brown with green manures in succession. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 113-118, 2018.

MARX, H. E. et al. A molecular phylogeny and classification of Verbenaceae. **American Journal of Botany**, v. 97, n. 10, p. 1647-1663, 2010.

MATTEI, R.; FRANCA, C. I. F. Testes gerais para confirmar a ação central. In: ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 12, p. 138-142.

MCNAMARA, C. R. et al. TRPA1 mediates formalin-induced pain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 33, p. 13525-13530, 2007.

MENDES, S.S. et al. Evaluation of the analgesic and antiinflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, p. 391-397, 2010.

MEVY, J. P. et al. Chemical composition and some biological activities of the volatile oils of a chemotype of *Lippia chevalieri* Moldenke. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 682-685, 2007.

MIGUEL, M. G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. **Molecules**, v. 15, p. 9252-9287, 2010.

MISHRA, D. et al. Chemical composition and analgesic activity of *Senecio rufinervis* essential oil. **Pharmaceutical biology**, v. 48, n. 11, p. 1297-1301, 2010.

MONTANARI, R. M. et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from Verbenaceae species: Alternative sources of (E)-caryophyllene and germacrene-D. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1550-1555, 2011.

NETO, A.C. et al. The role of polar phytocomplexes on anti-convulsant effects of leaf extracts of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, p. 933-939, 2009.

NEWMANN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 629-661, 2016.

NGASSAPA, O. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils of two populations of Tanzanian *Lippia javanica* (Burm. f.) Spreng.(Verbenaceae). **Flavour and fragrance journal**, v. 18, n. 3, p. 221-224, 2003.

OCAZIONEZ, R.E. et al. Virucidal activity of Colombian *Lippia* essential oils on dengue virus replication in vitro. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.105, n. 3, p. 304-309, May. 2010.

OCETE, M. A. et al. Pharmacological activity of the essential oil of *Bupleurum gibraltarium*: anti-inflammatory activity and effects on isolated rat uteri. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 25, p. 305-313, 1989.

OECD. Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Paris, Section 4, p. 1-14, 2002. Disponível em: < <https://doi.org/10.1787/9789264070943-en>>. Acesso em: 20 jun. 2020.

OLIVEIRA, D.R. et al. Ethnopharmacological studies of *Lippia origanoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 206-214, 2014.

OLIVERO-VERBEL, J.; GUEETTE-FERNANDEZ, J.; STASHENKO, E. Acute toxicity against *Artemia franciscana* of essential oils isolated from plants of the genus *Lippia* and *Piper* collected in Colombia. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v. 8, n. 5, p. 419-427, 2009.

ONGUÉNÉ, P. A. et al. The potential of anti-malarial compounds derived from African medicinal plants. Part I: A pharmacological evaluation of alkaloids and terpenoides. **Malaria Journal**, v. 12, n. 449, p. 1-25, 2013.

OWOLABI, M. S. et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Lippia multiflora* Moldenke from Nigeria. **Records of Natural Products**, v. 3, n. 4, p. 170-177, 2009.

PADUCH, R. et al. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 55, p. 315-327, 2007.

PANDEY, A. K. et al. Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. 2161, p. 1-14, 2017.

PANDEY, A. K.; SONKER, N.; SINGH, P. Efficacy of some essential oils against *Aspergillus flavus* with special reference to *Lippia alba* oil an inhibitor of fungal proliferation and aflatoxin B₁ production in green gram seeds during storage. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 4, p. M928-M934, 2016.

PASCUAL, M. E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of ethnopharmacology**, v. 76, p. 201-214, 2001.

PASSOS, C. S. et al. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1A, p. 140-149, Jan/Mar. 2009.

PAVAO-DE-SOUZA, G. F. et al. Acetic acid-and phenyl-p-benzoquinone-induced overt pain-like behavior depends on spinal activation of MAP kinases, PI3K and microglia in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 101, p. 320-328, 2012.

PEIXOTO, M. G. et al. Acaricidal activity of essential oils from *Lippia alba* genotypes and its major components carvone, limonene, and citral against *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 210, p. 118-122, 2015.

PEREIRA, J. B. A. et al. O papel terapêutico do Programa Farmácia Viva e das plantas medicinais no centro-sul piauiense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 550-561, 2015.

PÉREZ, S. et al. Anti-inflammatory activity of *Lippia dulcis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 1-4, 2005.

PIETROVSKI, E. F. et al. Antinociceptive properties of the ethanolic extract and of the triterpene 3 β , 6 β , 16 β -trihidroxilup-20(29)-ene obtained from the flowers of *Combretum leprosum* in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 83, p. 90-99, 2006.

PRAKASH, B.; KUJUR, A.; YADAV, A. Drug synthesis from natural products: a historical overview and future perspective. In: TEWARI, A.; TIWARI, S. (Ed). **Synthesis of medicinal agents from plants**. Elsevier, 2018. p. 25-46.

QUINTANILLA-LICEA, R. et al. Antiprotozoal Activity against *Entamoeba histolytica* of Plants Used in Northeast Mexican Traditional Medicine. Bioactive Compounds from *Lippia graveolens* and *Ruta chalepensis*. **Molecules**, v. 19, p. 21044-21065, 2014.

QUIROGA, P.R. et al. Chemical composition, antioxidant activity and anti-lipase activity of *Origanum vulgare* and *Lippia turbinata* essential oils. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 642-649, 2013.

RAMOS, J.M.O. et al. Impact of *Croton argyrophyllus* essential oil on behavioural models of nociception. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 32, p. 40-45, 2017.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250-264, 2014.

RIBEIRO, L. H. L. Análise dos programas de plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS) sob a perspectiva territorial. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 24, n. 5, p. 1733-1742, 2019.

RIBEIRO, R.A. et al. 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. 111-118, 2000.

RIELLA, K. R. et al. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 656-663, 2012.

RIVERO-CRUZ, I. et al. Chemical Composition and Antimicrobial and Spasmolytic Properties of *Poliomintha longiflora* and *Lippia graveolens* Essential Oils. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, p. 309–317, 2011.

ROBINSON, M. M.; ZHANG, X. **The world medicines situation 2011. Traditional medicines: global situation, issues and challenges**. Geneva: WHO Library, 2011. 12p

RUVIARO, L. F.; FILIPPIN, L. I. Prevalência de dor crônica em uma Unidade Básica de Saúde de cidade de médio porte. **Rev. Dor**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 128-131, 2012.

SAJID, A. et al. *Pinus roxburghii* essential oil anticancer activity and chemical composition evaluation. **EXCLI journal**, v. 17, p. 233-245, 2018.

SALDANHA, A. A. et al. Chemical composition and evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Duguetia furfuracea* essential oil: Effect on edema, leukocyte recruitment, tumor necrosis factor alpha production, iNOS expression, and adenosinergic and opioidergic systems. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 231, p. 325-336, 2019.

SALIMENA, F.; FRANÇA, F.; SILVA, T.R.S. Verbenaceae. In: Giuletta, A. M. et al (Orgs.). **Plantas Raras do Brasil**. Belo Horizonte/MG, Conservação Internacional, 2009. p. 399-405.

SALIMENA, F.R.G. et al. Verbenaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB246>> Acesso em: 20 Jun. 2020.

SALIMENA, F.R.G.; MULGURA, M. Lippia. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15170>> Acesso em: 20 Jun. 2020.

SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Investigations on the antinociceptive effect of *Psidium guajava* leaf essential oil and its major constituents. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 12, p. 24-27, 1998.

SANTOS, A.R.S. et al. Antinociceptive properties of the new alkaloid, cis-8, 10-di-N-propyllobelidiol hydrochloride dihydrate isolated from *Siphocampylus verticillatus*: evidence for the mechanism of action. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 289, n. 1, p. 417-426, 1999.

SANTOS, I. G. de A. et al. Amebicidal activity of the essential oils of *Lippia* spp. (Verbenaceae) against *Acanthamoeba polyphaga* trophozoites. **Parasitology Research**, v. 115, n. 2, p. 535–540, 2016.

SARRAZIN, S.L.F. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia grandis* Schauer (Verbenaceae) from the western Amazon. *Food Chemistry*, v. 134, p. 1474-1478, 2012.

SCHER, R. et al. Leishmanicidal activity of carvacrol-rich essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Biol Res**, v. 45, p. 399-402, 2012.

SCUTERI, D. et al. Antinociceptive effect of inhalation of the essential oil of bergamot in mice. **Fitoterapia**, v. 129, p. 20-24, 2018.

SENA, A.C. et al. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, v. 465, n. 1, p. 374-379, 2016.

SHIBATA, M. et al. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. **Pain**, v. 38, p. 347-352, 1989.

SHIELDS, S. D. et al. Pain behavior in the formalin test persists after ablation of the great majority of C-fiber nociceptors. **Pain**, v. 151, p. 422-429, 2010.

SHIOTSUKI, H. et al. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. **Journal of neuroscience methods**, v. 189, n. 2, p. 180-185, 2010.

SILVA, A. N. et al. Composição química e atividade antinociceptiva em modelo animal do óleo essencial de *Myrcia rostrata* DC.(Myrtaceae). **Química Nova**, v. 41, p. 982-988, 2018.

SILVA, M. P. N. et al. Antischistosomal activity of the terpene nerolidol. **Molecules**, v. 19, p. 3793-3803, 2014.

SILVA, F.S. et al. Pharmacological basis for traditional use of the *Lippia thymoides*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, n. 463248, p. 1-10, 2015.

SILVA, M. I. G. et al. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 455-462, 2006.

SILVA, P. S. et al. Chemical composition of the essential oil and hexanic fraction of *Lippia* and *Lantana* species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 843-849, 2010.

SIQUEIRA-LIMA, P. S. et al. β -cyclodextrin complex containing *Lippia grata* leaf essential oil reduces orofacial nociception in mice—evidence of possible involvement of descending inhibitory pain modulation pathway. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 114, p. 188-196, 2014.

SIQUEIRA-LIMA, P.S. et al. Anti-hyperalgesic effect of *Lippia grata* leaf essential oil complexed with β -cyclodextrin in a chronic musculoskeletal pain animal model: complemented with a molecular docking and antioxidant screening. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 91, p. 739–747, 2017.

SIQUEIRA-LIMA, P. S. et al. Central nervous system and analgesic profiles of *Lippia* genus. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 125–135, 2019.

SOARES, A. M. dos S. et al. Assessment of different *Lippia sidoides* genotypes regarding their acaricidal activity against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Braz. J. Vet. Parasitol**, v. 25, n. 4, p. 401-406, Out.- Dez. 2016.

SWAMY, M. K.; SINNIHAH, U.R. A comprehensive review on the phytochemical constituents and pharmacological activities of *Pogostemon cablin* Benth.: an aromatic medicinal plant of industrial importance. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 8521-8547, 2015.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017.

TASDEMIR, D. et al. Antiprotozoal Activity of Turkish Origanum onites Essential Oil and Its Components. **Molecules**, v. 24, n. 4421, p. 1-16, 2019.

TARIQ, S. et al. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 134, n. 103580, p. 1-20, 2019.

TAVARES, E. S. et al. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) NE Br.(Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 1-5, Jan./Mar. 2005.

TELES, S. et al. Geographical origin and drying methodology may affect the essential oil of *Lippia alba* (Mill) NE Brown. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 247-252, 2012.

THEMBO, K. M.; et al. Antifungal activity of four weedy plant extracts against selected mycotoxigenic fungi. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, p. 1479-1486, 2010.

TRACEY JR, W. D. Nociception. **Current Biology**, v. 27, p. R129-R133, 2017.

VALDIVIESO-UGARTE, M. et al. Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: A systematic review. **Nutrients**, v. 11, n. 2786, p. 1-29, 2019.

VALE, T.G. et al. Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 167, p. 127-133, 1999.

VERAS, H.N.H. et al. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol. **Fitoterapia**, v. 83, n. 3, p. 508-512, 2012.

VERAS, H.N.H. et al. Topical Antiinflammatory Activity of Essential Oil of *Lippia sidoides* Cham: Possible Mechanism of Action. **Phytotherapy Research**, v. 27, p. 179–185, 2013.

VERAS, H.N.H. et al. Enhancement of aminoglycosides and b-lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S2790–S2795, 2017.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic compound biochemistry**. Springer, 2006. 276 p.

VIANA, G.S.B. et al. Analgesic and antiinflammatory effects of two chemotypes of *Lippia alba*: a comparative study. **Pharmaceutical Biology**, v. 36, p. 347-35, 1998.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. 1ª Edição. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 16 p.

VON POSER, G. L. A quimiotaxonomia na sistemática dos seres vivos. In: SIMÕES et al (Org). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017, p. 23-28.

WANG, T.; LI, Q.; BI, K. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 12-23, 2018.

WEI, Y. et al. Pyridoxine induces glutathione synthesis via PKM2-mediated Nrf2 transactivation and confers neuroprotection. **Nature Communications**, v. 11, n. 941, p. 1-12, 2020.

WENG, J-K.; PHILIPPE, R. N.; NOEL, J. P. The rise of chemodiversity in plants. **Science**, v. 336, p. 1667-1670, 2012.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **WHO traditional medicine strategy: 2014-2023**. Geneva: WHO Library, 2013. 72p.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 3-19, 2003.

WOOLFE, GAND; MACDONALD, A. D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, p. 300-307, 1943.

WRIGHT, G. D. Unlocking the potential of natural products in drug discovery. **Microbial Biotechnology**, v. 12, n.1, p. 55-57, 2019.

YANG, L. et al. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. **Molecules**, v. 23, n.4, p.762, 2018.

ZHAO, J. et al. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the flower volatile oils of *Fagopyrum esculentum*, *Fagopyrum tataricum* and *Fagopyrum cymosum*. **Molecules**, v. 23, n.182, p. 1-10, 2018.

ZOGHBI, M.G.B. et al. Volatile constituents of *Lippia lupulina* Cham. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 1, p. 29-31, 2002.