



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE
SANTANA**



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS
VEGETAIS**

SAMMYA NAYARA SILVA VALADARES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, TOXICIDADE E ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke
(Leguminosae)**

Feira de Santana - Bahia

2017

SAMMYA NAYARA SILVA VALADARES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, TOXICIDADE E ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke
(Leguminosae)**

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

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Angélica Maria Lucchese.

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marilene Lopes da Rocha

Feira de Santana - Bahia

2017

Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

V232c Valadares, Sammya Nayara Silva
Composição química, toxicidade e atividade biológica de *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke (Leguminosae) / Sammya Nayara Silva Valadares. – Feira de Santana, 2017.
88 f. : il.

Orientadora: Angélica Maria Lucchese.
Coorientadora: Marilene Lopes da Rocha.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2017.

1. *Vataireamacrocarpa*. 2. Planta medicinal. I. Lucchese, Angélica Maria, orient. II. Rocha, Marilene Lopes da, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

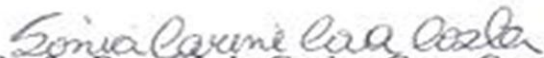
CDU: 582.736

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Paulo José Lima Juiz

(Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB)



Profa. Dra. Sonia Carine Cova Costa

(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)



Prof. Dra. Marilene Lopes da Rocha

(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)

Coorientadora e Presidente da Banca

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me permitir e ter dado forças e persistência para alcançar mais esse objetivo em minha vida.

À minha família, em especial a minha mãe, Rosário, e meus irmãos, Jackson e Daniel, por toda compreensão e apoio em todos os momentos e em todas as minhas escolhas. Também ao meu pai, Jorge (*In memoriam*), que sempre torceu por minha vitória.

À minha professora Dra Angélica Maria Lucchese por ter acreditado no meu potencial e ter dado oportunidade de vivenciar a vida acadêmica e científica. Muito obrigada por todos os ensinamentos da iniciação científica ao mestrado.

À professora Dra Marilene Lopes da Rocha também por ter me aceitado para coorientação e ter colaborado para a realização dos testes biológicos *in vivo* desse trabalho.

Agradeço a todos aqueles que de alguma forma me ajudou durante esse trabalho. Seria impossível escrever o nome de todos, mas saiba que sou eternamente grata a todos e sei um por um que de alguma forma disponibilizou um tempinho seja para ajudar nos experimentos, tirar uma dúvida, compartilhar conhecimentos e muito mais. O meu MUITO OBRIGADA a todos em especial todos aqueles do LAPRON e LAFAR.

Agradeço ainda a todos do Biotério Central da Uefs, pela disponibilização do espaço e animais. Agradeço ainda a Júnior por todo auxílio durante a realização dos experimentos necessários.

À todos que tive a oportunidade de conhecer durante o mestrado, em especial os companheiros, alunos do Programa RGV, amigos que fizeram desse período menos cansativo, deixando suas marcas e importância. Obrigada pelo apoio, companheirismo, descontração e conhecimentos compartilhados.

À todos os professores do RGV/UEFS que tive a oportunidade de conhecer.

À todos os meus amigos em geral que de uma forma ou de outra torceu por mim durante essa caminhada.

À CAPES pelo apoio financeiro.

RESUMO

A espécie *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke é típica do Brasil, conhecida popularmente como maleiteira, angelim-do-cerrado e amargoso, e é utilizada popularmente para tratamento diversas patologias. O presente estudo teve como objetivo avaliar a composição química, a toxicidade e o potencial biológico dos extratos brutos das folhas e do caule de *V. macrocarpa*. Os extratos foram obtidos através da maceração em metanol. A composição química foi analisada através da Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e testes de determinação de fenólicos e flavonoides. A avaliação da atividade antioxidante foi realizada através do método de sequestro de radical difenilpicrilhidrazila (DPPH) e do método de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico. Testes *in vivo* de toxicidade aguda e a avaliação da coordenação motora pelo teste *rota rod*, além dos testes para a avaliação da atividade anti-inflamatória (edema da pata induzida por carragenina) e analgésica (ácido acético, formalina e placa quente) foram realizados. Nos extratos foi identificada a presença de compostos fenólicos, esteroides, terpenos, cumarinas, saponinas e ausência de alcaloides. Foi determinado o teor de compostos fenólicos e flavonoides e ambos os extratos apresentaram atividade antioxidante nos dois métodos. Não foi verificado sinais tóxicos por ambos os extratos na dose fixa de 300 mg/Kg, nem alterações na coordenação motora dos animais nas doses testadas. Tanto o caule quanto as folhas demonstraram atividade antinociceptiva e anti-inflamatória nos testes realizados. Diante dos resultados promissores apresentados por essa espécie deve-se continuar os estudos a fim de isolar e identificar substâncias, bem como elucidar seus mecanismos de ação quanto às atividades anti-inflamatória e analgésica.

Palavras-chave: *Vatairea*; Antioxidante; Anti-inflamatória; Antinociceptiva; Toxicidade.

ABSTRACT

The species *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke is typical of Brazil, popularly known as maleiteira, angelim-do-cerrado and bitter, and is popularly used to treat various pathologies. The present study had as objective to evaluate the chemical chemistry, a toxicity and biological potential of extracts of leaves and stem of *V. macrocarpa*. The extracts were obtained by maceration in methanol. The chemical composition was analyzed by Thin Layer Chromatography (TLC). Phenolic compounds, flavonoid and antioxidant activity tests were performed using the diphenylpicrylhydrazyl radical sequestration method (DPPH) and the β -carotene / linoleic acid co-oxidation method. The acute toxicity test and the motor coordination evaluation were performed by the rota-rod test, as well as the tests for the evaluation of the anti-inflammatory activity (carrageenan-induced paw edema) and analgesic (acetic acid, formalin and hot plate). In the extracts the presence of flavonoids, steroids, terpenes, coumarins, saponins and absence of alkaloids were identified. The content of phenolic compounds and flavonoids were determined and both extracts presented antioxidant activity in both methods. No toxic signs were observed for both extracts at the fixed dose of 300 mg / kg or changes in the motor coordination of the animals at the doses tested. Both the stem and the leaves showed antinociceptive and anti-inflammatory activity in the tests performed. In view of the promising results presented by this species it is necessary to continue the studies with the same in order to isolate and identify substances and elucidate their mechanisms of action regarding the anti-inflammatory and analgesic activities.

Keywords: *Vatairea*; Antioxidant activity; Biological assay; Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Vatairea macrocarpa em Caetité, Bahia.	34
Figura 2	Extração de V. macrocarpa. A) Folhas e caule secos; B) Moinho de facas; C) Maceração com metanol	34
Figura 3	Curva Padrão de Ácido Gálico.	37
Figura 4	Curva padrão de Quercetina.	38
Figura 5	Aparelho de Rota Rod.	44
Figura 6	Caixa de observação triangular espelhada.	45
Figura 7	Aparelho de Placa Quente	46
Figura 8	Aparelho Pletismômetro	48
Figura 9	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMFVm, amostra 1.	85
Figura 10	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMFVm, amostra 2.	85
Figura 11	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMFVm, amostra 3.	85
Figura 12	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMCVm, amostra 1.	86
Figura 13	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMCVm, amostra 2.	86
Figura 14	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMCVm, amostra 3.	86
Figura 15	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Trolox, amostra 1. Fonte: LAPRON	87
Figura 16	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Trolox, amostra 2. Fonte: LAPRON	87
Figura 17	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Trolox, amostra 3. Fonte: LAPRON	87
Figura 18	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Ácido Ascórbico, amostra 1. Fonte: LAPRON	88
Figura 19	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Ácido Ascórbico, amostra 2. Fonte: LAPRON	88
Figura 20	Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Ácido Ascórbico, amostra 3. Fonte: LAPRON	88
Figura 21	Curva cinética de degradação do β -caroteno na presença do extrato de folhas de V. macrocarpa (média da triplicata).	54
Figura 22	Curva cinética de degradação do β -caroteno na presença do extrato de caule de V. macrocarpa(média da triplicata).	54
Figura 23	Efeito do extrato de folhas de V. macrocarpa (T60min) no teste da coordenação motora em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	58
Figura 24	Efeito do extrato de folhas de V. macrocarpa (T120min) no teste da coordenação motora em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	58
Figura 25	Efeito do extrato de caule de V. macrocarpa (T60min) no teste da	59

	coordenação motora em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	
Figura 26	Efeito do extrato de caule de <i>V. macrocarpa</i> (T120min) no teste da coordenação motora em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	59
Figura 27	Efeito do EMFVm no teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) *p<0,05; **p<0,01 e ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	61
Figura 28	Efeito do EMCVm nas contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) *p<0,05; **p<0,01 e ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	62
Figura 29	Efeito do EMFVm na fase 1 do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=6 a 8) *p<0,05, **p<0,01 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	63
Figura 30	Efeito do EMFVm na fase 2 do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=6 a 8) *p<0,05, **p<0,01 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	64
Figura 31	Efeito do EMCVm na fase 1 do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=6 a 8) * p<0,05, ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	64
Figura 32	Efeito do EMCVm na fase 2 do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=6 a 8) * p<0,05, ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	65
Figura 33	Efeito do EMFVm no teste da placa quente (± 55 °C) em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) * p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	66
Figura 34	Efeito do EMCVm no teste da placa quente (± 55 °C) em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) *p<0,05, *** p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).	67
Figura 35	Efeito do EMFVm sobre o edema de pata induzido por carragenina (n = 8). Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8)*p<0,05; ***p<0,001 vs controle (ANOVA-two way-Tukey).	68
Figura 36	Efeito do EMCVm sobre o edema de pata induzido por carragenina (n = 8). Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8)*p<0,05; ***p<0,001 vs controle (ANOVA-two way-Tukey).	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Rendimento obtido em cada extração das folhas e caule de <i>Vatairea macrocarpa</i> por metanol.	49
Tabela 2	Perfil fitoquímico de extratos de folhas e de caule de <i>Vatairea macrocarpa</i> .	49
Tabela 3	Teor de fenólicos e flavonoides dos extratos brutos metanólicos das folhas e do caule de <i>V. macrocarpa</i> , expressos em: miligramas de equivalente ácido gálico e miligramas de equivalente quercetina por grama de extrato \pm desvio padrão.	50
Tabela 4	Atividade antioxidante dos extratos avaliada pelo CE50, valores expressos em: $\mu\text{g/mL}$.	51
Tabela 5	Porcentagem (%) de inibição de oxidação (Média \pm Desvio padrão) para o extrato de folhas de <i>V. macrocarpa</i> no sistema β -caroteno/ácido linoleico.	53
Tabela 6	Porcentagem (%) de inibição de oxidação (Média \pm Desvio padrão) para o extrato de caule de <i>V. macrocarpa</i> no sistema β -caroteno/ácido linoleico.	53
Tabela 7	Parâmetros cinéticos do potencial antioxidante no sistema β -caroteno e ácido linoléico, para o Trolox e o extrato de folhas de <i>V. macrocarpa</i> .	55
Tabela 8	Tabela 7: Parâmetros cinéticos do potencial antioxidante no sistema β -caroteno e ácido linoléico, para o Trolox e o extrato de caule de <i>V. macrocarpa</i> .	55
Tabela 9	Média do peso corporal (gramas \pm desvio padrão) de camundongos fêmeas <i>Mus musculus</i> tratados por via oral com uma dose de 300 mg/kg do extrato metanólico de folhas e caule de <i>V. macrocarpa</i> .	56
Tabela 10	Peso médio dos órgãos, após eutanásia dos camundongos fêmeas (n=5) tratados com EMFVm e EMCVm em dose única de 300 mg/kg. O controle recebeu soro fisiológico 0,9%. Dados expressos como Média \pm E.P.M. (ANOVA-seguido de Tukey).	57

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Plantas medicinais	13
2.1.1 Metabolismo Secundário de Plantas	15
2.2 Família Leguminosae	19
2.2.1 Gênero <i>Vatairea</i>	20
2.2.2 <i>Vatairea macrocarpa</i>	21
2.3 Atividade Antioxidante de Plantas	25
2.4 Atividade Analgésica e Anti-inflamatória em Plantas	26
2.4.1 Inflamação	27
2.4.2 Dor	30
3 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Obtenção e Processamento do Extrato Bruto	33
3.2 Composição Química	34
3.2.1 Cromatografia em Camada Delgada	34
3.2.2 Determinação do Teor de Compostos Fenólicos e Flavonoides	36
3.2.2.1 Determinação do Conteúdo Fenólico Total	36
3.2.2.2 Determinação do Teor de Flavonoides Totais	38
3.3 Determinação da Atividade Antioxidante	39
3.3.1 Método do Sequestro do Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)	39
3.3.2 Método da Co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico	41
3.4 Ensaios Biológicos e Toxicidade	42
3.4.1 Animais Utilizados e Preparação dos Extratos	42
3.4.2 Teste de Toxicidade Aguda	43
3.4.3 Teste de Avaliação da Coordenação Motora (Rota Rod)	44
3.4.4 Teste de Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético	45
3.4.5 Teste da Formalina	45
3.4.6 Teste da Placa Quente	46
3.4.7 Teste do Edema da Pata Induzido por Carragenina	47
3.4.8 Análise Estatística dos Testes Biológicos	48

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 Obtenção dos Extratos Bruto	49
4.2 Composição Química	49
4.2.1 Cromatografia em Camada Delgada	49
4.2.2 Determinação do Teor de Compostos Fenólicos e Flavonoides	50
4.3 Determinação da Atividade Antioxidante	51
4.3.1 Método do Sequestro do Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)	51
4.3.2 Método da Co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico	52
4.4 Ensaios Biológicos	56
4.4.1 Teste de Toxicidade Aguda	56
4.4.2 Teste de Avaliação da Coordenação Motora (Rota Rod)	57
4.4.3 Teste de Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético	60
4.4.4 Teste da Formalina	62
4.4.5 Teste da Placa Quente	65
4.4.6 Teste do Edema da Pata Induzido por Carragenina	67
5. CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o país com a maior biodiversidade genética vegetal do mundo, a qual tem se tornado objeto de pesquisa na área de prospecção de produtos naturais, sendo uma das vertentes mais tradicionais da Química no país. Segundo Pinto e colaboradores (2002) “a Química de Produtos Naturais (QPN) é, dentro da Química brasileira, a área mais antiga e a que, talvez ainda hoje, congregue o maior número de pesquisadores”.

As plantas são uma importante fonte de substâncias biologicamente ativas, isso devido a enorme diversidade em termo de estruturas e propriedades químicas que possuem e que podem servir direta ou indiretamente para o desenvolvimento e a síntese de um grande número de fármacos (SANDES; DI BRASI, 2000).

Diante dessa característica das plantas, diversos estudos (KIZILTAS et al., 2017; ISIDORO SANTOS et al., 2016; SOUSA et al., 2007) vem sendo realizados a respeito das propriedades antioxidantes presente em vegetais que são capazes de controlar os efeitos nocivos dos processos oxidativos impedindo ou diminuindo a formação dos radicais livres. Os compostos fenólicos, por exemplo, atuam como antioxidantes de várias formas (SOUSA et al., 2007).

Existe ainda um esforço quanto à pesquisa de novas drogas em extratos vegetais com potencial antinociceptivo já que os analgésicos representam uma das classes mais estudadas no mundo devido ao seu alto consumo e pelo fato da dor crônica ser um sério problema de saúde pública, além da questão de que grande parte dos medicamentos existentes hoje no mercado possuem efeitos indesejáveis significativos (COUTINHO et al., 2009; SOUSA, 2016).

A espécie *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke pertence a família Leguminosae e é típica do cerrado, campo cerrado e cerradões do Brasil, sendo conhecida popularmente como maleiteira, angelim-do-cerrado e como amargoso, devido ao chá da casca do caule ser amargo (OLIVEIRA et al., 2008). Essa espécie é utilizada popularmente para diversas patologias. Dentre elas a mais comum relatada é a utilização do chá da entrecasca no tratamento dos sintomas do Diabetes Mellitus (OLIVEIRA et al, 2008; BAVILONI et al., 2010). Autores sugerem que a presença de substâncias com atividade antioxidante seria responsável por tal atividade (SANTOS et al., 2007).

Além de antidiabética há relatos sobre o uso da *V. macrocarpa* como antiúlcera e anti-inflamatório (SILVA, 2007; JESUS et al, 2009), atividade leishmanicida e antifúngica do

extrato da raiz (SANTANA, 2013) e atividade antibacteriana (MATOS et al, 1988). Estudos realizados no Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos (LAPRON) da UEFS com *V. macrocarpa* também demonstraram atividade antimicrobiana nas folhas dessa planta (VALADARES, 2011).

Diante da diversidade de atividades relatadas para essa espécie é de grande relevância a continuidade e o aprofundamento das pesquisas com a mesma, para que esse recurso genético vegetal seja avaliado quanto a sua importância farmacológica, podendo futuramente vir a servir para o desenvolvimento de um novo fármaco. Vale ressaltar ainda que não foram encontrados trabalhos na literatura com experimentos realizados com o extrato das folhas de *V. macrocarpa*, e como já foi verificada a atividade antimicrobiana nessa parte da planta justifica-se esse estudo. Quanto ao caule também há poucos estudos, sendo que a maioria dos trabalhos é com a entrecasca desta espécie.

Dessa forma o presente estudo teve como objetivo geral avaliar a composição química, atividade antioxidante, anti-inflamatória e antinociceptiva e a toxicidade do extrato bruto das folhas e do caule de *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke, e como objetivos específicos: 1) Obter o extrato bruto metanólico das folhas e do caule de *V. macrocarpa*; 2) Determinar o perfil químico dos extratos das folhas e do caule; 3) Determinar o teor de compostos fenólicos e flavonoides dos extratos das folhas e do caule; 4) Avaliar a atividade antioxidante dos extratos das folhas e do caule; 5) Avaliar a toxicidade aguda dos extratos das folhas e do caule; 6) Investigar os efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório dos extratos das folhas e do caule.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Plantas medicinais

O interesse da população em relação ao uso de plantas como recurso medicinal alternativo data de milhares de anos, pois o homem diante da necessidade de sobrevivência utilizava os vegetais como os primeiros recursos com fins terapêuticos no tratamento de diversas enfermidades. As plantas medicinais são utilizadas pelo homem desde o início da história e atualmente são empregadas como recursos na medicina alternativa por grande parte da população mundial devido, à facilidade de acesso às mesmas em relação aos medicamentos alopáticos (CARNEIRO et al., 2014).

O conhecimento sobre as propriedades medicinais das plantas vem sendo transmitido ao longo do tempo através de registros e manuscritos históricos que passaram de geração a geração (LEITE et al., 2015). No Brasil, o conhecimento de plantas medicinais foi influenciado por colonizadores, nativos e africanos desde muito tempo e o conhecimento popular sobre o uso de ervas vem sendo estudado pela Etnobotânica, ciência que tenta resgatar tal conhecimento a fim de utilizar essas informações como base para as pesquisas científicas (RICARDO, 2010).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população mundial faz uso de plantas medicinais como principal opção terapêutica. Em países em desenvolvimento, como o Brasil, mais da metade das pessoas dependem da medicina tradicional e/ou complementar para suas necessidades básicas de saúde (SOLER, 2000). Diante dessa realidade a Fitoterapia, vem crescendo de forma relevante nos últimos anos, isso possivelmente devido aos altos custos dos medicamentos industrializados e pela valorização da utilização de produtos naturais pelos meios de comunicação (SAVAIRA et al., 2015).

Além da utilização propriamente dita das plantas medicinais com fins terapêuticos os produtos naturais são uma importante fonte de modelos moleculares para o desenvolvimento de novos fármacos. Chechin Filho e Yunes (2014) ao analisarem publicações de trabalhos entre os anos de 1981 e 2001 a respeito de novas substâncias ativas foi observado que os produtos naturais representavam aproximadamente 6%, os derivados de produtos naturais (semi-síntese) cerca de 27%, os totalmente sintetizados que tiveram os produtos naturais como protótipos reuniram 16%, enquanto que os produtos de síntese total ao acaso ou por

modificação de fármacos já existentes totalizavam 51%. Assim, diante desses dados é evidente a importância dos produtos naturais para a produção de novos fármacos.

As plantas além de fornecer moléculas de complexidade estruturais dificilmente imaginadas ou elaboradas através da síntese, outro fator que favorece os estudos das plantas quanto à suas finalidades farmacológicas é a respeito da ocorrência de sinergismo, efeito observado em extratos de plantas medicinais que pode servir como modelo para aplicação na química medicinal moderna onde uma mistura de duas ou mais substâncias confere um efeito biológico maior que a soma dos efeitos individuais ministrados em uma mesma dose (CHECHINEL FILHO; YUNES, 2014).

O Brasil apresenta grande potencial para geração de pesquisas, desenvolvimento e inovações de produtos originados de plantas medicinais já que possui a maior diversidade genética do mundo (FONSECA, 2012). Planta medicinal é definida, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), como toda espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com fins terapêuticos (BRASIL, 2010). Calcula-se que metade das plantas existentes contenham substâncias chamadas de princípios ativos, que tem propriedades curativas e preventivas para muitas doenças (LORENZI; MATOS, 2002). Apesar dos estudos na área de produtos naturais ainda ser incipiente, diante da grande variedade de espécies com potencial terapêutico existente no Brasil, o número de pesquisas científicas vem crescendo a cada dia.

Um levantamento realizado por Carneiro e colaboradores (2014) investigou a tendência dos estudos com plantas medicinais no Brasil e foi observado que a maior parte das pesquisas nessa área está voltada para a Farmacologia, com aplicação em diversos campos da saúde, seguido pela Agropecuária, devido ao interesse em desenvolver produtos a partir de plantas para o controle de pragas. Foi verificado o emprego em outras áreas, já que os estudos com plantas medicinais requerem profissionais diversos como os da Bioquímica, Botânica, Ecologia, Genética/Molecular e Educação. Foi demonstrado ainda a importância da investigação da medicina popular e a necessidade em considerar outros aspectos como o isolamento, purificação, caracterização dos princípios ativos, investigação farmacológica de extratos, constituintes químicos e transformações químicas.

Diante desse panorama órgãos mundiais vêm estimulando o desenvolvimento de políticas públicas para incorporar a medicina tradicional à medicina moderna no intuito de fortalecer a atenção sanitária e melhorar as condições de saúde da população (BRASIL, 2006). Isso porque apesar da evolução da medicina alopática ao longo do tempo existem alguns obstáculos para a sua utilização pelas populações carentes em determinados casos, que vão desde o acesso aos centros de atendimentos hospitalares à obtenção de exames e

medicamentos. Com isso, a fácil obtenção e especial tradição do uso das plantas medicinais contribuem para a sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento (VEIGA JUNIOR et al., 2005). Exemplificando, Jesus (2007) em pesquisa realizada no Distrito de Pirizal, Mato Grosso, observou que a falta de farmácia e o suprimento irregular de medicamentos do Sistema Único de Saúde (SUS) nesse local fez com que o conhecimento sobre plantas medicinais pelos seus habitantes fosse de grande valor já que a utilização destas é uma prática diária sendo a única opção no tratamento das enfermidades.

Diante desse acesso aos vegetais ser relativamente fácil, as pesquisas sobre as plantas medicinais também são importantes para evitar os problemas de intoxicação que podem ser causados pelo seu uso incorreto, seja ao utilizar uma ou mais plantas sem nenhum conhecimento e comprovação científica para uma mesma indicação terapêutica assim acumulando substâncias ativas; ou ao misturar plantas e quantidades indevidas das mesmas, o que pode provocar desde uma simples dermatite até a morte (CARNEIRO et al., 2014).

As plantas além de fornecerem substâncias alimentares, como proteínas, vitaminas e carboidratos, também produzem metabólitos secundários complexos tais como os alcaloides, flavonoides, terpenoides, cumarinas, antraquinonas, dentre outras, substâncias tais responsáveis pelas atividades terapêuticas (SIMÕES et al., 2007).

2.1.1 Metabolismo Secundário de Plantas

A atividade metabólica é uma característica dos seres vivos, sendo um conjunto de reações químicas que ocorre no interior das células (PERES, 2004). Essas reações são controladas por enzimas específicas que as direcionam, estabelecendo assim as rotas metabólicas nos vegetais. Os compostos químicos formados, degradados ou transformados são chamados de metabólitos (SANTOS, 2002). As células vegetais realizam dois tipos de metabolismo: primário e secundário.

Através do metabolismo primário as plantas produzem compostos que estão envolvidos diretamente com os processos essenciais à vida dos vegetais como fotossíntese, respiração e transporte de solutos. Os compostos primários, aminoácidos, nucleotídeos, lipídios, carboidratos e clorofila, responsáveis por esse metabolismo estão presentes em todas as plantas (FUMAGALI et al., 2008).

Por outro lado, o metabolismo secundário não é necessariamente essencial para as plantas, ou seja, nem sempre é necessário para que um vegetal complete seu ciclo de vida,

mas ele desempenha um papel importante na interação deste com o meio ambiente. Os metabólitos secundários possuem papel contra a herbivoria, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente e microrganismos simbiotes. Possui ainda ação protetora em relação a estresses abióticos, como aqueles associados com mudanças de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição à radiação ultravioleta (UV) e deficiência de nutrientes minerais (PERES, 2004).

Os metabólitos secundários, diferente dos primários, encontram-se nas plantas em baixas concentrações, apresentam baixo peso molecular e geralmente possuem uma estrutura complexa, apresentando atividades biológicas marcantes (BERG; LUBERT, 2008). De acordo com Simões e colaboradores (2007) esses compostos despertam enorme interesse, não só pelas suas atividades biológicas exercidas nas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas também pela imensa atividade farmacológica que possuem.

Um composto biologicamente ativo é definido por Peres (2004) como “aquele que exerce uma ação específica sobre um determinado ser vivo, seja ele animal, vegetal ou microrganismo”. Dessa forma, tanto os compostos secundários quanto os primários atuam como constituintes orgânicos naturais de origem vegetal biologicamente ativo.

As três principais famílias de moléculas do metabolismo secundário são de uma maneira geral: os compostos fenólicos, os terpenos, e os alcaloides, que são produzidos a partir de um número relativamente pequeno de intermediários-chave, sendo formados em sequência através dos sistemas enzimáticos responsáveis pela formação dos metabólitos primários (FUMAGALI et al., 2008). No entanto, as vias do metabolismo secundário dão origem a muitas outras classes de compostos que por vezes, são específicos de determinadas famílias, gêneros ou espécies, cujas funções, até pouco tempo eram desconhecidas. Assim, cada um desses metabólitos irá apresentar uma determinada função para a planta que poderá servir como um composto terapêutico para o ser humano (COWAN, 1999).

Os alcaloides, de acordo com a Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009) “são um grupo heterogêneo de substâncias nitrogenadas, derivadas de plantas superiores, de caráter básico que apresentam acentuada ação farmacológica em animais”. São classificados de acordo com sua estrutura através de seu núcleo químico em indólicos, quinolínicos, quinolizidínicos, isoquinolínicos, imidazólicos, tropânicos e pirrolizidínicos (SAAD et al., 2009). Os alcaloides apresentam propriedades toxicológicas e farmacológicas características, apresentando ação biológica marcante, como a morfina, a cafeína e a nicotina, possuindo a propriedade de atravessar a barreira hematoencefálica e exibir atividade depressora ou estimulante sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) pela sua capacidade de interagir com

receptores neuronais (GALLARRETA et al., 2015; SAAD et al., 2009). No organismo humano, os alcaloides atuam de diversas formas, bem como analgésicos, antipiréticos e alucinógenos (GALLARRETA et al., 2015).

Os compostos alcalínicos atuam na defesa química de plantas através dos efeitos fisiológicos que exercem sobre os animais e pelas suas atividades antimicrobianas, sendo que vários destes compostos são tóxicos aos insetos e atuam como repelentes para herbívoros (FUMAGALI, 2008). Acredita-se ainda que os alcaloides atuem também como reserva de nitrogênio, reguladores do crescimento do metabolismo interno e da reprodução, como agentes de desintoxicação e transformação simples de outras substâncias nocivas ao vegetal e também como protetores contra a radiação UV (GALLARRETA et al., 2015).

A classe de compostos ativos em maior quantidade nas plantas são os terpenoides, apresentando grande variedade estrutural. Os terpenos são originados pela união de unidades isoprênicas de cinco carbonos, que quando são submetidos a altas temperaturas podem se decompor em isoprenos. Dessa forma, todos os terpenos podem ser definidos como isoprenoides os quais são denominados com base no número de átomos de carbono em suas moléculas e unidades de isopreno $(C_5H_8)_n$. Assim são classificados em monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) (TAIZ; ZEIGER, 2013; ALMEIDA, 2014).

Os terpenos possuem grande importância ecológica quanto à defesa das plantas, sendo vários monoterpenos isolados e avaliados quanto à toxicidade frente a diversos insetos (VIEGAS JUNIOR, 2003). Os monoterpenoides são os principais constituintes dos óleos voláteis, comumente, presentes nas plantas responsáveis por fragrância e aroma, sendo a volatilidade e o odor as suas características fundamentais, que atuam também na atração de polinizadores. Os sesquiterpenos em geral apresentam funções protetoras contra fungos e bactérias, enquanto muitos diterpenoides dão origem aos hormônios de crescimento vegetal. Os triterpenoides e seus derivados esteroidais apresentam uma gama de funções como proteção contra herbívoros, alguns são antimitóticos, outros atuam na germinação de sementes e na inibição do crescimento da raiz. Os terpenos de modo geral apresentam diversas atividades farmacológicas como anti-inflamatória, antiespasmódica, antinociceptiva, antioxidante, antifúngica, antibacteriana, dentre outras (SAAD et al., 2009; NIERO; MALHEIROS, 2014).

Os compostos fenólicos constituem um grupo diversificado de fitoquímicos derivados da fenilalanina e tirosina presentes em muitas plantas que englobam desde moléculas simples até aquelas com alto grau de polimerização. Nas plantas esses compostos são essenciais para o

crescimento e reprodução, estando na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (NACZK; SHAHIDI, 2006).

A função dos compostos fenólicos está envolvida com a síntese das ligninas que são comuns a todas as plantas superiores, atrativos aos seres humanos devido ao odor, sabor e coloração agradáveis, mas também para outros animais, os quais são atraídos para polinização ou dispersão de sementes. Além disso, esse grupo de compostos é importante para a proteção das plantas contra os raios ultravioleta, insetos, fungos, vírus e bactérias. Há inclusive certas espécies vegetais que desenvolveram compostos fenólicos para inibir o crescimento de outras plantas competidoras (ação alelopática) (JAKIEMIU, 2008).

Os compostos fenólicos são substâncias que apresentam grupo(s) hidroxila(s) ligado(s) ao anel benzênico, assim variando desde estruturas simples a estruturas mais complexas se enquadrando em diferentes categorias como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzoicos e cinâmico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (SAAD et al., 2009). As propriedades biológicas dos compostos fenólicos estão relacionadas com a atividade antioxidante desempenhada por esses compostos de acordo com a estrutura química de cada um (DORMAN et al., 2003). A habilidade dessas substâncias em sequestrar radicais livres, que são responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas a este, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, imunossupressão e disfunções cerebrais, fez com que aumentasse o consumo e o estudo desses compostos (SOUSA et al., 2007).

Os flavonoides são uma classe de polifenólicos de ampla distribuição nas plantas importantes para o seu crescimento normal, desenvolvimento e defesa. Atuam como atrativos visuais favorecendo a polinização, como mecanismo de defesa frente ao ataque de insetos e microrganismos e como protetores da radiação ultravioleta por suas propriedades antioxidantes. Os flavonoides estão presentes em diversas plantas medicinais e medicamentos em todo o mundo. São compostos de baixo peso molecular que apresentam uma grande variedade de estruturas básicas que dão lugar a uma série de compostos que se diferenciam em seu grau de oxidação e substituição. Possuem uma ampla diversidade estrutural e são muito estáveis e facilmente detectáveis. Diversas atividades biológicas são descritas para os flavonoides, porém as três principais são: ações antioxidantes, antiproliferativa e anti-inflamatória (CHECHINEL FILHO; YUNES, 2014).

Quanto ao estudo dos compostos secundários nas plantas deve-se atentar para os diversos fatores que influenciam no conteúdo destes. Dentre eles, a época de coleta da planta é um fator importante a se considerar de acordo com cada espécie, pois a depender da

sazonalidade pode haver influência na quantidade e na natureza do constituinte ativo. Outro fator de grande significância é a idade e o desenvolvimento da planta, bem como dos diferentes órgãos vegetais que são influenciados por fatores como disponibilidade hídrica, temperatura, radiação ultravioleta, nutrição, dentre outros e poderão interferir não só na quantidade dos compostos como também na proporção relativa dos componentes da mistura (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Sabendo dos fatores que podem influenciar na quantidade e qualidade dos compostos ativos é importante especificar a data e o local exato da coleta das plantas que serão utilizadas para pesquisa dos ativos. Outro fator importante para a análise de compostos ativos nos vegetais é que a constituição química, na maioria dos casos, difere significativamente em relação às distintas partes da planta, sendo assim é mais viável estudar inicialmente aquela empregada na medicina popular e posteriormente os demais órgãos, que também podem conter princípios ativos (CHECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

A obtenção de compostos farmacologicamente ativos em plantas medicinais passa por diversas etapas e processos diferentes, indo desde a coleta da planta, extração e preparação dos extratos, identificação de compostos ativos até o estudo da atividade biológica (CHECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

2.2 Família Leguminosae

A família Leguminosae, também conhecida como Fabaceae, é a terceira maior família de angiospermas estando atrás apenas das Asteraceae e Orchidaceae e a segunda família em importância econômica e agrícola. É composta por aproximadamente 727 gêneros e 19.325 espécies e é subdividida em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae. Dentre os gêneros os maiores são *Astragalus* (Papilionoideae), *Acacia sensu lato* (Mimosoideae) e *Indigofera* (Papilionoideae) (LEWIS et al., 2005).

Essa família pode ser encontrada em diferentes habitats, latitudes e altitudes, estando presentes nos mais diferenciados ecossistemas. Pode ser encontrada desde os picos das serras montanhosas até o litoral arenoso, da floresta tropical úmida até desertos, inclusive em ambientes aquáticos, sendo que à medida que se distancia da linha do Equador vai diminuindo seus centros de diversidade (LEWIS, 1987 *apud* FERNANDES; GARCIA, 2008). No Brasil é uma das principais famílias componentes da flora nos diversos ecossistemas (SOUZA; LORENZI, 2005).

A Leguminosae é uma família diversificada e de relevante importância para a humanidade. São utilizadas como culturas, forrageiras e adubos verdes, além de sintetizar uma vasta gama de produtos naturais responsáveis por sabores, drogas, toxinas e corantes. A característica que diferencia o grupo é seu fruto, uma vagem, conhecida como legume, que é utilizado como cultura alimentar para a população mundial. Suas sementes são ricas em proteínas de alta qualidade, proporcionando assim um alimento altamente nutritivo ao homem a exemplo do feijão, soja, lentilha, ervilha e grão de bico (WHITE, 2013).

As leguminosas são relatadas na medicina popular sendo utilizadas para diversas propriedades terapêuticas tais como: anti-inflamatória, analgésica, antitérmica, antimicrobiana, entre outras (CAVALHEIRO et al., 2009). Dentre as atividades terapêuticas descritas na literatura para espécies dessa família podem-se destacar, principalmente, as atividades antimicrobiana (*Pterodon emarginatus* Vogel, *Erythrina velutina* Willd. e *Acacia longifolia* (Andr.) Willd.) (PEITZ et al., 2003; VIRTUOSO et al., 2005; SANTOS et al., 2010) e antioxidante (*Mimosa paraibana* Barneby e a *Pseudopiptadenia contorta*, dentre outras) (MOREIRA et al., 2002; NUNES et al., 2008).

2.2.1 Gênero *Vatairea*

O gênero *Vatairea* é nativo do Brasil, porém pode ser encontrado em outras regiões como Guiana e regiões litorais atlânticas da América Central e do México. Sete espécies arbóreas fazem parte dessa família e estão distribuídas a partir do sul do México até o sudeste do Brasil, incluindo Guatemala, Honduras, Costa Rica, Panamá, Colômbia, Venezuela, Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Peru, sendo que a mais ampla variedade deste gênero situa-se nas regiões de floresta da Amazônia Central (CAVADA et al., 1998; BARROSO et al., 1991; LIMA, 1982).

As espécies *V. guianensis*, *V. fusca*, *V. erythrocarpa*, *V. paraensis*, e *V. sericea* são florestais da Amazônia. A *V. heteroptera* habita florestas de encosta e a espécie *V. lundelli* predomina no sul do México e América Central (LIMA, 1982). Os estudos existentes sobre esse gênero referem-se em sua maioria às espécies *V. guianensis* Aubl, *V. heteroptera* Ducke, *V. macrocarpa* Benth, *V. sericea* Ducke e *V. paraensis* Ducke (SILVA, 2011).

As atividades descritas na literatura para o gênero *Vatairea* incluem atividades antidiabética, antimicrobiana e antiparasitária (LAMARÃO DA SILVA, 2011). Através de pesquisas em banco de dados observou-se que o maior número e variedade de estudos para o gênero *Vatairea* concentra-se nas espécies *V. macrocarpa* e *V. guianensis*.

Para a espécie *V. guianensis* há relatos do seu uso contra diversos tipos de infecções de pele causadas por fungos e bactérias (PIEADADE; FILHO, 1988; LAMARÃO DA SILVA et al., 2011). Além disso, o óleo das sementes também é usado topicamente contra manchas, sardas e pano de rosto (CORRÊA, 1982). Estudos com essa espécie demonstraram atividade antimicrobiana para os extratos hidroetanólico, hexânico, clorofórmico e metanólico das sementes frente a bactérias Gram positiva (*Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*) e Gram negativa (*Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella* sp.) (LAMARÃO DA SILVA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2013). Além disso, estudos demonstraram atividade leishmanicida para o extrato hexânico da casca do fruto (OTOBELLI et al., 2009). Quanto à toxicidade há relato de que o extrato hidroetanólico das sementes seja de baixa toxicidade além de apresentar também atividade cicatrizante e anti-inflamatória (LAMARÃO DA SILVA et al., 2011). O extrato etanólico das folhas mostrou boa atividade antioxidante para o teste de potencial sequestrador do radical DPPH quando comparado com o padrão Trolox (SOUZA et al., 2013).

Quanto à composição química de espécies do gênero *Vatairea* é relatado a presença de antraquinonas emodina, formonometina e crisofanol (PIEADADE; FILHO, 1988). Para a espécie *V. guianensis* foram isoladas substâncias em diferentes partes da planta: emodina (RIBEIRO, 2012), ácido 9-antronacrisofânico, 9-antronafisciona e 10-antronafisciona no tronco (SIMATUPANG, 1967); fisciona, ácido oleanólico, lactona do ácido diidromacaerínico e bolusantol nas cascas do caule (PIEADADE; FILHO, 1988; SOUZA et al., 2015); antraquinonas crisofanol e fisciona nas cascas do fruto (OTOBELLI et al., 2011); nas folhas quatro diferentes isoflavonas, juntamente com cinco triterpenos identificados em mistura de lupeol, α -amirina, β -amirina, germanicol e ácido betulínico (SOUZA et al., 2013).

Foi encontrado ainda relatos na literatura sobre a composição de extratos do tronco de *V. heteroptera* onde foi isolado crisofanol, emodina, formonometina, 7-hidroxi flavona, sitosterol e estigmasterol (OTOBELLI et al., 2011). O crisofanol foi encontrado também em extratos benzênicos de *V. guianensis*, *V. macrocarpa* e *V. paraenses* (PIEADADE; FILHO, 1988).

2.2.2 *Vatairea macrocarpa*

A espécie *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke é arbórea, típica do Cerrado (segundo maior bioma do Brasil), sendo conhecida popularmente como maleiteira, angelim-do-cerrado e como amargoso, devido ao chá da casca do caule, usado popularmente, ser amargo

(OLIVEIRA et al., 2008; MEDEIROS, 2011).Essa espécie é utilizada pela população para diversas patologias, dentre elas a mais comum relatada é a utilização do chá da entrecasca no tratamento dos sintomas do *Diabetes Mellitus* (OLIVEIRA et al., 2008; BAVILONI et al., 2010). Dentre os estudos relatados para essa espécie são comprovadas diversas atividades biológicas para diferentes partes da planta: atividade antidiabética, antimicrobiana, antifúngica, leishmanicida e antiulcerogênica.

Um estudo realizado por Oliveira e colaboradores (2008) comprovou a atividade antidiabética do extrato etanólico da entrecasca do caule de *V.macrocarpa* em ratos *Wistar* machos (190g a 210g) os quais foram tratados com o extrato nas doses de 250 e 500 mg/kg (via oral) durante 22 dias consecutivos, sendo a diabetes induzida pela estreptozotocina (47 mg/kg). Através dessa pesquisa a dose de 500 mg/kg foi a que apresentou efeito significativo para controlar o estado diabético nos animais diminuindo a glicemia pós-prandial sem apresentar efeitos nos animais não diabéticos. Assim, com base nesse e outros estudos foi sugerido que o uso em longo prazo do extrato da entrecasca dessa espécie pode ser útil no tratamento de condições diabéticas. Outro estudo demonstrou o mecanismo de ação dessa atividade antidiabética, que de acordo com Baveloni e colaboradores (2010) ocorre através da estimulação de vias de sinalização de insulina em tecidos periféricos em ratos diabéticos, principalmente no fígado e tecido adiposo, provavelmente aumentando a captação de glicose e a síntese de glicogênio no fígado. Santos et al (2007) sugere ainda que tal atividade esteja relacionada a atividade antioxidante apresentada pelo extrato da entrecasca, pois os radicais livres leva a destruição das células responsáveis pela produção de insulina.

Além de antidiabética, há relatos sobre o uso da infusão ou maceração com água fria de *V. macrocarpa* como agente antiúlcera e anti-inflamatório (SILVA, 2007; JESUS et al., 2009).Estudos realizados por Jesus (2007) a fim de verificar as atividades antiulcerogênica e anti-inflamatória relatada demonstraram que o extrato do cerne dessa planta não apresentou atividade antiedematogênica, no modelo de edema de pata induzido por carragenina nem no modelo de edema de pata induzido por dextrana. Dessa forma, não foi verificada atividade anti-inflamatória nessa parte da planta relatada no uso popular, demonstrando assim a importância dos estudos científicos. Quanto à atividade antiulcerogênica foi comprovado que há um efeito antiúlcera do extrato metanólico do cerne de *V. macrocarpa*, concluindo-se com base nos resultados que esse efeito não está relacionado à atividade antissecretória ácida, mas está mediado pelo sequestro de radicais livres e do aumento da produção de muco(JESUS, 2007).

A atividade antioxidante também foi avaliada no extrato etanólico da entrecasca dessa espécie onde apresentou um importante efeito antioxidante quando comparado ao ácido ascórbico, apresentando assim uma maior atividade antioxidante em comparação ao extrato do cerne dessa espécie (SANTOS et al., 2007).

A atividade antifúngica relatada por Piedade e Wolter Filho (1988) foi comprovada em pesquisa realizada por Santana (2013). O extrato de *V. macrocarpa* mostrou, em estudos, potencial para atividade antifúngica e leishmanicida. Em experimento feito com diversas partes da planta dessa espécie frente aos fungos *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Tricophyton mentagrophytes*, *Tricophyton rubrum* verificou-se que o extrato obtido da espécie *V. macrocarpa* mostrou atividade antifúngica para pelo menos um dos fungos testados. O melhor resultado foi mostrado pelo extrato etanólico do caule em *C. albicans*, porém inferior ao obtido pelos controles, fluconazol e anfotericina B, e o extrato de acetato de etila da casca da raiz foi considerada promissora para todas as espécies de fungos testadas. Quanto à atividade leishmanicida foi demonstrado que o extrato hexânico da raiz e o extrato de acetato de etila da casca da raiz dessa espécie são ativos para o *Leishmania amazonensis*.

No que diz respeito à atividade antibacteriana um estudo demonstrou que o extrato acetônico do cerne de *V. macrocarpa* apresentou acentuada atividade antimicrobiana frente a cepas de *Klebsiella spe Staphylococcus aureus* e não apresentou atividade frente as bactérias *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium perfringens* e *Escherichia coli* e fungos *Aspergillus niger* e *Saccharomyces cerevisiae* (MATOS et al., 1988). Outro estudo sobre atividade antimicrobiana realizada pela equipe do Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos (Lapron) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) demonstrou atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* para o extrato bruto metanólico das folhas de *V. macrocarpa* (VALADARES et al, 2011).

Foram encontradas na literatura publicações relatando a purificação e algumas propriedades da lecitina de sementes de *V. macrocarpa* (CALVETE et al., 1988; CAVADA et al., 1998). Essa lecitina é uma proteína ligante de galactose com vários efeitos biológicos relatados: são capazes de inibir a aderência de microrganismos da espécie *Streptococci* no esmalte dos dentes sendo úteis na terapêutica da adesão (TEIXEIRA et al., 2006) além de apresentarem efeitos sobre o sistema renal, em rins isolados de ratos, aumentarem a pressão de perfusão, a resistência vascular renal, o fluxo urinário e a taxa de filtração glomerular, não alterando o transporte tubular de sódio ou potássio (MARTINS et al., 2005); e tem capacidade de ligação ao antígeno *Tn*, que está relacionado com células de tumores cancerígenos detectado

glandular (DAM et al., 2007). Um estudo realizado por Sousa e colaboradores (2016) demonstrou que a lecitina da semente de *V. macrocarpa* pode servir como uma ferramenta para os estudos sobre câncer já que a mesma pode se ligar a antígenos associados a tumores específicos com elevada afinidade em relação a outras lecitinas de leguminosas, sendo altamente estáveis e facilmente produzidas. Além de servir como ferramenta para os estudos sobre o câncer, a lecitina da semente induz a migração de neutrófilos, células de defesa, em ratos, através da liberação de citocinas como o TNF- α por macrófagos, podendo ser utilizada também como ferramenta para o entendimento dos eventos celulares durante a inflamação (ALECAR et al., 2007).

Em relação a estudos de toxicidade, um trabalho realizado por Jesus e colaboradores (2012) avaliou a toxicidade aguda e subcrônica do extrato metanólico do cerne de *V. macrocarpa* onde se verificou que a administração via oral em ratos desse extrato nas doses de 100 a 5000 mg/kg não causou quaisquer alterações comportamentais relevantes ou mortes. No estudo da toxicidade subcrônica todas as alterações observadas não foram acompanhadas de quaisquer sinais clínicos relevantes ou quaisquer alterações histopatológicas, demonstrando assim um perfil de segurança relativo do extrato metanólico do cerne de *V. macrocarpa* nos animais experimentais.

Quanto à composição química da *V. macrocarpa*, dentre os relatos existentes há especial atenção quanto ao isolamento de antraquinonas, possivelmente as responsáveis pelas atividades fungicida e bactericida descritas para esta espécie (MONTEIRO et al., 2009). Além desses compostos secundários foram isolados esteroides, catequinas, epicatequinas e triterpenos (SILVA, 2011). Uma análise fitoquímica do extrato bruto metanólico do cerne revelou a presença de compostos fenólicos, taninos pirrogálicos, flavonóis, flavanona, esteroides livres, agliconas esteroides, quinonas e resinas (JESUS, 2007). Foi isolado do cerne dessa espécie o ácido crisofânico (1,8-dihidroxi-3-metil-antraquinona) (MATOS et al., 1988) e do extrato metanólico das cascas do caule foram isoladas substâncias precursoras de taninos, uma catequina e seu isômero epicatequina (STRADA et al., 2007). Assim como Piedade; Wolter Filho (1988) relataram a presença do crisofanol em algumas espécies de *Vatairea*, Monteiro e colaboradores (2009) identificaram o crisofanol no extrato etanólico do caule de *V. macrocarpa*.

2.3 Atividade Antioxidante de Plantas

Os radicais livres desempenham funções importantes para o metabolismo atuando como mediadores para a transferência de elétrons em diversas reações bioquímicas. Assim, são átomos ou moléculas instáveis, produzidos durante os processos metabólicos que possuem um átomo com número ímpar de elétrons e que para se estabilizar necessitam adquirir elétrons. Dessa forma reage com a maioria dos compostos vizinhos, oxidando-os (SANCHEZ-MORENO, 2002; ALVES et al., 2010).

No organismo os radicais livres apresentam diferentes funções estando envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. No entanto seu excesso ou ineficiência de antioxidantes no organismo faz com que estes apresentem efeitos deletérios no corpo provocando alterações na estrutura e funções celulares, processo denominado de estresse oxidativo, o que irá ocasionar diversas patologias como câncer, envelhecimento precoce, doenças cardiovasculares, degenerativas e neurológicas, declínio do sistema imune, choque hemorrágico, catarata, disfunções cognitivas, dentre outras (ALVES et al., 2010; SIKORA et al., 2008; SOUSA et al., 2007).

Nos processos biológicos é formada uma variedade de radicais livres dentre os quais os principais são compostos originados por reações do oxigênio molecular denominadas de espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$), ânion radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) e hidroperoxila ($\text{ROO}\bullet$), que causam danos ao DNA ou podem oxidar lipídios e proteínas (SANTOS, 2006; SOARES, 2002; SOUSA et al., 2007).

O controle da produção dos radicais livres nos seres vivos ocorre por vários compostos antioxidantes que podem ter origem endógena (ex: superóxido dismutase) ou pode ser adquirido da dieta alimentar ou outras fontes, como tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, selênio e carotenoides (SOUSA et al., 2007). Os tecidos possuem um sistema antioxidante integrado, que consiste em um arranjo de diversos componentes lipossolúveis (tocoferol, carotenoides), hidrossolúveis (ácido ascórbico, glutathione) e enzimáticos (glutathione peroxidase; superóxido dismutase; catalase) (McLEAN et al., 2005).

Os antioxidantes, de acordo com Santos (2006) são compostos que possuem a capacidade de neutralizar os radicais livres, retardando ou inibindo a sua ação de oxidação. Eles precisam estar em quantidades suficientes no organismo para neutralizar os efeitos tóxicos dos radicais livres que são produzidos continuamente. À medida que não existir essa equivalência irá ocorrer o chamado estresse oxidativo.

De acordo com estudos epidemiológicos a alta ingestão de produtos vegetais com compostos que possuem atividade antioxidante está associada com uma diminuição no risco de diversas doenças crônicas como câncer e aterosclerose. Os principais antioxidantes nos vegetais são as vitaminas C e E, os carotenoides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides (PODSEDEK, 2007; SILVA et al., 2010).

Os compostos fenólicos atuam como antioxidantes pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, e em virtude de seus radicais intermediários estáveis impedirem a oxidação. Agem tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo neutralizando ou sequestrando os radicais livres e quelando metais de transição (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Já os carotenoides apresentam em sua estrutura um longo sistema de ligação dupla conjugada chamada de cadeia polieno que forma a “espinha dorsal” da molécula e esse sistema rico em elétrons é o responsável pela atividade antioxidante dos carotenoides na absorção de radicais livres para interromper as reações em cadeia onde estão envolvidos. Por serem facilmente oxidados é que os carotenoides apresentam atividade antioxidante (McNULTY et al., 2007; QUIRÓS; COSTA, 2006; SIKORA et al., 2008).

As plantas produzem uma grande variedade de substâncias antioxidantes contra os danos moleculares causados por ERO. A busca por antioxidantes derivados de produtos naturais vem aumentando diante da crescente busca das indústrias por substituição dos antioxidantes artificiais pelos naturais pelo fato de que os sintéticos apresentam certa toxicidade. Os antioxidantes são utilizados pela indústria alimentícia para a conservação dos alimentos a fim de evitar a perda de sabor, qualidade e frescor (AMAROWICZ et al., 2004; VALENTÃO et al., 2002).

Há diferentes métodos para avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas que envolvem desde ensaios químicos com substratos lipídicos a ensaios mais complexos utilizando as mais diversas técnicas instrumentais. Como existe uma gama de radicais livres com diferentes formas de atuação nos organismos vivos, dificilmente existirá um método simples e universal pelo qual a atividade antioxidante possa ser medida precisa e quantitativamente (ALVES et al., 2010).

2.4 Atividade Analgésica e Anti-inflamatória de Plantas

As plantas medicinais além de diversas aplicações terapêuticas apresentam atividade anti-inflamatória e analgésica e mesmo sendo largamente utilizadas na medicina popular,

necessitam de estudos e pesquisas a fim de comprovar cientificamente essas atividades e informar a respeito de um possível quadro tóxico, em ensaios biológicos (ROCHA, 2006).

As plantas podem ser tão eficazes quanto os fármacos produzidos pela síntese química. Estas por possuírem diversos constituintes em seus extratos, quando testados, podem apresentar efeitos sinérgicos entre os diferentes princípios ativos, de diferentes classes e estruturas, contribuindo assim para uma mesma atividade (MACIEL et al., 2002).

Dentre os compostos reportados na literatura que tem demonstrado atividade anti-inflamatória em diversos modelos de inflamação destacam-se os triterpenos, esteroides, lactonas sesquiterpênicas, flavonoides, cumarinas e alcaloides, que atuam sobre os diferentes mediadores do processo inflamatório (ROCHA, 2006). Os flavonoides e alguns compostos triterpênicos têm sido relatados por apresentar efeito inibitório das enzimas lipoxigenase ou ciclooxigenase (KUPELI et al., 2006).

Espécies pertencentes à família Leguminosae tem apresentado atividades anti-inflamatória e antinociceptiva como é o caso da *Caesalpinia pyramidalis* pela presença de taninos, flavonoides e saponinas (SANTOS, 2010), as folhas de *Pterogyne nitens* devido à presença de substâncias fenólicas (FERNANDES et al., 2006), o óleo de *Pterodo pubescens*, pela presença de terpenos (DENNY, 2002), dentre outras. A pesquisa de novos agentes anti-inflamatórios em plantas é importante já que estes podem exercer essa atividade por mecanismos distintos daqueles apresentados pelos fármacos atualmente existentes.

2.4.1 Inflamação

Inflamação é o termo utilizado geralmente para as mudanças que podem ocorrer nos tecidos vascularizados em resposta a danos teciduais, infecções ou reações imunológicas (SPINOSA et al., 2006). Apesar dos efeitos da inflamação causar desconforto e serem muitas vezes indesejáveis, em essência são benéficos, pois permite ao indivíduo sobreviver com os efeitos do estresse do dia a dia, já que sem a inflamação as infecções prosseguiriam sem controle e as feridas jamais cicatrizariam. No entanto, a inflamação pode ser prejudicial quando for excessiva ou inapropriada, o que irá ocasionar diversas doenças como artrite reumatoide, psoríase, doenças inflamatórias intestinais, danos causados por doenças autoimunes além de contribuir para a evolução de doenças como câncer, diabetes e cardiovasculares (LUCAS et al., 2006; ROBBINS;COTRAN, 2010; ROCHA, 2006).

Os componentes da reação inflamatória que destroem e eliminam os micróbios e tecidos mortos também podem lesar os tecidos normais. As moléculas e as células de defesa

do hospedeiro, normalmente circulam no sangue e o alvo da reação inflamatória é trazê-las para o local da infecção ou da lesão tecidual. Diversas células e moléculas exercem papel importante na inflamação. Estas incluem as proteínas plasmáticas e os leucócitos do sangue, as células das paredes dos vasos e as células da matriz extracelular do tecido conjuntivo circundante (ROBBINS; COTRAN, 2010).

O processo inflamatório segundo Lees e colaboradores (2004) é compreendido por três fases: a aguda, caracterizada pelos eventos vasculares (vasodilatação local e aumento da permeabilidade vascular); a tardia onde se observa a migração celular com infiltração de leucócitos e células fagocitárias; e a proliferativa crônica, que ocorre degeneração tecidual e fibrose, podendo causar a dor pela ativação e sensibilização de nociceptores. Temporalmente as inflamações são classificadas em agudas (de 1 a 2 semanas) e crônicas (meses ou anos), mas apresentam manifestações comuns no início, ao longo e no final do processo (LINO, 2011). De acordo com Robbins e Cotran (2010), em síntese, as etapas da resposta inflamatória são: 1) reconhecimento do agente lesivo; 2) recrutamento de leucócitos; 3) remoção do agente; 4) regulação/controla da resposta; e 5) resolução/reparo. A inflamação aguda cessa com a eliminação do estímulo nocivo, seguida do declínio da reação e o reparo do tecido lesado. Caso contrário, lesão persistente resulta em inflamação crônica.

No processo inflamatório está envolvida uma sucessão de ativações enzimáticas, liberação de mediadores químicos, extravasamento de líquidos, migração celular, lesão tecidual e reparação (VANE; BOTTING, 1995). As células imunologicamente competentes são acionadas a fim de inativar ou destruir os microrganismos invasores, remover substâncias irritantes e proteínas antigênicas, além de iniciar o reparo tecidual (GOODMAN; GILMAN, 2007).

A fase aguda, de curta duração, apresenta os sinais cardiais: a dor, o calor, o rubor, o tumor e a perda da função. Já a fase crônica perdura por um período indeterminado, variando de acordo com os tipos de mediadores celulares e humorais envolvidos (GOODMAN; GILMAN, 2007). Tanto durante o processo agudo, quanto no crônico da resposta inflamatória diversos fatores estão envolvidos no recrutamento dos leucócitos, através do aumento da expressão de moléculas de adesão celular e de fatores quimiotáticos. Muitos destes fatores regulam a ativação das células residentes (tais como fibroblastos, células endoteliais, macrófagos teciduais e mastócitos) e também das células inflamatórias recém-recrutadas (monócitos, linfócitos, neutrófilos e eosinófilos) importantes para a resposta local, além de alguns destes mediadores induzirem uma resposta sistêmica do processo inflamatório (febre,

hipotensão, síntese de proteínas da fase aguda, leucocitose e caquexia) (FEGHALI; WRIGHT, 1997).

Assim, na inflamação aguda há uma resposta rápida que leva leucócitos e proteínas plasmáticas para os locais da lesão e possui dois componentes principais: alterações vasculares (vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular) e eventos celulares (emigração de leucócitos da microcirculação e acúmulo no foco da lesão). A vasodilatação é induzida por mediadores químicos como histamina, o que causa o eritema e estase do fluxo sanguíneo. Quanto à permeabilidade vascular, esta é induzida pela histamina, cininas e outros mediadores que produzem aberturas entre as células endoteliais (ROBBINS; KUMAR, 2013).

Os leucócitos são responsáveis pela liberação de moléculas solúveis, citocinas, destacando-se as interleucinas 1 (IL-1), interleucinas-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral (TNF- α) e são atraídos ao local da lesão por mediadores inflamatórios com atividade quimiotática, denominados mediadores químicos que são responsáveis pelos sinais da inflamação, são substâncias biologicamente ativas que em concentrações muito baixas, desencadeiam respostas características em tecidos e órgãos (SILVA; MOTA, 2003). A maioria dos mediadores tem potencial de causar efeitos danosos ao organismo humano (ROBBINS; COTRAN, 2010). Os mediadores químicos específicos variam de acordo com o tipo de processo inflamatório e podem ser aminas, como a histamina e a 5-hidroxitriptamina; lipídios, como as prostaglandinas; pequenos peptídeos, como a bradicinina, e peptídeos maiores, como a interleucina (ZANINI; OGA, 1994 *apud* ROCHA, 2010).

Uma série de mediadores químicos são produzidos no processo inflamatório pelos leucócitos, plaquetas circulantes, células do endotélio vascular e células do sistema nervoso periférico. Entre esses mediadores estão a bradicinina, serotonina, prostaglandinas e leucotrienos (produtos da cascata do ácido araquidônico), adenosina, histamina, neuropeptídeos como a substância P e citocinas como a interleucina-1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral (TNF- α) e fator de crescimento neural (NGF) (CECÍLIA; MURGAS, 2014).

A inflamação é desencadeada pela liberação dos mediadores químicos originados nos tecidos lesados e nas células migratórias (ROCHA, 2010). Dentre os mediadores derivados de células há as aminas vasoativas, a histamina e a serotonina, que estão entre os primeiros mediadores a serem liberados nas reações inflamatórias. A histamina é liberada em resposta a vários estímulos tais como lesão física (trauma e calor) e suas ações envolvem vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e ativação endotelial. A serotonina é um mediador pré-formado que induz a vasoconstrição durante a coagulação (ROBBINS; KUMAR, 2013).

Além das aminas vasoativas os mediadores químicos que fazem parte da resposta inflamatória podem ser divididos em duas grandes classes: metabólitos do ácido araquidônico (AA) e citocinas (SANTOS, 2006). O ácido araquidônico é o ácido graxo mais comum precursor das prostaglandinas das membranas fosfolipídicas. É transportado no sangue ligado à albumina e liberado das membranas das células pela ação da fosfolipase, que pode ser ativado por mudanças na química do meio ambiente. Após ser liberado da membrana fosfolipídica, o AA é metabolizado por dois tipos de enzimas: a lipoxigenase, formando leucotrienos e lipoxinas, e cicloxigenase, formando prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos (ROCHA, 2006).

Os leucotrienos são um potente agente quimiotático para neutrófilos e seus metabólitos causam vasoconstrição, broncoespasmo e aumento da permeabilidade vascular. As lipoxinas atuam como antagonistas endógenos dos leucotrienos inibindo a quimiotaxia e a aderência dos neutrófilos ao endotélio. As prostaglandinas e os tromboxanos são derivados através de enzimas específicas, sendo que algumas destas possuem distribuição tecidual restrita, estas primeiras estão envolvidas na patogenia da dor e febre na inflamação (ROBBINS; KUMAR, 2013).

Quanto ao tratamento da inflamação os fármacos anti-inflamatórios podem atuar em várias etapas do processo fisiopatológico, podendo inibir a biossíntese de mediadores pela interação direta com enzimas-chaves (como inibidores da enzima cicloxigenase), ou reduzindo níveis de substrato (redução da liberação de ácido araquidônico), podem ainda agir adicionalmente inibindo a liberação de mediadores estocados (como a histamina) ou através da imunoestimulação (por exemplo: maturação de células mieloides ou estimulação de fagocitose), removendo a substância irritante e diminuindo a agressão tecidual (SAFAIHY; SAILER, 1997).

2.4.2 Dor

O que nos alerta para uma lesão real ou iminente e aciona respostas adequadas de proteção é a sensação de dor. Assim, apesar de ser uma sensação desagradável é essencial para a sobrevivência do organismo. De acordo com a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP do inglês, *International Association for the Study of Pain*) a dor é uma “experiência sensorial e emocional desagradável que está associada com lesões reais ou potenciais ou descrita em termos de tais lesões” (HELLEBREKERS, 2002). Portanto a dor apresenta dois componentes: um sensorial e um emocional.

No que diz respeito ao componente sensorial, temos a nocicepção que é um processo neural de codificação e processamento dos estímulos nocivos. Os receptores da dor são conhecidos como nociceptores, sendo terminações nervosas de alto limiar sensorial do sistema nervoso periférico somatossensorial capaz de transduzir e codificar estímulos nocivos. A nocicepção ocorre com a ativação de receptores específicos e vias neuroanatômicas que fazem a comunicação entre o Sistema Nervoso Periférico e o Sistema Nervoso Central (RUSSO; BROSE, 1998)

A dor pode ser classificada de acordo com o tempo de duração como aguda ou crônica. A dor aguda responde rapidamente às intervenções e não costumam ser recorrentes, estando associada a respostas neurovegetativas como aumento da pressão arterial, taquicardia, taquipneia, agitação psicomotora e ansiedade. Já a dor crônica possui duração ou intensidade tal que afeta adversamente a função ou o bem-estar do doente persistindo além da cicatrização do tecido normal (KOPF et al., 2005).

Fisiologicamente a dor pode ser classificada em quatro tipos de mecanismos distintos de acordo com o tipo de lesão e/ou os mediadores envolvidos: nociceptiva, quando ocorre estimulação excessiva dos nociceptores; neurogênica, em que ocorre lesão do tecido neuronal; neuropática, em que ocorre disfunção de um nervo; psicogênica, quando ocorre por fatores psicológicos; ou inflamatória, quando é resultante de processos inflamatórios (MILLAN, 1999).

A dor é percebida de maneira diferenciada entre os indivíduos, sendo que a percepção da dor depende da natureza dos estímulos fisiológicos que ativam os receptores sensoriais. Os receptores sensoriais, que retransmitem a informação às regiões subcortical e cortical do sistema nervoso por meio das vias ântero-laterais, respondem a estímulos específicos como dor, temperatura e sensação de toque. Assim um determinado estímulo nem sempre produz a mesma resposta em uma pessoa, sendo dependente da qualidade do estímulo e da condição afetiva desta (COHEN, 2001).

A sinalização de um tecido corporal lesionado ou que está em risco de sofrer lesão ocorre através da sensação somática dependente de nociceptores, terminações nervosas livres, ramificadas e não mielinizadas. As fibras nervosas são divididas em três grupos: A β , A δ e C, de acordo ao diâmetro, mielinização e velocidade de condução. Quaisquer umas dessas fibras, em condições fisiológicas, podem transmitir informação inócua, porém apenas as fibras C e A δ transmitem informação nociceptiva. Assim, a transdução do estímulo da dor ocorre nas terminações nervosas das fibras tipo C não mielinizadas e nas fibras tipo A δ levemente mielinizadas (BEAR et al., 2002).

As fibras A δ e C são responsáveis por trazer informações ao sistema nervoso central (SNC) em diferentes momentos devido às diferenças nas velocidades de condução de seus potenciais de ação. Na pele a ativação dos nociceptores produz a dor rápida, mais aguda causada pela ativação das fibras A δ e a dor lenta, de longa duração que é causada pela ativação das fibras C (BEAR et al., 2002). As fibras nervosas C não são mielinizadas, possuem baixa velocidade de condução (<1 m/s) e respondem a estímulos nocivos de origem térmico, mecânico ou químico. Já as fibras A δ são mielinizadas e apresentam velocidade de condução de 5-30 m/s, respondendo a estímulos térmicos e mecânicos (JULIUS; BASBAUM, 2001).

A ativação dos receptores nociceptivos ocorre através de neuromediadores inflamatórios quando liberados por macrófagos, mastócitos, células endoteliais ou nervos traumatizados que irão facilitar a transmissão dolorosa e as alterações inflamatórias periféricas e, conseqüentemente, o quadro de hiperalgesia, sendo chamados de algio gênicos. Dentre estes temos a acetilcolina, histamina, bradicinina, leucotrienos, substância P, o fator de ativação plaquetária (PAF), radicais ácidos, íons potássio, prostaglandinas, tromboxanos, interleucinas e o fator de crescimento nervoso (NGF) (KRAYCHETE et al., 2006; MA; QUIRION, 2008).

Quando ocorre a lesão tecidual é desencadeado um processo inflamatório seguido de reparação. As células que sofreram lesão liberam enzimas que agem sobre os cininogênios, formando cininas. Em seguida, a partir da membrana celular, pela ação da fosfolipase A2, libera-se ácido araquidônico que, por ação da cicloxigenase e da lipoxigenase, origina prostaciclina, prostaglandinas, tromboxano, leucotrienos e lipoxinas (BATLOUNI, 2010).

Além dessa resposta inflamatória tecidual, há uma resposta neurogênica, que ocorre a produção de vasodilatação, extravasamento de proteínas plasmáticas e ação sobre as células inflamatórias com a liberação de mediadores químicos. A sensibilidade dos nociceptores é aumentada através dos mediadores inflamatórios que irão assim reduzir seu limiar de excitabilidade (ROCHA et al., 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO EXTRATO BRUTO

O material vegetal foi coletado na Rodovia Caetité-Guanambi (BR-030) a 15 km a oeste de Caetité, Bahia, em 28 de julho de 2013(Figura 1). Uma exsicata foi confeccionada e depositada no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS) sob a numera o 205330, sendo identificado pelo curador do Herbário, professor Dr. Luciano Paganucci de Queiroz.

Após a colheita, as folhas e caule foram submetidos ao processo de secagem, o qual foi importante para garantir a integridade do material para o estudo, uma vez que evita a degrada o do cont duo metabólico das plantas, pois um elevado teor de água no material vegetal pode favorecer o desenvolvimento de microrganismos e a a o de enzimas. Em seguida, as folhas e caule da planta foram mo dos. A moagem teve a finalidade de reduzir, mecanicamente, o material vegetal a fragmentos menores, preparando-os para a próxima etapa, a extra o. Uma vez que o aumento da área de contato entre o material sólido e o solvente extrator torna a extra o mais eficiente (SIMÕES, 2007).

Após a moagem foi feita a macera o que de acordo com a ANVISA na resolu o - RDC n  10, de 10 de março de 2010,   a opera o na qual a extra o da matéria-prima vegetal   realizada em recipiente fechado, em temperatura ambiente, durante um período prolongado (horas ou dias), sob agita o ocasional e sem renova o do líquido extrator (BRASIL, 2010).O material foi pesado e os extratos foram preparados por macera o em metanol assistida por ultrassom(temperatura entre 36-40 C durante 60 minutos), com quatro trocas sucessivas de solvente.

Levando em considera o que o solvente escolhido para a extra o deve ser o mais seletivo possível, pois   graças   seletividade que se podem extrair apenas as substâncias desejadas ou em maior quantidade (SIMÕES, 2007), o solvente utilizado foi o metanol, uma vez que este possibilita a extra o de um maior número de compostos em plantas, heterosídeos em geral (CHECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

Depois da macera o, os extratos foram concentrados no rotaevaporador, sob pressão reduzida, em temperaturas de 40-45 C, e em seguida transferidos para um recipiente de vidro e acondicionados em uma capela de exaustão para a evapora o do resíduo de solvente ainda existente. Após secagem total, pesou-se o material e em seguida, foi calculado o rendimento dos extratos brutos do caule e das folhas de *V. macrocarpa* (Figura 2).



Figura 1: *Vatairea macrocarpa* em Caetité, Bahia.

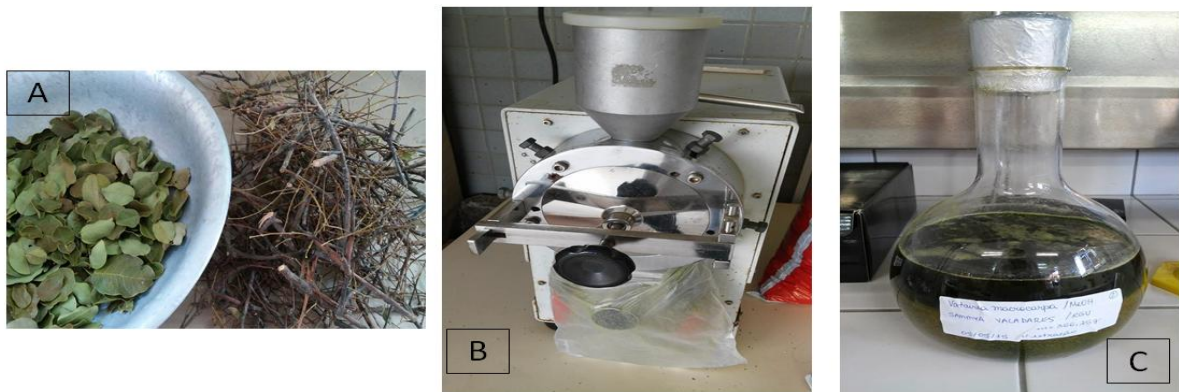


Figura 2: Extra o de *V. macrocarpa*. A) Folhas e caule secos; B) Moinho de facas; C) Macera o com metanol

3.2 ANÁLISE DA COMPOSI O QUÍMICA

A determina o das classes de compostos presentes nos extratos de folhas e caule foi realizada por meio de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) com reveladores químicos específicos.

3.2.1 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

A CCD   um método útil para a separa o, identifica o e quantifica o de compostos presentes em um extrato bruto ou semipuro, que possibilita o isolamento bioguiado do composto ativo.   um método físico de separa o, na qual os compostos a serem separados são distribuidos entre duas fases, uma fixa, sílica gel, de grande área superficial, denominada fase estacionária e outra, onde um fluido elui através dela, chamada fase móvel, na qual são utilizados solventes com polaridades crescentes (YUNES; CECHINEL FILHO, 2007).

Primeiramente são preparadas as solu es para serem aplicadas nas placas cromatográficas. Dissolveu-se aproximadamente 0,05 g de cada extrato bruto (folhas e

caule) em 1 mL de metanol. Essas soluções foram aplicadas em placas cromatográficas, com base de alumínio revestidas com sílica gel 60 com indicador de fluorescência, previamente ativadas em estufa a 100°C por 40 minutos. As soluções dos extratos foram aplicadas, com o auxílio de capilares e em seguida, submetidas à eluição em uma mistura de 10 mL de acetato de etila, 1,35 mL de metanol e 1 mL de água.

A caracterização das cumarinas no extrato foi feita segundo Wagner e Bladt (2001) através do reagente hidróxido de potássio (KOH) em uma concentração de 10% com etanol (C₂H₆O). As cumarinas em solução alcalina desenvolvem coloração amarela, devido ao rompimento do anel lactônico e pode ser observadas sob luz ultravioleta (UV- 360 nm), apresentando em sua maioria fluorescência azul-brilhante ou verde (SIMÕES, 2007).

O revelador utilizado para flavonoides foi o reagente para produtos naturais polietilenoglicol (NP/ PEG). Para o preparo desse reagente o éster difenilbórico ácido-β-etilamino foi solubilizado em metanol a concentração de 1% (NP). Separadamente, o polietilenoglicol-400 foi dissolvido em etanol a uma concentração de 5% (PEG). A placa foi pulverizada primeiramente com a solução NP e em seguida a solução PEG. A observação é feita sob a luz UV (360 nm) apresentando fluorescência, em caso de presença de flavonoides.

O revelador Anisaldeído (AS) foi utilizado em uma mistura com ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido acético e metanol, como descrito por Wagner e Bladt (2001), para a detecção de terpenos e esteroides. Após pulverizar a placa com essa mistura, a mesma foi levada para a estufa (100°C) por 10 minutos e imediatamente após a retirada da estufa observou-se a olho nu a coloração. A cor que identifica a presença destes compostos segundo Wagner e Bladt (2001) varia de vermelho a violeta.

Para observar a presença de esteroides e triterpenos foi utilizado o reagente Libermann-Burchard (LB) que é preparado da seguinte maneira: 5 mL de anidrido acético e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado são adicionados cuidadosamente a 50 mL de etanol (WAGNER; BLADT, 2001). Após a pulverização a placa foi colocada em estufa (100°C) por 10 minutos e observada em UV-360 nm. O aparecimento de fluorescência identifica a presença desses compostos.

Por último foi utilizado o reagente de Dragendorff (iodo-bismutato de potássio) que detecta alcaloides. Esse reagente foi preparado da seguinte maneira: primeiro dissolveu-se 0,85g de nitrato de bismuto em 10 mL de ácido acético e 40 mL de água aquecida; depois foi preparada a solução estoque dissolvendo-se em outro recipiente 8g de iodeto de potássio em 30 mL de água. Preparada as duas soluções, ambas foram misturadas em uma proporção de 1:1. Dessa mistura foi retirado 1 mL e misturado a 2 mL de ácido acético e 10mL de água

para a pulverização da placa. A observação é feita a olho nu apresentando resultado positivo quando exibido a coloração marrom (WAGNER; BLADT, 2001).

3.2.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES

3.2.2.1 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL

O conteúdo fenólico total dos extratos metanólicos das folhas e do caule da espécie foi determinado através do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, conforme procedimento descrito por Peres e colaboradores (2009), com modificações, empregando ácido gálico como padrão. Dentre os métodos de quantificação espectrométrica de compostos fenólicos, a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu é a mais utilizada.

O reagente consiste em uma mistura entre o ácido fosfomolibídico e fosfotungstístico, onde o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6+, porém em presença de agentes redutores, como os compostos fenólicos mudam sua coloração formando os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, onde a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 e 6, e dessa forma a coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não são necessariamente fenólicos (SOUSA et al., 2007). Pois o reagente de Folin-Ciocalteu reage com outras moléculas como proteínas, carboidratos, aminoácidos, nucleotídeos, tiol, ácidos graxos insaturados, vitaminas, aminas, aldeídos e cetonas. Dessa maneira este método superestima o teor de fenólicos totais por estarem sujeitos a uma série de interferentes (EVERETTE et al., 2010).

Para a determinação do teor de compostos fenólicos dos extratos metanólicos das folhas e caule de *V. macrocarpa* foi feito primeiramente uma curva padrão de ácido gálico nas concentrações: 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL, 250 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL e 500 µg/mL dissolvido em metanol grau espectroscópico, onde foi obtida a equação da reta para cálculos das concentrações de fenólicos nos extratos (Figura 3).

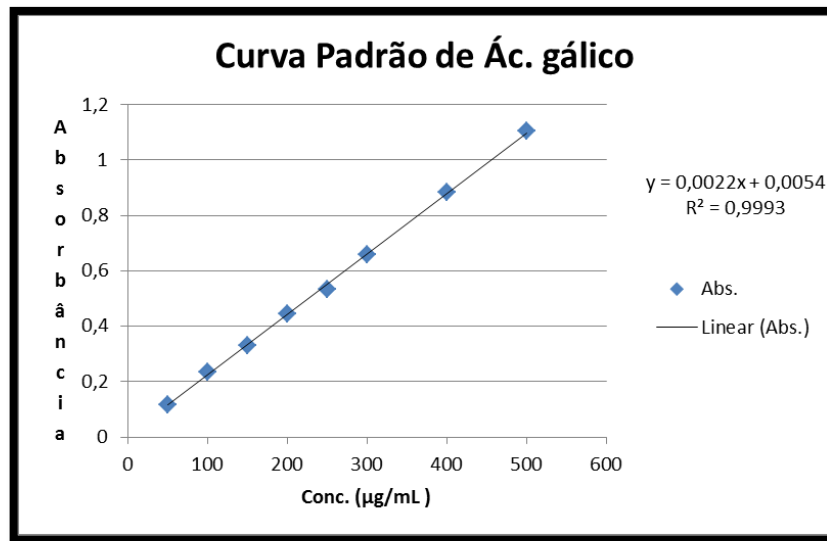


Figura 3: Curva Padrão de Ácido Gálico.

Em seguida foi feito o procedimento para os extratos de caule e folhas. Para o extrato metanólico do caule pesou-se 0,01g de extrato seco e para o de folhas pesou-se 0,005g, ambos em triplicata, solubilizados em 10 mL de metanol espectroscópico em balão volumétrico, com auxílio de ultrassom.

Para cada amostra (pesagem) foi feito uma triplicata. O teste foi realizado em tubos de vidro envoltos em papel craft, para evitar a incidência da luz. O método consistiu em adicionar com auxílio de pipeta automática 100 µL da amostra, mais 1000µL de água ultrapura, mais 200µL do reagente Folin-Ciocalteu ao tubo de vidro (5 mL). Para fazer o branco substituiu a mesma alíquota da amostra pelo solvente metanol espectroscópico. Em seguida homogeneizou em vórtex e deixou em repouso por 5 minutos. Posteriormente adicionou-se 600 µL de solução decarbonato de sódio (Na_2CO_3) 15%, homogeneizou e completou volume para 5 mL com água ultrapura (3.100 µL). Agitou-se novamente em vórtex e colocou-se em repouso protegido da luz. Após 90 minutos foi feita a leitura da absorbância de cada amostra no $\lambda = 750 \text{ nm}$.

Com as leituras das absorbâncias substituiu-se na equação da reta da curva padrão de ácido gálico e o resultado foi expresso em mg EAG/g de extrato.

3.2.2.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS

Para a determinação do teor de flavonoides totais utilizou-se a espectrofotometria no UV-VIS, utilizando o cloreto de alumínio (AlCl_3) para possibilitar a quantificação. Foi utilizada a metodologia dos trabalhos de Banov e colaboradores (2006) e Woisky (1996).

Esse método baseia-se na leitura da absorbância do complexo formado entre o flavonoide e o alumínio do reagente de cor. O íon alumínio (Al_3^+) complexa-se com as moléculas de flavonoides da amostra, estabelecendo o complexo estável flavonoide- Al_3^+ de coloração amarela cuja intensidade é proporcional à concentração de flavonoide presente na amostra. Esta complexação provoca um deslocamento batocrômico e intensificação das absorções, permitindo que sejam quantificadas sem sofrer influência de outros compostos fenólicos presentes na amostra (PEIXOTO SOBRINHO et al., 2012; SÁ et al., 2012).

Assim como a determinação de fenólicos, para flavonoides fez-se uma curva padrão com o flavonoide quercetina, tri-hidratada, dissolvida em metanol grau espectroscópica nas concentrações seguintes: 2 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$, 14 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$, 26 $\mu\text{g/mL}$, 32 $\mu\text{g/mL}$ e 45 $\mu\text{g/mL}$. A partir da curva padrão foi obtida a equação da reta para posteriores cálculos das concentrações de flavonoides nos extratos (Figura 4).

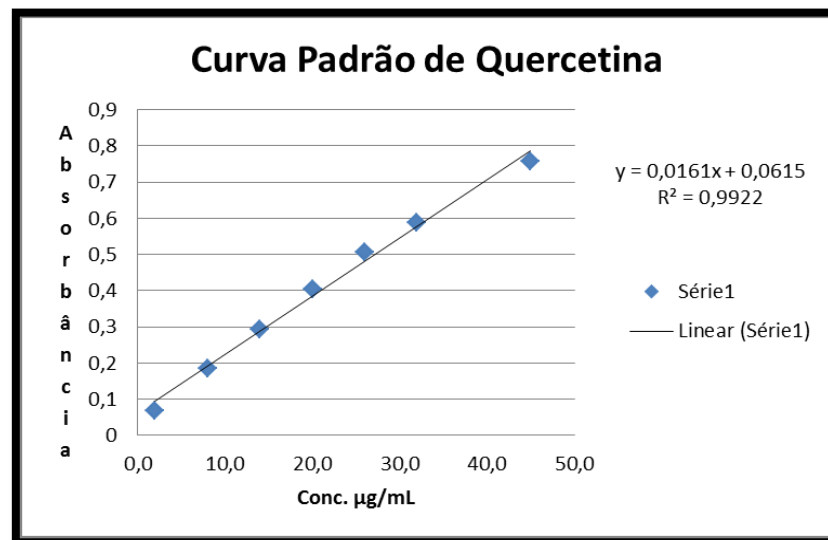


Figura 4: Curva padrão de Quercetina.

Em seguida foi feito o procedimento para os extratos de caule e folhas. Para o extrato metanólico do caule pesou-se 0,01g de extrato seco e para o de folhas pesou-se 0,005g, ambos em triplicatas e dissolvidos em 10 mL de metanol espectroscópico em balão volumétrico. Para melhor dissolução colocou-se as soluções no ultrassom durante 1 min.

Para cada amostra (pesagem) foi feito uma triplicata. O teste foi realizado em tubos de vidro envoltos em papel craft, para evitar a incidência da luz. O método consistiu em adicionar com auxílio de pipeta automática 1.500 μL de amostra, mais 100 μL de solução metanólica de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 5%, mais 3.400 μL de solução metanólica de ácido acético a 5% ao tubo de vidro (5mL). Para fazer o branco substituiu a mesma alíquota da amostra pelo solvente metanol espectroscópico. Em seguida homogeneizou-se em vórtex e deixou em repouso por 30 minutos, protegido da luz. Após esse tempo foi feita a leitura da absorbância de cada amostra no $\lambda = 425 \text{ nm}$.

Com as leituras das absorbâncias substituiu-se na equação da reta da curva padrão de quercetina e o resultado foi expresso em mg EQ/g de extrato.

3.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.3.1 MÉTODO DO SEQUESTRO DO RADICAL 2,2-DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA (DPPH)

O método DPPH é o mais utilizado para determinação da atividade antioxidante em extratos vegetais e consiste na absorção do radical (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) na faixa de absorbância de 517 nm. Através do valor de absorbância avalia-se a habilidade do antioxidante em sequestrar o radical livre. Os resultados são expressos como CE_{50} , que é a quantidade de antioxidante necessária para diminuir em 50% a concentração inicial de DPPH da solução. Portanto, quanto menor o valor do CE_{50} , menor terá sido a concentração de extrato utilizado para reduzir o radical DPPH• e assim maior a sua atividade antioxidante (ANTOLOVICH et al., 2002; COSTA et al., 2010; LIMA et al., 2008).

Esse método se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina. É considerado um dos métodos mais fáceis, precisos e reprodutivos para a avaliação da atividade antioxidante de sucos de frutas, extratos vegetais e substâncias puras, tais como flavonoides e terpenoides. Quando uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogênio (antioxidante) é adicionada a uma solução de DPPH, a hidrazina é obtida e a solução passa da coloração violeta a amarelo pálido (ALVES et al., 2010).

A avaliação da capacidade em sequestrar o radical livre DPPH foi feita de acordo com metodologia descrita por Re et al. (1999) e Sá et al. (2012) com adaptações. Foi utilizado como padrão o trolox nas concentrações de 3 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 6 $\mu\text{g/mL}$, 12 $\mu\text{g/mL}$, 18

$\mu\text{g/mL}$ e ácido ascórbico nas concentrações de $1\mu\text{g/mL}$, $2\mu\text{g/mL}$, $3\mu\text{g/mL}$, $4\mu\text{g/mL}$, $5\mu\text{g/mL}$, $6\mu\text{g/mL}$, $9\mu\text{g/mL}$ e $12\mu\text{g/mL}$.

Para o início do teste foi preparada a solução de DPPH pesando-se $0,004\text{g}$ do radical e dissolveu-se em 100 mL de metanol grau espectroscópico em um balão volumétrico envolto com papel alumínio. Em seguida mediu-se a absorvância dessa solução em $\lambda = 517\text{ nm}$ que deve está entre $0,997$ a $1,00$.

Após o preparo da solução de DPPH pesou-se as amostras de extratos em triplicata, $0,01\text{g}$ de extrato metanólico de caule e $0,01\text{ g}$ folhas de *V. macrocarpa* e dissolveu-se em 10 mL de metanol espectroscópico. A solução é preparada em balão volumétrico (10 mL). Para total dissolução dos extratos agitou-se em vórtex e levou ao ultrassom por 2 minutos. Em todos falcom a partir da solução mãe dos extratos preparou-se as concentrações: $4\mu\text{g/mL}$, $6\mu\text{g/mL}$, $8\mu\text{g/mL}$, $10\mu\text{g/mL}$, $12\mu\text{g/mL}$, $15\mu\text{g/mL}$ e $20\mu\text{g/mL}$ para o extrato de caule e $5\mu\text{g/mL}$, $10\mu\text{g/mL}$, $20\mu\text{g/mL}$, $30\mu\text{g/mL}$, $40\mu\text{g/mL}$, $50\mu\text{g/mL}$, $60\mu\text{g/mL}$, $65\mu\text{g/mL}$ para o extrato das folhas.

Depois de obtido as concentrações, foi realizado o procedimento em tubos de vidro envoltos com papel alumínio. A cada tubo foi adicionado 2 mL da solução de DPPH mais 1 mL da amostra de cada concentração de extrato. Agitou-se em vórtex e deixou-se em repouso protegidos da luz. Após 30 minutos foi feita a leitura das absorvâncias em $\lambda = 517\text{ nm}$. O branco foi feito apenas com o metanol espectroscópico. O controle do DPPH foi feito adicionando ao tubo de vidro 2 mL de sol. DPPH mais 1 mL de metanol espectroscópico. Além disso, foi realizado ainda o controle da amostra adicionando 2 mL de metanol espectroscópico mais 1 mL da amostra de extrato.

Após a obtenção das absorvâncias foi feito o cálculo da % de inibição do extrato sobre o DPPH de acordo com a equação a seguir:

$$I\% = \frac{Abs\ DPPH - (Abs\ Amostra - Abs\ Controle\ amostra)}{Abs\ DPPH}$$

Por último a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (CE_{50}) foi determinada por regressão linear (MENSOR et al., 2001). Foi plotado o gráfico da porcentagem de inibição x concentração de extrato.

3.3.2 MÉTODO DA CO-OXIDAÇÃO DO β -CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO

O teste de co-oxidação do ácido linoleico/ β -caroteno foi realizado conforme Lima (2008) com algumas adaptações, empregando espectrofotometria no UV-VIS. Esse método se baseia na leitura referente à descoloração da solução preparada com betacaroteno e ácido linoleico, em meio aquoso, sendo um método colorimétrico realizado em comprimento de onda de 470 nm. A descoloração se dá devido às estruturas radicalares formadas pela oxidação do ácido linoleico, que atacam as duplas ligações do betacaroteno, mudando a coloração do pigmento alaranjado devido à perda do seu cromóforo. Quando na presença de antioxidantes no sistema protege o ácido linoleico, prolongando o período de formação dos radicais (HUNG; WANG, 2004).

Para o preparo da mistura reativa, adicionou-se 40 μ L de ácido linoleico, 530 μ L de Tween-40, 20 μ L de solução de β -caroteno a 2 mg/mL em clorofórmio e 1000 μ L de clorofórmio em erlenmeyer. Em seguida, a mistura foi submetida à completa evaporação do clorofórmio sob a bomba de vácuo. O Tween-40 atua como emulsificante e ajuda a dissolver completamente a mistura β -caroteno/ácido linoleico em clorofórmio. Após total evaporação do clorofórmio é adicionado a esta mistura cerca de 50 mL de água destilada. É feito em seguida a leitura da absorbância da solução sistema do β -caroteno/ác. linoleico que deve ser ajustada para 0,6 a 0,7 nm em comprimento de onda de 470 nm.

Para analisar a atividade antioxidante β -caroteno/ác. linoleico foi preparado uma solução metanólica do extrato bruto de folhas e caule de *V. macrocarpa*, pesando-se de cada 0,01 g de cada extrato e avolumando com metanol grau espectroscópico em balão volumétrico de 10 mL. Em seguida são preparadas as concentrações de 100 μ g/mL; 200 μ g/mL; 300 μ g/mL; 400 μ g/mL e 500 μ g/mL em tubos falcon. Feito isso é adicionado em tubos de vidro 5 mL da solução sistema de β -caroteno/ác. linoleico e 400 μ L de cada concentração. É feito o controle negativo (branco) utilizando-se 5 mL de solução sistema mais 400 μ L de metanol espectroscópico, substituindo a amostra. Já para o controle positivo foi usado o trolox com uma concentração de 0,2 mg/mL.

Os tubos de vidro foram mantidos em banho-maria por 120 min à temperatura de 50°C, com leituras a cada 15 minutos, sendo que a primeira leitura foi feita antes de submeter as soluções ao banho-maria. Os testes foram realizados em triplicatas. O decaimento da densidade ótica do controle foi considerado como 100% de oxidação. Assim o decréscimo da

absorbância das amostras foi correlacionado com a queda do controle, obtendo-se a porcentagem da inibição da oxidação (média \pm desvio padrão) e a curva cinética.

O percentual de oxidação das amostras foi calculado pela fórmula abaixo:

$$\% \text{ Oxidação} = \frac{\text{Abs. Amostrainicial} - \text{Abs. Amostrafinal}}{\text{Abs. Controleinicial} - \text{Abs. Controlefinal}} \times 100$$

O percentual de inibição da oxidação (proteção) se deu pela equação:

$$\% \text{ Inibição} = 100 - (\% \text{ Oxidação})$$

A eficiência do antioxidante é avaliada através das tangentes expressas pelos valores de F1 e F2 de acordo com Yanishilieva e Marinova (1995). Esses valores são calculados a partir de dois intervalos da curva cinética de oxidação (absorbância a 470 nm x tempo em min.). O cálculo de F1 e F2 são calculados da seguinte forma:

$$F1 = \frac{\text{Abs. Amostra (tempo15 - tempo45)}}{\text{Abs. Controle (tempo15 - tempo45)}}$$

$$F2 = \frac{\text{Abs. Amostra (tempo75 - tempo105)}}{\text{Abs. Controle (tempo75 - tempo105)}}$$

Quando a razão dessas tangentes (F1 ou F2) apresentarem valores inferiores a 1, o composto testado atua eficientemente como antioxidante. Quando o valor apresentado for acima de 1, indica uma ação pró-oxidante do composto (MOREIRA, MANCINI-FILHO, 2003).

3.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS E TOXICIDADE

3.4.1 ANIMAIS UTILIZADOS E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

Para a realização dos testes foram utilizados camundongos *Mus musculus*, machos (exceto para o teste de toxicidade), adultos, obtidos da colônia do Biotério Central da Universidade Estadual de Feira de Santana com pesos entre 25 a 35 g. Os animais foram mantidos em locais apropriados, sob condições controladas de temperatura (22 a 25° C), iluminação (ciclos claro/escuro de 12 horas) e alimentação até o momento dos experimentos (GHIRALDINI, 1995; MERUSSE; LAPICHICK, 1996).

Os animais foram divididos em 5 grupos (6 a 8 animais cada). Um grupo de tratamento (Extratos de folhas e caule) nas doses de 75, 150 e 300 mg/Kg, um grupo controle que recebeu NaCl a 0,9% adicionado com Tween 80 a 5%, (veículo) e o grupo padrão que varia de acordo a cada teste.

Em cada teste os extratos foram pesados e macerados em almofariz de porcelana e diluídos em soro fisiológico 0,9% (acrescidos com Tween 80) momentos antes do início dos experimentos. A via de administração utilizada foi a oral (gavagem), exceto para o grupo padrão que foi a via intraperitoneal (i.p). Os animais foram utilizados nos experimentos uma única vez e após os testes foram eutanasiados.

Este trabalho foi previamente submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Feira de Santana, com o número de protocolo 005/2015.

3.4.2 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA

A avaliação da toxicidade é realizada com o objetivo de determinar o potencial de novas substâncias e produtos em causar danos à saúde humana (VALADARES, 2006).

O teste foi baseado no guia da Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) 420 (2001) e trabalho realizado por Silva e colaboradores (2015). Grupos de 5 animais (fêmeas) foram tratados com o extrato de folhas e caule de *V. macrocarpa* na dose de 300 mg/Kg e um grupo controle, que recebeu veículo.

Em seguida os animais foram observados continuamente durante as primeiras 4 h e depois periodicamente até 24 h para sintomas tóxicos e mortalidade. Foram monitorados quanto aos sinais comportamentais típicos (alterações nos pelos, olhos, membranas mucosas, sistema circulatório, respiratório; comportamento anormal, atividade motora, tremores, convulsão, salivação, diarreia, letargia ou sonolência).

O comportamento exibido pelos animais foi analisado com base no método de Almeida e colaboradores (1999) onde são definidos os critérios comparativos para uma série de comportamentos com o objetivo de observar possíveis alterações induzidas pelos extratos e que possam influenciar nas atividades depressoras ou estimulantes do Sistema Nervoso Central (SNC).

Além disso, esses mesmos comportamentos foram observados durante 14 dias consecutivos e o peso dos animais foi monitorado no 1º, 7º e 14º dia. No 14º dia, após o fim do experimento, os animais foram eutanasiados e foi feita a pesagem e análise macroscópica

dos órgãos (coração, pulmão, fígado, baço, estômago, rins e intestino) quanto ao aspecto, coloração, tamanho e consistência.

3.4.3 TESTE DE AVALIAÇÃO DA COORDENAÇÃO MOTORA (ROTA ROD)

O Rota Rod é um método que permite avaliar a especificidade da ação nociceptiva de fármacos, extratos, verificando se estes por sedação e/ou relaxamento muscular alteram a coordenação motora dos animais. Este teste é realizado colocando-se os animais em um cilindro que gira a uma velocidade constante, sendo verificada a capacidade dos animais em se equilibrarem no mesmo (PINTO; KO, 2012).

Inicialmente, os animais foram pré-selecionados no aparelho de rota-rod (Figura 5) 24 horas antes para evitar uma interpretação equivocada dos resultados devido a uma incapacidade natural dos animais em manter o equilíbrio e a movimentação na barra giratória. Dessa forma foram considerados aptos para o teste os animais que permaneceram na barra giratória (7 r.p.m.) durante 180 segundos, em até três tentativas (MENDES et al., 2002). Os animais considerados aptos foram divididos nos cinco grupos, pesados e tratados com os extratos, controle e padrão. O grupo padrão recebeu diazepam 1,5 mg/Kg (i.p).

Após administração dos tratamentos os animais foram submetidos ao teste aos 60 e 120 minutos, registrando-se o tempo de permanência (em segundos) de cada animal na barra giratória.



Figura 5: Aparelho de Rota Rod.

3.4.4 TESTE DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS PELO ÁCIDO ACÉTICO

Esse teste se baseia no fato de que uma injeção (i.p.) de ácido acético (0,8%) provoca uma reação nociceptiva, caracterizada por contorções abdominais seguidas de extensões dos membros posteriores (ALMEIDA, 2006). Embora esse experimento seja um modelo simples e pouco específico, é um método muito sensível e utilizado para avaliar atividade analgésica de substâncias contra dor de origem inflamatória (KOSTER; ANDERSON, 1959).

Os animais foram tratados com os extratos metanólicos das folhas e do caule de *V. macrocarpa* nas doses anteriormente descritas, via oral, um grupo controle, e um grupo padrão, tratados com indometacina (10 mg/Kg i.p.). A indometacina foi dissolvida em solução de bicarbonato de sódio a 5%. Após 60 minutos da administração dos extratos e veículo, e 30 minutos do padrão, os animais receberam uma solução de ácido acético 0,8% (i.p), sendo em seguida colocados em caixas de vidro em forma triangular, espelhadas (Figura 6), individuais, onde foi registrado o número total de contorções abdominais apresentadas por cada animal durante 10 minutos. A observação das contorções abdominais inicia-se após 5 minutos da administração do ácido acético.

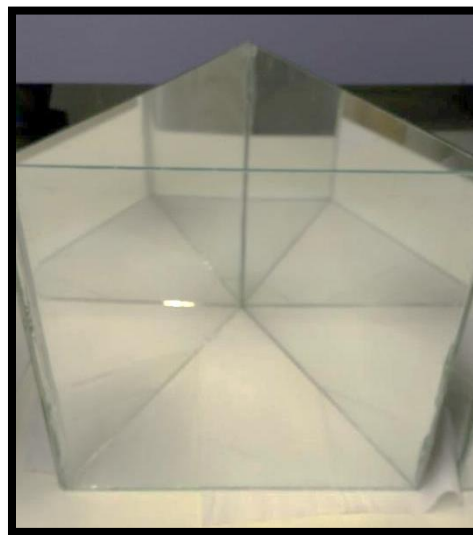


Figura 6: Caixa de observação triangular espelhada.

3.4.5 TESTE DA FORMALINA

O teste da formalina é um método válido e seguro para a avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória em camundongos, sendo considerado um modelo bifásico

de comportamento indicativo de dor persistente, produzida pela injeção subplantar do agente nociceptivo (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Nesse teste foi utilizada como padrão a indometacina (10 mg/Kg i.p.). Após 30 minutos da administração do padrão e 60 minutos da administração dos extratos e veículo, os animais receberam 20 μ L de formalina (2,5% formaldeído em solução salina) a qual foi injetada na região subplantar da pata posterior esquerda. Em seguida os animais foram colocados individualmente em caixas triangulares espelhadas (Figura 6) sendo observados durante cinco minutos, tempo que corresponde à primeira fase da resposta nociceptiva, também chamada de neurogênica ou aguda e em seguida, após 10 minutos foram observados novamente durante 15 minutos, tempo que corresponde à segunda fase, a fase inflamatória(HUNSKAAR; HOLE, 1987).

3.4.6 TESTE DA PLACA QUENTE

O teste da placa quente avalia o tempo em que os animais permanecem sobre uma chapa metálica aquecida (Figura 7) até reagirem ao estímulo térmico, levantando ou lambendo as patas. É um modelo animal que avalia a atividade antinociceptiva de fármacos opioides e outras drogas que possuem atividade central como as sedativas e hipnóticas (HIRUMA-LIMA et al., 2000; PIETROVSKI et al, 2006).

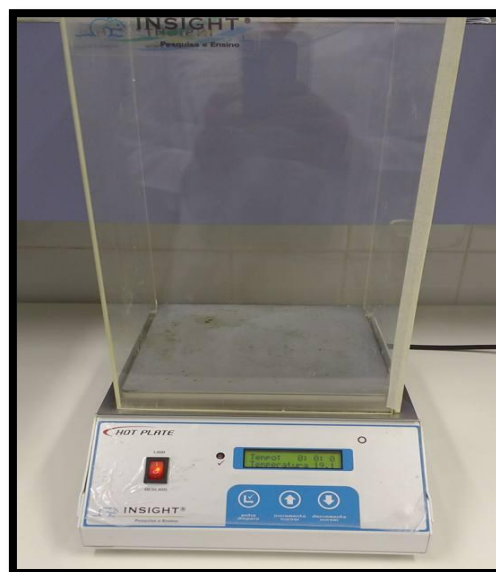


Figura 7: Aparelho de Placa Quente

Para esse teste foi feito uma pré-seleção, 24 horas antes do experimento, onde a latência basal de todos os animais foi registrada usando o tempo de corte de 10 segundos, com a finalidade de se avaliar a sensibilidade dos mesmos ao estímulo térmico ($55 \pm 0,5^\circ\text{C}$) (SILVA et al., 2013b).

Em seguida, após os tratamentos com os extratos, veículo e morfina (10 mg/Kg), os animais foram colocados na superfície da placa nos tempos de 30, 60 e 120 minutos. O tempo decorrido entre a colocação do animal na placa e a ocorrência de lambida das patas ou comportamento de pular foi registrado como latência. Para minimizar danos às patas dos animais, o tempo máximo de permanência na placa foi de 30 segundos (SILVA et al., 2013b).

3.4.7 TESTE DO EDEMA DA PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA

Este método avalia a inflamação aguda, que envolve diferentes fases. A carragenina é utilizada como irritante para induzir a formação de edema de pata em ratos. É um mucopolissacarídeo obtido de algas marinhas (*Chondrus*) que causa inflamação do tipo não neurogênica. Induz o edema estimulando a liberação de citocinas pró-inflamatórias, em um primeiro momento que estimulam a liberação de serotonina e histamina nos primeiros 90 min, e de cininas numa fase intermediária (90-150 min). A partir daí o edema é mantido pela ação das prostaglandinas e decorre da interação entre substâncias que promovem o aumento da permeabilidade vascular, com mediadores que causam vasodilatação (BOLETA-CERANTO et al., 2005; VINEGAR et al., 1969; WINTER et al., 1962).

O padrão utilizado neste teste foi a indometacina 10 mg/kg, dissolvidas em solução de bicarbonato de sódio a 5%. Os animais dos grupos controle e extratos receberam 50 μL de carragenina (2,5% diluída em solução salina), injetada na região subplantar da pata posterior esquerda, após 60 minutos, e padrão após 30 minutos, e em seguida igual volume de solução salina (NaCl a 0,9%) na pata posterior direita (NSONDE NTANDOU et al., 2010).

O volume das patas dos animais foi medido usando um pletismômetro (Figura 8) imediatamente após a administração da carragenina e da solução salina na região subplantar e após 60, 120, 180 e 240 minutos e o volume deslocado foi medido pela diferença entre o edema das patas direita e esquerda.

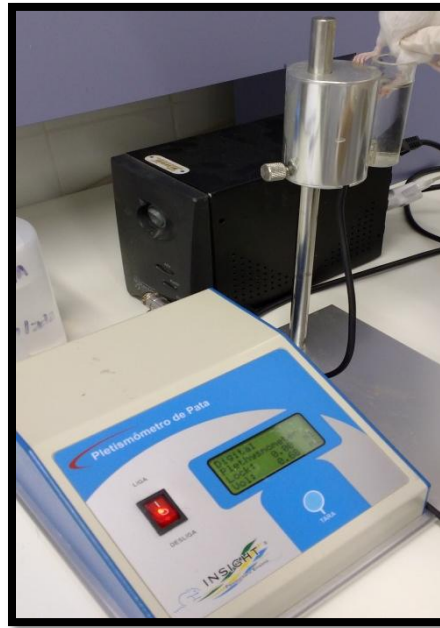


Figura 8: Aparelho Pletismômetro

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Nos testes para determinação dos teores de fenólicos e flavonoides e nos testes de atividade antioxidante todas as medidas foram realizadas em triplicatas e os resultados foram analisados no programa estatístico *Sisvar* submetidos à ANOVA (análise de variância) e Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Nos testes com animais os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M) e analisados também pelo teste ANOVA seguido de um pós teste para comparação entre as médias dos grupos experimentais admitindo-se diferença significativa se $p < 0,05$ mediante a utilização do programa estatístico *Graph Pad Prism*, versão 5.0 (WINER et al, 1991).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTO

O rendimento dos extratos foi calculado após a secagem total dos mesmos (Tabela 1).

Tabela 1: Rendimento obtido em cada extração das folhas e caule de *Vatairea macrocarpa* por metanol.

Extrato	Sigla do extrato	Massa Material vegetal seco (g)	Massa de extrato (g)	Rendimento (%)
Folhas <i>V. macrocarpa</i>	EMFVm	1218,24	198,31	16,27
Caule <i>V. macrocarpa</i>	EMCVm	602,84	29,38	4,87

O rendimento obtido do extrato das folhas correspondeu a 16,27%, um valor superior quando comparado ao do caule. Quanto ao caule, a extração com metanol foi eficiente em comparação com a extração realizada com etanol por Monteiro e colaboradores (2009) onde a partir de 3 kg de caule seco foi obtido um rendimento de 1,2 %.

O valor do rendimento dos extratos é essencial para a obtenção de uma base da quantidade de massa fresca necessária no processo de coleta e cultivo de plantas medicinais para se obter determinado teor de extrato, por dado processo de secagem, reduzindo custos e perdas na cadeia produtiva de plantas medicinais e fitoterápicos (RODRIGUES et al., 2011).

4.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

4.2.1 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

De acordo com os reveladores utilizados ambos os extratos apresentaram resultado positivo para o NP/PEG (flavonoides), AS (terpenos, propilpropanoides, saponinas), LB (triterpenos e esteroides) e KOH (cumarinas). Já para o revelador Drangendorff, ambos apresentaram resultado negativo, ou seja, ausência de alcaloides (Tabela 2).

Tabela 2: Perfil fitoquímico de extratos de folhas e de caule de *Vatairea macrocarpa*

Amostra	Reveladores				
	NP/PEG	AS	LB	KOH	DRG
EMFVm	+	+	+	+	-
EMCVm	+	+	+	+	-

Resultado positivo: (+); Resultado negativo: (-)

Esses resultados corroboram com os resultados encontrados na literatura. Há relato de presença de antraquinonas (MONTEIRO et al., 2009; PIEDADE; WOLTER FILHO, 1988), esteroides, catequinas, epicatequinas e triterpenos (SILVA, 2011), compostos fenólicos, taninos pirrogálicos, flavonóis, flavanona, esteroides livres, agliconas esteroides, quinonas e resinas (JESUS, 2007; STRADA et al., 2007).

A presença desses compostos sugeriu, segundo Alves e colaboradores(2008), uma possível atividade antioxidante dessas espécies, pois os terpenos e esteroides possuem grupos doadores de hidrogênio e elétrons na sua estrutura e os flavonoides, que são compostos polifenólicos, são considerados estruturas ideais para o sequestro de radicais livres.

4.2.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES

Os teores de fenólicos e flavonoides foram determinados para ambos os extratos (Tabela 3).

Tabela 3. Teor de fenólicos e flavonoides dos extratos brutos metanólicos das folhas e do caule de *V. macrocarpa*, expressos em: miligramas de equivalente ácido gálico e miligramas de equivalente quercetina por grama de extrato.

Amostra	Fenólicos (mg EAG/g ±DP)	Flavonoides (mg EQ/g ±DP)
EMFVm	211,75 ± 9,46a	58,13 ± 1,85a
EMCVm	301,64 ± 7,05b	15,76 ± 0,39b

Os valores referem-se à média em triplicatas; as médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

De acordo com a tabela observa-se que os dados apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) para o teor de fenólicos e para o teor de flavonoides entre folhas e caule apresentando uma dispersão homogênea demonstrada através do valor do coeficiente de variação, 3,25 para fenólicos e 3,64 para flavonoides.

Foi observado que houve uma maior concentração de fenólicos no caule, porém menor quantidade de flavonoides, que também é composto fenólico. Isso pode ser justificado pelo fato de que o método de determinação de teor de fenólicos utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu superestima o teor de fenólicos, pois esse reagente reage também com outras moléculas como proteínas, carboidratos, aminoácidos, nucleotídeos, tiol, ácidos graxos insaturados, vitaminas, amins, aldeídos e cetonas (EVERETTE et al., 2010). Dessa forma uma maior quantidade de fenólicos nem sempre irá apresentar uma maior quantidade de flavonoides, até porque há outras substâncias fenólicas de outras classes.

A quantidade de flavonoides maior no extrato de folhas é justificada pelo fato de que os flavonoides possuem a função de proteção contra os efeitos nocivos da radiação ultravioleta (UV), estando nas folhas localizados na cutícula e nas células epidérmicas assegurando essa proteção aos tecidos, já que as folhas estão mais expostas aos raios UV (TAIZ; ZEIGER, 2013).

4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Devido a grande diversidade de radicais livres e diferentes formas de atuação dos antioxidantes, não há um método simples e universal para medir a atividade antioxidante de forma precisa e quantitativamente eficaz (ALVES et al., 2010). Por isso foi utilizado dois métodos para a avaliação da atividade antioxidante.

4.3.1 MÉTODO DO SEQUESTRO DO RADICAL DPPH

Na determinação da atividade antioxidante do caule e das folhas da espécie em estudo avaliou-se a capacidade dos extratos metanólicos sequestrar o radical DPPH• em diferentes concentrações de forma que ocorresse a redução do radical entre 20 e 80%, de acordo com a capacidade antioxidante de cada extrato e a partir desses dados foi traçado uma curva linear entre atividade antioxidante e concentração utilizada de cada extrato para se calcular o CE₅₀. O teste foi realizado em triplicata, obtendo-se assim três gráficos para cada extrato, folhas (Figuras 9, 10 e 11), caule (Figuras 12, 13 e 14) e os controles, ácido ascórbico (Figuras 15, 16 e 17) e trolox (Figuras 18, 19 e 20) (APÊNDICE 1).

Para todos os gráficos o coeficiente de correlação linear obtido (r^2) foi acima, 0,90, demonstrando uma boa linearidade (OLIVEIRA, 2011). Após a construção dos gráficos foi obtido o valor de CE₅₀ para cada amostra (três) de cada extrato e calculou-se a média e desvio padrão obtendo-se assim a concentração do extrato que inibiu 50% do radical DPPH (Tabela 4).

Tabela 4: Atividade antioxidante dos extratos avaliada pelo CE₅₀, valores expressos em: µg/mL.

Amostra	CE ₅₀ ± DP (µg/mL)
EMFV _m	39,66 ± 2,62a
EMCV _m	14,31 ± 0,26b
Ácido Ascórbico	7,12 ± 0,66c
Trolox	9,49 ± 0,82c

Os resultados acima são a média ± desvio padrão (n=3). Valores com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (p<0,05).

De acordo com os valores do CE_{50} obtidos pode-se verificar que ambos os extratos apresentaram atividade antioxidante frente ao radical DPPH diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) entre si e os padrões utilizados, sendo que o caule foi o que apresentou melhor atividade. No entanto nenhum dos extratos apresentou melhor poder antioxidante que os padrões, trolox e ácido ascórbico. O coeficiente de variação foi de 8,04 demonstrando que houve uma baixa dispersão dos dados em relação à média.

Sabendo-se que a atividade antioxidante é influenciada pela alta presença de compostos fenólicos, os quais são indicados pelo ensaio de fenólicos totais (SILVA et al., 2013) o caule apresentou uma melhor atividade antioxidante por apresentar um maior conteúdo de fenólicos do que o encontrado nas folhas.

Esse resultado encontrado para o caule corrobora com resultados de outros estudos sobre a atividade antioxidante de *V. macrocarpa*. Em pesquisas realizadas com o cerne e entrecasca do caule foi comprovada a propriedade antioxidante frente ao radical DPPH onde a entrecasca apresentou uma atividade próxima a do controle ácido ascórbico, sendo o CE_{50} de 4,65 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato etanólico da entrecasca e 4,00 $\mu\text{g/mL}$ para o ácido ascórbico (JESUS, 2007; SANTOS et al., 2007). Além disso, um estudo realizado por Souza e colaboradores (2015) mostrou também relevante atividade antioxidante frente ao radical DPPH do extrato etanólico do alburno de *Vatairea guianensis* Aubl apresentando $CE_{50}=3,7$ $\mu\text{g/mL}$, uma melhor atividade quando comparado ao controle positivo Trolox, $CE_{50}=4,5$ $\mu\text{g/mL}$, e também ao extrato etanólico das folhas desta espécie, $CE_{50}=6,2$ $\mu\text{g/mL}$.

A diferença entre o valor encontrado ($14,31 \pm 0,26 \mu\text{g/mL}$) para o EMCVm e o descrito na literatura para a entrecasca pode ser devido a diferentes formas de extração, solvente utilizado, parte da planta utilizada ser diferente, local de coleta, condições climáticas do local, época de coleta, dentre outros fatores que podem interferir (ANDREO; JORGE, 2006; RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011). A espécie apresentou valor de CE_{50} menor que o descrito para outras plantas, reconhecidamente fortes antioxidantes, como a erva-mate, $CE_{50} = 252,0$ $\mu\text{g/mL}$ e o chá verde, $CE_{50} = 140,0$ $\mu\text{g/mL}$, o que mostra que essa espécie possui uma alta capacidade de sequestrar radicais livres (MORAIS et al., 2009; BERTÉ et al., 2011).

4.3.2 MÉTODO DA CO-OXIDAÇÃO DO B-CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO

No teste da atividade antioxidante pelo método de co-oxidação do β -caroteno/ác. linoleico foi utilizado os extratos em diferentes concentrações para que os possíveis

antioxidantes presentes nos extratos reagissem com o sistema emulsionado produzindo quedas na densidade óptica em intervalos onde fosse possível a quantificação.

A capacidade antioxidante dos extratos de folhas e caule de *V. macrocarpa* e do Trolox em inibir a oxidação no sistema β -caroteno/ác. linoleico, estão expressas nas tabelas 5 e 6 abaixo.

Tabela 5: Porcentagem (%) de inibição de oxidação (Média \pm Desvio padrão) para o extrato de folhas de *V. macrocarpa* no sistema β -caroteno/ácido linoleico.

Amostra	Concentrações ($\mu\text{g/mL}$)				
	100	200	300	400	500
EMFVm	20,25 \pm 10,28	21,39 \pm 5,77	32,82 \pm 2,72	35,74 \pm 3,03	41,01 \pm 2,36
Trolox	-	70,09 \pm 2,41	-	-	-

Tabela 6: Porcentagem (%) de inibição de oxidação (Média \pm Desvio padrão) para o extrato de caule de *V. macrocarpa* no sistema β -caroteno/ácido linoleico.

Amostra	Concentrações ($\mu\text{g/mL}$)				
	100	200	300	400	500
EMCVm	25,42 \pm 15,58	25,36 \pm 2,02	34,09 \pm 6,59	45,50 \pm 6,38	42,06 \pm 10,13
Trolox	-	58,21 \pm 2,29	-	-	-

De acordo com os resultados obtidos observa-se que ambos os extratos apresentaram atividade de inibição dos radicais livres formados pela peroxidação do ácido linoleico, porém observa-se que nenhum foi superior ao controle, Trolox. Na análise estatística das médias das porcentagens de inibição de oxidação por cada concentração entre folhas e caule, através do teste de Tukey, observou-se que não houve diferença estatística nas concentrações de 100 e 500 $\mu\text{g/mL}$ de cada extrato, ou seja, tanto o extrato de folhas quanto o de caule apresentaram mesma % de inibição nessas concentrações.

Além das porcentagens de inibição da oxidação foi feito a curva cinética da reação, já que o ensaio foi realizado em diferentes concentrações, sendo analisados durante duas horas através das leituras das absorvâncias a cada 15 minutos. Assim foi avaliada a atividade antioxidante dos extratos ao término da reação e o seu comportamento ao longo do tempo de reação. As curvas cinéticas da degradação do β -caroteno pelos extratos de caule e folhas são representadas abaixo (Figura 21 e 22).

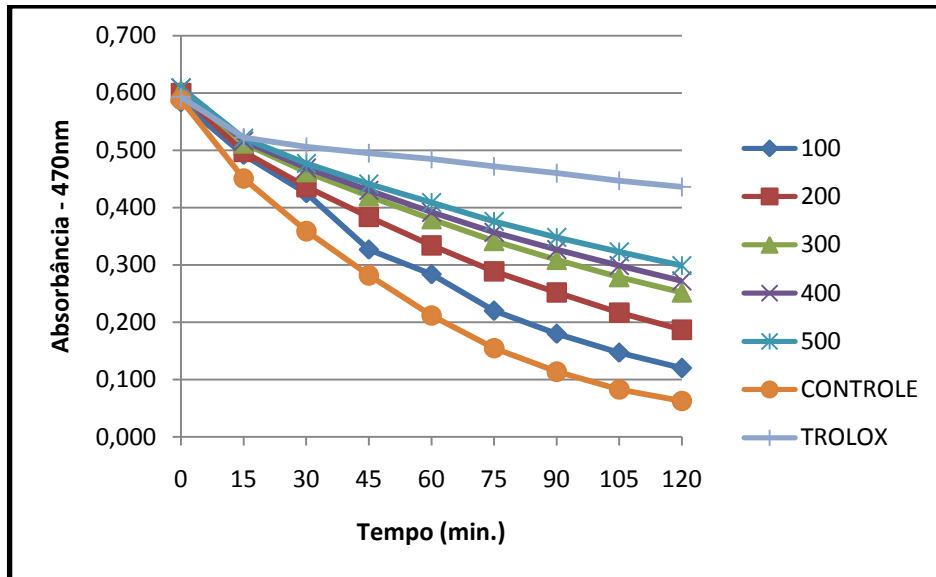


Figura 21: Curva cinética de degradação do β -caroteno na presença do extrato de folhas de *V. macrocarpa* (média da triplicata).

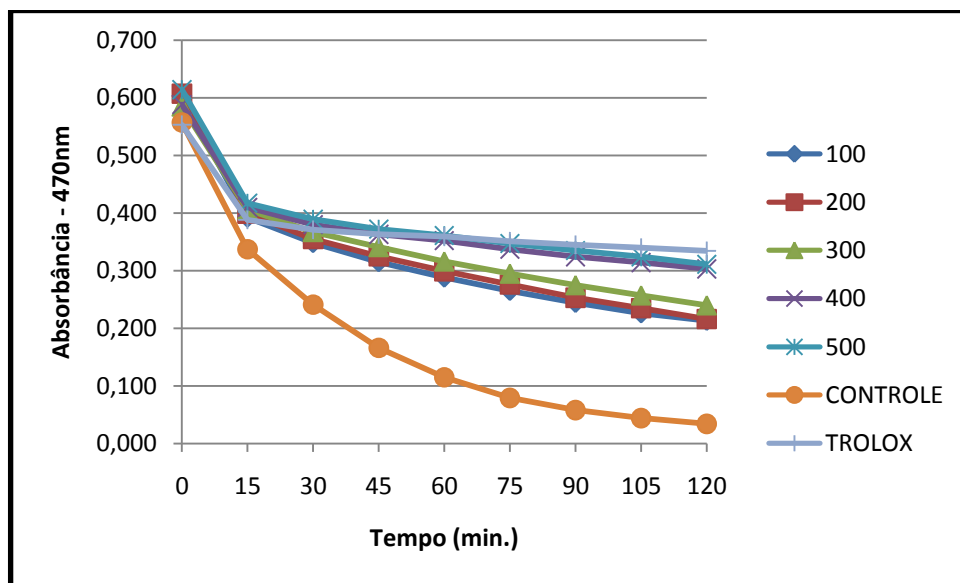


Figura 22: Curva cinética de degradação do β -caroteno na presença do extrato de caule de *V. macrocarpa* (média da triplicata).

Quanto à avaliação da eficiência do antioxidante de acordo a seu possível mecanismo de ação foi realizado ainda o estudo da cinética da curva de decaimento da atividade antioxidante. Assim foram calculados os fatores cinéticos dos extratos a partir das curvas cinéticas acima.

Os fatores, F1 e F2 foram calculados conforme equação descrita na metodologia. O F1, que é calculado no período entre 15 e 45 minutos da reação, mensura a eficiência do antioxidante para bloquear a reação em cadeia através da inativação dos radicais peróxidos, sendo assim chamados de antioxidantes primários. Já o F2 é calculado no período entre 75 e 105 minutos e está associado

à capacidade do antioxidante em participar de outras reações, como a decomposição dos produtos secundários da oxidação, como os radicais hidroperóxidos (JARDINI; FILHO, 2007) (Tabela 7 e 8).

Tabela 7: Parâmetros cinéticos do potencial antioxidante no sistema β -caroteno e ácido linoléico, para o Trolox e o extrato de folhas de *V. macrocarpa*.

Extrato	Concentração $\mu\text{g/mL}$									
	100		200		300		400		500	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2
EMFVm	0,97	1,01	0,66	1	0,54	0,87	0,5	0,8	0,47	0,73
Trolox	-	-	0,15	0,34	-	-	-	-	-	-

F1 = fator cinético 1 (tempo compreendido entre 15 a 45 minutos) e F2 = fator cinético 2 (tempo compreendido entre 75 a 105 minutos).

Tabela 8: Parâmetros cinéticos do potencial antioxidante no sistema β -caroteno e ácido linoléico, para o Trolox e o extrato de caule de *V. macrocarpa*.

Extrato	Concentração $\mu\text{g/mL}$									
	100		200		300		400		500	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2
EMCVm	0,45	1,11	0,43	1,17	0,38	1,08	0,27	0,65	0,26	0,65
Trolox	-	-	0,14	0,31	-	-	-	-	-	-

F1 = fator cinético 1 (tempo compreendido entre 15 a 45 minutos) e F2 = fator cinético 2 (tempo compreendido entre 75 a 105 minutos).

De acordo com Jardim e Filho (2007) mais eficientes serão os compostos da amostra em retardar ou inibir o processo oxidativo quanto menor for o valor de F1. Sendo assim os dois extratos apresentaram atividade antioxidante quanto à degradação dos radicais peróxidos, atuando como antioxidantes primários. Pode-se observar também que para ambos os extratos à medida que aumenta a concentração, maior a inibição e menor o valor de F1.

Quanto aos valores de F2 tanto as folhas, nas concentrações de 100 $\mu\text{g/mL}$ e 200 $\mu\text{g/mL}$, quanto o caule, em 100 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$ e 300 $\mu\text{g/mL}$, apresentaram valores acima ou igual a 1 o que indica que nessas concentrações existem compostos antioxidantes que podem atuar como pró-oxidante, ou seja participam de outras reações, formando assim espécies de radicais livres que aceleram o processo oxidativo do sistema, ou seja, não são efetivos na inativação dos produtos secundários da reação, como os hidroperóxidos.

O teste da co-oxidação do betacaroteno/ác. linoleico é um método simples e sensível, porém não específico já que substâncias oxidantes ou redutoras interferem no ensaio e por vezes dificulta a reprodução dos valores das absorvâncias

Diante dos resultados essa espécie apresenta um potencial antioxidante no processo inicial da oxidação demonstrado tanto no teste do radical DPPH quanto no teste da co-oxidação do betacaroteno. Essa atividade pode ser justificada pela presença de compostos fenólicos nos extratos identificados pela CCD.

4.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Com o intuito de aprofundar os conhecimentos sobre essa espécie e verificar seus efeitos farmacológicos cientificamente foi realizado os testes de atividade analgésica e anti-inflamatória. Tais testes são de suma importância, pois há uma necessidade de busca de novas opções terapêuticas para o tratamento da dor já que grande parte dos medicamentos existentes hoje no mercado possuem efeitos indesejáveis significativos (COUTINHO et al., 2009). Assim a procura por novas substâncias anti-inflamatórias e analgésicas contribui para o avanço da pesquisa por novos fármacos mais seguros, eficazes e com menos efeitos colaterais.

4.4.1 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA

No presente estudo não foram observados sinais clínicos de toxicidade nos animais testados, nem mortes durante os quatorze dias após a administração oral da dose fixa de 300 mg/kg de extrato metanólico das folhas e do caule de *V. macrocarpa*. Também não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) no peso corporal que foi medido antes do experimento e no 7º e 14º dias (Tabela 9).

Tabela 9: Média do peso corporal (gramas \pm desvio padrão) de camundongos fêmeas *Mus musculus* tratados por via oral com uma dose de 300 mg/kg do extrato metanólico de folhas e caule de *V. macrocarpa*.

Dias	Controle (g)	EMFVm (g)	EMCVm (g)
0	23 \pm 1,64	26 \pm 1,87	21 \pm 2,3
7º	25 \pm 2,70	28 \pm 2,58	27 \pm 4,1
14º	28 \pm 3,27	31 \pm 3,00	29 \pm 5,07

Após os animais terem sido eutanasiados, os órgãos foram observados macroscopicamente, não sendo detectadas diferenças significativas quando os mesmos foram comparados com os animais tratados com o veículo (grupo controle), EMFVm e EMCVm. Também não houve diferença estatística entre os pesos dos órgãos analisados (Tabela 10).

Tabela 10. Peso médio dos órgãos, após eutanásia dos camundongos fêmeas (n=5) tratados com EMFVm e EMCVm em dose única de 300 mg/kg. O controle recebeu soro fisiológico 0,9%. Dados expressos como Média \pm E.P.M. (ANOVA-seguido de Tukey).

ÓRGÃOS	CONTROLE (g)	EMFVm (g)	EMCVm (g)
Coração	0,14 \pm 0,006	0,13 \pm 0,009	0,15 \pm 0,019
Pulmão	0,34 \pm 0,072	0,35 \pm 0,072	0,22 \pm 0,009
Fígado	1,53 \pm 0,140	1,47 \pm 0,138	1,57 \pm 0,141
Estômago	0,33 \pm 0,046	0,30 \pm 0,025	0,32 \pm 0,037
Rim direito	0,11 \pm 0,028	0,18 \pm 0,010	0,17 \pm 0,011
Rim esquerdo	0,15 \pm 0,015	0,17 \pm 0,017	0,16 \pm 0,011
Intestino	3,99 \pm 0,190	3,78 \pm 0,236	3,57 \pm 0,223
Baço	0,10 \pm 0,020	0,13 \pm 0,012	0,12 \pm 0,022

Um trabalho realizado por Jesus e colaboradores (2012) observou que o extrato metanólico do cerne de *V. macrocarpa* não apresentou também sinais de toxicidade frente aos testes de toxicidade aguda e subcrônica em doses de até 5000 mg/kg, não sendo observada alteração histopatológica nem a morte dos animais. Diante desses resultados é demonstrado um perfil de segurança relativa da espécie *V. macrocarpa* nos animais experimentais na dose de 300 mg/Kg levando em consideração a metodologia adotada.

4.4.2 TESTE DE AVALIAÇÃO DA COORDENAÇÃO MOTORA (ROTA ROD)

No teste de avaliação da coordenação motora foi observado que para ambos os extratos, EMFVm e EMCVm, nenhuma das doses utilizadas interferiu na coordenação motora dos animais (Figuras 23, 24, 25 e 26). Esse teste avalia a integridade do sistema motor, podendo detectar enfraquecimento neurológico, como ataxia, relaxamento muscular e efeitos de neurotoxicidade que são provocados geralmente por drogas depressoras do Sistema Nervoso Central (SNC), como é o caso do Diazepam (PULTRINI et al., 2006).

O Diazepam pertence à classe dos benzodiazepínicos, usado no tratamento de insônia e ansiedade, além de possuir ação miorrelaxante e anticonvulsivante (AUCHEWSKI et al., 2004). Atua especificamente no receptorácido gama-aminobutírico (GABA), principal neurotransmissor inibitório do SNC, se ligando a um local deste receptor diferente de onde se liga o GABA, aumentando assim a afinidade do GABA pelo receptor e consequentemente intensificando a sua ação (SIGEL; STEINMANN, 2012).

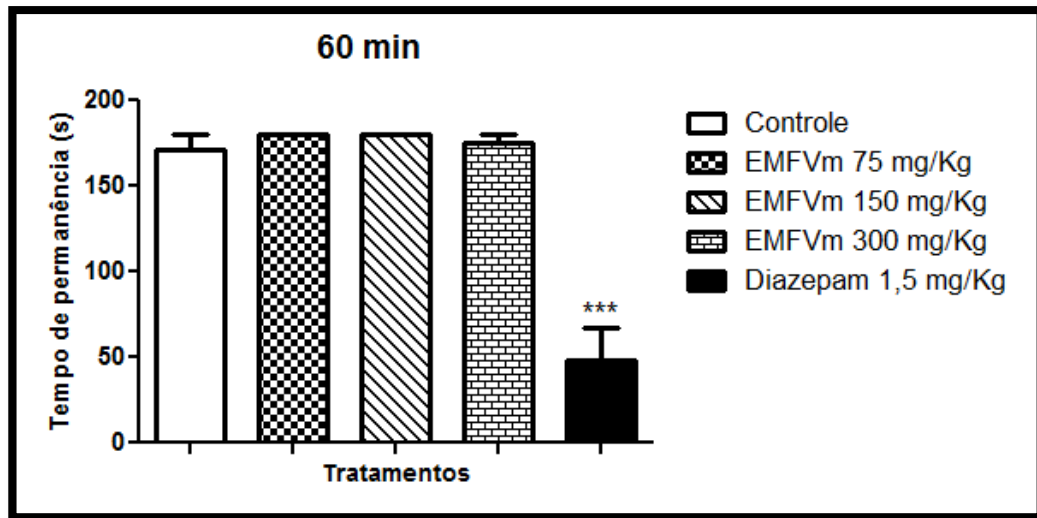


Figura 23: Efeito do extrato de folhas de *V. macrocarpa* (T60min) no teste da coordenação motora em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) *** $p < 0,001$ vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

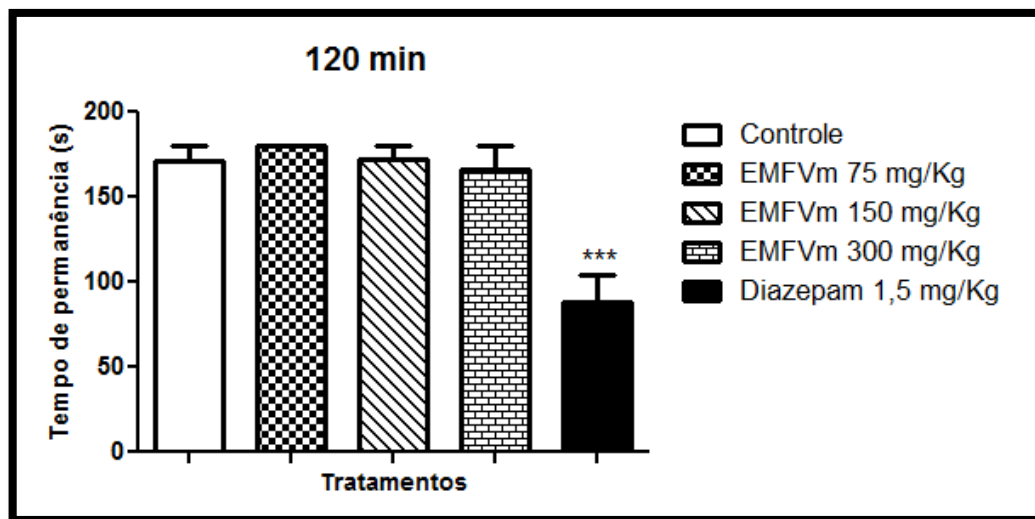


Figura 24: Efeito do extrato de folhas de *V. macrocarpa* (T120min) no teste da coordenação motora em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) *** $p < 0,001$ vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

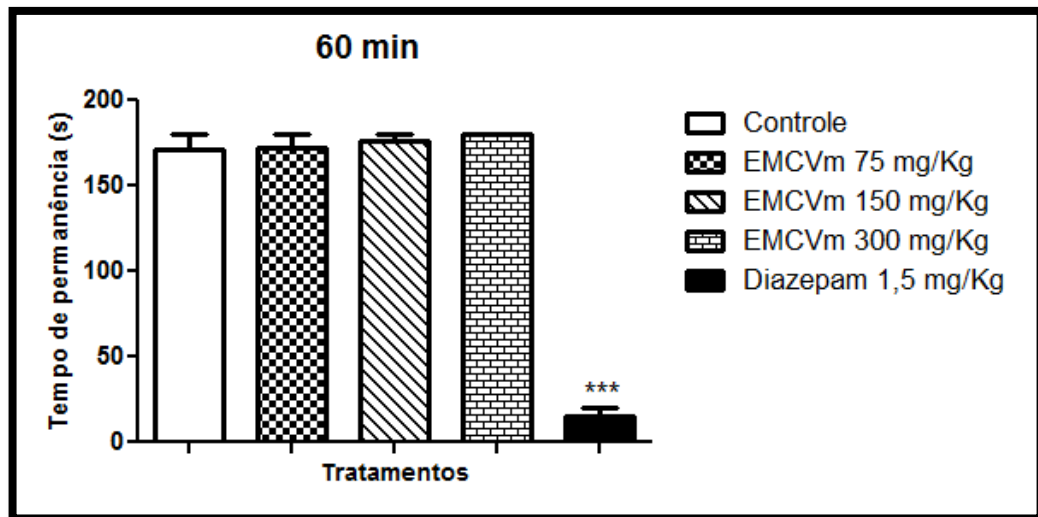


Figura 25: Efeito do extrato de caule de *V. macrocarpa*(T60min) no teste da coordenação motora em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

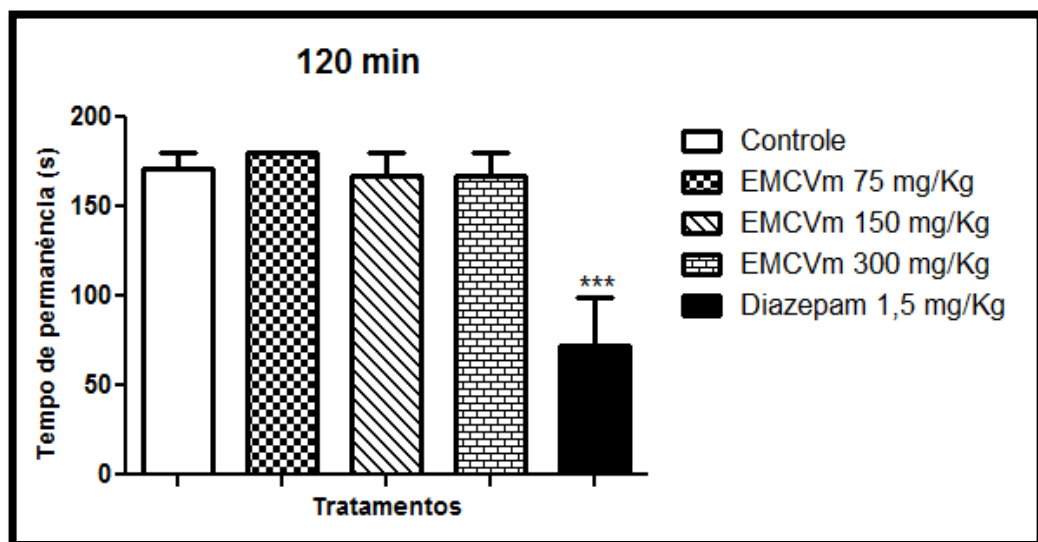


Figura 26: Efeito do extrato de caule de *V. macrocarpa*(T120min) no teste da coordenação motora em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) ***p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

A principal medida obtida na barra giratória, o tempo de permanência, retrata o produto de grandes fatores envolvidos na função motora dos camundongos: 1) equilíbrio dinâmico; 2) coordenação motora; 3) planejamento motor; 4) aprendizagem motora; e 5) condições físicas gerais (em especial desempenho cárdio-pulmonar e relações zoométricas) e neuromusculares (SHIOTSUKI et al., 2010). De acordo com Pinto e Ko (2012) o teste rota rod possui relevância significativa nos estudos experimentais pré-clínicos de drogas pois identifica efeitos adversos motores e sistêmicos que só seriam talvez vistos nos estudos

clínicos na fase IV. Os mesmos autores descrevem ainda sobre a importância desse teste para os estudos sobre doenças neurológicas.

4.4.3 TESTE DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS PELO ÁCIDO ACÉTICO

Diante dos resultados expostos anteriormente, como os extratos não apresentaram sinais de toxicidade nem alteraram a coordenação motora dos animais seguiu-se com os demais testes.

O teste de contorções abdominais é um modelo de nocicepção química em que o ácido acético promove uma irritação local e a dor é gerada indiretamente, através da liberação de mediadores endógenos como bradicinina, serotonina, histamina, substância P e prostaglandinas que fazem a estimulação dos neurônios nociceptivos periféricos, os quais são sensíveis a analgésicos narcóticos e anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) (COLLIER et al., 1968; DERAEDT et al., 1980). Além da estimulação através dos mediadores, o mecanismo de nocicepção pode ocorrer também através da dissociação de prótons presentes no ácido acético, que estimulam os canais TRPV1 e ASICs, sensíveis ao pH, e que ficam localizados nos neurônios aferentes primários (LEFFLER et al., 2006).

A regulação do equilíbrio ácido-base no organismo e a manutenção do pH em torno de 7,4 é essencial para a homeostase celular. Esse equilíbrio pode ser alterado de várias formas dentre elas a inflamação. Como solução para esse desequilíbrio existem mecanismos celulares de regulação e sistemas de monitorização sistêmica para detectar acidose nociva, iniciar reações de emergência apropriadas e assim limitar qualquer dano tecidual que possa surgir. Dessa forma os sensores de ácido sistêmico mais importante são os neurônios aferentes primários através de seus canais (TRPV e ASICs) (HOLZER, 2009).

O canal de cátion receptor de potencial transitório vaniloide (TRPV1) participa do processo de transdução de sinais nos nociceptores. Esses canais, além de serem ativados pela capsaicina, ingrediente pungente ou quente da pimenta, são ativados também por prótons com potencial hidrogeniônico (pH) abaixo de 6,5 e por temperaturas elevadas ($\geq 42^{\circ}\text{C}$). Dessa forma estão envolvidos em respostas que envolvem vias da dor e temperatura e estão distribuídos em diversos tecidos como os sistemas nervosos periféricos, bexiga, língua e pele (PARK et al., 2007). Assim como o TRPV1, os ASICs, canais de íons sensíveis ao ácido, são ativados em resposta aos prótons – pH 5,0. Os ASICs observam diminuições moderadas no pH extracelular enquanto que o TRPV1 é ativado apenas por acidose grave, valores de pH inferiores a 6 (HOLZER, 2009).

No modelo de contorções abdominais os animais tratados com as doses de 75 mg/Kg e 150 mg/Kg de *EMFVm* apresentaram redução significativa das contorções com valores de $26,13 \pm 3,95$ e $13,88 \pm 3,59$, respectivamente, em relação aos animais do grupo controle, $46,38 \pm 6,45$. Assim a dose que apresentou melhor efeito foi a de 150 mg/Kg, onde os animais apresentaram uma redução de 70% das contorções quando comparado com os animais do grupo controle. Porém esse efeito foi inferior ao apresentado pelos animais tratados com a indometacina, onde os mesmos apresentaram uma redução de 94% (Figura 27).

Em relação ao *EMCVm* os animais tratados com todas as doses apresentaram redução significativa das contorções abdominais, sendo que os que receberam a dose de 150 mg/Kg mostraram uma inibição de $12,75 \pm 3,59$, promovendo uma redução de 64% das contorções quando comparado aos animais do grupo controle, $35,50 \pm 4,43$. Já os animais que receberam a indometacina apresentaram uma redução de 85% (Figuras 28).

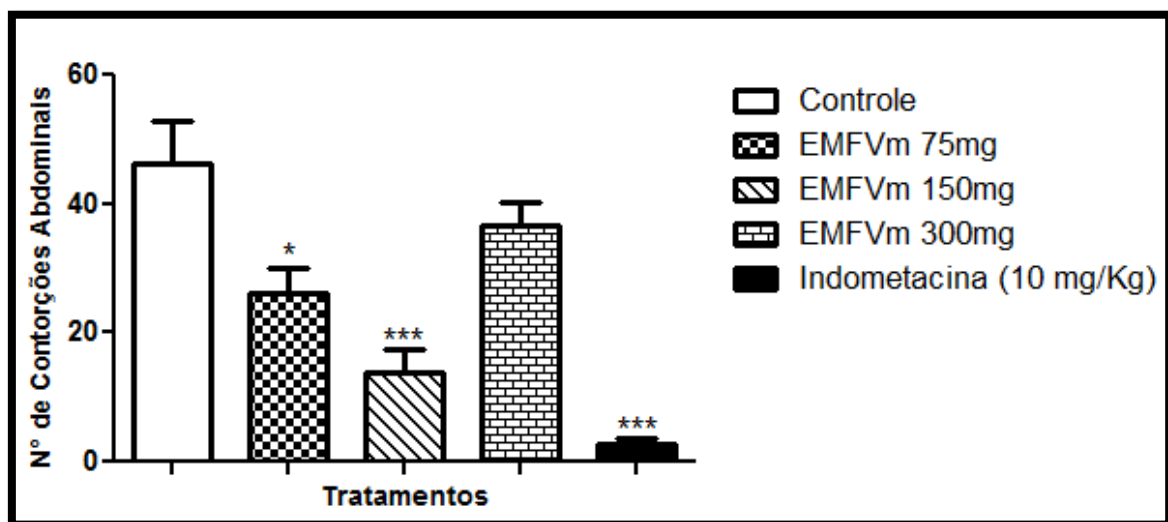


Figura 27: Efeito do *EMFVm* no teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

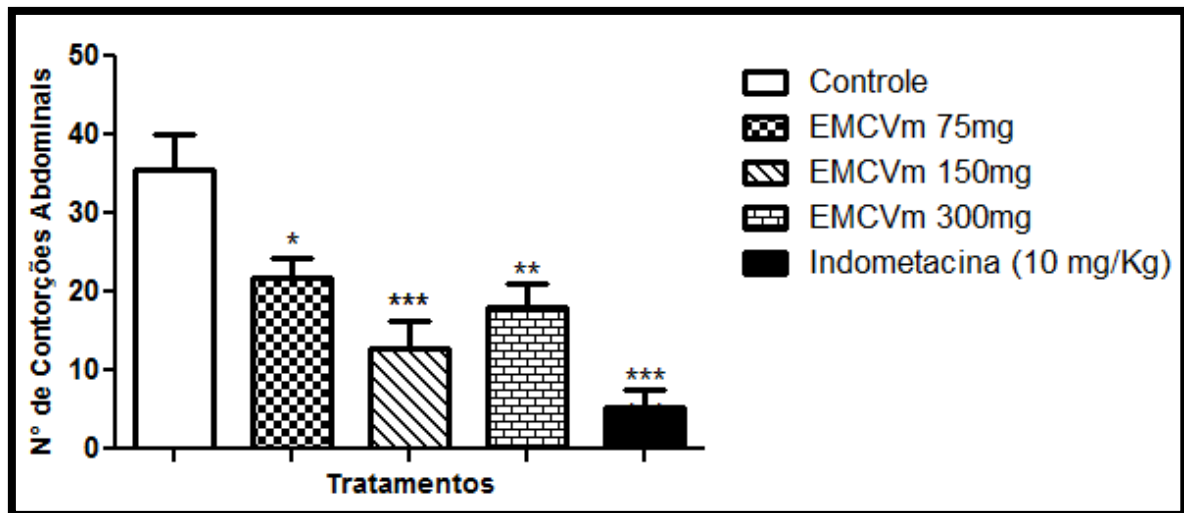


Figura 28: Efeito do EMCVm nas contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) *p<0,05; **p<0,01 e ***p<0,001vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

Os dados exibidos nas Figuras 30 e 31 demonstram que ambos os extratos (*EMFVm* e *EMCVm*) apresentaram atividade antinociceptiva, sendo mais expressiva na dose de 150 mg/kg. Como o teste de contorção abdominal induzida pelo ácido acético é um modelo inespecífico, que avalia a atividade analgésica de drogas tanto de ação central quanto periférica seguiu-se com o teste de formalina e da placa quente a fim de direcionar o estudo do mecanismo da ação antinociceptiva (KOSTER et al., 1959).

4.4.4 TESTE DA FORMALINA

No modelo de analgesia, a resposta nociceptiva produzida pela formalina é bifásica e as duas fases podem ser distinguidas farmacologicamente. A primeira fase corresponde à etapa neurogênica onde ocorre um intenso processo doloroso através da estimulação química direta dos nociceptores, principalmente das fibras C, e é associada à liberação de neuropeptídeos e outras substâncias que produzem respostas locais (SULAIMAN et al., 2008). Nessa primeira fase ocorre liberação de mediadores nociceptivos causando extravasamento plasmático, vasodilatação de capilares vizinhos e ativação de fibras simpáticas, de mastócitos e macrófagos. Em seguida, ocorre a liberação de mediadores inflamatórios (histamina, serotonina, bradicinina e prostaglandina) que irão caracterizar a segunda fase, também chamada de fase inflamatória. Nesta fase há também sensibilização das vias periféricas e centrais de condução da dor (FERREIRA et al., 2004; TJOLSEN et al., 1992).

Durante o experimento foi observado que tanto o EMFV m quanto o EMCV m não apresentaram atividade sobre a fase neurogênica assim como a indometacina que por ser um anti-inflamatório não esteroideal atua na fase inflamatória através da inibição da síntese das prostaglandinas (COSTA-E-SOUSA et al., 2010).

De acordo com os resultados para o EMFV m observou-se uma atividade analgésica dos tratamentos demonstrando um efeito na fase 2, fase inflamatória, onde os animais que receberam a dose de 150 mg/kg ($41,75 \pm 10,18$ segundos) apresentaram uma redução significativa no número de lambidas da pata em relação aos animais do grupo controle ($115,8 \pm 19,79$ s). Além disso, a dose de 150 mg/kg, mostrou-se mais eficaz do que o padrão indometacina ($43,50 \pm 15,63$ s) (Figuras 29 e 30). É possível que, assim como a indometacina, componentes deste extrato possam atuar inibindo a biossíntese das prostaglandinas ou outras as demais vias do processo inflamatório.

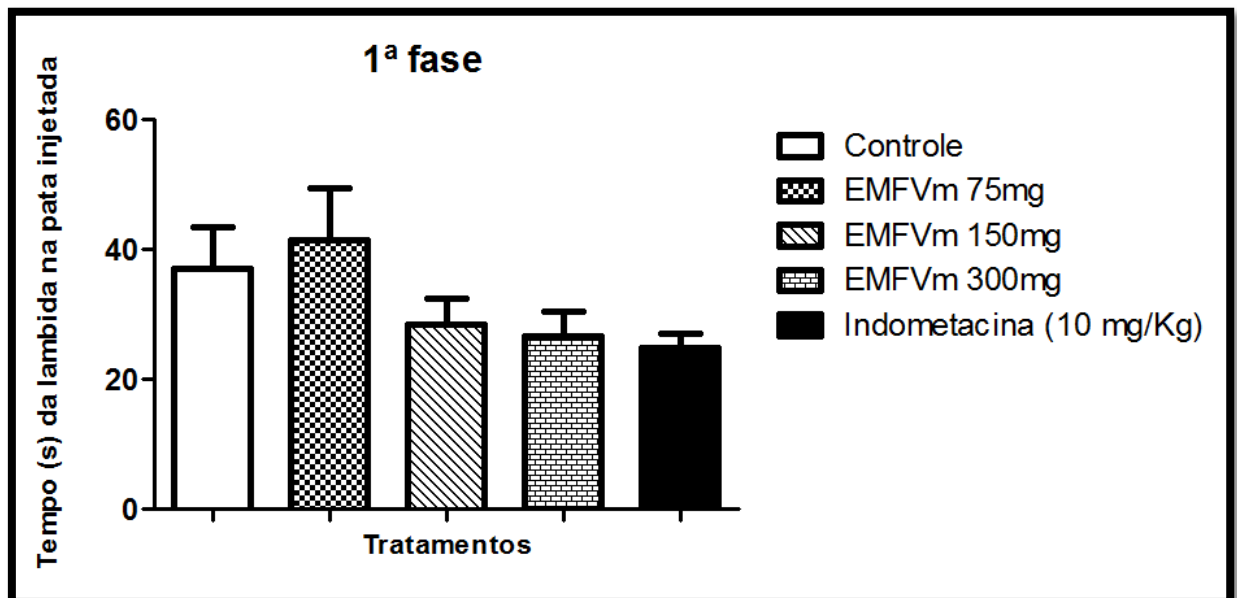


Figura 29: Efeito do EMFV m na fase 1 do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=6 a 8) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

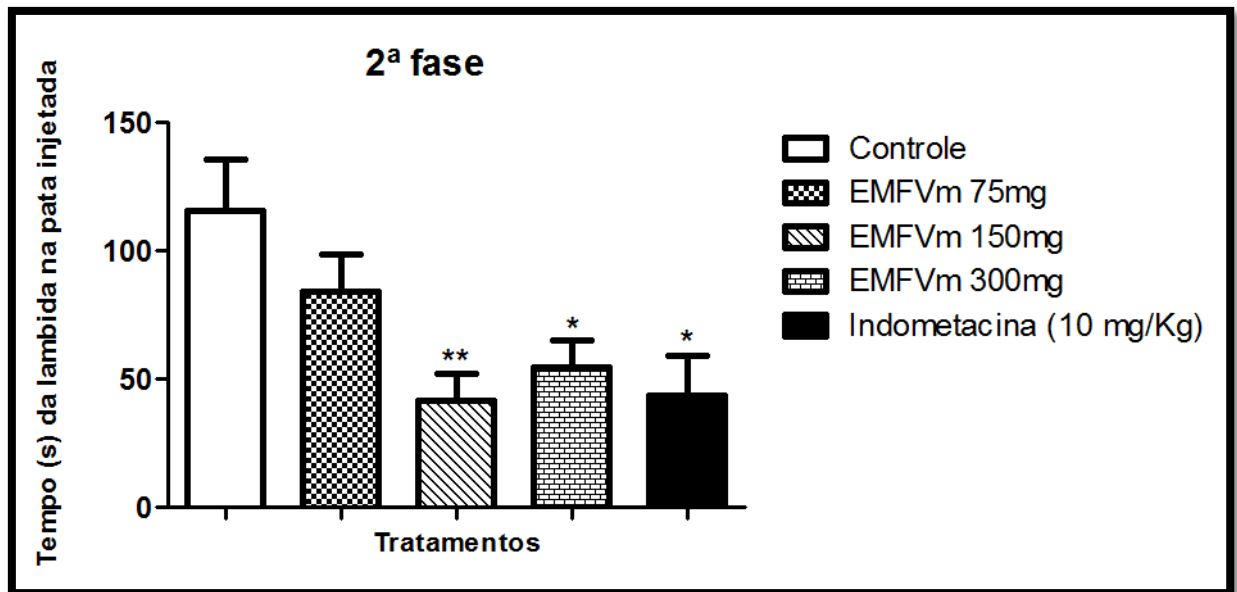


Figura 30: Efeito do EMFVm na fase 2 do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média ± E.P.M. (n=6 a 8) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

O EMCVm também apresentou efeito na segunda fase, onde os animais que receberam a dose de 150 mg/kg apresentaram uma melhor redução no tempo de lambida da pata ($41 \pm 10,55$ s) em relação aos animais do grupo controle ($102,5 \pm 6,83$ s). Os animais tratados com indometacina apresentaram redução de $21,63 \pm 2,16$ s (Figuras 31 e 32).

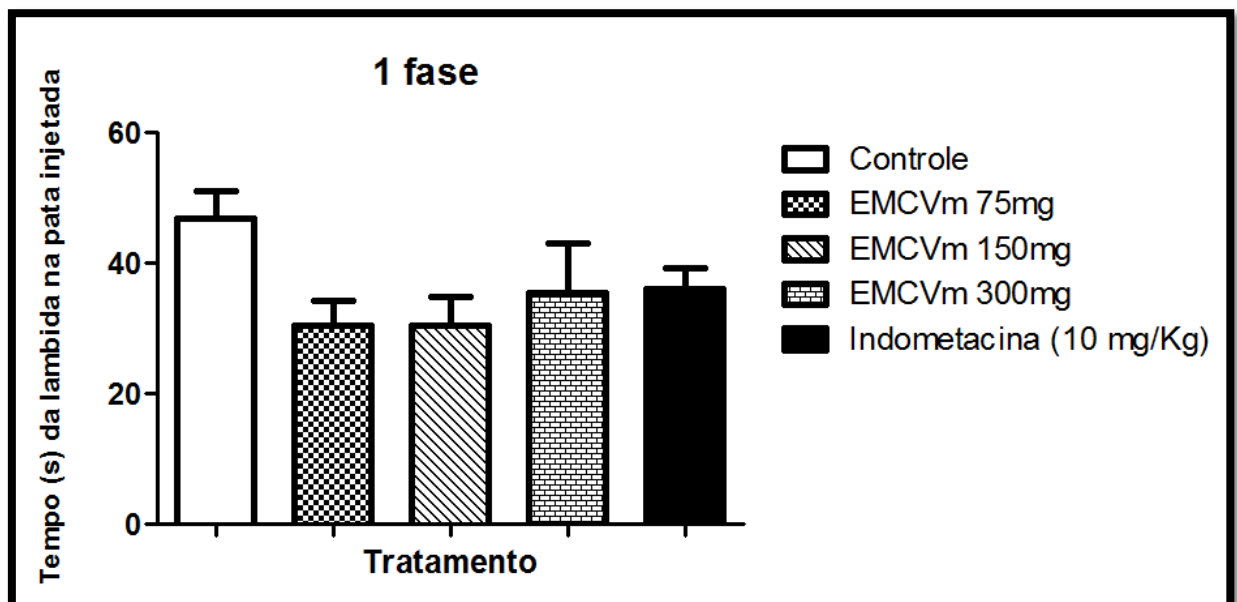


Figura 31: Efeito do EMCVm na fase 1 do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média ± E.P.M. (n=6 a 8) * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

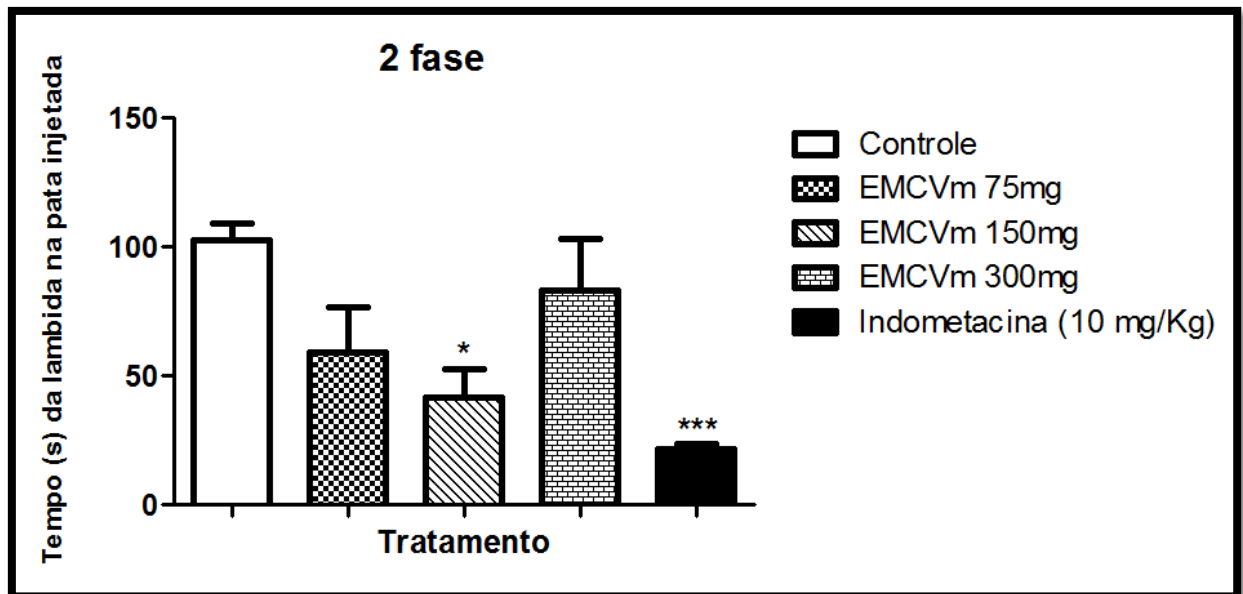


Figura 32: Efeito do EMCVm na fase 2 do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=6 a 8) * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

Foi verificado nesse teste uma possível atividade anti-inflamatória tanto para o extrato das folhas como para o do caule, ambos na dose de 150 mg/kg, apresentando um efeito similar. Isso pode ocorrer devido à presença de determinadas substâncias com potencial anti-inflamatório em ambas as partes da planta como flavonoides, triterpenos e esteroides, que podem atuar sobre os mediadores do processo inflamatório (KUPELI et al., 2006). De acordo com Kim e colaboradores (2004) as atividades anti-inflamatória e antinociceptiva de extratos vegetais têm sido atribuídas principalmente aos flavonoides que possuem a capacidade de inibir a enzima óxido nítrico sintase tipo 2, responsável pela síntese de óxido nítrico (NO), que indiretamente bloqueiam as vias da cicloxigenase e/ou lipoxigenase.

4.4.5 TESTE DA PLACA QUENTE

Este modelo permite avaliar a participação de mecanismos centrais na atividade antinociceptiva, que é determinada pela resposta do animal a um estímulo térmico, temperaturas superiores a 43°C. O estímulo térmico ativa os nociceptores (fibras C não mielinizadas) que são os responsáveis por transmitir a informação a regiões específicas no SNC produzindo uma resposta nociceptiva organizada (BEIRITH et al., 1998; MEKONNEN et al., 2009). Apenas analgésicos centrais aumentam o tempo de resposta no teste da placa quente (SILVA et al., 2013b).

Nesse teste o EMFV m apresentou um efeito analgésico central mais expressivo para a dose de 150 mg/kg, onde aumentou o tempo de permanência do animal na placa durante todos os tempos analisados ($T_{30}=25 \pm 1,5s$; $T_{60}=27 \pm 0,9s$; $T_{120}=23 \pm 1,5s$), comparado aos animais do grupo controle ($T_{30}=12 \pm 0,5s$; $T_{60}=13 \pm 0,7s$; $T_{120}=13 \pm 0,8s$). Aos 60 minutos o EMFV m apresentou seu maior efeito, ou seja, um maior tempo até reação do animal ao estímulo térmico. O mesmo na dose de 150 mg/kg não apresentou diferença significativa em relação à morfina ($T_{30}=30 \pm 0,5s$; $T_{60}=29 \pm 0,6s$; $T_{120}=22 \pm 1,3s$), mostrando assim que existe uma atividade no SNC semelhante ao efeito desta (Figura 33).

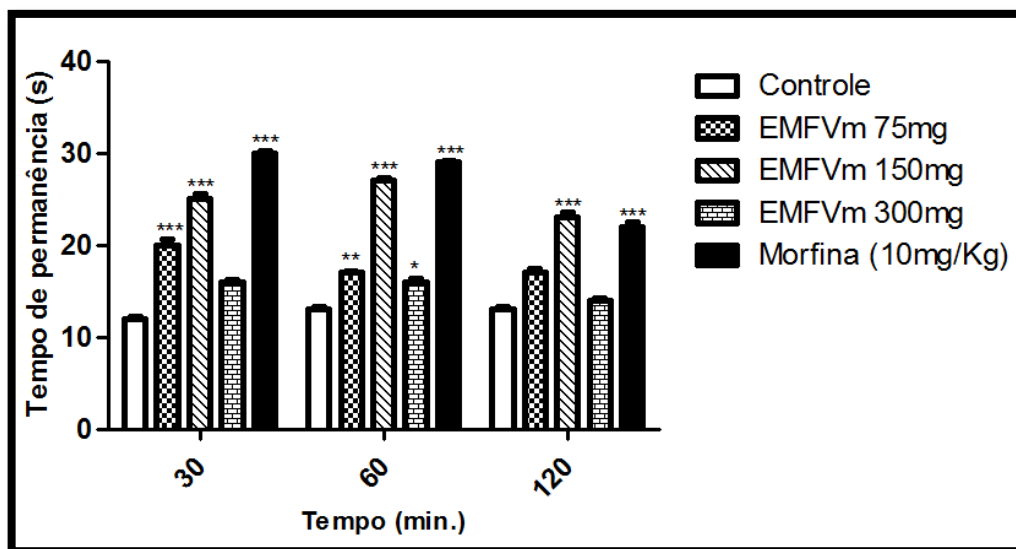


Figura 33: Efeito do EMFV m no teste da placa quente ($\pm 55^\circ\text{C}$) em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

Já o EMCV m aumentou o tempo de permanência dos animais na placa quente no primeiro tempo analisado (30 minutos) apresentando diferença estatisticamente significativa nas doses de 150 mg/kg ($T_{30}=19 \pm 2,3 s$) e 300 mg/kg ($T_{30}=21 \pm 1,6 s$) em relação aos animais do grupo controle ($T_{30}=7,3 \pm 0,8 s$). Nos tempos 60 e 120 minutos não foi observada diferença estatística significativa entre as doses e o controle. A capacidade de adaptação dos animais pode justificar o aumento no tempo de permanência na placa de animais do grupo controle. O padrão, morfina, se mostrou eficiente durante todo o experimento ($T_{30}=21 \pm 2,5s$; $T_{60}=24 \pm 2,8s$; $T_{120}=23 \pm 1,9s$) (Figura 34).

A morfina é um agente agonista dos receptores opióides. Esses receptores são ligados às proteínas G inibitórias, as quais quando ativadas desencadeiam uma cascata de eventos: fechamento de canais de cálcio voltagem dependentes, redução na produção de monofosfato de adenosina cíclico (AMPs) e estímulo ao efluxo de potássio resultando em hiperpolarização

celular. Dessa forma, o efeito final é a diminuição da excitabilidade neuronal, resultando em redução da neurotransmissão de impulsos nociceptivos (TRIVEDI et al., 2013).

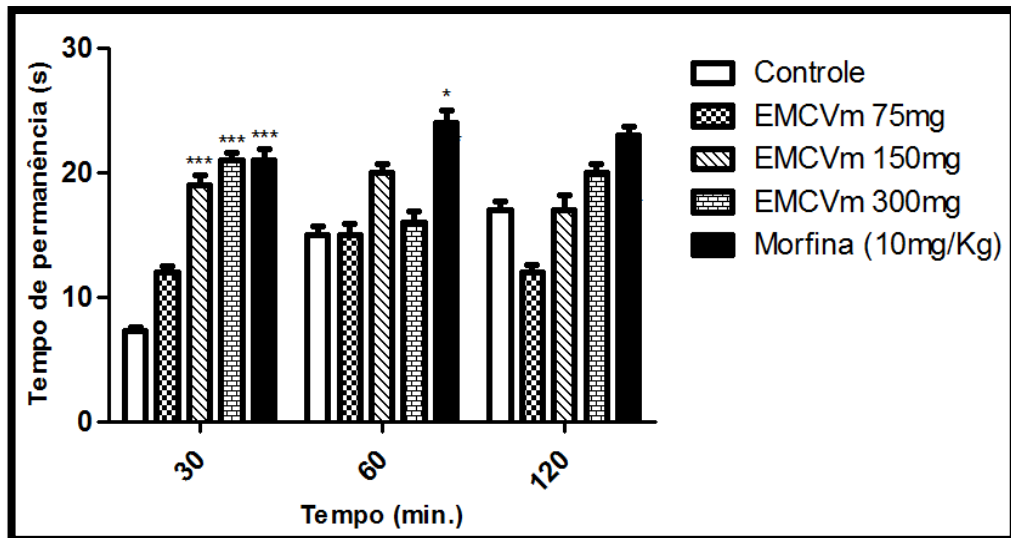


Figura 34: Efeito do EMCVm no teste da placa quente ($\pm 55^{\circ}\text{C}$) em camundongos. Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) *p<0,05, *** p<0,001 vs controle (ANOVA-seguido de Tukey).

De acordo com os resultados apresentados por ambos os extratos, observa-se que o EMFVm quando comparado com EMCVm apresentou melhor efeito no teste da placa quente, se aproximando ao efeito apresentado pela morfina. Diante dos testes utilizados ambos os extratos demonstraram propriedades antinociceptiva sobre o Sistema Nervoso Periférico e Central.

4.4.6 TESTE DO EDEMA DA PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA

Para fins de confirmação da atividade anti-inflamatória observada no teste da formalina foi feito o de edema de pata induzido por carragenina, um polissacarídeo sulfatado, utilizado como agente flogístico que induz um processo inflamatório agudo. Essa inflamação se desenvolve de forma rápida devido à ação de diversos mediadores pró-inflamatórios, resultando em edema e exacerbação da sensibilidade aos estímulos térmicos e mecânicos (FERREIRA et al., 2004; MORRIS, 2003).

De acordo com os mediadores envolvidos o teste do edema de pata induzido por carragenina envolve três etapas diferentes. A primeira etapa que compreende os 90 primeiros minutos é onde ocorre a liberação de histamina e serotonina que são responsáveis pela vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular no início da inflamação. Entre os 90 e

150 minutos, ocorre a segunda etapa, a qual é desencadeada por cininas, substâncias responsáveis por induzir um aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos e a biossíntese de prostaciclina e outros autacoides que participam do processo inflamatório. A partir de 150 minutos começa a terceira etapa, caracterizada pelo aumento na produção de prostaglandinas no tecido inflamado, com um pico máximo aos 180 minutos onde ocorre infiltração maciça de leucócitos polimorfonucleares (CARVALHO, 2011; UENO et al., 2000).

Os animais tratados com *EMFVm* apresentaram uma inibição significativa do edema para todas as doses em relação aos animais do grupo controle a partir dos 120 minutos após a administração. No tempo de 180 minutos todas as doses apresentaram diferença estatisticamente significativa $p < 0,001$ em relação ao controle ($0,23 \pm 0,026$ mL) diminuindo o edema nos animais: 75 mg/kg ($0,074 \pm 0,012$ mL), 150 mg/kg ($0,075 \pm 0,005$ mL) e 300 mg/kg ($0,095 \pm 0,010$ mL). A indometacina inibiu a formação de edema nos animais significativamente ($0,04 \pm 0,009$ mL) (Figura 35).

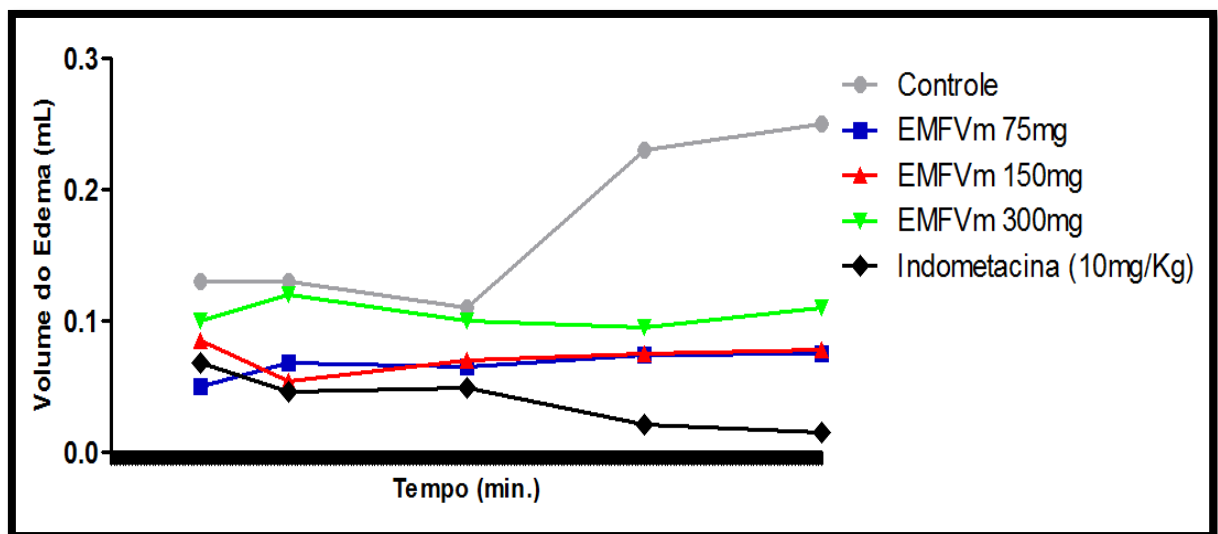


Figura 35: Efeito do *EMFVm* sobre o edema de pata induzido por carragenina (n = 8). Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8) * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ vs controle (ANOVA-two way-Tukey).

Quanto aos animais que receberam o *EMCVm*, estes apresentaram inibição do edema de pata em todos os tempos e para todas as doses testadas em relação aos animais do grupo controle. No tempo de 120 minutos os animais tratados com as doses de 75 mg/kg, 150mg/kg e 300 mg/kg apresentaram valores de inibição do edema respectivamente iguais a: $0,07 \pm 0,02$ mL, $0,041 \pm 0,0035$ mL e $0,03 \pm 0,0073$ mL. Sendo que a dose de 300 mg/kg apresentou uma inibição semelhante a apresentada pelos animais que receberam indometacina ($0,04 \pm 0,011$ mL) não havendo diferença estatística significativa entre as mesmas (Figura 36).

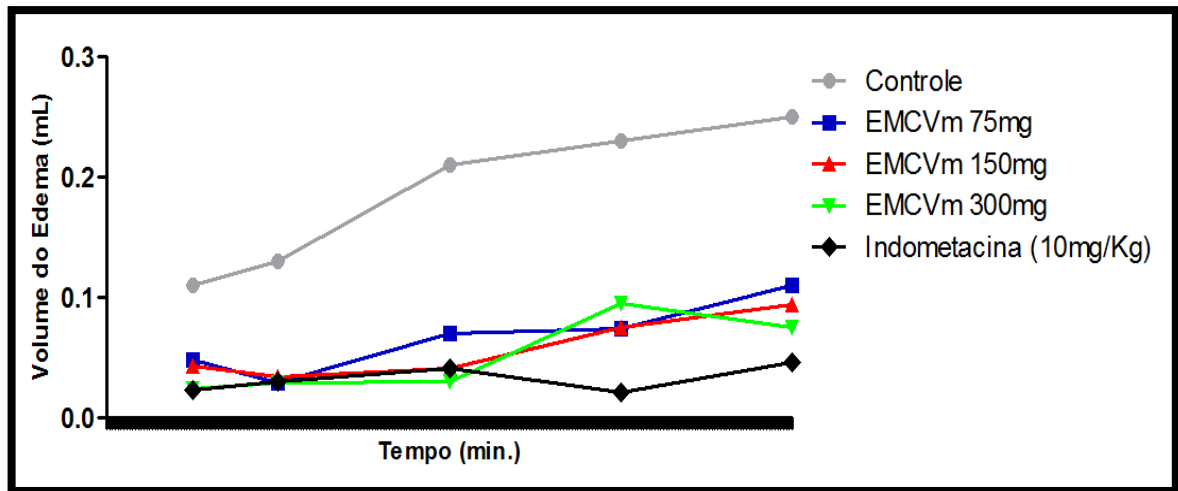


Figura 36: Efeito do EMCVm sobre o edema de pata induzido por carragenina (n = 8). Valores expressos como média \pm E.P.M. (n=8)*p<0,05; ***p<0,001 vs controle (ANOVA-two way-Tukey).

Tanto o extrato das folhas quanto do caule de *V. macrocarpa* apresentou efeito anti-edematogênico no teste de edema de pata induzido por carragenina para todas as doses e em todas as fases da resposta inflamatória. Esses dados corroboram com os obtidos no estudo realizado por Santos e colaboradores (2016) em que o extrato etanólico das cascas do caule de *V. macrocarpa* também apresentou significativo potencial anti-inflamatório em modelo de pleurisia induzido pela carragenina em camundongos nas doses de 100 mg/Kg e 300 mg/Kg. Já em um estudo realizado com o extrato metanólico do cerne dessa espécie, o mesmo não apresentou atividade no modelo de edema de pata induzido por carragenina (JESUS, 2007), o que sugere que as substâncias responsáveis pela atividade anti-inflamatória dessa espécie estejam presentes nas folhas e na entrecasca do caule.

A presença de principalmente flavonoides e terpenos reportados para o gênero *Vatairea* e identificados nos extratos das folhas e do caule através da CCD sugere que estes possam ser os responsáveis pelas atividades antinociceptiva e anti-inflamatória. Diversos trabalhos comprovam tais efeitos apresentados por esses compostos em plantas (BRINKER et al., 2007; IGNOATO et al., 2012; NIJVELDT et al., 2001; TESTA et al., 2012). Dentre eles, por exemplo, um produto fitoterápico anti-inflamatório desenvolvido no Brasil, o Acheflan® tem esse efeito devido à presença de um terpeno, o α -humuleno (GILBERT; FAVORETO, 2012). Outro exemplo é o estudo realizado por Coutinho e colaboradores (2009) onde estes relatam vários trabalhos sobre a atividade anti-inflamatória desempenhada pelos flavonoides.

De acordo com os resultados dos testes pode-se inferir que os extratos tanto do caule quanto das folhas são dotados de atividade antinociceptiva tanto de origem periférica,

representada nos testes das contorções abdominais e no teste da formalina, quanto associada a mecanismos centrais de inibição da dor, apresentado no teste da placa quente. Fica comprovada ainda a atividade anti-inflamatória demonstrada no teste de edema de pata.

Foi observado que ambos os extratos não apresentaram um efeito dose dependente, sendo a dose de 150 mg/kg, a intermediária, que apresentou melhor resultado. Isso pode ser justificado pelo fato de que ao se aumentar a dose dos extratos para 300 mg/kg substâncias responsáveis por tal atividade quando em maior concentração pode atuar em outros sítios de ação, diferente do sítio primário. De acordo com Hang e colaboradores (2012) nenhum fármaco é completamente específico em sua ação, pois em alguns casos ao se aumentar a dose de um fármaco, a substância pode afetar outros alvos além do seu alvo principal.

Diante disso dos resultados apresentados é necessário a continuação dos estudos a fim de elucidar os mecanismos de ação dos extratos dessa espécie para tais atividades e a identificação das substâncias responsáveis.

5. CONCLUSÃO

A família Leguminosae é famosa pela atividade antioxidante de muitas de suas espécies, representada pela presença de flavonoides e compostos fenólicos. Dessa forma, diante dos resultados foi encontrado a presença de compostos fenólicos e flavonoides tanto nas folhas quanto no caule de *V. macrocarpa*. Na avaliação da atividade antioxidante ambos apresentaram atividade nos testes realizados. Como os radicais livres estão relacionados com uma gama de patologias esta espécie apresentou também atividade anti-inflamatória e analgésica, com ação periférica e central. Os animais tratados com os extratos na dose de 300 mg/kg não apresentaram sinais de toxicidade, nem houve alteração da coordenação motora dos mesmos.

Diante dos resultados preliminares a espécie em estudo tem demonstrado ser fonte promissora de metabólitos ativos e assim merece a continuação dos estudos a fim de identificar e isolar os compostos ativos responsáveis por tais atividades analisadas neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, N. M. N. et al. *Vatairea macrocarpa* (Leguminosae) lectin activates cultured macrophages to release chemotactic mediators. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.** v. 374, p. 275–282, 2007.
- ALENCAR, N. M. N. et al. *Vatairea macrocarpa* lectin induces paw edema with leukocyte infiltration. **Protein and Peptide Letters.** v. 11, n. 2, p. 195-200, 2004.
- ALENCAR, M. N. N. et al. The galactosebinding lectin from *Vatairea macrocarpa* seeds induces in vivo neutrophil migration by indirect mechanism. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.** v. 35, p. 1674–1681. 2003.
- ALMEIDA, N. E. C. **Reatividade das lupulonas, terpenos, flavonoides prenilados e compostos contendo grupos tióis livre frente aos radicais formados durante o envelhecimento da cerveja.** 2014. 143f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2014.
- ALMEIDA, R. N.; OLIVEIRA, T. M. L. Triagem Farmacológica Comportamental. In: ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- 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, p. 72-76, 1999.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quim. Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ALVES et al. Estudo comparativo de Técnicas de Screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. Nota técnica, **Química Nova**, v. 31 n. 5, 2008.
- AMAROWICZ, R. et al. Free-radical scavenging capacity and antioxidante activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry.** v. 84, p. 551-562, 2004.
- ANDREO, D.; JORGE, N.. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, jul./dez. 2006.
- ANTOLOVICH, M. et al. Methods for testing antioxidant activity. **J. Royal Soc. Chem.**, v. 127, p. 183-198, 2002.
- AUCHEWSKI, L.; ANDREATINI, R.; GALDURÓZ, J. C. F.; LACERDA, R. B. Avaliação da orientação médica sobre os efeitos colaterais de benzodiazepínicos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 26, n. 1, p. 24-31, 2004.
- BANOV, D. et al. Caracterização do extrato seco de *Ginkgo biloba* L. em formulações de uso tópico. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 25, n. 2, p. 219-224, 2006.
- BARROSO, G. M. et al. **Sistemática de Angiospermas do Brasil.** Imprensa Universitária, Minas Gerais, v. 2, p. 377, 1991.
- BATLOUNI, M. Anti-Inflamatorios Nao Esteroides: Efeitos Cardiovasculares, Cerebro-Vasculares e Renais. **Arquivos Brasileiros Cardiologia.** v. 94, n. 4, p. 556-563. 2010.

- BAVILONI, P. D. et al. Mechanism of anti-hyperglycemic action of *Vatairea macrocarpa* (Leguminosae): Investigation in peripheral tissues. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 131, p. 135–139, 2010.
- BEAR, M.; CONNORS, B.; PARADISO, M.L. **Neurociências**: desvendando o sistema nervoso. Tradução de Jorge Alberto Quillfeldt. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.S.; RODRIGUES, A.L.S. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyrone in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. **Eur J Pharmacol**, v. 345, p. 233-245, 1998.
- BERG, J. M. T.; LUBERT, J. **Bioquímica**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 545p.
- BERTÉ, K. A. S. et al. Chemical composition and antioxidant activity of yerba-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil., aquifoliaceae) extract as obtained by spray drying. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n. 5527, 2011.
- BOLETA-CERANTO, D. C. F., VEIGA, M. C. F. A., ARSATI, F. Efeito da dexametasona e do meloxicam sobre o extravasamento plasmático induzido por carragenina na atm de ratos. **Revista Odonto Ciência**. v. 20, n. 50, 2005.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada (RDC)**, nº 10, de 10 de março de 2010.
- BRASIL 2006 – Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Série B. Textos Básicos de Saúde. Brasília: Ministério da Saúde. 148p.
- BRINKER, Anita M. et al. Medicinal chemistry and pharmacology of genus *Tripterygium* (Celastraceae). **Phytochemistry**. v. 68, p. 732–766, 2007.
- CALVETE, J. J. et al. Amino acid sequence, glycan structure, and proteolytic processing of the lectin of *Vatairea macrocarpa* seeds. **FEBS Lett**. v. 425, p. 286-292, 1988.
- CARNEIRO, Fernanda Melo et al. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência**: sociedade, saberes e práticas educacionais. Goiás. v. 3, n. 2, p. 44-75, 2014.
- CARVALHO, A.M.R. **Estudo da atividade antinociceptiva e antiinflamatória da riparina II (o-metil-n-2-hidroxibenzoil tiramina) em modelos experimentais**. 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2011.
- CAVADA, B. S. et al. Purification and characterization of lectin from seeds of *Vatairea macrocarpa* Ducke. **Phytochemistry**, v. 49, p. 675 – 680, 1998.
- CAVALHEIRO, Mariana G. et al. Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae. **Rev. Bras. Farmacognosia**. v. 19, n. 2B, p. 586-591, 2009.

CECÍLIA, F. V. S.; MURGAS, L. D. S. Métodos de avaliação laboratorial da atividade antinociceptiva e antiinflamatória de produtos naturais. **Boletim Técnico**. n. 97, p. 1-35, Lavras/MG, 2014.

CHECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. **Química de produtos naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. ed. 4. Itajaí, SC: Univali. 2014. 496p.

CHECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, [S.l.], v. 21, 1998.

COHEN, H. **Neurociência para fisioterapeutas: incluindo correlações clínicas**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2001.

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

CORRÊA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional. v. 6, 11 p. 1982.

COSTA, L. M. et al. Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, supl. 1, maio, 2010.

COSTA-E-SOUSA, R. H. et al. Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato hidroalcolólico das folhas e galhos de *Croton sakaquinha* Croizat (Euphorbiaceae). **Rev. Univ. Rural**, v. 30, n. 1, 2010.

COUTINHO, Marcela A. S. et al. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Rev. Virtual Quim.** v. 1, n. 3, p. 241-256. 2009.

COWAN, M.M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 12, p. 564-582, 1999.

DAM, T. K. et al. Binding Studies of α -GalNAc-specific Lectins to the α -GalNAc (Tn-antigen) Form of Porcine Submaxillary Mucin and Its Smaller Fragments. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 282, n. 38, p. 28256-28263, 2007.

DEDRAEDT, 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.

DENNY, C. **Atividade antiinflamatória do óleo de sucupira : *Pterodon pubescens* Benth. Leguminosae-Papilionoideae**. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba, São Paulo, 2002.

DORMAN, H. J. D. et al. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, Hybrids, Varieties, and Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 16, p. 4563-4569, 2003.

EVERETTE, J. D. et al. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, p. 8139-8144, 2010.

- FEGHALI, C. A.; WRIGHT, T. M. Cytokines in acute and chronic inflammation. **Frontiers in Bioscience**. v. 2, p. 12-26, 1997.
- FERNANDES, José Martins; GARCIA, Flávia Cristina Pinto. Leguminosae em dois fragmentos de floresta estacional semidecidual em Araçuaia, Minas Gerais, Brasil: arbustos, subarbustos e trepadeiras. **Rodriguésia**. v. 59, n. 3, p. 525-546, 2008.
- FERNANDES, D. C. et al. Atividade antiinflamatória e constituintes químicos das folhas de *Pterogyne nitens* (Leguminosae). **Sociedade Brasileira de Química**, 2006.
- FERREIRA, M.A.D. et al. Analgesic and anti-inflammatory activities of a fraction rich in onocalyxone A isolated from *Auxemma onocalyx*. **Phytomedicine**, v.11, n. 4, p. 315-322, 2004.
- FONSECA, M.C.M. **Epamig pesquisa, produção de Plantas Mediciniais para Aplicação no SUS**. Espaço para o produtor, Viçosa, 2012.
- FUMAGALI, E. et al. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa, v. 18, n. 4, 2008.
- GALLARRETA, M. dos S. et al. Avaliação qualitativa da presença de alcalóides em *Bougainvillea glabrachois*. In: VII Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão. Universidade Federal do Pampa. **Anais eletrônicos**, v. 7, n. 2, 2015.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P.. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- GOODMAN, H. G.; GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 11 ed, p. 424-431. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2007.
- GHIRALDINI, M. A. **Curso: Animais de experimentação**. São Paulo. 70 p. 1995.
- GILBERT, Benjamin; FAVORETO, Rita. *Cordia verbenacea* DCBoraginaceae. **Rev. Fitos**. v. 7, n.1, 2012.
- HANG, H.P. et al. **Farmacologia**, 7 ed. Elsevier, 2011.
- HELLEBREKERS, L. J. **Dor em Animais**. São Paulo: Manole, 2002. p. 69-79.
- HIRUMA-LIMA et al. The juice of fresh leaves of *Boerhavia diffusa* L. (Nyctaginaceae) markedly reduces pain in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.71, p.267-274, 2000.
- HOLZER, Peter. Acid-sensitive ion channels and receptors. **Handb Exp Pharmacol**. v. 1, n. 194, p. 283-332. 2009.
- HUANG, L. H.; WANG, B. G. Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweeds collected from the Qingdao coastline. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 58, p. 4993-4997. 2004.
- HUNSKAAR S.; HOLE, K. The formalin test in mice-dissociation between inflammatory and noninflammatory pain. **Pain**, v. 30, p. 103-114. 1987.

IGNOATO, Marlene Capelin et al. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade anti-inflamatória de *Aeschynomene fluminensis* Vell. (Fabaceae). **Quim. Nova**, v. 35, n. 11, p. 2241-2244, 2012.

ISIDORO SANTOS, Mírian Aparecida et al. Efeito de diferentes métodos de extração sobre a atividade antioxidante e perfil de compostos fenólicos da folha de mandioca. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 19, 2016.

JAKIEMIU, Elizabete Aparecida Ruzza. **Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.)**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). 2008. 89 f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba: PR, 2008.

JARDINI, Fernanda Archilla; FILHO, Jorge Mancini. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa esementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43, n. 1, 2007.

JESUS, N. Z. T. et al. Hippocratic screening and subchronic oral toxicity assessments of the methanol extract of *Vatairea macrocarpa* heartwood in rodents. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.** v. 22, n. 6, nov./dec., 2012.

JESUS, N. Z. T. et al. Levantamento etnobotânico de plantas popularmente utilizadas como antiúlcera e anti-inflamatórias pela comunidade de Pirizal, Nossa Senhora do Livramento-MT, Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 19, n. 1, p. 130-139, 2009.

JESUS, N. Z. T. **Levantamento etnobotânico e triagem antiúlcera e antiedematogênica de plantas medicinais do distrito de Pirizal-MT: avaliação da atividade antiúlcera do extrato metanólico de *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke**. 2007. 127f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Federal de Mato Grosso, Mato Grosso. 2007.

JULIUS, D; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**. v. 413, n. 6852, p. 203 - 210, 2001.

KIM, H. P.; SON, K. H.; CHANG, H. W.; KANG, S. S. Anti-inflammatory plant flavonoides and cellular action mechanisms. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 96, n. 3, p. 229-45, 2004.

KIZILTAS, Hatice et al. Antioxidant properties of *Ferulago angulata* and its hepatoprotective effect against Nitrosodimethylamine-induced oxidative stress in rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 888–897, 2017.

KOPF, A.; BANZHAF, A.; STEIN, C. Perioperative management of the chronic pain patient. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**. v. 19, n. 1, p. 59-76. 2005.

KOSTER, R., Anderson, M., BEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. **Fed. Proc.**, v.18, 412, 1959.

KRAYCHETE, D. C.; CALASANS, M. T. A.; VALENTE, C. M. L. Citocinas Proinflamatorias e Dor. **Revista Brasileira de Reumatologia**. v. 46, n.3, p. 199-206. 2006.

KUPELI, E.; et al. Antiinflammatory and antinociceptive potential of *Maclura pomifera* (Rafin). Schneider fruit extracts and its major isoflavonoids, scandénore and aurículasin. **Journal of Ethnopharmacology**. v.107, p.169-174, 2006.

LAMARÃO DA SILVA, Cléia Tereza. **Avaliação biológica dos extratos obtidos das sementes de Vatairea guianensis (Aublet)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Instituto de Ciências da Saúde - Universidade Federal do Pará. Belém do Pará, 2011.

LEFFLER, A. et al. The role of the capsaicin receptor TRPV1 and acid-sensing ion channels (ASICs) in proton sensitivity of subpopulations of primary nociceptive neurons in rats and mice. **Neuroscience**. v. 139, n. 2, p. 699-709. 2006.

LEITE, I. A. et al. A etnobotânica de plantas medicinais no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. **Biodiversidade**. Paraíba, v. 14, n. 1, p. 22, 2015.

LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. **Legumes of the world**. Kew, Royal Botanic Gardens. 2005. 577p.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (Caryocar brasiliense, Camb.)**. 2008. 182p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciência Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental. São Paulo. 2008.

LEES, P.; LANDONI, M. F.; GIRAUDEL, J.; TOUTAIN, P. L. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in species of veterinary interest. **J Veterinary of Pharmacology and Therapeutics**, v.27, p.479-490, 2004.

LIMA, H. C. et al. Revisão Taxonômica do Gênero Vatairea Aublet (Leguminosa Faboideae). **Arquiv Jard Bot**, Rio de Janeiro, v. 26, p. 173 – 203, 1982.

LINO, R. C. **Estudos dos mecanismos envolvidos nos efeitos analgésico e anti-inflamatório de dois candidatos a protótipos de fármacos - LQFM 002 e 015**. 2011. 85 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, 2011.

LORENZI, H. C.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LUCAS, S. M.; ROTHWELL, N. J.; GIBSON, R. M. The role of inflammation in CNS injury and disease. **British Journal of Pharmacology**. v. 147, p. 232-240, 2006.

MA, W.; QUIRION, R. Does COX2-dependent PGE2 play a role in neuropathic pain? **Neuroscience Letters**. v. 437, n. 3, p. 165–169. 2008.

MACIEL, M. A. M; PINTO, A.C.; VEIGA, V. F. J. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n. 3, p.429-438, 2002.

MATOS, F. J. A.; AGUIAR, L. M. B. A.; SILVA, M. G. A. Chemical constituents and antimicrobial activity of Vatairea macrocarpa Ducke, 1988. **Acta Amazonica**, v. 18, p. 351-352, 1988.

McLEAN, J. A. et al. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 141, n. B, p. 366- 372, 2005.

- McNULTY, H. P. et al. Differential effects of carotenoids on lipid peroxidation due to membrane interactions: X-ray diffraction analysis. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1768, n. 1, p. 167-174, 2007.
- MEDEIROS, J. de D. **Guia de campo: vegetação do cerrado 500 espécies**. Brasília, 2011. 532p.
- MEKONNEN, T., et al. Evaluation of the diuretic and analgesic activities of the rhizomes of *Rumex abyssinicus* Jacq in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 433-439, 2009.
- MENDES, F. R.; MATTEI, R.; CARLINI, E. A. Activity of *Hypericum brasiliense* and *Hypericum cordatum* on the central nervous system in rodents. **Fitoterapia**, v. 73, p. 462-471, 2002.
- MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother Res**. v. 15, p. 127- 130, 2001.
- MERUSSE, J. L. B.; LAPICHICK, V. B. V. **Instalações e equipamentos**. In: **LUCA, R. R. et al. eds. Manual para técnicos em bioterismo**. 2. ed. São Paulo: Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação animal, cap. 3, p. 15-25. 1996.
- MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in Neurobiology**. v. 57, p. 1-164. 1999.
- MONTEIRO, Jackelyne et al. Extração seletiva de crisofanol em *Vatairea macrocarpa* Ducke. **Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. n. 32. 2009.
- MORAIS, S. M. et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 320, 2009.
- MORRIS, C. J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. **Methods in molecular biology**, v. 225, p. 115-121, 2003.
- MOREIRA, D. de L. et al. Substâncias fenólicas com atividade antioxidante de *Pseudopiptadenia contorta* (Leguminosae-Mimosoideae). **Rev. Bras. Farmacognosia**. v. 12, supl., p. 124-125, 2002.
- MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J. Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquoso e lipídico. **Nutrire**, São Paulo, v.25,p.31-46, 2003.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F.. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 1523-1542, 2006.
- NIERO, R.; MALHEIROS, A. Principais aspectos químicos e biológicos de terpenos. In: YUNES, Rosendo Augusto; CHECHINEL FILHO, Valdir. **Química de Produtos Naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 4 ed. 496 p. 2014. cap 10.
- NIJVELDT, R. J. et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Am J Clin Nutr**. v. 74, n. 4, p. 418-25. 2001.
- NSONDE NTANDOU, G. F. et al. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Cassia siamea* Lam. Stem bark extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p.108–111, 2010.

- NUNES, X. P. et al. Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de *Mimosa paraibana* Barneby (Mimosaceae). **Rev. Bras. Farmacognosia**. v. 18, p. 718-723, 2008.
- OECD. **OECD Guideline for testing of chemicals**. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure, n. 420, 2001.
- OLIVEIRA, A. A. et al. Antimicrobial activity of amazonian medicinal plants. **Springer Plus**. v. 2, p. 371. 2013.
- OLIVEIRA, A. M. C. de. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e atividade antifúngica de pimentas do gênero *Capsicum* spp.** 2011. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Programa de pós-graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Piauí. Teresina. 2011.
- OLIVEIRA, H. C. et al. Antidiabetic activity of *Vatairea macrocarpa* extract in rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 115, p. 515–519, 2008.
- OTOBELLI, I. et al. Estudo fitoquímico e atividade leishmanicida de *Vatairea guianensis* Aubl (Fabaceae). XXI Congresso Brasileiro de Parasitologia, II Encontro de Parasitologia do Mercosul, Sociedade Brasileira de Parasitologia. **Revista Patologia Tropical**. v. 38, supl. 2, jul-set.. 2009.
- PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S. et al. Teor de flavonóides totais em produtos contendo pata-de-vaca (*Bauhinia L.*) comercializados em farmácias de Recife/PE. **Rev. bras. plantas med.** Botucatu, v.14 n. 4, 2012.
- PEITZ, C. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das folhas de *Acacia longifolia* (Andr.) Willd. (Leguminosae) **Rev. Bras. Farmacognosia**. v. 13, n. 2, p. 61-65, 2003.
- PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. UFPel. 2004. Disponível em: <<http://www2.ufpel.edu.br/biotecnologia/gbiotec/site/content/paginadoprofessor/uploadsprofessor/ce5449dfcf0e02f741a5af86c3c5ae9a.pdf?PHPSESSID=e32d8df36f08f86ef80010a253f33762>>. Acesso em: 31 mar. 2016.
- PERES, M. T. L. P. et al. Estudos químicos e biológicos de *Microgramma vacciniifolia* (LANGSD. e FISCH.) COPEL (Polyodiaceae). **Quim. Nova**. v. 32, n.4, p. 897-901, 2009.
- PIEDADE, L. R.; WOLTER, FILHO W. Antraquinonas de *Vatairea guianensis* Aubl. **Acta Amazônica**, v. 18, p. 185-187. 1988.
- 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.
- PINTO, W. B. V. R.; KO, G. M. Teste de rotarod : contribuições no estudo das doenças neuromusculares, das síndromes extrapiramidais e das ataxias cerebelares. **RESBCAL**, v.1 n.2, p. 202-212. 2012.
- PINTO, Angelo C. et al. Produtos Naturais: Atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**. São Paulo, v. 25, Supl. 1, p. 45-61, 2002.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT - Food Sci. Technol**, v. 40, p. 1-11, 2007.

PULTRINI, A. M. et al. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice. **Life Sciences**. v. 78, p. 1720 – 1725, 2006.

QUIRÓS, A. R.; COSTA, H. S. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 97-111, 2006.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G. A.. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n.11, p. 1720-1731, 2011.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic Biol Med**. v. 26, n. 9-10, p.1231-7, 1999.

RIBEIRO, Edson Fábio Brito. **Contribuição ao estudo da flora amapaense: Avaliação fitoquímica do extrato metanólico das sementes de *Vatairea guianensis* Aublet**. 2012. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2012.

RICARDO, L. G. P. S. **Estudos etnobotânicos e prospecção fitoquímica das plantas medicinais utilizadas na comunidade do Horto, Juazeiro do Norte (CE)**. 2010. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais – Ecologia e Manejo em Recursos Florestais). Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2010.

ROBBINS, S. L.; KUMAR, V. **Robbins: patologia basica**. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 9.ed. 2013, 1028 p.

ROBBINS; COTRAN. **Patologia: Bases patológicas das doenças**. 8ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1458 p.

ROCHA, C. Q. da. **Estudo fitoquímico, avaliação da atividade analgésica e antiinflamatória de extratos e substâncias isoladas de *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau (Bignoniaceae)**. 2010. 123 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2010.

ROCHA, A. P. C. et al. Dor: Aspectos Atuais da Sensibilização Periférica e Central. Pain: Current Aspects on Peripheral and Central Sensitization. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 57, n. 1, 94-105. 2007.

ROCHA, A. A. **Obtenção e avaliação das atividades analgésica e antiinflamatória do extrato hidroalcoólico bruto da *Arnica brasileira* (*Solidago microglossa*, DC)**. 2006. 71 p. Dissertação. (Mestrado em Química), Franca, SP, 2006.

RODRIGUES, T. S. et al; Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.13, especial, p.587-590. 2011.

RUSSO, C. M.; BROSE, W. G. Chronic pain. **Annu Rev Med** [S.I.], v. 49, p. 123-33, 1998.

SÁ, P. G. S. et al Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 33, n. 4, p. 561-566, 2012.

- SAAD, G. de A. et al. **Fitoterapia contemporânea: tradição e ciência na prática clínica**, Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science Technology International**, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.
- SAFAIHY, H.; SAILER, E. R. Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. **Planta Médica**. v. 63, p. 487-493, 1997.
- SANDES, A. R. R.; DI BRASI, G. Biodiversidade e Diversidade Química e Genética: Aspectos Relacionados com a Propriedade Intelectual no Brasil. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. 2000.
- SANTANA, D. B. **Atividade leishmanicida e antifúngica de extratos de plantas do Cerrado e isolamento do pterocarpano vatacarpina em Vatairea macrocarpa**. 2013.111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- SANTOS, Joyce Alencar et al. Avaliação da atividade anti-inflamatória do extrato etanólico das cascas de Vatairea macrocarpa(Benth) Ducke em camundongos pelo modelo de pleurisia. **Rev Ciên Farm Básica Apl.**, Araraquara, v. 37 Supl. 1, 2016.
- SANTOS, A. P. et al. Composição química, atividade antimicrobiana do óleo essencial e ocorrência de esteróides nas folhas de Pterodon emarginatus Vogel, Fabaceae. **Rev. Bras. Farmacognosia**. v. 20, n. 6, p. 891-896, 2010.
- SANTOS, C. A. **Estudofarmacológico do extrato etanólico da entrecasca da *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leguminosae)**. 2010. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Núcleo de Pós-Graduação em Medicina, Pró Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade Federal de Sergipe, 2010.
- SANTOS, M. P. dos et al. Avaliação da Atividade Antioxidante do Extrato Bruto Etanólico (EBEtOH) da Vatairea macrocarpa. **Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. n. 30, 2007.
- SANTOS, A. B. **Atividade antioxidante de extratos vegetais da flora brasileira: Estudo com ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e teoria do funcional da densidade (TFD)**. 2006. 103f. Tese (Doutorado em Física Aplicada a Medicina e Biologia). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.
- SANTOS, R. I. dos. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editorada UFSC, p. 323-354, 2002,
- SARAIVA, S. R. G. de L. et al. A implantação do programa de plantas medicinais e fitoterápicos no sistema público de saúde no Brasil: uma revisão de literatura. **Ver. IPI**. v. 1, n.1, 2015.
- SHIOTSUKI, H. et al. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. **J Neurosci Methods**.v.189, n.2, p. 180-185. 2010.
- SIGEL, E., STEINMANN, M. Structure, function and modulation of GABA_A receptors. **The journal of biological chemistry**, v. 287, n. 48, p. 1-9. 2012.

- SIKORA, E. et al. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chemistry**, London, v. 107, p. 50-55, 2008.
- SILVA, Rafaela Oliveira et al. Acute and sub-acute oral toxicity of Brazilian red propolis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 170, p. 66–71, 2015.
- SILVA, E. C. C. da. Constituintes fenólicos e atividade antioxidante da geoprópolis de duas espécies de abelhas sem ferrão amazônicas. **Quim. Nova**, v. 36, n. 5, p. 628-633, 2013a.
- SILVA, Juliane Cabral et al. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. **Rev. Bras. Farm.** v. 94, n. 1, p.18-23, 2013b.
- SILVA, C. T. L. **Avaliação Biológica dos Extratos Obtidos das Sementes de *Vatairea guianensis* (Aublet)**. 2011. 118f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Instituto de Ciências da Saúde. Belém: Universidade Federal do Pará, 2011.
- SILVA, M. L. C. et al. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidante activity in plant products. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.
- SILVA, I. H. G. P. da. **Educação, cultura e tradição: Tessituras de uma comunidade tradicional**. 2007. 184f. Dissertação (Mestrado em Educação). Universidade Federal de Mato Grosso, Mato Grosso. 2007.
- SILVA, W. D.; MOTA I. **Bier Imunologia básica e aplicada**. 5 ed. Editora Guanabara. Rio de janeiro-RJ, 2003.
- SIMATUPANG, M. H.; DIETRICH, H. H.; GOTTWALD, H. Über die hautreizenden Stoffe in *Vatairea guianensis* Aubl. **Holzforchung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood**, v. 21, p. 89, Jan. 1967.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1102 p.
- SIMÕES, C. M. O. et. al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed. daUFSC, 2001
- SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada a Medicina Veterinária**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- STRADA, L. C. et al. Catequinas das cascas do caule de *Vatairea macrocarpa* (Leguminosae). **Sociedade Brasileira de Química**. Cuiabá, MT. 2007.
- SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 15, n.1, p. 71-81, jan./abr., 2002.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Alcalóides**. Curitiba, 2009. Disponível em: <<http://sbfgnosia.org.br/Ensino/alcaloides.html>>. Acesso em: 11 mar. 2014.
- SOLER, O. **Biodiversidade, bioeconomia & fitoterapia**. 2000. 32p. Tese de Doutorado em Ciências Sócio Ambientais, Amazônia (AM): Universidade Federal do Pará. 2000.

- SOUSA, B. L. et al. Structural characterization of a *Vatairea macrocarpa* lectin in complex with a tumor-associated antigen: A new tool for cancer research. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. v. 72, p. 27–39, 2016.
- SOUSA, C. M. de M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.
- SOUZA, R. F. et al. Estudo químico e avaliação do potencial antioxidante do alburno de *Vatairea guianensis* Aubl. **Rev. Virtual Quim.** v. 7, n. 5, p.1893-1906, 2015.
- SOUZA, R. S. et al. New Isoflavones from the Leaves of *Vatairea guianensis* Aublé. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 24, n. 11, 2013.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 640p.
- SULAIMAN, M.R. et al. Evaluation of the antinociceptive activity of *Ficus deltoidea* aqueous extract. **Fitoterapia**, v. 79, n. 7-8, p. 557–561, 2008.
- TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.
- TEIXEIRA, E. H. et al. In vitro inhibition of *Streptococci* binding to enamel acquired pellicle by plant lectins. **Journal of Applied Microbiology**. v. 101, n. 1, p. 111-116. 2006.
- TESTA, Glaucio et al. Constituintes químicos das folhas e avaliação da atividade anti-inflamatória de extratos das raízes e folhas de *Guettarda pohliana* müll. arg. (Rubiaceae). **Quim. Nova**, v. 35, n. 3, p. 527-529, 2012.
- TJOLSEN, A. et al. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**. v. 51, n. 1, p. 5-17, 1992.
- TRIVEDI, M.; SHAIKH, S.; GWINNUTT, C. Farmacologia dos opióides. **Sociedade Brasileira de Anestesiologia**. n. 1, 2013.
- UENO, A. et al. Intrinsic prostacyclin contributes to exudation induced by bradykinin or carrageenin: a study on the paw edema induced in ip-receptor-deficient mice. **Life Science**. v. 66, n. 12, p.155-160, 2000.
- VANE, J. R.; BOTTING, R. M. New insights into the mode of action of antiinflammatory drugs. **Inflamm. Res**. v. 44, n.1, p. 1-22, 1995.
- VALADARES, S. N. S. et al. Composição química e atividade antimicrobiana de espécies dos gêneros *Luetzelburgia* e *Vatairea*. **Semic**, Uefs. 2011. Disponível em:<<http://www2.uefs.br/semic/upload/2011/2011XV-018SAM940-120.pdf>>. Acesso em: 27 jul. 2016.
- VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a “era do teste dl50”. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 3, n. 2, p. 93-98, 2006.

- VALENTÃO, P. et al. Antioxidative properties of Cardoon (*Cynara cardunculus L.*) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical, and hypochlorous acid. **J. Agric. Food Chem.** v. 50, p. 4989-4993, 2002.
- VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. Plantas medicinais: cura segura? **Quím. Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.
- VIEGAS JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Quím. Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.
- VINEGAR, R., SCHREIBER, W., HUGO, R., Biphasic development of carrageenan oedema in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 166, 96–103. 1969.
- VIRTUOSO, S. et al. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de Erythrina velutina Willd., Fabaceae (Leguminosae). **Rev. Bras. Farmacognosia**. v. 15, n. 2, p. 137-142, 2005.
- WAGNER, Hilderbert; BLADT, Sabine. **Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. 2. ed. New York: Springer Verlag, 2001.
- WHITE, R. J. Informações sobre a família Leguminosae. **ILDIS (International Legume Banco de Dados e Serviço de Informação)**. 2013.
- WINER, B. J.; BROWN, D. R.; MICHELIS K. M. **Statistical principles in experimental design**. 3.ed. New York: McGraw Hill; p.100-65. 1991.
- WINTER, C. A., RISLEY, E. A., NUSS, G. W., Carrageenan-induced oedema in hind paw of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs. **Experimental Biology and Medicine**, v. 111, 1962.
- WOISKY, R. G. **Método de controle químico de amostras de própolis**. 1996.74f. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.
- YANISHLIEVA, N. V. I.; MARINOVA, E. M. Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. **Food Chem.**v. 54, n. 4, p. 377-82, 1995.
- YUNES, Rosendo Augusto. CECHINEL FILHO, Valdir. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. Itajaí: Univali, 2007.

APÊNDICE 1

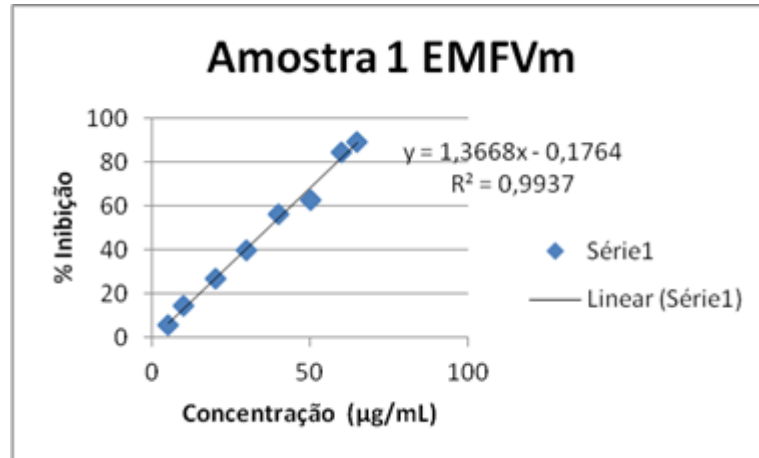


Figura 9: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMFVm, amostra 1.

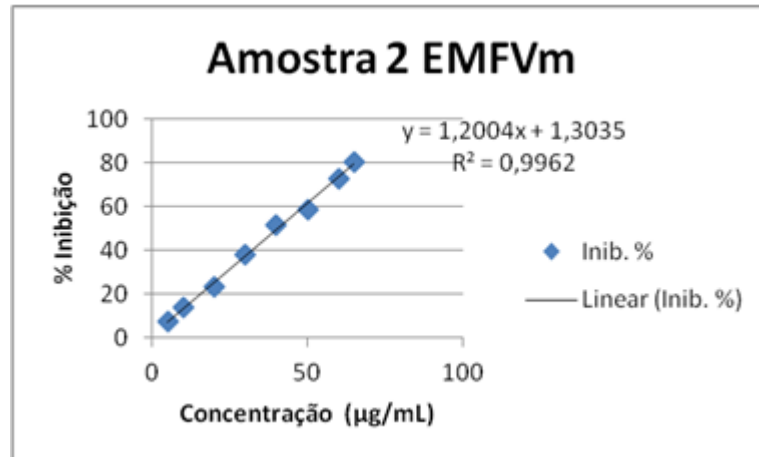


Figura10: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMFVm, amostra 2.

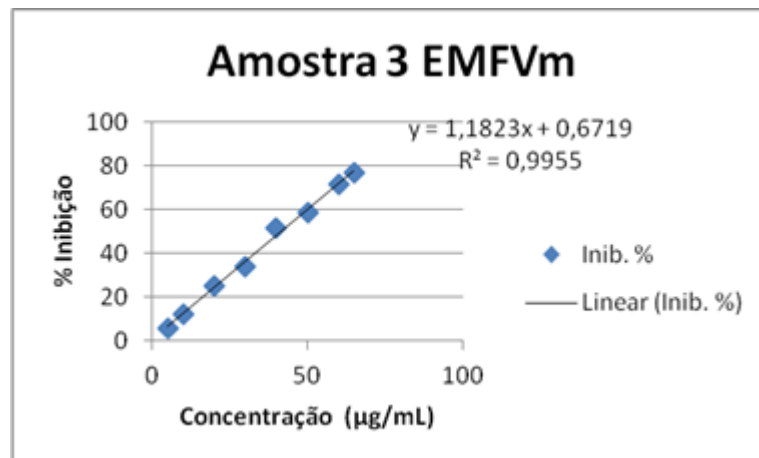


Figura 11: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMFVm, amostra 3.

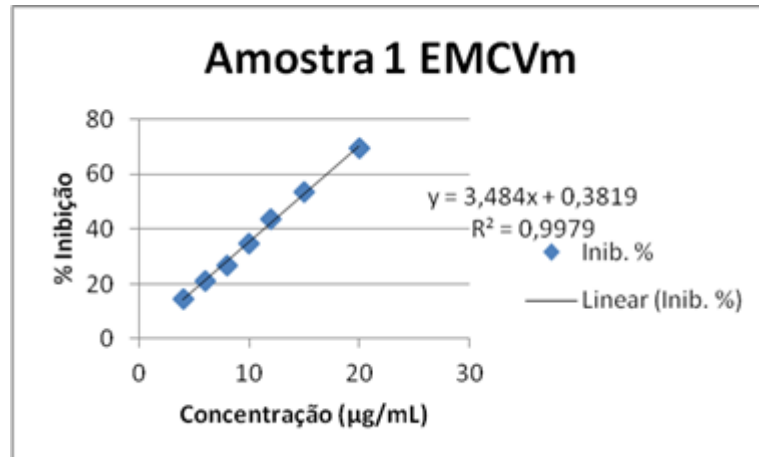


Figura 12: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMCVm, amostra 1.

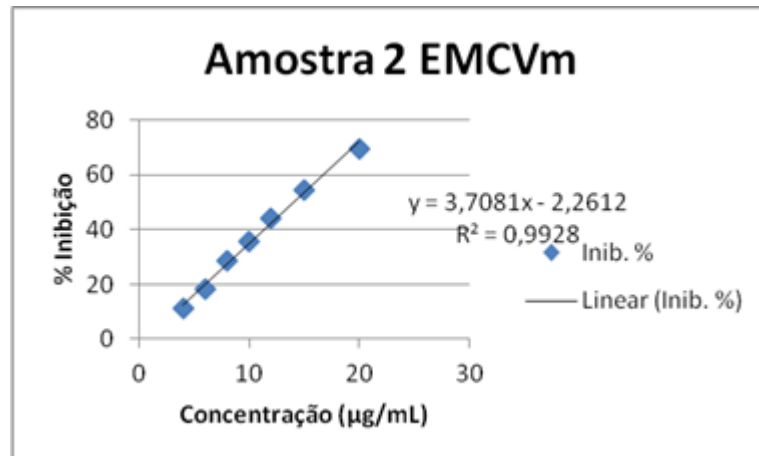


Figura 13: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMCVm, amostra 2.

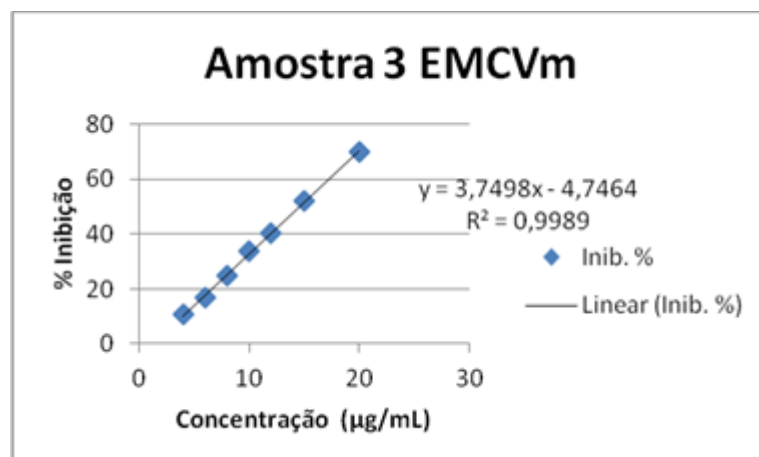


Figura 14: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração EMCVm, amostra 3.

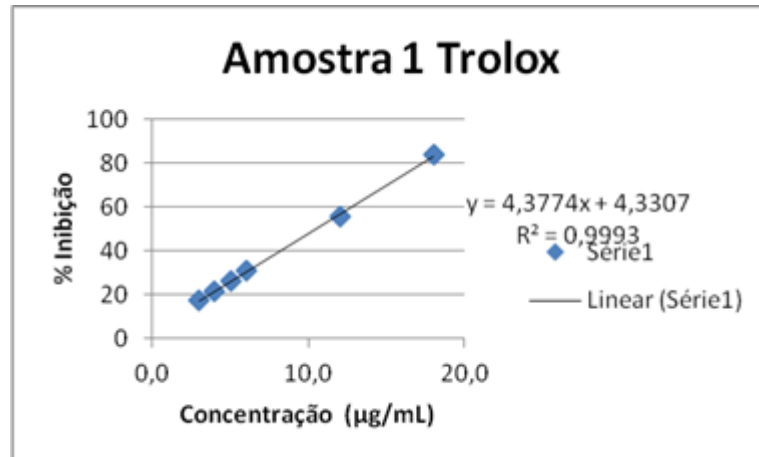


Figura 15: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Trolox, amostra 1.

Fonte: LAPRON

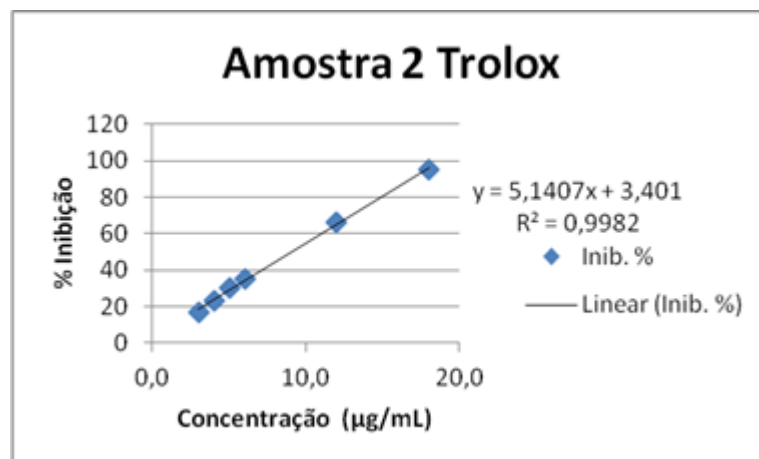


Figura 16: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Trolox, amostra 2.

Fonte: LAPRON

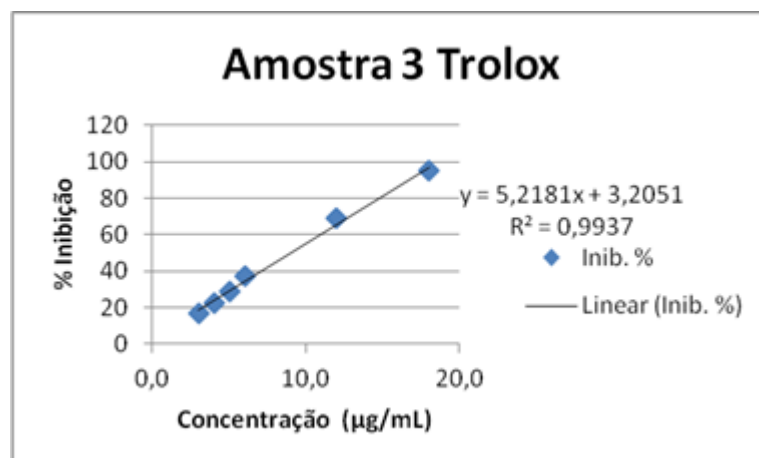


Figura 17: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Trolox, amostra 3.

Fonte: LAPRON

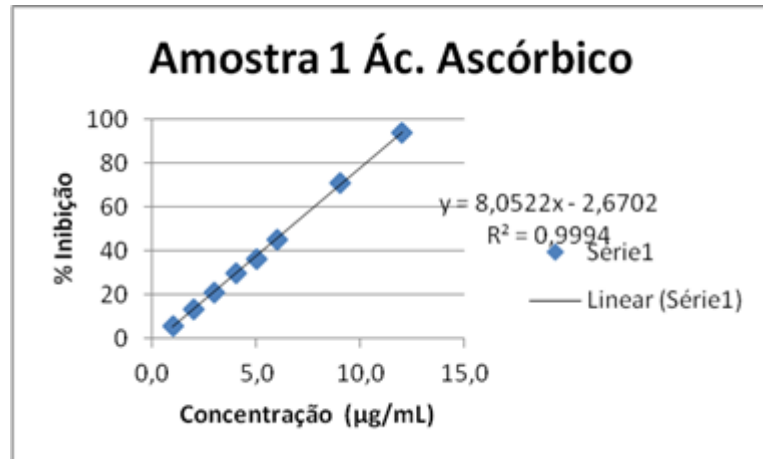


Figura 18: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Ácido Ascórbico, amostra 1.

Fonte: LAPRON

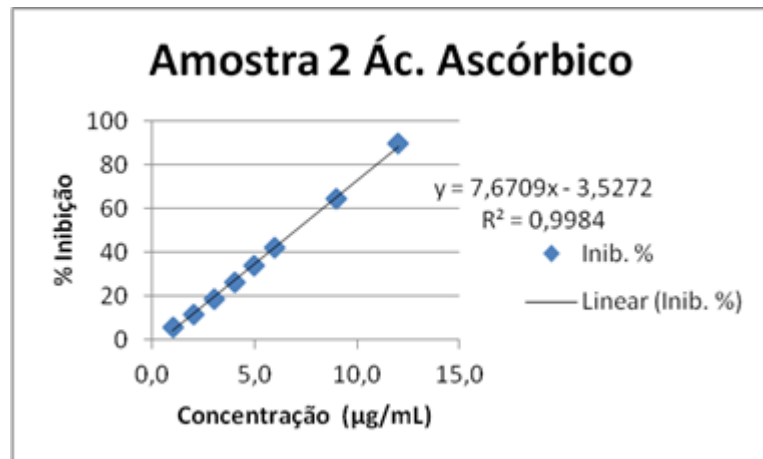


Figura 19: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Ácido Ascórbico, amostra 2.

Fonte: LAPRON

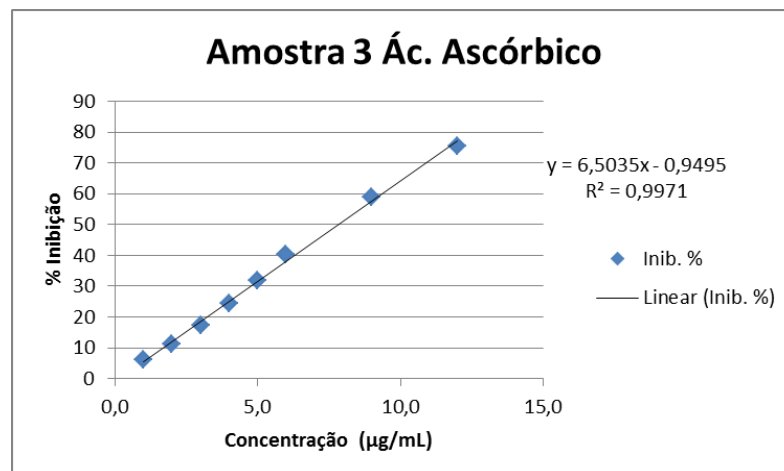


Figura 20: Curva de % Inibição do DPPH x Concentração Ácido Ascórbico, amostra 3.

Fonte: LAPRON