

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

LÍGIA PETCHAK ZANLORENZI CHEMIN

**ANÁLISE MICROSCÓPICA, QUÍMICA E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTI-
INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS
DE *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch**

**PONTA GROSSA
2024**

LÍGIA PETCHAK ZANLORENZI CHEMIN

**ANÁLISE MICROSCÓPICA, QUÍMICA E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTI-
INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS
DE *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Mestrado em Ciências Farmacêuticas, área de Avaliação Química e Biológica de produtos naturais.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Jane Manfron

**PONTA GROSSA
2024**

C517 Chemin, Lígia Petchak Zanlorenzi

Análise microscópica, química e atividades antioxidante e anti-inflamatória do óleo essencial e extrato aquoso de folhas de *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch. / Lígia Petchak Zanlorenzi Chemin. Ponta Grossa, 2024.

72 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Jane Manfron.

1. Controle da qualidade. 2. Adulteração de plantas. 3. Embaúba. 4. Microscopia. 5. Micromorfologia.. I. Manfron, Jane. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. III.T.

CDD: 615

	PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS Associação Ampla entre a Universidade Estadual do Centro-Oeste e a Universidade Estadual de Ponta Grossa	
---	---	---

ATA DE EXAME DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FÁRMACOS, MEDICAMENTOS E BIOCIÊNCIAS APLICADAS À FARMÁCIA NÚMERO **05/2024** DA MESTRANDA **LÍGIA PETCHAK ZANLORENZI CHEMIN**, REALIZADA NO DIA 13 DE JUNHO DE 2024, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.

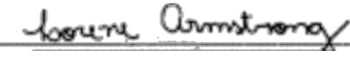
Aos treze dias do mês de junho de dois mil e vinte e quatro, às 14h, na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) em sessão aberta, via videoconferência, sob a presidência da Professora Doutora Jane Manfron, reuniu-se a Banca Examinadora de exame de defesa de dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas da mestranda **LÍGIA PETCHAK ZANLORENZI CHEMIN**, na linha de pesquisa: Avaliação Química e Biológica de Produtos Naturais, constituída pela Professora Doutora Jane Manfron (UEPG/PR), demais Doutores: (membros titulares): Anelise Samara Nazari Formagio (UFGD/MS) e Lorene Armstrong (UEPG/PR); (membros suplentes): Fabiane Fortes (UNESPAR/PR) e Guilherme dos Anjos Camargo (UEPG/PR). Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e à candidata das normas que regem o exame de defesa de dissertação de mestrado e definiu-se a ordem a ser seguida pelos examinadores para arguição.

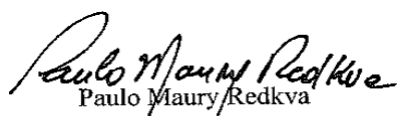
O título do trabalho foi: “**TETRAPANAX PAPYRIFER (HOOK) K. KOCH: ANÁLISE MICROSCÓPICA, PERFIL QUÍMICO DO ÓLEO ESSENCIAL E ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EXTRATO AQUOSO**”. Encerrado o exame de defesa procedeu-se o julgamento, tendo sido a candidata APROVADA. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim, Paulo Maury Redkva, Secretário Setorial dos Programas de Pós-Graduação na Área da Saúde.

Observações (se necessário):

Alteração de título: ☒ Sim ☐ Não

Novo título: Análise microscópica e química e atividades antioxidante e anti-inflamatória do óleo essencial e extrato aquoso de folhas de Tetrapanax papyrifer (Hook) K.Koch

 Anelise Samara Nazari Formagio (UFGD/MS) Titular	 Jane Manfron (UEPG/PR) Presidente	 Lorene Armstrong (UEPG/PR) Titular
--	---	--


Paulo Maury Redkva
Secretário Setorial
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Fone (42) 2102-8937 Email – ppgcf@uepg.br
Av. Carlos Cavalcanti, 4748, Bloco M Ponta Grossa – Paraná – Brasil

À minha mãe, Claudia Maria Petchak, minha grande inspiração de vida.

Ao Pedro e a Luíza, minha família, que com muita paciência e compreensão me apoiaram e incentivaram a seguir a diante.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre me deu forças para realizar meus sonhos.

À Professora Jane Manfron, imensamente importante para minha história (tanto de vida como de pesquisadora), que orientou esta pesquisa, mas que principalmente me tornou uma pessoa melhor.

Ao Professo Flávio Luís Beltrame, que me apresentou a Professora Jane Manfron, assim me incentivando a pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UEPG, que tornou possível a realização desta conquista.

Aos membros da banca examinadora de qualificação e defesa deste trabalho: Prof. Dra. Lorene Armstrong, Prof. Dra. Juliane Nadal Dias Swiech (que também foi minha professora de graduação), Prof. Dr. Guilherme dos Anjos Camargo, Prof. Dra. Anelise Samara Nazari Formagio e Prof. Dra. Fabiane Fortes, que disponibilizaram seu tempo para a correção do trabalho.

Aos colegas de pesquisa do laboratório de Farmacognosia, principalmente a técnica de laboratório Luciane Mendes Monteiro, que considero uma amiga, por todo o auxílio nos experimentos.

À minha querida amiga Camila Dias Machado, que desde o primeiro dia me auxiliou nos experimentos para a realização deste trabalho.

À todos os professores que ministraram aulas extremamente importantes para a execução desta pesquisa.

À Universidade Federal da Grande Dourados, especialmente a Professora anelise Samara Nazari Formagio, pela parceria nas análises.

À Universidade Paranaense, Unipar, pela parceria no experimento de liofinização.

À minha amiga e companheira de trabalho, Karoline Girardi Pedroso, que me apoiou e segurou as pontas quando eu mais precisei.

À minha sogra, Mauren Doniak Chemin, que me auxiliou como rede de apoio, cuidando da Luíza para que eu pudesse estudar.

Só sei que nada sei por completo.
Só sei que nada sei que só eu saiba.
Só sei que nada sei que eu não possa vir a saber.
Só sei que nada sei que outra pessoa não saiba.
Só sei que nada sei que eu e outra pessoa não saibamos
juntos.

(Mário Sérgio Cortella)

RESUMO

Tetrapanax papyrifer (Hook.) K.Koch (Araliaceae) é conhecida popularmente como árvore do papel de arroz, *tung-tsao*, *bok-shunge*, *kamiyatsude* e embaúba. É originária da China, crescendo principalmente nas bordas das florestas de Taiwan. Considerada uma planta exótica, suas folhas e caule são os órgãos mais utilizados na medicina popular com ação anti-inflamatória, antitussígena, antiasmática, antitrombótica, antihepatotóxica, anticancerígena, analgésica, antioxidante, diurética e antimicrobiana. O estudo morfoanatômico, a caracterização química e a determinação das atividades biológicas são de extrema importância, pois espécies vegetais são comumente confundidas, principalmente quando são conhecidas pelo mesmo nome popular. O presente trabalho teve como principal objetivo determinar as características microscópicas e microquímicas de folhas de *T. papyrifer*, além de avaliar o perfil químico do óleo essencial e do extrato aquoso, bem como testar a atividade anti-inflamatória e antioxidante do extrato. Para a análise das características microscópicas foram utilizados métodos em microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação e caracterizado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Os constituintes do extrato aquoso foram caracterizados quimicamente. Os principais marcadores anatômicos foram folha anfihipoestomática, tricomas tectores pluricelulares unisseriados na base com porção apical ramificada, mesofilo dorsiventral, feixes vasculares colaterais, nervura mediana com formato biconvexo, epiderme unisseriada, drusas de oxalato de cálcio e dutos secretores. A análise microquímica revelou a presença de grãos de amido, pectinas, oleorresina e compostos fenólicos, lipofílicos e lignificados. Os principais metabólitos especiais encontrados no óleo essencial foram β -pineno (27,73%), α -pineno (12,23%), β -selineno (11,74%) e nerolidol (7,13%). Na análise do extrato aquoso observou-se indícios de compostos fenólicos, flavonoides, flavonol e taninos condensados. A análise da atividade antioxidante (DPPH, ABTS + e β -caroteno/ácido linoleico) foi realizada tanto para o óleo essencial como para o extrato, em que este obteve resultado superior (IC_{50} 29,33 μ g/mL) quando comparado com o óleo essencial. Nos testes de verificação da atividade anti-inflamatória do extrato aquoso de *Tetrapanax papyrifer* (EATP) apresentou ação anti-hiperalgésica. Os resultados obtidos na caracterização morfoanatômica e, os metabólitos especiais encontrados tanto no extrato como no óleo essencial, contribuem para a identificação de *T. papyrifer* e confirmam a sua utilização como agente anti-inflamatório.

Palavras-chave: Controle da qualidade. Adulteração de plantas medicinais. Embaúba. Microscopia. Micromorfologia.

ABSTRACT

Tetrapanax papyrifer (Hook.) K.Koch (Araliaceae) is popularly known as rice paper tree, *tung-tsao*, *bok-shunge*, *kamiyatsude* and embaúba. It originates from China, growing mainly on the edges of forests in Taiwan. Considered an exotic plant, its leaves and stem are the most used organs in folk medicine with anti-inflammatory, antitussive, antithrombotic, antihepatotoxic, anticancer, analgesic, antioxidant, diuretic and antimicrobial action. The morpho-anatomical study, chemical characterization and determination of biological activities is extremely important, as plant species are commonly confused, especially when they are known by the same popular name. The main objective of the present study was to determine the microscopic and microchemical characteristics of *T. papyrifer* leaves, in addition to evaluating the chemical profile of the essential oil and the aqueous extract, as well as testing the anti-inflammatory and antioxidant activity of the extract. To analyze the microscopic characteristics, light microscopy and field effect scanning electron microscopy methods were used. The essential oil was extracted by hydrodistillation and characterized by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The constituents of the aqueous extract were chemically characterized. The main anatomical markers were amphi-hypostomatic leaf, multicellular non-glandular trichomes uniseriate at the base with branched apical portion, dorsiventral mesophyll, collateral vascular bundles, midrib with biconvex shape, uniseriate epidermis, calcium oxalate drusen and secretory ducts. Microchemical analysis revealed the presence of starch grains, pectins, oleoresin and phenolic, lipophilic and lignified compounds. The main special metabolites found in the essential oil were β -pinene (27,73%), α -pinene (12,23%), β -selinene (11,74%) and nerolidol (7,13%). In the analysis of the aqueous extract, signs of phenolic compounds, flavonoids, flavonol and condensed tannins were observed. The analysis of antioxidant activity (DPPH, ABTS + and β -carotene/linoleic acid) was carried out for both the essential oil and the extract, which obtained a superior result (IC₅₀ 29,33 μ g/mL) when compared to the essential oil. In tests to verify the anti-inflammatory activity of aqueous extract *Tetrapanax papyrifer* (EATP), it showed anti-hyperalgesic action. The results obtained in the morphoanatomical characterization and the special metabolites found in both the extract and the essential oil, contribute to the identification of *T. papyrifer* and confirm its use as an anti-inflammatory agent.

Keywords: Quality control. Adulterant of medicinal plants. Embaúba. Microscopy. Micromorphology. Microscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição de <i>T. papyrifer</i>	20
Figura 2 – Imagem da exsicata de <i>Tetrapanax papyrifer</i>	24
Figura 3 – Folhas de <i>Tetrapanax papyrifer</i> em solução FAA 70.....	25
Figura 4 – Folhas de <i>Tetrapanax papyrifer</i> em estufa a 35 °C.....	28
Figura 5 – Morfologia de <i>Tetrapanax papyrifer</i> (Hook.) K.Koch.....	39
Figura 6 – Microscopia foliar da epiderme de <i>Tetrapanax papyrifer</i> (Hook.) K.Koch.....	41
Figura 7 – Microscopia foliar da lâmina e nervura central de <i>Tetrapanax papyrifer</i> (Hook.) K.Koch.	42
Figura 8 – Microscopia foliar de <i>Tetrapanax papyrifer</i> (Hook.) K.Koch.....	43
Figura 9 – Testes microquímicos em folhas de <i>Tetrapanax papyrifer</i> (Hook.) K.Koch.....	45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Teor de polifenóis obtido do extrato FSE em metanol de folhas de <i>T. papyrifer</i> , utilizando como padrão o ácido gálico.	30
Gráfico 2 –	Teor de flavonoides obtido do extrato FSE em metanol de folhas de <i>T. papyrifer</i> , utilizando como padrão a quercetina.....	31
Gráfico 3 –	Teor de taninos condensados obtido do extrato FSE em metanol de folhas de <i>T. papyrifer</i> , usando como padrão a catequina.....	32
Gráfico 4 –	Teor de flavonol obtido do extrato FSE em metanol de folhas de <i>T. papyrifer</i> , usando como padrão a quercetina	33
Gráfico 5 –	Efeito da administração oral de EATP no edema de pata induzido por carragenina.....	58
Gráfico 6 –	Efeito da administração oral de EATP no teste de <i>Von Frey</i>	59
Gráfico 7 –	Efeito da administração oral de EATP no teste de estimulação ao frio.	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Compostos identificados no óleo essencial de <i>T. papyrifer</i> , por meio da CG-EM (Adams, 2012).	47
Tabela 2	– Constituintes químicos obtidos do extrato de <i>T. papyrifer</i>	51
Tabela 3	– Atividade antioxidante do extrato de <i>T. papyrifer</i> pelos métodos DPPH, ABTS + e autooxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.	56
Tabela 4	– Atividade antioxidante do óleo essencial de <i>T. papyrifer</i> pelos métodos DPPH, ABTS + e autooxidação do sistema β -caroteno / ácido linoleico.....	56
Tabela 5	– % de inibição do edema de pata após a administração de EATP	58
Tabela 6	– % de inibição para o Teste de <i>Von Frey</i>	59
Tabela 7	– % de inibição nociceptiva a estimulação ao frio.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABA	Face abaxial
ABTS	Ácido etilbenzotiazolina-6-sulfônico
ADA	Face adaxial
BHA	Hidroxianisol de butila
BHT	Butilhidroxitolueno e/ou Hidroxitolueno de butila
CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectometria de Massa
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EAG mg/g	Equivalência de ácido gálico em miligramas por gramas de extrato
EATP	Extrato aquoso de <i>Tetrapanax papyrifer</i>
ECT mg/g	Equivalência de catequina em miligramas por gramas de extrato
EQ mg/g	Equivalência de quercetina em miligramas por gramas de extrato
FAA 70	Formaldeído 37%, Ácido Acético Glacial 70%, Etanol 70%.
FSE	Fração solúvel em etanol
iNOS	Óxido nítrico sintase
LPS	Lipopolissacarídeo
NO	Óxido nítrico
PG	Propilgalato
TBHQ	Terc-butil hidroquinona
TNF	Fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3	REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1	ESTUDO DAS PLANTAS MEDICINAIS	17
3.2	VALIDAÇÃO DAS PLANTAS MEDICINAIS	18
3.3	FAMÍLIA ARALIACEAE	19
3.4	<i>TETRAPANAX PAPYRIFER</i> (HOOK.) K.KOCH	19
3.4.1	Distribuição e Morfologia	19
3.4.2	Origem Histórica	20
3.5	PROCESSO INFLAMATÓRIO.....	22
4	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1	COLETA E PREPARAÇÃO DA PLANTA.....	24
4.2	MORFOLOGIA E ANATOMIA FOLIAR... ..	25
4.2.1	Fixação e desidratação.....	25
4.2.2	Técnica de Corte de Material Vegetal	25
4.2.3	Coloração Dupla	26
4.2.4	Diafanização	26
4.3	ANÁLISE MICROQUÍMICA.....	26
4.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA POR EFEITO DE CAMPO (FEG) E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DE RAIOS X (EDS).....	27
4.5	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E ANÁLISE QUÍMICA POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	27
4.6	ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO	29
4.6.1	Preparação dos Extratos Aquosos Purificados	29
4.7	DETERMINAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO EXTRATO AQUOSO.....	29
4.7.1	Teor de Polifenóis Totais.....	29
4.7.2	Teor de Flavonoide	30
4.7.3	Teor de tanino condensado.....	31
4.7.4	Teor de Flavonol.....	32
4.8	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	33
4.8.1	Extrato Aquoso	33
4.8.1.1	DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)	33
4.8.1.2	ABTS+	34
4.8.1.3	Método β -caroteno e ácido linoleico	34
4.8.2	Óleo Essencial	35
4.9	INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA	35
4.9.1	Animais.....	35
4.9.2	Avaliação da Ação Anti-inflamatória pelo Modelo Edema de Pata	36
4.9.3	Sensibilidade Mecânica.....	36
4.9.4	Estimulação Térmica ao Frio.....	37

5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6.1	ESTUDO FARMACOBOTÂNICO	39
6.1.1	Morfologia Foliar	39
6.1.2	Análise Anatômica	40
6.2	IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS NA AMOSTRA VEGETAL	47
6.2.1	Caracterização do Óleo Essencial por Análise Química por Cromatografia Acoplada a Detector de Massas	47
6.3	DETERMINAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO EXTRATO AQUOSO.....	50
6.3.1	Teor dos Constituintes Químicos	50
6.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	54
6.4.1	Óleo essencial e Extrato Aquoso	54
6.5	ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA	57
6.5.1	Edema de Pata, Hiperalgesia Mecânica e Estimulação Térmica ao Frio	57
8	CONCLUSÃO.....	61
	REFERÊNCIAS	62
	ANEXO A – AUTORIZAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	72

1 INTRODUÇÃO

O uso de elementos da natureza para o tratamento de enfermidades é conhecido desde os primórdios. O primeiro registro médico encontrado é datado de 2.100 a.C e inclui uma coleção de fórmulas de trinta diferentes drogas tanto de origem vegetal, como animal e mineral (Duarte, 2006).

O Brasil é o país considerado o maior possuidor de biodiversidade do mundo, apresentando um número estimado de espécies registradas de 7.732.533 milhões (IBGE, 2023; SiBBR, 2023), por isto é de extrema importância a realização de estudos mais minuciosos sobre a identificação de espécies medicinais, principalmente no que diz respeito ao controle da qualidade e possível ação terapêutica da matéria-prima vegetal. A adulteração e/ou substituição de matérias-primas vegetais podem prejudicar a eficácia terapêutica e aumentar o risco de intoxicação para o usuário (Machado *et al.*, 2019; Manfron, 2021).

A primeira etapa para o controle de qualidade é a correta identificação botânica sendo a análise microscópica um dos principais parâmetros determinantes. Esta análise permite identificar as características anatômicas da planta, consideradas as mais estáveis. Além disso, é uma técnica razoavelmente rápida, de baixo custo e eficiente, permitindo que sejam analisadas diferentes formas de amostras, podendo estas estarem frescas, secas, submetidas à extração com solventes e até finamente fragmentada (Conceição; Aoyama, 2016; Manfron, 2021).

Tetrapanax papyrifer (Hook.) K.Koch foi originariamente descrita com o nome *Aralia papyrifera* Hook. Essa nomenclatura foi mantida até 1859, quando K. Koch separou a planta em um gênero monotípico chamado *Tetrapanax*. Essa espécie é originária da China, crescendo principalmente nas bordas das florestas de Taiwan (Nesbitt; Prosser; Williams, 2010).

É conhecida popularmente na China como *tung-tsao* ou *bok-shunge* (Nesbitt; Prosser; Williams, 2010) e no Japão como *kamiyatsude* (Fujita, 1980), sendo a denominação universal de árvore do papel de arroz (Nesbitt; Prosser; Williams, 2010). Essa espécie faz parte da família Araliaceae, que inclui cerca de 46 gêneros e 2.000 espécies (Fiasch; Pirani, 2005; Missouri Botanical Garden, 2024).

Espécies pertencentes a Família Araliaceae são amplamente utilizadas na medicina popular, a exemplo de *Panax ginseng* C.A.Meyer. (ginseng) e *Hedera helix* L. (hera) (Oliveira, 2018).

As folhas e o caule de *T. papyrifer* são os órgãos mais utilizados na medicina tradicional, sendo descritas as seguintes ações farmacológicas: anti-inflamatória, antitussígena, antiasmática (Hernández, Civitella; Rosato, 2010), antitrombótica e antihepatotóxica (Rojas *et al.*, 2008), anticancerígena (Moon *et al.*, 2010), analgésica (Zhang *et al.*, 2020), potente antioxidante (Suk *et al.*, 2011), diurética (Wu; Weber; Imhof, 2006), antimicrobiana e até mesmo ação antienvelhecimento e clareadora da pele (Roh; Kim; Kim, 2011).

Sabe-se que a inflamação é um dos mecanismos essenciais de defesa biológica contra estímulos nocivos externos, mas que uma resposta inflamatória exacerbada e contínua é capaz de causar sérios danos teciduais e até mesmo provocar diversas doenças. *In vivo*, esta resposta inflamatória é causada por mediadores inflamatórios como, por exemplo, os metabólitos do ácido araquidônico, o óxido nítrico, e as citocinas. Deste modo, é de grande importância analisar a ação anti-inflamatória e antioxidante de ervas medicinais que são utilizadas pela população com este fim terapêutico, visto que os fármacos presentes no mercado apresentam muitos efeitos colaterais (Suk *et al.*, 2013).

É importante salientar que são raros os estudos sobre as características farmacognósticas de identificação botânica e de caracterização química da droga vegetal, bem como de atividades etnofarmacológicas de *T. papyrifer*. Diante disso, destaca-se a importância de se realizar estudos que contribuam para a sua correta identificação e, eventualmente, para o desenvolvimento de um novo medicamento fitoterápico.

Frente ao exposto, o principal objetivo do trabalho é avaliar o perfil químico do óleo essencial e do extrato aquoso extraído de folhas de *T. papyrifer*, indicar os marcadores anatômicos foliares para identificação da espécie e verificar a possível ação anti-inflamatória do extrato aquoso.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar as características microscópicas e microquímicas de folhas de *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch, avaliar o perfil químico do óleo essencial e do extrato aquoso, testar a atividade anti-inflamatória e antioxidante do extrato aquoso, bem como a ação antioxidante do óleo essencial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar anatomicamente as folhas de *T. papyrifer* por microscopia de luz;
- Determinar as características microquímicas de folhas de *T. papyrifer*;
- Fornecer dados ultraestruturais de folhas de *T. papyrifer*, por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura por Efeito de Campo (MEVEC);
- Extrair o óleo essencial de folhas de *T. papyrifer*, utilizando o método de hidrodestilação usando o aparato Clevenger;
- Caracterizar o óleo essencial de folhas de *T. papyrifer* por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM);
- Determinar constituintes químicos do extrato aquoso de folhas de *T. papyrifer*;
- Identificar e avaliar a ação antioxidante do extrato aquoso e do óleo essencial de *T. papyrifer*;
- Avaliar a ação anti-inflamatória do extrato aquoso de *T. papyrifer* por meio do modelo de edema de pata;
- Avaliar a atividade antinociceptiva do extrato aquoso de *T. papyrifer* pelo modelo de hiperalgesia mecânica;
- Avaliar a sensibilidade ao frio do extrato aquoso de *T. papyrifer*, utilizando o teste da acetona.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ESTUDO DAS PLANTAS MEDICINAIS

Planta medicinal, segundo a Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (2016), é toda espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos, podendo ser de origem fresca (aquela coletada no momento do uso) ou seca (a que foi precedida de secagem), equivalendo à droga vegetal. A utilização de plantas para o uso terapêutico é registrada, de maneira escrita ou verbal, desde o surgimento do homem, principalmente pelas civilizações da China, Índia, Egito e Grécia. O uso medicinal popular de *Artemisia annua* L. contra a malária, as propriedades de *Papaver somniferum* L. como sedativo e a ação digestiva de *Mentha x piperita* L. são alguns exemplos do uso de plantas medicinais consagradas há mais de 4.000 anos (Alves, 2013; Baratto, 2021).

O Brasil é o país que apresenta a maior biodiversidade mundial, sendo as plantas o constituinte fundamental deste título. Estas, encontram-se distribuídas em seis principais biomas: Amazônia, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Pantanal e Pampa, alguns destes são também reconhecidos como *hotspots* da biodiversidade, considerando a quantidade elevada de espécies vegetais distintas. As plantas medicinais são utilizadas para produção de medicamentos fitoterápicos, remédios caseiros e na prevenção de doenças na medicina tradicional. Em razão de tais características da flora nacional, torna-se cada vez mais importante o estudo sobre as diversas espécies vegetais (Brasil, 2016; Brandão, 2018).

Apesar da vasta biodiversidade própria, sabe-se que o Brasil apresenta pelo menos 210 espécies vegetais exóticas que foram introduzidas pelo homem, de maneira consciente ou inconsciente, através da miscigenação entre culturas ao longo dos séculos. O desenvolvimento destas diversas espécies exóticas se deve às várias condições favoráveis do país, sejam estas climáticas ou até mesmo culturais (Instituto Brandão, 2018; Hórus, 2023). *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch é uma espécie vegetal catalogada como invasora exótica, seu vetor principal de dispersão foi o homem para uso, inicialmente, ornamental. Mas, estudos comprovam que esta espécie também é utilizada tradicionalmente por sua ação anti-inflamatória (Hernández *et al.*, 2010) e antioxidante (Suk *et al.*, 2013). Dessa forma, sendo uma planta utilizada na medicina tradicional, o uso etnofarmacológico deve ser investigado.

3.2 VALIDAÇÃO DAS PLANTAS MEDICINAIS

Quando proferimos sobre plantas, principalmente em se tratando do território brasileiro, a primeira palavra que pensamos é preservação. Preservar a biodiversidade do país é extremamente importante, mas conhecer e instruir-se dos seus usos tradicionais é, também, excepcionalmente relevante. É preciso transformar as plantas medicinais brasileiras em produtos de valor comercial agregado, capazes de gerar renda e riquezas tanto para o país quanto para os detentores de seu conhecimento (Brandão, 2018).

A Farmacognosia, que etimologicamente, significa o conhecimento (*gnose*) dos fármacos (*pharmacon*), é atualmente definida como o estudo de matérias-primas e substâncias de origem biológica, ou seja, obtidas a partir de vegetais, animais ou por fermentação de microrganismos, com finalidade terapêutica, envolvendo o estudo da identificação de drogas vegetais por caracteres morfológicos e anatômicos, a origem da espécie e suas formas de produção. Abrange, também, as análises da composição química e caracterização estrutural, farmacológica e toxicológica (Rates, 2001).

E todos os estudos devem seguir protocolos e normas já estipulados tanto pelas Farmacopeias como por Resoluções do país, preconizando os principais requisitos para o controle da qualidade e segurança de drogas vegetais. Dentre as evidências utilizadas para o controle da qualidade de drogas vegetais, as características farmacobotânicas, como aspectos morfológicos externos e microscópicos são os mais acessíveis. Apesar dos métodos químicos analíticos serem atualmente os mais utilizados como técnicas padrão de identificação para muitas drogas vegetais, a Farmacobotânica é particularmente aplicável na análise de misturas quando os marcadores anatômicos podem ser facilmente reconhecidos (Manfron, 2021).

É a partir desses estudos que surge a fitoterapia, descrita como um método racional e alopático, baseado em evidências científicas, empregado no tratamento médico de várias patologias (Alves, 2013). Além disso, os medicamentos fitoterápicos são considerados uma significativa fonte de inovação em saúde, caracterizando-se como uma área de extremo interesse para as indústrias farmacêuticas (Brasil, 2016; Brandão, 2018).

3.3 FAMÍLIA ARALIACEAE

Incluída na ordem Apiales, a família Araliaceae apresenta cerca de 46 gêneros aceitos e, aproximadamente, 2.000 diferentes espécies. A maioria dos gêneros é tropical ou subtropical, crescem em florestas úmidas podendo, algumas espécies, se desenvolver em áreas temperadas e/ou secas (Missouri Botanical Garden, 2024).

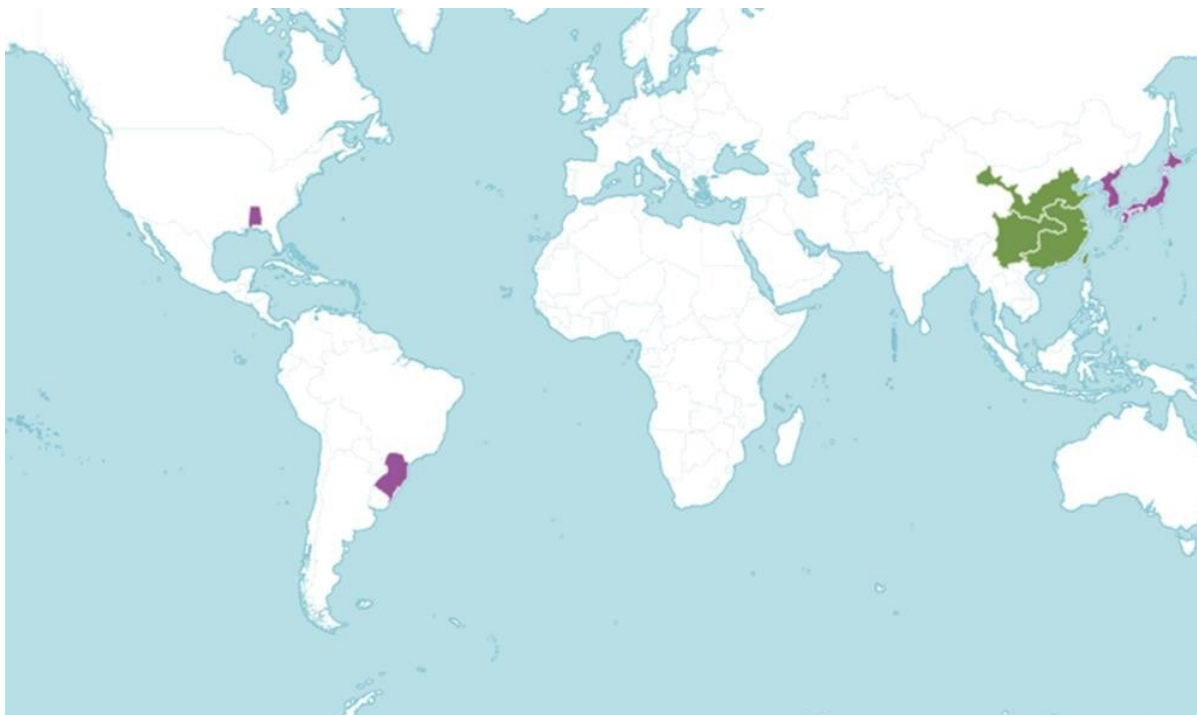
As plantas dessa família são caracterizadas por árvores do tipo arbusto, epífitas, diversamente indumentadas ou apresentando-se glabras, raramente espinescentes ou inermes. A filotaxia é do tipo alterna espiralada, sendo as folhas encontradas agrupadas no ápice dos ramos, composto-pinadas, digitadas ou simples, apresentando estípula intrapeciolar adnata ao pecíolo, e ainda, exibindo lâmina inteira ou palmatilobada. A inflorescência pode ser terminal ou pseudolateral com flores agrupadas em umbelas ou capítulos, com o aparecimento raro de ráculos ou espigas, bi ou unissexuadas, diclamídeas, actinomorfas e epígenas. Os frutos são do tipo drupa, apresentando embrião pequeno, endosperma uniforme ou diversamente ruminado (Fiaschi; Pirani, 2005).

Dos 46 gêneros aceitos, quatro podem ser considerados nativos do Brasil: *Aralia* L., *Dendropanax* Decne. & Planch., *Oreopanax* Decne. & Planch. e *Schefflera* J.R.Forst. & G.Forst. E as espécies mais cultivadas são: *Hedera helix* L., *Polyscias fruticosa* (L.) Harms, *Polyscias guilfoylei* (W.Bull) L.H.Bailey, *Schefflera actinophylla* (Endl.) Harms, *Schefflera arboricola* (Hayata) Merr., *Schefflera elegantissima* (H.J.Veitch ex Mast.) Lowry & Frodin e *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch. (Fiachi *et al.*, 2007).

3.4 *TETRAPANAX PAPHYRIFER* (HOOK.) K.KOCH

3.4.1 Distribuição e Morfologia

Tetrapanax papyrifer, pertencente ao gênero *Tetrapanax* (K.Koch) K.Koch, é um arbusto ou árvore e cresce principalmente no bioma tropical úmido, tendo distribuição nativa no centro e sul da China e em Taiwan. É uma espécie introduzida no Alabama, Açores, sul do Brasil, Havaí, Japão, Coreia, Madeira, Nansei-shoto, Nova Caledônia e norte e sul da Nova Zelândia (Figura 1) (Plants of the World online, 2023).

Figura 1 - Distribuição de *T. papyrifer*

Nota: Coloração roxa: área em que a espécie foi introduzida e coloração verde: área em que a espécie é nativa.

Fonte: ROYAL BOTANIC GARDENS, KEW. Plants of the World Online. *Tetrapanax* (K.Koch) K.Koch. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:3112-1> . Acesso em: 7 out. 2024.

3.4.2 Origem Histórica

Tetrapanax papyrifer é um arbusto que aprecia clima quente a moderado, solo ligeiramente úmido e rico em matéria orgânica, com ciclo de vida perene, podendo chegar de 3 a 5 m de altura. É conhecida popularmente como árvore do papel de arroz ou árvore do papel de miolo, sendo um vegetal que precisou de uma longa trajetória de estudos e pesquisas para que fosse possível o desenvolvimento da sua real classificação botânica. Levando em consideração literalmente a sua nomenclatura popular, na China, a medula do vegetal era utilizada para a confecção de papel designado, principalmente, para artesanatos e pinturas (Nesbitt; Prosser; Williams, 2010).

Aquarelas exibindo cenas da vida cotidiana da China e flores artificiais, eram os principais artesanatos produzidos com o papel extraído da medula de *T. papyrifer*. A partir da década de 1820, estes artesanatos começaram a ser produzidos em grande escala, pois turistas que visitavam o país levavam para suas casas como uma lembrança tradicional da China. No início do século XX, estas lembranças chamaram

a atenção de botânicos que, imediatamente, reconheceram que o famoso papel de arroz ou, como é conhecido na China, *tongcaozhi*, não era feito de arroz (Nesbitt; Prosser; Williams, 2010, 2010; Krüger, 2019).

Em 1830, o pesquisador John Livingstone entregou um pedaço do caule da árvore do papel de arroz para o professor de botânica, Sr. Hooker, da Universidade de Glasgow. Este pesquisador, deslumbrado com as particularidades do papel, descreveu minuciosamente as características da medula e solicitou ajuda sobre a identificação da planta para Thomas Hardwicke (eminente naturalista da Índia), que sugeriu a Hooker uma planta indiana, *Aeschynomene paludosa* Roxb., pertencente à família Leguminosae (atualmente classificada como *Sesbania bispinosa* var. *bispinosa* (Govaerts *et al.*, 2021). Mas, a sugestão de Hardwicke foi possivelmente confundida com outro vegetal, *Aeschynomene aspera* L., conhecida como planta sola, também utilizada para produção de flores artificiais a partir de sua medula (Nesbitt; Prosser; Williams, 2010).

No ano de 1849, Hooker recebeu para o museu de Kew uma parte da medula da planta de papel de arroz, um modelo da faca utilizada para cortá-la e uma breve descrição expondo a seguinte informação: a planta crescia nos terrenos pantanosos da província de Sam-swi, localizada ao norte da Ilha de Formosa (atualmente Taiwan). Este esclarecimento auxiliou na indicação da sua origem e descartou *A. aspera* como possível candidata a planta de papel de arroz (Nesbitt; Prosser; Williams, 2010). Também foi frequentemente descrita como “bambu”, “papiro” ou sabugueiro-do-pântano” e confundida com a árvore-fruta-pão (*Artocarpus incisifolia* Stokes.) (Krüger, 2019).

Com o auxílio de John Reeves (naturalista da China), o pesquisador Hooker, em 1852, publicou no Journal of Botany a identificação da planta de papel de arroz como uma nova espécie: *Aralia papyrifera* Hook. juntamente com uma litografia colorida à mão do espécime seco, mostrando as seguintes características: “planta medular do tipo arbusto de até 3,5 m de altura, com folhas grandes profundamente lobadas, à maneira das figueiras, e cobertas com tricomas estrelados” (Nesbitt; Prosser; Williams, 2010).

Como havia grande incerteza sobre seu gênero, seu nome científico foi alterado de *Aralia papyrifera* Hook. para *Fatsia papyrifera* (Hook.) Mig. ex Witte (Krüger, 2019). Mas foi a partir de 1859, por meio do estudo do pesquisador K.Koch que a espécie foi inserida em um gênero monotípico, identificada, então, oficialmente

de *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch (Nesbitt; Prosser; Williams, 2010; Krüger, 2019).

Apesar da planta ter sido amplamente utilizada para artesanatos, *T. papyrifer* também já era empregada na medicina, sendo seu uso publicado em 1593, descrita no Compêndio de Matéria Médica de Schizhen Li (Nesbitt; Prosser; Williams, 2010).

3.5 PROCESSO INFLAMATÓRIO

O processo inflamatório é uma resposta de defesa a um estímulo prejudicial, caracterizada por ser uma reação complexa a vários agentes nocivos (microrganismos, anticorpos e ferimentos físicos), geralmente necróticas, determinada por cinco manifestações principais: (1) vasodilatação dos vasos sanguíneos com consequente aumento do fluxo sanguíneo no local da agressão, (2) aumento da permeabilidade dos capilares, permitindo a saída de grande quantidade de líquido para os espaços intersticiais, (3) coagulação do líquido nos espaços intersticiais, devido a quantidade aumentada de proteínas que vazaram dos capilares, (4) migração de grande quantidade de granulócitos e monócitos para os tecidos e (5) dilatação das células teciduais. Vários destes sinais são ocasionados por produtos teciduais como a histamina, a bradicinina, a serotonina, as prostaglandinas, produtos de reação do sistema complemento e do sistema de coagulação (Hall, 2011).

Robbins e Cotran (2010), descreveram que a efetividade desta reação em eliminar o estímulo ou o tecido danificado e a sua natureza diferencia a resposta inflamatória em duas categorias: inflamação aguda e inflamação crônica. A inflamação aguda se inicia em alguns segundos ou minutos e tem duração considerada curta, podendo durar até poucos dias, quando bem-sucedida em relação a eliminação do agente agressor. A inflamação crônica, que pode seguir à inflamação aguda ou ser insidiosa no início e tem longa duração. Quando ocorre de maneira exacerbada, a reação inflamatória torna-se potencialmente prejudicial, sendo responsável por várias doenças crônicas e reações de hipersensibilidade potencialmente fatais.

O tratamento é caracterizado pela prescrição de fármacos classificados como anti-inflamatórios, cuja finalidade é aliviar os sintomas, preservar a função e retardar ou deter o processo de lesão tecidual (Melgaço *et al.*, 2010; Katzung, 2014). Estes fármacos são divididos em duas classes terapêuticas distintas: os anti-inflamatórios esteroidais (AIES) e os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), e ambas as classes

apresentam limitações de uso, ou por apresentarem uma toxicidade elevada quando utilizados de maneira crônica ou por proporcionarem efeitos colaterais graves envolvendo o trato gastrointestinal (Sandoval *et al.*, 2017).

Segundo dados da 6ª edição do Anuário Estatístico do Mercado Farmacêutico (2023), os anti-inflamatórios aparecem no *ranking* das substâncias mais comercializadas por apresentações no ano de 2022. Desta classe, nimesulida e ibuprofeno aparecem em 5º e 6º lugar, respectivamente, contemplando um valor entre 100 a 150 milhões de apresentações comercializadas, ficando atrás apenas dos medicamentos de uso contínuo.

A prescrição de fármacos anti-inflamatórios, principalmente AINES, deve ser realizada de maneira criteriosa, especialmente para pacientes considerados de alto risco, como idosos, hipertensos, diabéticos, pacientes hipovolêmicos ou em uso contínuo de diuréticos. Portanto, percebe-se a urgência e a necessidade da utilização de ativos anti-inflamatórios que apresentem menos efeitos colaterais (Melgaço *et al.*, 2010).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COLETA E PREPARAÇÃO DA PLANTA

Folhas adultas de *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch foram coletadas no Horto Medicinal do Curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) sob as coordenadas (latitude 25°5'40"S e longitude 50°6'5"O), em junho de 2022. Uma amostra da espécie foi identificada pela taxonomista Dra. Rosângela Capuano Tardivo e depositada no Herbário da UEPG sob número de registro HUPG 23079 (Figura 2). O acesso ao material vegetal foi autorizado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/SISGEN) de acordo com o registro AE93A56.

Figura 2 – Imagem da exsicata de *Tetrapanax papyrifer*



Fonte: A autora (2023).

4.2 MORFOLOGIA E ANATOMIA FOLIAR

4.2.1 Fixação e desidratação

Folhas de *T. papyrifera* foram fixadas em solução de FAA 70 (formaldeído 37%, ácido acético glacial 70% e etanol 70%), por cinco dias. Após, o material foi lavado com água destilada, até que todo o fixador fosse removido completamente e conservado em álcool etílico 70% (v/v) (Figura 3) (Oliveira; Akisue, 2009).

Figura 3 - Folhas de *Tetrapanax papyrifera* em solução FAA 70



Fonte: A autora (2023).

4.2.2 Técnica de Corte de Material Vegetal

Secções transversais de folhas de *T. papyrifera* foram realizadas utilizando a técnica de corte à mão livre com o auxílio de uma lâmina de barbear, por meio de movimentos rápidos e precisos. Após, estes foram colocados em uma placa de Petri contendo água destilada para que fosse possível a escolha dos melhores cortes para a análise (Oliveira; Akisue, 2009).

4.2.3 Coloração Dupla

Após a seleção dos cortes, estes foram lavados e submetidos à dupla coloração de Azul de Astra e fucsina básica. Logo após foi realizada a montagem das lâminas em glicerina 50% e a lutagem foi realizada com esmalte incolor (Oliveira; Akisue, 2009). As fotomicrografias das lâminas semipermanentes foram capturadas através do microscópio óptico Olympus CX31 acoplado à uma câmera digital Olympus C-7070, do laboratório de Farmacognosia da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

4.2.4 Diafanização

Fragmentos da epiderme foliar foram submetidos ao clareamento utilizando hipoclorito de sódio a 50%. Após a descoloração, o material foi lavado com água destilada 6 vezes, então foi neutralizado até pH 7,0 com a solução de ácido acético 5%. Para a coloração dos fragmentos foliares foi utilizada a safranina 1%. Logo após foi realizada a montagem das lâminas em glicerina 50% e a lutagem foi realizada com esmalte incolor (Oliveira; Akisue, 2009). As fotomicrografias das lâminas semipermanentes foram capturadas através do microscópio óptico Olympus CX31 acoplado à uma câmera digital Olympus C-7070, do laboratório de Farmacognosia da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

4.3 ANÁLISE MICROQUÍMICA

Folhas previamente fixadas foram utilizadas para a análise microquímica, sendo testados as seguintes soluções reagentes: Sudam III, Sudam Black e Sulfato azul do Nilo para verificar compostos lipídicos; cloreto férrico (1%) e dicromato de potássio (10%) para detectar substâncias fenólicas; reagente vanilina clorídrica para distinguir taninos; floroglucina clorídrica para evidenciar estruturas lignificadas; solução de iodo (2%) para identificar grãos de amido; azul de metileno (0,1%) para revelar compostos mucilaginosos; reagente NADI para identificar óleo essencial e oleorresinas; solução *oil red* para indicar a presença de lipídeos e partículas de borracha; solução vermelho de rutênio para verificar a presença de pectinas; reagente de Wagner e de Ellram para alcaloides e reagente Xilidine Ponceau para corpos proteicos (Figueredo *et al.*, 2007; Ventrella *et al.*, 2013; Almeida *et al.*, 2023). As

fotomicrografias das lâminas semipermanentes dos testes microquímicos foram capturadas através do microscópio óptico Olympus CX31 acoplado à uma câmera digital Olympus C-7070, do laboratório de Farmacognosia da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

4.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA POR EFEITO DE CAMPO (FEG) E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DE RAIOS X (EDS)

Para a análise das ultraestruturas de folhas de *T. papyrifera*, foram utilizadas as amostras armazenadas em etanol 70%. A partir dessas soluções, as amostras, devidamente identificadas como ABA e ADA (face abaxial e face adaxial, respectivamente) foram desidratadas em série etanólica crescente (álcool 80%, álcool 90%, e álcool PA, duas vezes). O material foi colocado em stubs de alumínio, recoberto por ouro em aparelho Sputter Coater SC7620.

A análise das amostras foi realizada em microscópio eletrônico de varredura por efeito de campo (Mira 3 Tescan – Oxford Instruments, Oxford, UK). Microanálises quantitativas e qualitativas dos cristais foram feitas no mesmo instrumento acoplado ao detector de EDS, localizado no Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-labmu), da Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG.

4.5 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E ANÁLISE QUÍMICA POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

O material vegetal fresco, após coletado, foi seco em estufa à 35 °C, por sete dias (Figura 4). Em seguida, o material seco foi fragmentado manualmente para que fosse possível a realização da extração do óleo essencial por hidrodestilação usando o aparato Clevenger (Anvisa, 2010; Heinzmann; Spitzer; Simões, 2017). Utilizou-se 200,15g de planta imersos em 250 mL de água destilada, tendo uma duração de 3 horas.

Figura 4 – Folhas de *Tetrapanax papyrifer* em estufa a 35 °C.



Fonte: A autora (2023).

A identificação química do óleo essencial foi realizada utilizando o CG-EM (cromatógrafo GC-2010 Plus, Shimadzu, Kyoto) equipado com uma coluna capilar HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm), com temperatura inicial de 40 °C (à 2 min) a 230 °C (3°C/ min) e mantida nesta temperatura por 20 min. O hélio foi utilizado como gás de arraste na velocidade linear de 1 mL/min. A temperatura do injetor era de 250 °C e o volume de injeção foi de 1 mL ocorrendo de modo Split (1:10). As temperaturas de linha de transferência, fonte de íons e quadruplo foram 285 °C, 280 °C e 220 °C, respectivamente.

A espectrometria de massas foi obtida com uma faixa de varredura de 40 a 550 m/z com atraso de solvente de 3 min, os compostos foram identificados com base na comparação de seus índices de retenção obtidos por uma série homóloga de n-alcane padrão (C7-C28) e elétrons os espectros de massa de ionização foram comparados com os espectros da biblioteca Wiley 275 (Adams, 2012). Essa análise foi feita em parceria com a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

4.6 ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO

4.6.1 Preparação dos Extratos Aquosos Purificados

A infusão foi preparada com a utilização de 200 g da planta pulverizada em 2 L de água em ebulição (95 °C). A extração dos metabólitos especiais ocorreu num intervalo de 5 a 6 h, até atingir a temperatura ambiente (25 °C). Em seguida, a infusão foi tratada com três volumes de etanol, da qual se espera a formação de um precipitado e de uma fração solúvel em etanol (FSE). Esta fração foi filtrada, concentrada e liofilizada. O processo de liofilização foi realizado em parceria com a Universidade Paranaense (UNIPAR). Após, FSE foi mantida sob congelamento (-20 °C) até o momento das análises.

4.7 DETERMINAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO EXTRATO AQUOSO

4.7.1 Teor de Polifenóis Totais

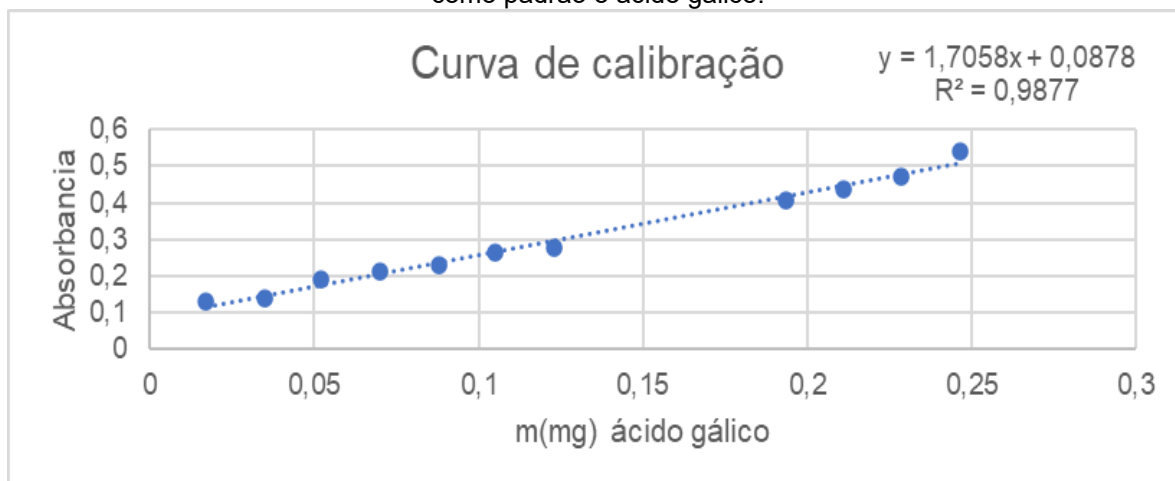
A concentração total de fenol do extrato aquoso de *T. papyrifer* foi determinada usando o reagente Folin-Ciocalteu. Este método é considerado o mais utilizado no meio experimental pois avalia de maneira indireta o potencial antioxidante da amostra (Angelo; Jorge, 2007; Sousa *et al.*, 2007; Pires *et al.*, 2017).

Para o experimento, inicialmente, foram misturados 0,01 g de extrato das folhas em 10 mL de metanol grau HPLC. Em seguida, para os testes, a cada 100 µL desta amostra foi adicionado 1 mL de água destilada, 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (1:10 v/v) e 1,5 mL de bicarbonato de sódio aquoso 2%. Após, a amostra foi homogeneizada, intermitentemente, por 30 minutos. A absorbância foi medida a 765 nm usando um espectrofotômetro. Para a análise de controle, a mesma metodologia foi empregada substituindo a amostra por 100 µL de metanol (Ramalho, 2013; Formagio *et al.*, 2013).

Para a análise final, foi elaborado uma curva analítica (Gráfico 01) utilizando o ácido gálico como padrão (17, 35, 50, 100, 150, 200, 250 e 300 µg) e seus respectivos valores de absorbância, sendo o teor de polifenóis totais expresso pela equivalência de ácido gálico em miligramas por gramas de extrato (EAG mg/g). A partir dos dados obtidos, foram realizadas a regressão linear e a equação da reta, a qual teve seus dados empregados no cálculo das amostras reais. A mesma metodologia

foi utilizada para a amostra de controle e todos os ensaios foram realizados em triplicata (Ramalho, 2013; Formagio, *et al.*, 2013). A análise foi feita em parceria com a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Gráfico 1 – Teor de polifenóis obtido do extrato FSE em metanol de folhas de *T. papyrifera*, utilizando como padrão o ácido gálico.



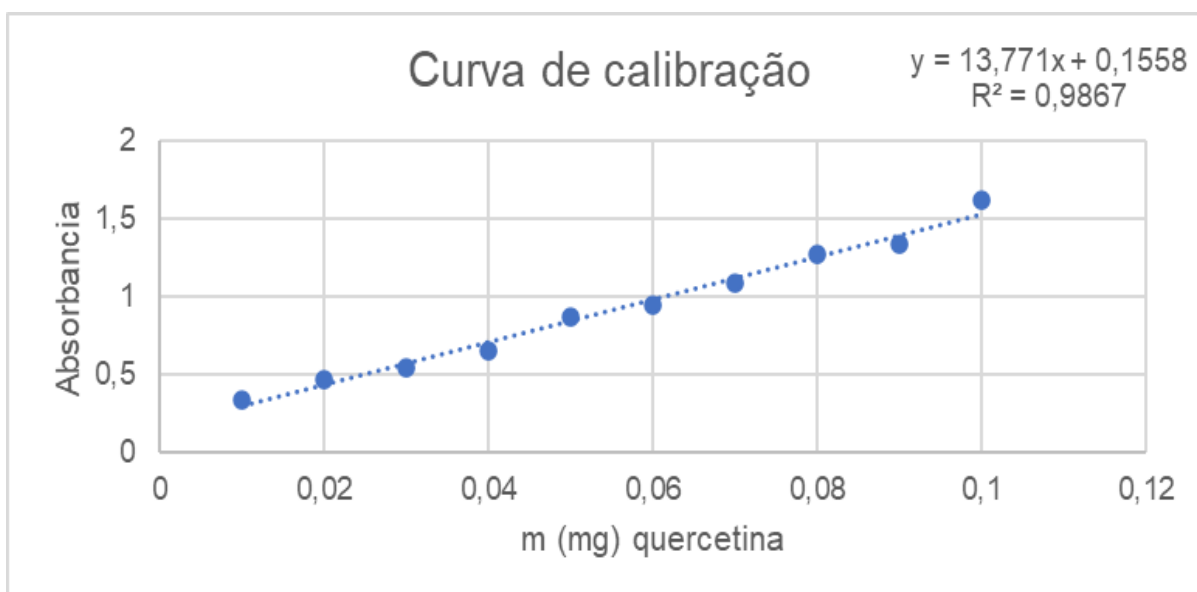
Fonte: A autora (2023).

4.7.2 Teor de Flavonoide

Para a verificação da concentração total de flavonoide, inicialmente foram misturados 0,01 g de extrato de folhas em 10 mL de metanol grau HPLC. Após, 500 µL desta amostra foram misturados com 1,5 mL de álcool etílico 95%, 0,10 mL de cloreto de alumínio 10% ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 0,10 mL de acetato de sódio ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (1 mol/L) e 2,80 mL de água destilada. A solução permaneceu 40 min em repouso e sua absorbância foi medida a 415 nm usando um espectrofotômetro. Para a análise do controle, o mesmo procedimento foi realizado (Formagio *et al.*, 2013).

Para a análise final, foi utilizada uma curva padrão de quercetina em diferentes concentrações (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 e 120 µg), ou seja, o teor de flavonoides totais é dado como miligrama de equivalentes de quercetina por grama de amostra (EQ mg/g), registrando as respectivas absorbâncias (Gráfico 02). Com o resultado adquirido, foi realizada a regressão linear e a equação da reta. A mesma metodologia foi utilizada para a amostra de controle e todos os ensaios foram realizados em triplicata (Ramalho, 2013; Formagio, *et al.*, 2013). A análise foi feita em parceria com a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Gráfico 2 – Teor de flavonoides obtido do extrato FSE em metanol de folhas de *T. papyrifera*, utilizando como padrão a quercetina



Fonte: A autora (2023).

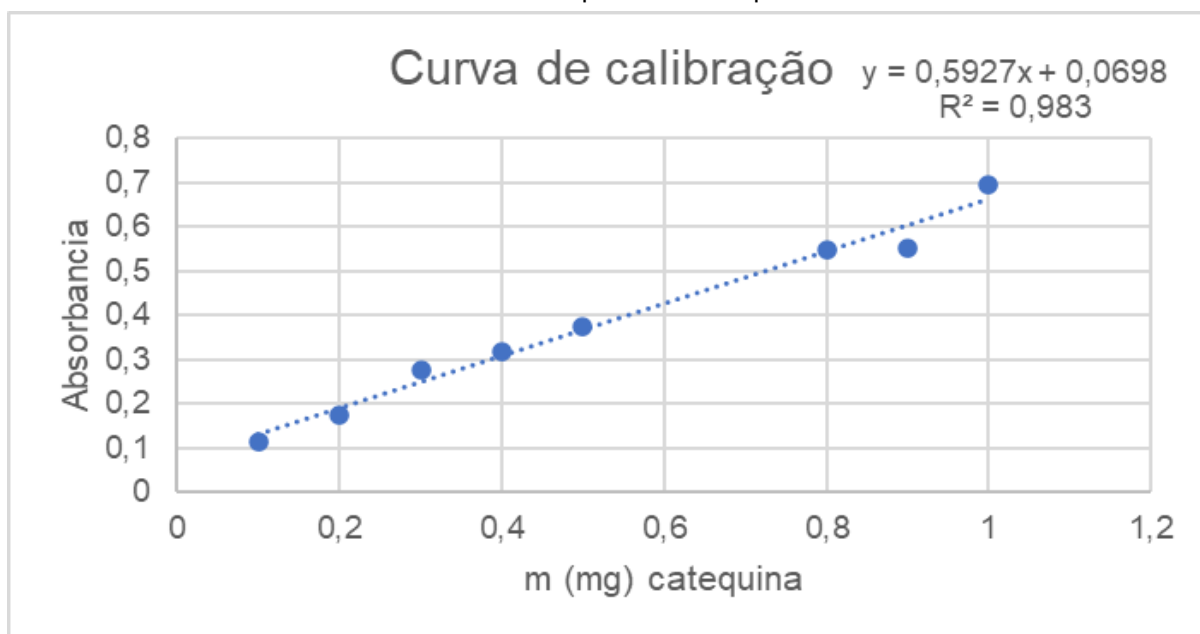
O marcador químico, quercetina, é comumente utilizado nos experimentos, pois se trata de um flavonol, considerado o flavonoide mais habitual encontrado em vegetais, apresentando baixo custo e disponível em estado puro (Marcucci *et al.*, 2020). Vale salientar que diversas técnicas são utilizadas para a detecção e doseamento de flavonoides em amostras vegetais, tais como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa (CG), cromatografia líquida associadas a espectrometria de massas (CL-EM), cromatografia em camada delgada (CCD), mas destaca-se a espectrofotometria como uma técnica mais acessível, prática e menos onerosa (Sobrinho *et al.*, 2010).

4.7.3 Teor de tanino condensado

Para determinar a concentração de taninos condensados foram pesados 100 mg da amostra e solubilizados em 10 mL de metanol grau HPLC. Após, 1 mL desta amostra foi misturada em 5 mL de vanilina clorídrica (8% concentração da solução aquosa de HCl e 4% de vanilina em metanol) e mantidos em banho-maria a 30 °C por 20 min. A absorbância foi lida a 500 nm, utilizando a catequina como padrão, isto é, a concentração de tanino condensado foi expressa pela equivalência de catequina em mg/g do extrato (ECT mg/g) em diferentes concentrações (100, 200, 300, 400, 500,

600, 700, 800, 900, 1.000, 1.100 a 1.200 μg), registrando a respectivas absorbâncias (Gráfico 03), para que se fosse possível adquirir a equação da reta. A mesma metodologia foi utilizada para a amostra de controle e todos os ensaios foram realizados em triplicata (Ramalho, 2013; Formagio, *et al.*, 2013). A análise foi feita em parceria com a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Gráfico 3 –Teor de taninos condensados obtido do extrato FSE em metanol de folhas de *T. papyrifer*, usando como padrão a catequina

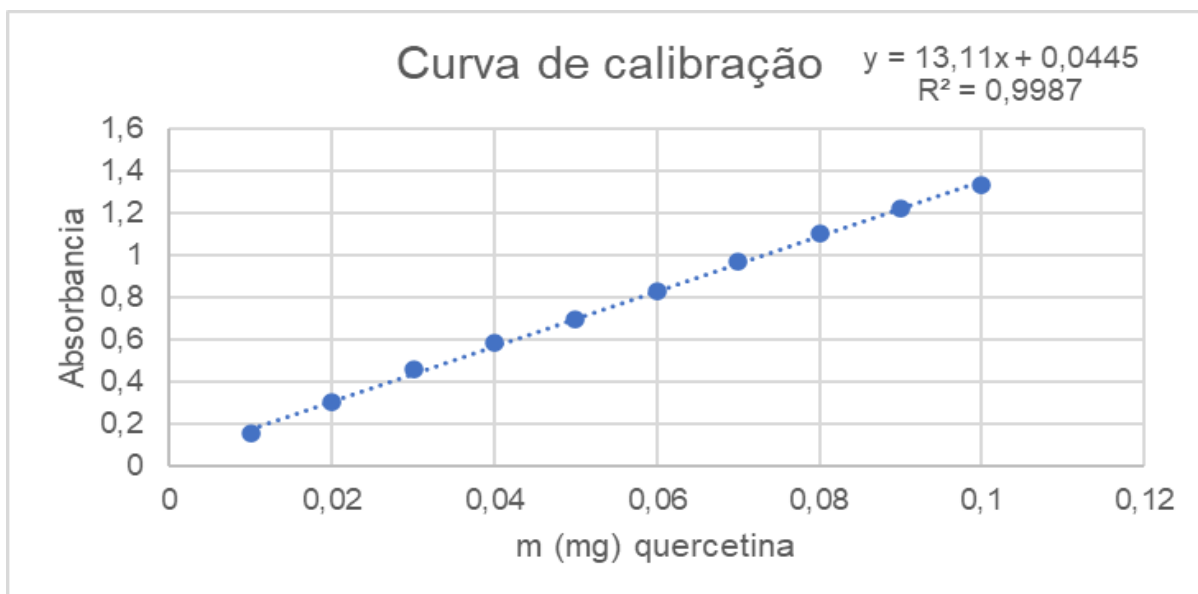


Fonte: A autora (2023).

4.7.4 Teor de Flavonol

Para indicar a concentração de flavonol no extrato aquoso de *T. papyrifer*, 2 mL da amostra foram misturados com 2 mL de solução etanólica de cloreto de alumínio à 2% e 3 mL de acetato de sódio (50 g/L). A mistura foi homogeneizada e incubada por 150 min a 20 °C. Logo após, a absorbância foi lida a 440 nm, sendo o flavonol expresso pela equivalência de quercetina por grama do peso seco (EQ mg/g) em diferentes concentrações (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 1.100 a 1.200 μg), registrando as respectivas absorbâncias (Gráfico 4). Com estes dados, foi realizada a regressão linear juntamente com a equação da reta, sendo todos os ensaios realizados em triplicata (Silva, 2015). Essa análise foi feita em parceria com a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Gráfico 4 – Teor de flavonol obtido do extrato FSE em metanol de folhas de *T. papyrifera*, usando como padrão a quercetina



Fonte: A autora (2023).

4.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.8.1 Extrato Aquoso

4.8.1.1 DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)

A análise da atividade antioxidante foi realizada pelo método fotolorimétrico “*in vitro*” do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), utilizando como controles positivos o butilhidroxitolueno (BHT), a quercetina e o ácido ascórbico. O extrato aquoso de *T. papyrifera* (1 mg/mL) foi diluído em metanol até atingir as seguintes concentrações finais: 200, 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL. Em seguida, foi adicionado 3 mL de DPPH metanólico (0,1 mM). As soluções foram homogeneizadas e mantidas em repouso, por 30 min, em temperatura ambiente em local escuro. A absorbância da amostra foi realizada em espectrofotômetro a 517 nm contra um branco contendo todos os reagentes, exceto as amostras de teste (Formagio *et al.* 2014). A porcentagem de inibição (I%) foi calculada usando a seguinte equação: A0 = absorbância da solução controle; e A = absorbância das amostras.

$$I\% = \left(\frac{A_0 - A}{A_0} \right) \times 100$$

Para a análise do óleo essencial, foi utilizado a mesma metodologia descrita. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e a análise foi realizada em parceria com a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

4.8.1.2 ABTS+

A atividade antioxidante foi medida usando o método azinobis (ácido etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) com pequenas modificações. Soluções de estoque da amostra (1 mg/mL) foram diluídas até atingir as concentrações finais de 250, 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL em metanol/HPLC. Inicialmente, ABTS 7,0 mM e persulfato de potássio 140 mM foram misturados e mantidos em repouso em local escuro e temperatura ambiente por 16 h. Antes da sua utilização na análise, a solução de ABTS+ foi diluída para obter uma absorbância de $0,700 \pm 0,05$ a 734 nm com 1 mL de etanol (P.A.) Em seguida, 3 mL da solução de ABTS+ foi adicionada a 30 µL das diferentes concentrações da amostra (5-250 µg/mL). Após 30 min, a absorbância foi lida em espectrofotômetro a 734 nm. BHT, quercetina e ácido ascórbico foram usados como referência (Formagio *et al.* 2014). A análise foi realizada em parceria com a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

A atividade de eliminação ABTS+ foi calculada usando a seguinte equação: A0 = absorbância da solução controle; e A = absorbância dos extratos metanólicos.

$$ABTS\% = \left(\frac{A_0 - A}{A_0} \right) \times 100$$

4.8.1.3 Método β-caroteno e ácido linoleico

A solução de β-caroteno foi preparada dissolvendo 2 mg de betacaroteno em 10 mL de clorofórmio. Após, 1 mL da solução betacaroteno/clorofórmio foi misturada com 20 mg de ácido linoleico e 0,2 g do tensoativo Tween 40 (Pedroso, 2017).

Em seguida, o clorofórmio foi removido por um evaporador rotativo a 45 °C e adicionando, vagarosamente, 50 mL de água destilada com homogeneização contínua para a formação de uma emulsão. Alíquotas desta emulsão (5 mL) foram transferidas com 0,2 mL de extrato de *T. papyrifer* com diferentes concentrações (10-20 µg/mL, estoque de amostra de 1 mg/mL) (Pedroso, 2017).

As amostras de controle foram preparadas com 0,2 mL de metanol desprovido de extrato. Assim que a emulsão foi adicionada a cada tubo, a absorbância foi lida a 470 nm contra o controle (tempo zero). Estes foram colocados em banho-maria a 50 °C e a oxidação foi monitorada por absorbância em intervalos de 15 min até que a cor do betacaroteno na amostra de controle desaparecesse (105 min). Todos os ensaios foram realizados em triplicata em parceria com a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

A atividade antioxidante (AA) foi calculada usando a seguinte equação: A_i = absorbância da amostra no tempo zero; A_t = absorbância da amostra depois da incubação (105 min) a 50°C; A'_i = absorbância do controle do tempo zero; A'_t = absorbância do controle após a incubação (105 min) a 50 °C.

$$AA\% = \left\{ 1 - \left(\frac{A_i - A_t}{A'_i - A'_t} \right) \right\} \times 100$$

4.8.2 Óleo Essencial

A solução estoque das amostras (2,5 mg/mL) de óleo essencial, foram diluídas para concentrações finais de 900, 800, 750, 650, 500, 250, 125, 50, 25, 10 e 05 µg/mL em metanol, separadamente. Foi utilizada a mesma metodologia realizada no extrato aquoso para a determinação da atividade antioxidante do óleo essencial.

4.9 INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

4.9.1 Animais

Para a experimentação animal, foram utilizados camundongos machos obtidos pelo Biotério Central da UFGD. Estes foram mantidos a 22 °C – 27 °C com livre acesso a água e dieta, em ciclo claro/escuro 12:12 h, exceto durante os ensaios.

Os ensaios foram realizados baseando-se nos aspectos éticos da experimentação animal, respeitando as normas preconizadas pelo CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais), com o número de protocolo de registro pelo Comitê de Ética da UFGD nº 07/2017 (Anexo 1).

4.9.2 Avaliação da Ação Anti-inflamatória pelo Modelo Edema de Pata

Grupos de seis camundongos machos ($n = 6$) foram tratados oralmente com o extrato aquoso de *Tetrapanax papyrifer* (EATP) nas seguintes doses: 3 mg/kg, 30 mg/kg e 100 mg/kg. Em um dos grupos de controle foi administrado o anti-inflamatório esteroidal prednisolona na dose de 3 mg/kg via oral e em outro grupo controle solução salina estéril 0,9%, também via oral. Após uma hora, os animais receberam uma solução de 100 μ L de injeção de carragenina (300 μ g/pata) por via subcutânea na pata traseira direita e a pata esquerda recebeu o mesmo volume de solução salina estéril 0,9%, sendo utilizada como controle. A espessura do edema foi mensurada em ambas as patas por meio de um pletismômetro no tempo de 1 h antes de qualquer tratamento e em diferentes momentos, 2 h e 4 h, após a injeção de carragenina. Os resultados foram expressos em μ m e a diferença entre os valores basais e pós-injeção quantificados como edema (Henriques *et al.*, 1987).

4.9.3 Sensibilidade Mecânica

A sensibilidade mecânica da pata traseira foi medida pela determinação dos limiares de retirada. Os limiares nociceptivos foram estimados usando uma versão eletrônica do teste de Von Frey (Insight®, EFF 301, analgesímetro digital). Os camundongos do estudo foram divididos em grupos experimentais de seis ($n = 6$) e tratados por via oral com o extrato aquoso de *T. papyrifer* (EATP) nas seguintes doses: 3 mg/kg, 30 mg/kg e 100 mg/kg. Em um dos grupos de controle foi administrado o anti-inflamatório esteroidal prednisolona na dose de 3 mg/kg via oral e em outro grupo controle solução salina estéril 0,9%, também via oral. Após 1 h, os animais receberam uma solução de 100 μ L de injeção de carragenina (300 μ g/pata) por via subcutânea na pata traseira direita e a pata esquerda recebeu o mesmo volume de solução salina estéril 0,9%, sendo utilizada como controle. O estímulo mecânico de pressão constante foi aplicado com o analgesiômetro até que os ratos vocalizem ou removessem a pata, indicando o nível de sensibilidade mecânica induzida pela sensibilização, 3 h e 4 h após a administração de carragenina (Henriques *et al.*, 1987; Ito *et al.*, 2001; Formagio *et al.*, 2019).

4.9.4 Estimulação Térmica ao Frio

Grupos de seis camundongos machos (n= 6) foram tratados oralmente com tratados por via oral com o extrato aquoso de *Tetrapanax papyrifer* (EATP) nas seguintes doses: 3 mg/kg, 30 mg/kg e 100 mg/kg. Em um dos grupos de controle foi administrado o anti-inflamatório esteroide prednisona na dose de 3 mg/kg via oral e em outro grupo controle solução salina estéril 0,9%, também via oral. Após uma hora, os animais receberam uma solução de 100 µL de injeção de carragenina (300 µg/pata) por via subcutânea na pata traseira direita e a pata esquerda recebeu o mesmo volume de solução salina estéril 0,9%, sendo utilizada como controle. A sensibilidade ao frio foi avaliada pelo teste da acetona. Os animais foram alojados em plataforma suspensa e a acetona (20 µL) foi distribuída na pele da face plantar da pata traseira direita. A reação, como indicado pela lambida da pata, agitação ou esfregar a pata, foi observada e registrada (Formagio *et al.*, 2019).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados serão analisados quanto à homogeneidade de variância e normalidade. As diferenças entre as médias serão determinadas usando análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Os resultados foram expressos como a média $\pm$ erro padrão da média (E.P.M.) e os valores de $p < 0,05$ serão considerados estatisticamente significativos.

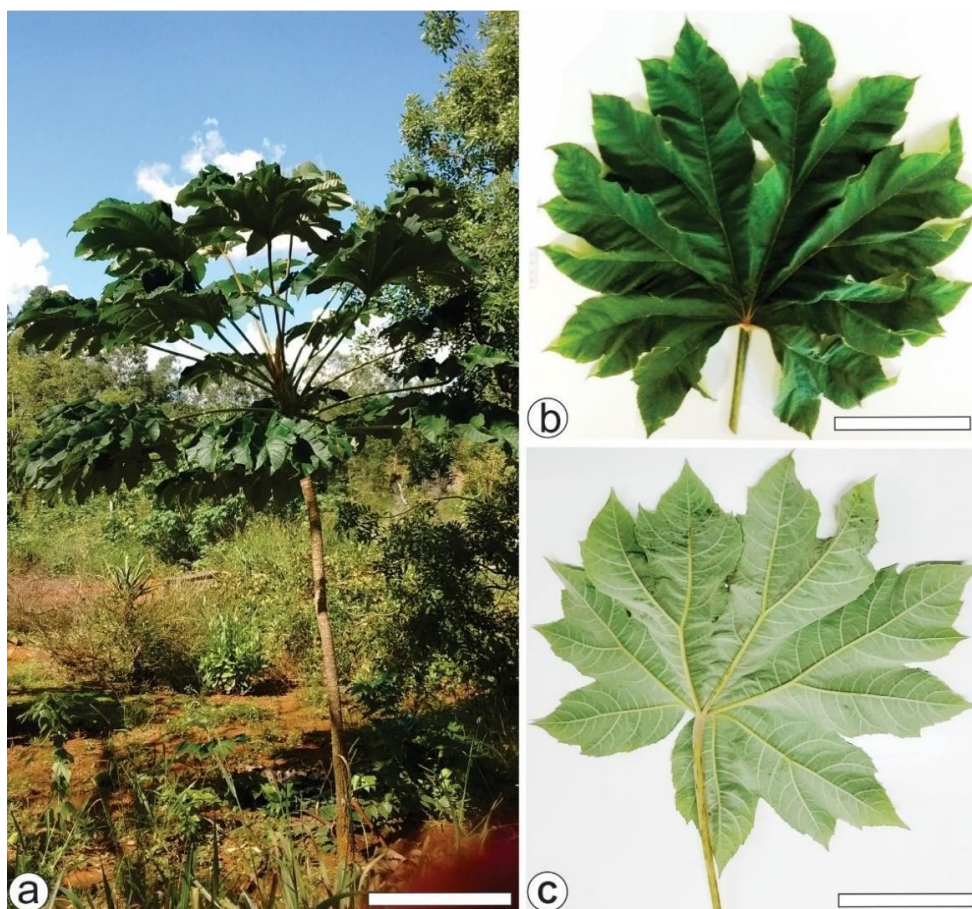
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ESTUDO FARMACOBOTÂNICO

6.1.1 Morfologia Foliar

Morfologicamente, *T. papyrifer* (Figura 5a) apresenta folhas simples, alternadas, palmatinérveas com nervuras proeminentes, palmatífidas com numerosos lobos acuminados e serrilhados (Figura 5a-c), na face adaxial são verde escuros brilhantes e glabras (Figura 5b), enquanto na face abaxial são verde claro pouco brilhante e tomentosas (Figura 5c). As folhas medem aproximadamente 30 cm de comprimento e 30 cm de largura. Possuem pecíolos longos, medindo de 50 a 90 cm de comprimento (Figuras 5b-c), robustos, fistulosos ou sólidos. A base da folha evidencia estípulas geminadas, grandes, agudas, persistentes e soldadas ao pecíolo.

Figura 5 – Morfologia de *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch.



Legenda: a: Planta no hábito. b: Folha na face adaxial. c: Folha na face abaxial.
Barras: a. 50 cm; b. 15 cm; c. 15 cm.
Fonte: A autora (2022).

A palavra folha deriva do latim *folia* e refere-se à expansão lateral dos caules. Em completo desenvolvimento, a folha apresenta as seguintes estruturas: limbo (peça laminar), pecíolo (parte estreita) e estípulas e bainhas (parte basal) (Oliveira; Akisue, 2009; Rodrigues; Amano; Almeida, 2015). A análise destas estruturas é o primeiro passo para realizar a correta identificação e até mesmo a diferenciação de espécies, principalmente aquelas que são conhecidas popularmente com a mesma nomenclatura.

A morfologia foliar é muito importante na identificação das espécies vegetais, contudo, quando a planta é comercializada rasurada ou pulverizada, a microscopia se torna uma ferramenta imprescindível (Manfron, 2021), como é o caso de *C. pachystachya* e *T. papyrifer*, que são conhecidas como “embaúba”, utilizadas pela população com a mesma finalidade terapêutica e comercializadas na América do Sul.

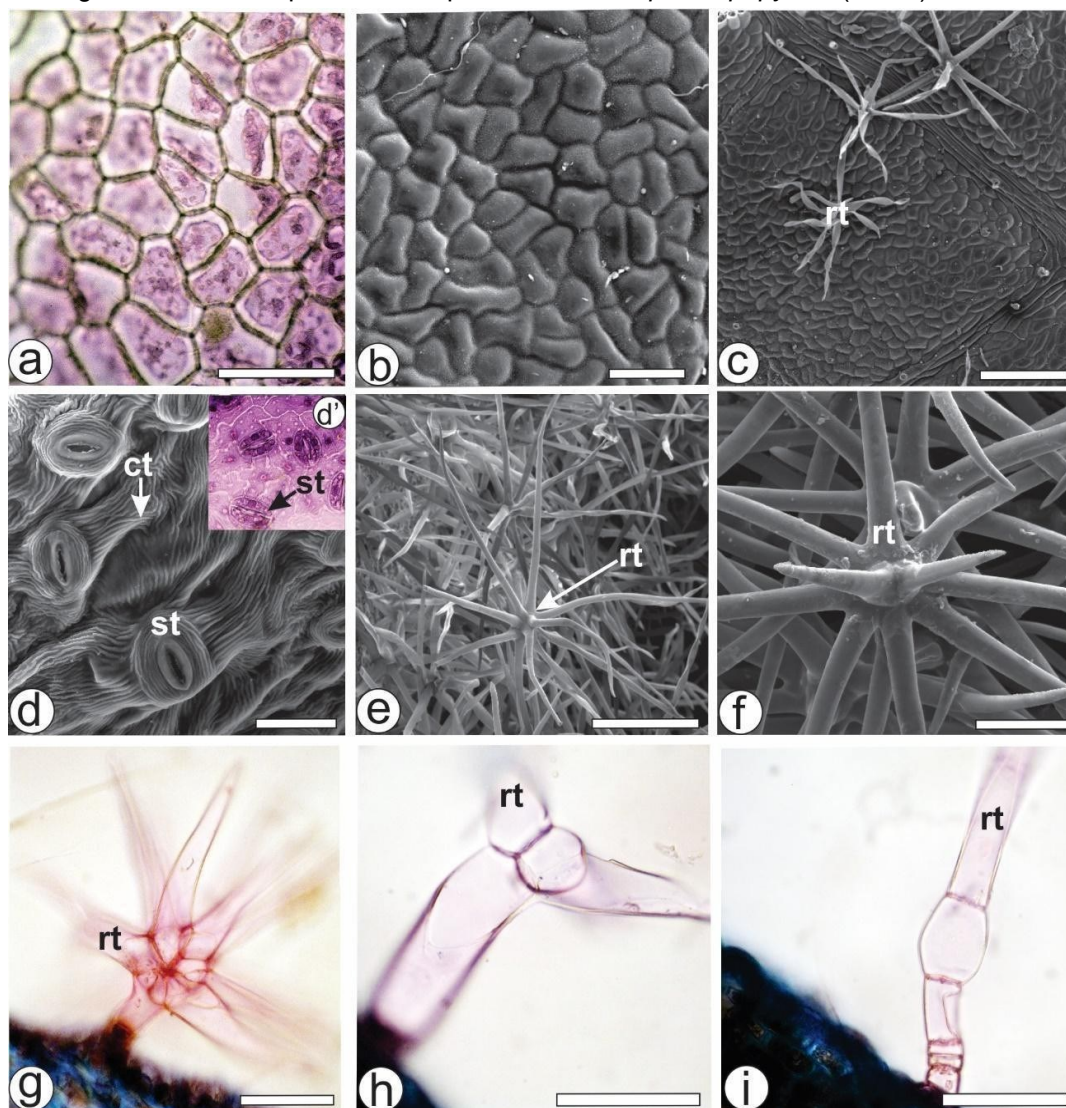
6.1.2 Análise Anatômica

A lâmina foliar apresenta epiderme uniestratificada cujas células, na face adaxial, possuem formato poligonal com paredes anticlinais relativamente delgadas (Figura 6a-c) e revestidas por cutícula delgada e levemente estriada. As células epidérmicas da face abaxial são sinuosas (Figura 6d') e cobertas por cutícula espessa e estriada (Figura 6d). As estrias apresentam orientação perpendicular em relação às células-guarda. A folha apresenta vários estômatos do tipo anomocíticos e anisocíticos na face abaxial e raros na face adaxial, sendo caracterizada como anfihipoestomática e estes se localizam ligeiramente acima das demais células epidérmicas (Figura 6d). Essas características estão de acordo com as descritas em trabalho de Petenatti *et al.* (1998), contudo, esses autores afirmam que os estômatos são paracíticos os quais não foram observados no presente estudo.

Tricomas tectores pluricelulares, unisseriados na base (4-6 células) e com porção apical ramificada (Figura 6c, e-j) são observados nas duas faces epidérmicas, contudo são raros na face adaxial (Figura 6c) e inúmeros na face abaxial (Figura 6e-i, 3c). A presença e o tipo dos tricomas é vital para o controle de qualidade de drogas vegetais, especialmente quando estas estão rasuradas ou pulverizadas, sendo, então, considerados marcadores anatômicos (Budel *et al.*, 2018; Raman *et al.*, 2022). A título de exemplificação, a caracterização dos tricomas permite a diferenciação das espécies popularmente conhecidas como “boldo” (*Plectranthus barbatus* Andrews, *Plectranthus neochilus* Schltr. e *Peumus boldus* Molina) (Machado *et al.*, 2021), como

também as espécies conhecidas como “espinheira-santa” (*Monteverdia ilicifolia* (Mart. ex Reissek) Biral, *Citronella gongonha* (Mart.) R.A. Howard, *Jodina rhombifolia* (Hook. and Arn.) Reissek, *Sorocea bonplandii* (Baill.) W.C. Burger et al. e *Zollernia ilcifolia* (Brongn.) Vogel (Antunes *et al.*, 2023). Da mesma forma, *T. papyrifer* pode ser diferenciada de *C. pachystachya* pela presença de tricomas tectores ramificados. *Cecropia pachystachya* apresentou 4 tipos de tricomas em trabalho de Machado *et al.* (2021), a saber: tricomas tectores de ápice curto e base alargada, tricomas tectores unicelulares com ou sem base alargada, tricomas tectores filariformes contorcidos e tricomas glandulares com pedúnculo de 1-2 células e cabeça multicelular.

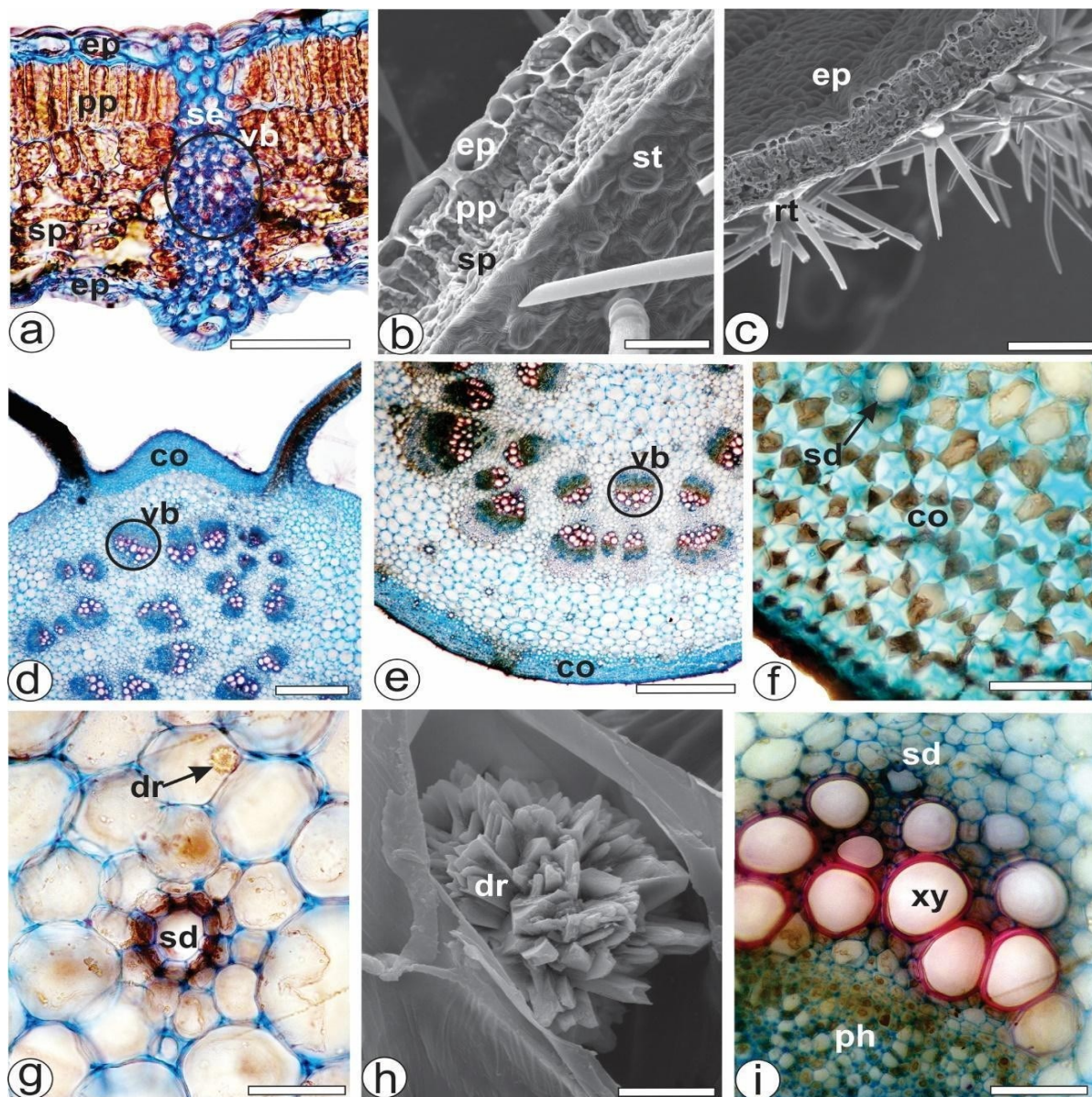
Figura 6 – Microscopia foliar da epiderme de *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch.



Legenda: [b-f: microscopia eletrônica de varredura; d', g, h, i: microscopia de luz]. (a,g-i) Vista frontal; (a-c) Vista lateral. [rt, tricoma tector ramificado; st, estômato; ct, cutícula]. Barras: d: 20µm; a,b,f-i: 50 µm; c, e: 200 µm.
Fonte: A autora (2023).

O mesofilo é do tipo dorsiventral, sendo constituído por 1-2 camadas de parênquima paliçádico e de 4-6 camadas de parênquima esponjoso, estabelecendo pequenos espaços intercelulares (Figura 7a-c). Feixes vasculares colaterais estão distribuídos na região mediana do mesofilo, são envoltos por bainha parenquimática, apresentando extensão de bainha (Figura 7a).

Figura 7 - Microscopia foliar da lâmina e nervura central de *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch.

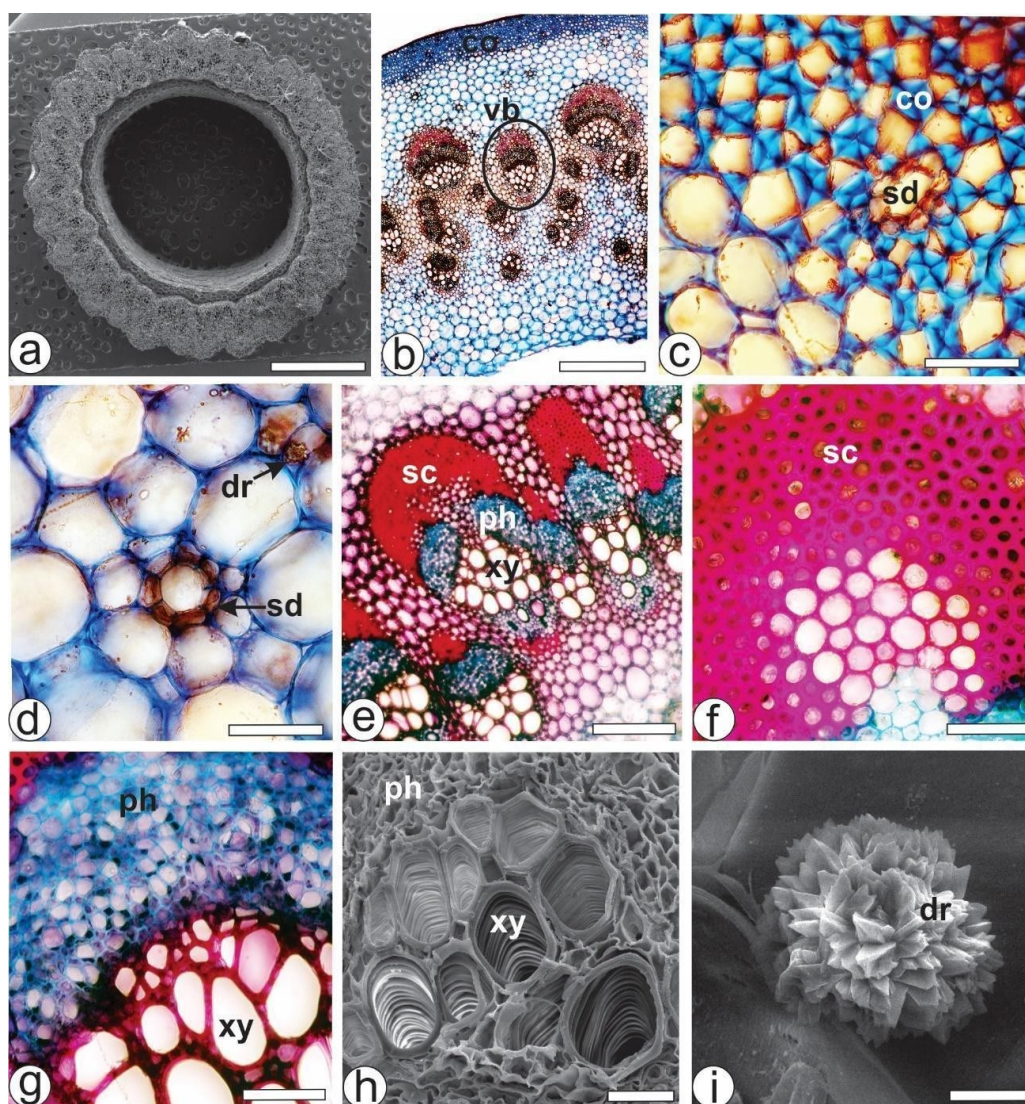


Legenda: [b,c,h: microscopia eletrônica de varredura; a, d-g, i: microscopia de luz]. Secção transversal. (a-c) lâmina. (d-i) nervura central. [co, colênquima; dr, drusa; ep, epiderme; ph, floema; pp, parênquima paliçádico; rt, tricoma tector ramificado; se, extensão da bainha; sd, duto secretor; sp, parênquima esponjoso; st, estômato; vb, feixe vascular; xy, xilema]. Barras: a: 20 µm; b, f-i: 50 µm; c, e: 100 µm; d, e: 500 µm.

Fonte: A autora (2023).

A nervura central, em secção transversal, possui formatobiconvexo, estabelecendo convexidade junto à face abaxial (Figura 7d). A epiderme unisseriada é revestida por cutícula estriada e, subjacente, são encontradas várias camadas de colênquima angular em ambas as faces (Figura 7d-f). Inúmeros feixes vasculares, do tipo colateral, encontram-se mergulhados no parênquima fundamental (Figura 7d,e). Ainda, neste parênquima, drusas de oxalato de cálcio (Figura 7g,h) e dutos secretores são observados (Figura 7f,g). Estes são formados por epitélio composto por cerca de 6-10 células de citoplasma denso e núcleo evidente, em estrato único. Dutos secretores foram observados também no colênquima (Figura 7f) e próximos aos feixes vasculares (Figura 7i).

Figura 8 - Microscopia foliar de *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch



Legenda: [a, h, i: microscopia eletrônica de varredura; b-g: microscopia de luz]. Secção transversal do pecíolo. [co, colênquima; dr, drusa; ph, floema; sd, duto secretor; sc, esclerênquima, vb, feixe vascular; xy, xilema]. Barras: a: 2 mm; h: 20 µm; i: 10 µm; c, f, g: 50 µm; d, e: 200 µm; b: 500 µm.

Fonte: A autora (2023).

A organização do parênquima fotossintetizante e o padrão vascular da nervura central possibilitou diferenciação entre espécies de Araliaceae, a exemplo do gênero *Panax* L. (Grushvitzky *et al.*, 1975) e *Cussonia* Thunb. (Villiers; Tilney; Wyk, 2010).

O pecíolo, em secção transversal, apresenta formato arredondado e fistuloso, algumas vezes sólido (Figura 8a). A epiderme é unisseriada e, subjacentemente, são encontradas várias camadas de colênquima angular contínuo, e, neste tecido, dutos secretores semelhantes aos previamente descritos para a nervura central estão presentes (Figura 8b, c).

Na região mediana do parênquima fundamental, feixes vasculares colaterais estão presentes, sendo que os feixes maiores estão localizados externamente em relação aos pequenos (Figura 8b, e). Especialmente nos feixes de maior porte, uma calota de fibras perivasculares está aposta ao floema (Figura 8e, f). Elementos crivados e células parenquimáticas são distinguidas no floema (Figura 8g). O xilema é formado por elementos traqueais com parede secundária espiralada e por células parenquimáticas não lignificadas (Figura 8h). Drusas de oxalato de cálcio são frequentes no parênquima fundamental (Figura 8i).

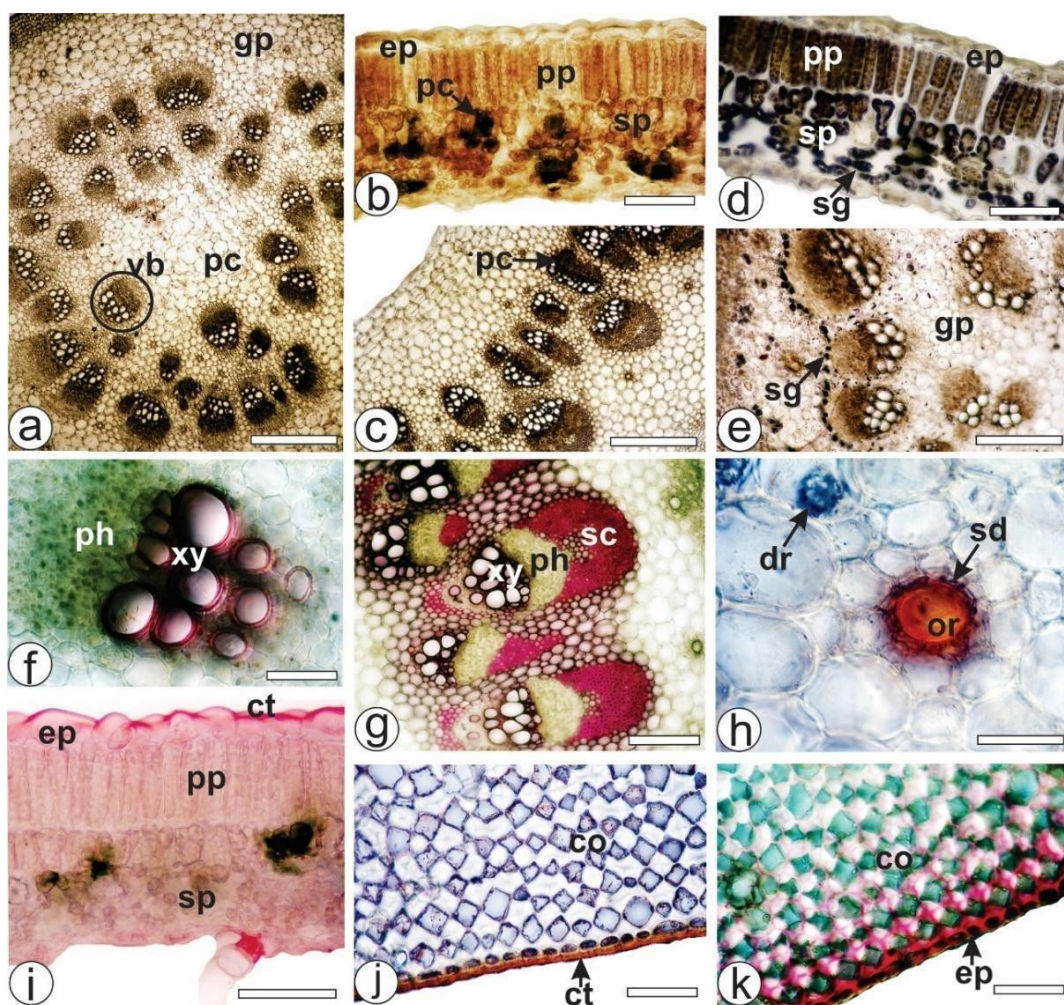
Caracteres anatômicos foliares de Araliaceae, como a anatomia peciolar, têm sido utilizados por diversos autores para fins taxonômicos (Ostroumova; Oskolski, 2010). Na taxonomia, a classificação de várias espécies de *Aralia* L. foi determinada com base no tipo de feixe vascular medular peciolar (Viguier, 1906). Características anatômicas do pecíolo e da lâmina foliar apresentaram valor taxonômico na diferenciação de 20 *Cussonia* spp. em trabalho de Villiers *et al.* (2010).

Análises microquímicas utilizando reagentes específicos e colorações sob microscopia óptica são úteis para a caracterização de compostos químicos presentes em tecidos vegetais e compartimentalizados em determinadas estruturas. Eles podem ser usados para detectar, dentro de limites específicos em células e tecidos, a distribuição e acumulação dos compostos ou grupos de metabólitos especiais, tais como material lipofílico, proteína, mucilagem, elementos lignificados e compostos fenólicos (Almeida *et al.*, 2023).

Os compostos fenólicos se coram de marrom escuro ao reagirem com solução de cloreto férrico a 10% ou de marrom avermelhado quando em contato com a solução de dicromato de potássio a 10%, como evidenciado no floema da nervura central (Figura 9a) e pecíolo (Figura 9c) e também em idioblastos no parênquima esponjoso da lâmina foliar (Figura 9b) de *T. papyrifera*.

A presença de grãos de amido também auxilia na caracterização e, consequentemente, na identificação de espécies vegetais. O grão de amido se torna azul arroxeado na presença de lugol e foi localizado no parênquima esponjoso da lâmina foliar (Figura 9d) e na bainha amilífera que envolve o sistema vascular do peciolo (Figura 9e) de *T. papyrifer*. Manfron (2021) afirma que esses grãos, além do caráter diagnóstico, são especialmente importantes, pois o amido é comumente utilizado como adulterante de drogas vegetais pulverizadas, aumentando o volume da matéria-prima.

Figura 9 - Testes microquímicos em folhas de *Tetrapanax papyrifer* (Hook.) K.Koch.



Legenda: Secção transversal. (b, d, i) lâmina. (a, e, f, j, h, j) nervura central. (c, g, k) peciolo. (a, c) Reação com cloreto férrico. (b) Reação com dicromato de potássio. (d, e) Reação com Lugol. (f, g) Reação com floroglucinol/HCl. (h) Reação com reativo de Nadi. (i, j) Reação com Sudam III. (k) Reação com vermelho de rutênio. [co, colênquima; dr, drusa; ct, cutícula; ep, epiderme; gp, parênquima fundamental; or, óleorresina; pc, phenolic compounds; ph, floema; pp, parênquima paliádico; rt, tricoma tector ramificado; sd, duto secretor; se, extensão da bainha; sg, grão de amido; sp, parênquima esponjoso; vb, feixe vascular; xy, xilema]. Barras: a, b, d, f, h-k: 50 µm; g: 200 µm; e: 300 µm; c: 500 µm.

Fonte: A autora (2023).

Compostos lignificados se coram de rosa intenso na presença de floroglucinol/HCl e foram detectados no xilema (Figura 9f) e nas calotas de fibras perivasculares da nervura central e pecíolo (Figura 9g) em *T. papyrifer*. A lignina é um polímero fenólico que é depositado nas paredes celulares, conferindo elasticidade ao tecido (Manfron, 2021).

Os óleos essenciais, mistura complexa de substâncias com propriedades ecológicas e terapêuticas, reagem com Sudan III e podem estar localizados em tricomas glandulares, como em *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae), em células oleíferas, como em *Piper solmsianum* C.DC. (Piperaceae), cavidades secretoras, a exemplo de *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae) (Manfron, 2021) e em ductos secretores como é o caso de *T. papyrifer* (Figura 9h). Resinas também podem ser encontradas misturadas aos óleos voláteis ou na forma de massas irregulares de coloração amarronzada e podem ser armazenadas em ductos e/ou cavidades secretoras (Alamgir, 2018). Com o reagente Nadi, os óleos voláteis se coram de azul, oleorresinas se coram de vermelho, enquanto misturas de óleos voláteis e oleorresinas adquirem coloração violeta (David; Carde, 1964; Ventrella *et al.*, 2013). O conteúdo dos dutos secretores de *T. papyrifer* foram testados com o reativo de Nadi e ficou confirmada a presença de oleorresinas (Figura 9h). Viguier (1906) afirmou o valor taxonômico da presença de ductos resinosos em Araliaceae.

Alguns polímeros, como cutina, suberina e lignina, são depositados em locais específicos nas paredes celulares. Tanto a cutina como a suberina apresentam características lipofílicas e, quando reagem positivamente com solução de Sudan III, coram-se de vermelho (Ventrella *et al.*, 2013), como detectado na base dos tricomas e na cutícula da lâmina foliar (Figura 9i), nervura central (Figura 9j) e pecíolo de *T. papyrifer*. Adicionalmente, pectinas coraram de rosa na presença de vermelho de rutênio, sendo localizadas nas paredes internas das células epidérmicas e no colênquima (Figura 9k).

Os testes microquímicos tem como principal objetivo localizar *in situ* os principais grupos químicos que ocorrem nos tecidos vegetais, associando a histologia a aspectos químicos, baseando-se principalmente, na identificação de reações químicas após coloração específica nos cortes histológicos de vegetais (Figueredo *et al.*, 2007). Adicionalmente as reações de resultados negativos, relacionados à aplicação dos reativos, também auxiliam na identificação de espécies. No presente trabalho os testes para taninos condensados, mucilagem, partículas de borracha e proteínas reagiram negativamente.

6.2 IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS NA AMOSTRA VEGETAL

6.2.1 Caracterização do Óleo Essencial por Análise Química por Cromatografia Acoplada a Detector de Massas

O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação de folhas de *T. papyrifera* com rendimento de 0,1 mL, equivalente a 0,0499%. Por meio da CG-EM, foi possível identificar 22 substâncias (Tabela 1), caracterizando a presença majoritária de compostos classificados como terpenos. Dentre estes, β -pineno foi o constituinte dominante (27,73%), seguido de α -pineno (12,23%), β -selineno (11,74%) e nerolidol (7,13%).

Tabela 1 – Compostos identificados no óleo essencial de *T. papyrifera*, por meio da CG-EM (Adams, 2012).

Compostos químicos	Índices de Retenção		Área (%)
	Determinado	Literatura	
α -pineno	933	932	12.23
β -pineno	974	974	27.73
Limoneno	1024	1024	1.78
α -terpineol	1186	1186	0.33
δ -elemene	1335	1335	0.73
α -copaeno	1374	1374	0.49
β -elemene	1389	1389	2.54
α -gurjuneno	1409	1409	5.25
Cariofileno	1417	1417	2.46
β -copaeno	1430	1430	3.41
α -humuleno	1452	1452	4.81
<i>allo</i> -aromadendreno	1458	1458	1.78
Germacreno D	1484	1484	2.55
β -selineno	1489	1489	11.74
α -selineno	1498	1498	1.23
Biciclogermacreno	1500	1500	1.27
α -muuroleno	1500	1500	0.84
α -cadineno	1537	1537	4.15
Nerolidol	1561	1561	7.13
Globulol	1590	1590	1.32
Guaiol	1600	1600	4.75
α -muurolol	1644	1644	1.48
Total identificado (%)			
Monoterpenos hidrocarbonetos (%)			41.74
Monoterpenos oxigenados (%)			0.33
Sesquiterpenos hidrocarbonetos (%)			43.25
Sesquiterpenos oxigenados (%)			14.68

Fonte: A autora (2023).

Em 1980, uma pesquisa realizada por Fujita, avaliou, por cromatografia gasosa, os componentes do óleo essencial extraído de folhas e pecíolos de *T. papyrifer*, coletadas no Japão, e observaram mais de 40 componentes químicos, monoterpenos e sesquiterpenos. Os majoritários foram: β -cariofileno (14,2%), *trans*- β -farneseno (8,0%), β -selineno (7,4%), β -cadineno (5,0%), *trans*-nerolidol (5,9%) e α -pineno (13,3%), β -pineno (10,1%) e terpineol (4,5%).

Os óleos essenciais são substâncias especializadas e complexas, lipofílicas, voláteis e com baixo peso molecular, frequentemente odoríferas e líquidas (Baptista, 2018). Segundo Silva (2013), os óleos essenciais são, normalmente, constituídos por diferentes classes de substâncias orgânicas, principalmente os fenilpropanoides, monoterpenos e sesquiterpenos. São produzidos e compartimentalizados em estruturas secretoras como ductos secretores, cavidades secretoras, tricomas glandulares e idioblastos oleíferos. No presente estudo, ductos secretores foram encontrados nas folhas de *T. papyrifer* (Figura 7g, 8d, 9h) conforme previamente descrito no estudo microscópico.

Oleorresina, assim como o óleo essencial, apresenta grande quantidade de ativos biológicos sintetizados como metabólitos especiais das plantas (Zampieri, 2022). Pode ser classificado quanto a sua turbidez, viscosidade e coloração (Galúcio *et al.*, 2016; Frota, 2018). Em relação à composição química, trata-se de uma solução de ácidos diterpênicos, enquanto o óleo essencial é constituído basicamente por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides (Frota, 2018; Menezes; Castro, 2020). Ferreira (2016), em estudo sobre a caracterização do oleorresina de *Copaifera reticulata* Ducke, descreve que o oleorresina de copaíba recebe esta denominação por ser uma mistura do óleo essencial com uma parte resinosa não volátil, cuja coloração varia de amarelo a marrom, tendo a sua composição definida como mistura de ácidos diterpenos e de sesquiterpenos.

A extração de oleorresina e óleo essencial podem ser realizados em várias partes das plantas, como tronco, folhas, frutos e sementes e são constituídos de bioativos importantes (Zampieri, 2022). No que se refere a suas funcionalidades, ambos são empregados na produção de medicamentos, como aditivos de preservação em alimentos, como agentes antioxidantes, antibacterianos, larvicidas, moluscicidas, anticarcinogênico, antimutagênicos, inseticidas, antifúngicos e na produção de fragrâncias na indústria de perfumaria (Menezes; Castro, 2020). No

presente estudo, o teste microquímico evidenciou a presença de óleorresina nos ductos secretores.

Os terpenos ou terpenoides, definidos como “alcenos naturais”, constituem a maior classe de produtos secundários sendo encontrados frequentemente nos óleos essenciais, responsáveis, principalmente, pela fragrância das plantas. Na sua estrutura química, apresentam-se com a fórmula geral $C_{10}H_{16}$, pois realizam uma dupla ligação carbono-carbono, caracterizando-os com um hidrocarboneto insaturado (Baptista, 2018). Observando a Tabela 1, pode-se verificar a presença de monoterpenos (α -pineno, β -pineno, limoneno e terpineol) e sesquiterpenos (δ -elemene, α -copaeno, β -elemene, α -gurjuneno, cariofileno, β -copaeno, α -humuleno, allo-aromadendreno, germacreno D, β -selineno, α -selineno, biciclogermacreno, α -muuroleno, α -cadineno, nerolidol, globulol, guaiol e α -muurolol).

Os pinenos ($C_{10}H_{16}$) são considerados o principal metabólito especial em muitos compostos naturais, com aproximadamente 55.000 membros isolados atualmente. Fazem parte da família dos terpenos e possuem dois isômeros constitucionais ativos: α e β - pineno (Costa, 2017; Allenspach; Steuer, 2021; Salehi *et al.*, 2019). Esses são tipos de isômeros que ocorrem em moléculas quirais, ou seja, diferem em suas interações com a luz polarizada e suas imagens, quando espelhadas, não se sobrepõem e, em consequência disto, possuem diferentes propriedades de rotação. Ambos isômeros estruturais possuem dois enantiômeros (+) e (-), produzindo, assim, quatro isômeros ativos (Costa, 2017; Salehi *et al.*, 2019).

α -Pineno é um líquido incolor, insolúvel em água, mas solúvel em óleo e etanol, seu ponto de ebulição é 155 °C. β -Pineno também é um líquido orgânico incolor solúvel em óleo, mas insolúvel em água e etanol, seu ponto de ebulição varia entre 163 – 166 °C e é obtido comercialmente por destilação de α -pineno. Os dois fitoquímicos apresentam diversas atividades biológicas, sendo utilizados para variadas aplicações na medicina, como antimicrobiano, anticoagulante, antitumoral, anti-inflamatório, antioxidante e atividade neuroprotetora (Salehi *et al.*, 2019).

Kim *et al.* (2015) desenvolveram um estudo analisando o efeito anti-inflamatório do α -pineno, bem como seu mecanismo de ação em macrófagos peritoneais de camundongos estimulados por lipopolissacarídeos (LPS) e observaram uma diminuição, dose-dependente, significativa na produção de interleucina -6 (IL-6), do fator de necrose tumoral (TNF) e do óxido nítrico (NO). Além destas ações, o α -pineno, inibiu as expressões da enzima óxido nítrico sintase (iNOS) e as

ciclooxigenase-2 (COX-2), com consequente diminuição da produção de prostaglandinas. Em relação ao desenvolvimento das vias de sinalização pró-inflamatórias, o estudo demonstrou que estas foram consideravelmente reduzidas após o tratamento com α -pineno.

Branquinho *et al.* (2017), analisaram a composição do óleo essencial de *Piper glabratum* Kunth e sua possível ação anti-inflamatória, via edema de pata e pleurisia induzidos por carragenina. O componente majoritário identificado foi β -pineno (12,97%), seguido de longiborneol (12,0%), α -pineno (9,67%), cariofileno (7,95%), viridifloreno (7,34%), β -copaeno (6,55%) e β -damascenone (5,85%) e, em relação aos estudos biológicos, verificou-se uma redução no edema de pata em 4 h após a aplicação do óleo essencial, com redução significativa da migração de leucócitos, sugerindo que os componentes do fitoquímico poderiam afetar a produção de prostaglandinas.

Selineno e nerolidol são classificados como sesquiterpenos (C₁₅H₂₄). Estes constituem uma subclasse de terpenos formados por três unidades isoprênicas e integram um grande número de produtos naturais, podendo ser encontrados tanto em vegetais, como em microrganismos e até mesmo em alguns organismos marinhos (Rambo, 2014; Oliveira, 2019). São facilmente oxidados e possuem baixa solubilidade em água e em soluções alcoólicas diluídas (Oliveira, 2019). Podem ser divididos em acíclicos, monocíclicos, bicíclicos e lactonas sesquiterpênicas. Nas plantas, sua função é de proteção contra insetos e outros microrganismos, e, na indústria, são amplamente utilizados como flavorizantes e aromatizantes (Rambo, 2014). Mas, também, são evidenciados em várias atividades biológicas como antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena e antibacteriana (Oliveira, 2019).

6.3 DETERMINAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO EXTRATO AQUOSO

6.3.1 Teor dos Constituintes Químicos

O estudo fitoquímico apresenta extrema importância na pesquisa, visto que possibilita a validação de plantas medicinais consagradas pela medicina popular, contribui para a determinação de alvos biológicos de importância etnofarmacológica, aprimora a produção de metabólitos secundários de interesse industrial, melhora as técnicas de controle de qualidade de fitoterápicos e, também, viabiliza o

desenvolvimento de novos compostos com atividades biológicas (Lima *et al.*, 2020).

Os constituintes químicos obtidos do extrato de *T. papyrifer* são demonstrados na Tabela 2. O teor de compostos polifenólicos e flavonoides foram os resultados mais promissores da amostra com 512,03 mg AG/g extrato e 213,59 mg Q/g extrato, respectivamente.

Este resultado corrobora com o que foi evidenciado nas figuras 9 a-c e 9f-g na análise microquímica da folha e pecíolo.

Tabela 2 – Constituintes químicos obtidos do extrato de *T. papyrifer*

Espécie	Teor total de constituintes			
	Polifenóis (mg AG/ g extrato)	Flavonoides (mg QE/ g extrato)	Flavonol (mg QE/ g extrato)	Taninos condensados (mg CT/ g extrato)
<i>Tetrapanax papyrifer</i>	512,03 ± 0,67	213,59 ± 0,02	85,884 ± 0,001	22,41 ± 0,01

Fonte: O autor

Jeong *et al.* (2019), analisaram a atividade antioxidante bem como o teor de polifenóis e flavonóides de *Panax ginseng* C.A.Meyer, em diferente idades, e verificaram alto teor de compostos fenólicos sendo este um dos seus vários ingredientes funcionais que apresentam excelente funcionalidade biológica, como ação antioxidante e atividade anticancerígena.

Os compostos fenólicos, ou polifenóis, são essenciais para a manutenção da fisiologia e morfologia vegetal, pois estão envolvidos no crescimento, reprodução, proteção e resistência a patógenos e predadores. Estão onipresentes em todos os órgãos das plantas, mas distribuídos em quantidades diferentes em cada um deles, podendo ser encontrados na forma livre ou ligado à açúcares (glicosídeos), caracterizando-os, portanto, parte integrante da dieta do homem (Bravo, 1998; Bertoldi, 2006; Angelo; Jorge, 2007).

Na planta, o tipo de composto fenólico e a sua concentração podem alterar em diferentes populações de uma mesma espécie, sofrendo variações em relação ao estágio de desenvolvimento da planta, grau de maturação, condições ambientais, solo, manejo, processamento e armazenamento da matéria-prima (Bertoldi, 2006).

Quimicamente, são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substitutos hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais

proporcionando, a estes compostos, uma característica multifuncional (Angelo; Jorge, 2007). Enquadram-se em diversas categorias como fenóis simples, ácido fenólicos, cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (Sousa *et al.*, 2007).

Devido à grande importância nutricional dos compostos fenólicos nos últimos anos, têm se havido um interesse crescente em seu aprendizado, principalmente no que diz respeito a sua ação antioxidante que está relacionada, sobretudo, às suas propriedades redutoras, desempenhando um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, sendo seus intermediários formados relativamente estáveis (Kujala *et al.*, 2000; Sousa *et al.*, 2007). Este mecanismo de ação dos antioxidantes, presentes em extratos de plantas, possui uma função importante na redução da oxidação lipídica em tecidos vegetal e animal, pois quando incorporada na alimentação humana, além de auxiliar na conservação e qualidade do alimento, também reduz os riscos de desenvolvimento de doenças como aterosclerose e câncer (Angelo; Jorge, 2007).

Os flavonoides são compostos polifenólicos biossintetizados a partir da via dos fenilpropanoides e do acetato, precursores de vários grupos de substâncias como aminoácidos alifáticos, terpenoides, ácidos graxos, entre outros (Dornas *et al.*, 2007). Essa classe de metabólitos especiais é amplamente distribuída no reino vegetal, podendo ser encontrados em frutas, vegetais, sementes, cascas de árvores, raízes, talos e flores (Coutinho; Muzitano; Costa, 2008).

Segundo Zuanazzi, Montanha e Zucolotto (2017), em 1994, o número de flavonoides identificados foi estimado acima de 4.000 e, em 2005, superior a 7.000, sendo que o número de novas estruturas identificadas quase dobrou nos últimos 20 anos. Ocorrem com regularidade oxigenados mas um grande número ocorre conjugado com açúcares.

Sua estrutura química consiste em um núcleo fundamental, constituído de 15 átomos de carbono arranjados em três anéis característicos C6-C3-C6, sendo dois anéis fenólicos substituídos (chamados de A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica C) acoplado ao anel A (Dornas *et al.*, 2007). As modificações no seu anel central levam a diferenciação em subclasses distintas, tais como: chalconas, flavonas, flavononóis, flavonóis, isoflavonas, flavan-3-ols e antocianidinas (Coutinho; Muzitano; Costa,

2008). Ou seja, essa classificação é baseada no estado de oxidação e no grau de insaturação do anel heterocíclico central (Zuanazzi; Muzitano; Zucolotto, 2017).

Várias funções são atribuídas aos flavonoides nas plantas, como: proteção contra raios ultravioleta e visível, contra insetos, fungos, vírus e bactérias, atração de animais com a finalidade de polinização, antioxidante, controle da ação de hormônios vegetais, agentes alelopáticos e inibidores de enzimas (Santos; Rodrigues, 2017; Zuanazzi; Muzitano; Zucolotto, 2017).

Além das diversas funções nos vegetais, esta classe de polifenóis participa de inúmeras atribuições biológicas, principalmente como atividade antitumoral, antiviral, anti-inflamatória, reguladora hormonal, dentre outras, conferindo-lhe elevada importância farmacológica (Coutinho; Muzitano; Costa, 2008; Santos; Rodrigues, 2017).

Os flavonóis são compostos que fazem parte de um grande grupo de flavonoides de origem biossintética, apresentando, em sua estrutura química, uma hidroxila na posição C-3 do núcleo fundamental das flavonas. Este grupo é classificado junto com os flavonóis, pois suas análises, sínteses e reações químicas possuem uma base teórica relativamente comum (Zuanazzi; Muzitano; Zucolotto, 2017).

Flavonóis e flavonas ocorrem nos alimentos, geralmente, como O-glicosídeos, nos vegetais estão localizados principalmente nas folhas, flores e partes externas das plantas. A principal forma encontrada é a quercetina, cujo nome deriva de *quercetum* (floresta de carvalhos) sendo seu uso datado desde 1857. (Aherne; O'Brien, 2002). Esta, é considerada uma substância com potente ação antioxidante devido a sua capacidade de eliminar radicais livres através da presença do grupo catecol no anel B e o grupo OH na posição 3 do anel A. Ademais, segundo D'Andrea (2015), a quercetina atua interrompendo a propagação da peroxidação lipídica e aumentando os níveis de glutathione, contribuindo, assim, na prevenção da formação de novos radicais livres.

Derivada do termo *tanante*, tradicionalmente a importância das plantas ricas em taninos está ligada às suas propriedades de transformar pele de animal em couro a partir da sua capacidade de combinar-se com macromoléculas, como as fibras de colágeno, resultando em um material resistente ao calor, água e alguns abrasivos. Esta principal atuação justifica o grande interesse econômico e ecológico nestes metabólitos especiais vegetais (Monteiro; Albuquerque; Araújo, 2005; Mello; Santos,

2017). Os taninos apresentam uma importante capacidade de adstringência, inibindo desta forma a invasão de parasitas e animais herbívoros nos tecidos vegetais (Paiva *et al.*, 2002). São classificados, segundo a sua estrutura química, em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Ambos podem ser encontrados em várias partes dos vegetais, como no cerne da madeira, na casca, nas folhas, nos frutos e nas sementes (Azevêdo *et al.*, 2017).

Plantas ricas em taninos têm sido alvo de diversos estudos ecológicos, devido a sua capacidade de diminuir a taxa de predação pela característica impalatável e, por ter ação antioxidante, auxilia também na defesa química vegetal (Paiva *et al.*, 2002; Monteiro, Albuquerque; Araújo, 2005). No que diz respeito às ações biológicas, na medicina tradicional os taninos são empregados em diversas moléstias como diarreia, pressão alta, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais, problemas renais e do sistema urinário e processos anti-inflamatórios em geral (Mello; Santos, 2017).

6.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

6.4.1 Óleo essencial e Extrato Aquoso

O processo respiratório, bem como as diversas reações oxidativas que ocorrem nas células aeróbicas, levam à formação de radicais livres. Estas moléculas são caracterizadas por apresentarem instabilidade química e capacidade reativa por possuírem um ou mais elétrons não pareados, tornando-as altamente reativas (Silva *et al.*, 2010; Silva, 2018). Quando se apresentam em excesso, interferem negativamente na manutenção das funções normais do organismo, relacionando-se com várias patologias crônicas e degenerativas, incluindo o câncer, doenças cardíacas, mal de Alzheimer, inflamações e estimulação do processo de envelhecimento (Bergamashi, 2010). No organismo são produzidos radicais livres de carbono, enxofre, nitrogênio e oxigênio, mas, devido a sua alta reatividade, os radicais livres de oxigênio são os que mais se destacam (Bergamashi, 2010).

A ação dos radicais livres pode ser reduzida ou até bloqueada por substâncias antioxidantes definidas como qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo (Silva, 2018). O organismo possui diferentes

mecanismos de defesa antioxidante para combater o excesso de radicais livres incluindo enzimas (catalase, superóxido dismutase, glutathione redutase, glutathione peroxidase), pequenas moléculas antioxidantes (ácido úrico, glutathione, albumina, bilirrubina) além de certas vitaminas (ácido ascórbico, α -tocoferol) e carotenoides (Bergamashi, 2010).

Segundo Sari (2016), os antioxidantes podem ser obtidos de forma sintética ou natural, para serem posteriormente utilizados em alimentos onde devem apresentar segurança para a saúde. São vários os exemplos de antioxidantes sintéticos, como o hidroxianisol de butila (BHA), o hidroxitolueno de butila (BHT), propilgalato (PG) e o terc-butil hidroquinona (TBHQ), mas estudos demonstram que a utilização destes causam grandes efeitos prejudiciais à saúde, o que justifica a busca de antioxidantes naturais.

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de plantas disponíveis e são excelentes fontes de terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados, que demonstram alto potencial de compostos bioativos, podendo ser utilizados principalmente na indústria alimentícia e farmacêutica (Bergamashi, 2010).

Neste contexto, foi analisado a atividade antioxidante do extrato e óleo essencial de folhas de *T. papyrifera* através de três métodos diferentes, DPPH, ABTS+ e atividade antioxidante com o sistema β -caroteno/ ácido linoleico.

O ensaio DPPH mede a capacidade de uma substância de eliminar o radical DPPH, reduzindo-o ao composto hidrazina, isto ocorre quando uma substância que atua como doadora de átomos de hidrogênio é adicionada a solução DPPH, obtendo a hidralazina e, como resultado, ocorrendo a mudança de coloração do composto de violeta para amarelo pálido (Formagio *et al.*, 2014). O método ABTS + é aplicado para a medição da atividade antioxidante total de substâncias puras e constitui-se de um método espectrofotométrico (Sari, 2016). E, o sistema β -caroteno avalia a capacidade de uma substância em prevenir a oxidação do β -caroteno, protegendo-o dos radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico (Formagio *et al.*, 2014). A atividade antioxidante por este método é muito útil especialmente na investigação de antioxidantes lipofílicos (Bergamashi, 2010).

A interpretação dos resultados obtidos do método DPPH e ABTS + foram expressas em IC₅₀ (concentração inibitória) mostrados na tabela 3 (atividade antioxidante do extrato aquoso) e 4 (atividade antioxidante do óleo essencial).

Tabela 3 – Atividade antioxidante do extrato de *T. papyrifera* pelos métodos DPPH, ABTS + e autooxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.

AMOSTRA	DPPH	ABTS	β -CAROTENO / ÁCIDO LINOLEICO
	Sequestro de radical IC ₅₀ (ug/mL)		Peroxidação (AA%)
Extrato <i>T.papyrifera</i>	29,33 $\pm$ 0,02	78,90 $\pm$ 0,04	55,65 $\pm$ 0,07
Quercetina	20,72 $\pm$ 0,02	27,4 $\pm$ 0,04	86,65 $\pm$ 0,04
Ácido Ascórbico	26,16 $\pm$ 0,06	60,91 $\pm$ 0,02	
BHT	17,4 $\pm$ 0,04	26,2 $\pm$ 0,04	

Legenda: IC₅₀ = concentração inibitória de 50%; AA% = atividade antioxidante avaliada pelo método β -caroteno / ácido linoleico. Os valores são expressos como média (n=3).

Fonte: A autora (2024)

Tabela 4 – Atividade antioxidante do óleo essencial de *T. papyrifera* pelos métodos DPPH, ABTS + e autooxidação do sistema β -caroteno / ácido linoleico.

AMOSTRA	DPPH	ABTS	β -CAROTENO / ÁCIDO LINOLEICO
	Sequestro de radical IC ₅₀ (ug/mL)		Peroxidação (AA%)
Óleo <i>T.papyrifera</i>	89,56 $\pm$ 0,45	75,33 $\pm$ 0,67	22,72 $\pm$ 0,02
Quercetina	20,72 $\pm$ 0,02	27,4 $\pm$ 0,04	86,65 $\pm$ 0,04
Ácido Ascórbico	26,16 $\pm$ 0,06	60,91 $\pm$ 0,02	
BHT	17,4 $\pm$ 0,04	26,2 $\pm$ 0,04	

Legenda: IC₅₀ = concentração inibitória de 50%; AA% = atividade antioxidante avaliada pelo método β -caroteno / ácido linoleico. Os valores são expressos como média (n=3).

Fonte: A autora (2024)

Analisando os resultados da tabela, para o método DPPH, o extrato de *T. papyrifera* exibiu maior atividade antioxidante quando comparado com o óleo essencial, 29,33 $\pm$ 0,02 μ g/mL e 89,56 $\pm$ 0,45 μ g/mL, respectivamente. Quando avaliamos as amostras com as substâncias utilizadas como padrão, o extrato obteve valor mais aproximado dos resultados obtidos com a quercetina e ácido ascórbico, caracterizando-o como uma substância antioxidante. A atividade antioxidante utilizando o método DPPH foi observada, também, no extrato metanólico do caule de *T. papyrifera*, em estudo realizado por Jin *et al.* (2013) e Jeong-ae *et al.* (2013), sendo considerados por estes pesquisadores uma substância com potente ação antioxidante.

O extrato também obteve maior atividade antioxidante, quando comparado com o óleo essencial, no método de branqueamento do β -caroteno, atingindo uma porcentagem de 55,65% $\pm$ 0,07% em contraposição a 22,72% $\pm$ 0,02% do óleo essencial. Na Tabela 2, pode-se observar que os principais constituintes do extrato de

T. papyrifer são compostos polifenólicos e flavonoides caracterizados por apresentarem potente ação antioxidante, confirmando os resultados dos testes antioxidantes.

Para os resultados obtidos no teste ABTS+, ambas as amostras obtiveram resultados análogos, o extrato obteve um IC_{50} de $78,90 \pm 0,04$ e o óleo essencial obteve um IC_{50} de $75,33 \pm 0,67$. Os padrões utilizados como referência para esta metodologia foram a quercetina, o ácido ascórbico e o BHT, os quais apresentaram valores de IC_{50} mais adequados para a análise da atividade antioxidante.

6.5 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

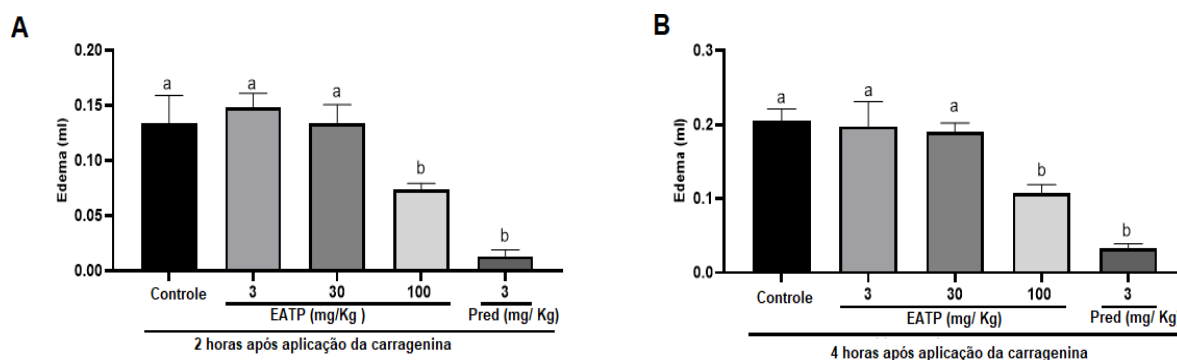
6.5.1 Edema de Pata, Hiperalgesia Mecânica e Estimulação Térmica ao Frio

A atividade anti-inflamatória do extrato de folhas de *T. papyrifer* foi avaliada através da análise dos seguintes métodos: verificação da espessura do edema de pata induzido por carragenina, demonstração da sensibilidade mecânica da pata com edema utilizando o teste de Von Frey (Insight®, EFF 301, analgesímetro digital) e demonstração da estimulação térmica ao frio utilizando a acetona (20 μ L).

Proveniente das algas vermelhas, principalmente a alga *Chondrus crispus*, a carragenina é um polissacarídeo sulfatado encontrado em Carragheen (Irlanda). A sua utilização, nos métodos de experimentação animal para modelos de inflamação *in vivo*, possibilita a avaliação tanto do processo inflamatório como também a nocicepção, pois caracteriza-se pela liberação de histamina, serotonina e bradicinina (1-2 h após a indução) e uma grande produção de prostaglandinas e NO na segunda fase (3-6 h após a indução), desenvolvendo, assim, o edema por aumento da permeabilidade vascular (Kassuya, 2019).

A verificação da espessura do edema da pata foi avaliada a partir das 2 h e 4 h após a aplicação da carragenina (Gráfico 5A-B). Após 2 h, o tratamento oral com EATP (100 mg/kg) inibiu significativamente a formação de edema em comparação com o grupo controle, apresentando uma modesta redução deste após a quarta hora de observação, com inibições de 44,77% e 47,57%, respectivamente (Tabela 5). O controle positivo, prednisolona (3 mg/kg) exibiu uma porcentagem de redução do edema nos dois momentos de observação, 90,29% e 83,98%, respectivamente. Para as doses baixas 3 mg/kg e 30 mg/kg, a porcentagem de redução do edema não foi significativa.

Gráfico 5 – Efeito da administração oral de EATP no edema de pata induzido por carragenina.



Legenda: Os animais receberam EATP, via oral, (3, 30 e 100 mg/Kg), solução salina estéril 0,9% (controle) e prednisolona (3 mg/Kg) e injeção intraplantar de carragenina 2 h e 4 h. Cada barra representa a média de 6 animais. Teste ANOVA: a = controle; b = $p < 0,001$; c = $p < 0,05$ em comparação com o grupo controle.

Tabela 5 – % de inibição do edema de pata após a administração de EATP

Edema após 2 h	% inibição	Edema após 4 h	% inibição
EATP 3 mg/kg	-	EATP 3 mg/kg	3,88
EATP 30 mg/kg	- EATP 100	EATP 30 mg/kg	7,76
mg/kg	44,77	EATP 100 mg/kg	47,57
Prednisolona 3 mg/kg	90,29	Prednisolona 3 mg/kg	83,98

Fonte: A autora.

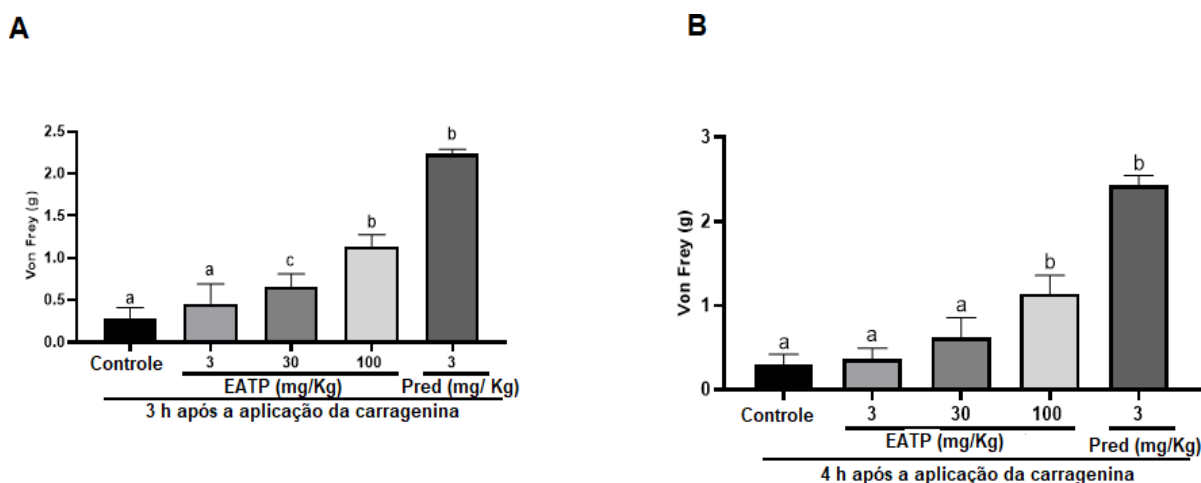
A nocicepção em animais pode ser mensurada através de testes que avaliam os limiares nociceptivos, baseando-se em estados agudos de dor que dependem de estímulos mecânicos, térmicos ou químicos para desencadear a nocicepção no animal. O teste nociceptivo relacionado à estimulação mecânica comumente utilizado é o Teste de *Von Frey* que consiste em um conjunto de monofilamentos de nylon de várias espessuras que exercem diferentes graus de força quando aplicados sobre a área glabra da pata com a finalidade de induzir o reflexo de retirada, lambida ou sacudida da pata (Medeiros *et al.*, 2020).

Os testes relacionados à estimulação térmica compreendem tanto aqueles que envolvem o estímulo quente como o frio. Neste emprega-se a acetona que, através do seu processo de evaporação, produz um estímulo frio detectável em animais com alguma lesão. Geralmente, os resultados são expressos em o número de retirada, lambida ou sacudidas repetidas da pata (Medeiros *et al.*, 2020).

Para a análise da sensibilidade mecânica (Gráfico 6A-B), a administração oral do EATP (100 mg/mL) apresentou uma redução significativa (Tabela 6) tanto a partir

da terceira hora (75,43%) como a partir da quarta hora (73,68%) quando comparados com o controle positivo prednisolona (3 mg/mL), 87,44% e 87,66%, respectivamente. A dose de 30 mg/mL também demonstrou redução na sensibilidade mecânica na pata exposta à carragenina de 57,57% (2 h) e 51,61% (4 h).

Gráfico 6 – Efeito da administração oral de EATP no teste de *Von Frey*.



Legenda: Os animais receberam EATP, via oral, (3, 30 e 100 mg/kg), solução salina estéril 0,9% (controle) e prednisolona (3 mg/kg) e teste de *Von Frey* 3 h e 4 h. Cada barra representa a média de 6 animais. Teste ANOVA: a = controle; b = $p < 0,001$; c = $p < 0,05$ em comparação com o grupo controle.

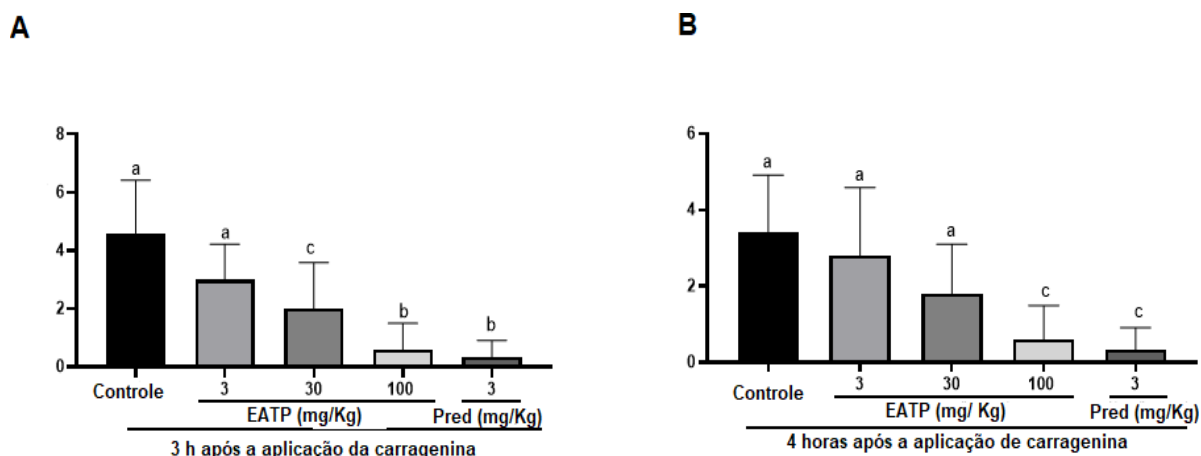
Tabela 6 – % de inibição para o Teste de *Von Frey*.

Teste de <i>Von Frey</i> após 3 h	% inibição	Teste de <i>Von Frey</i> após 4 h	% inibição
EATP 3 mg/kg	39,13	EATP 3 mg/kg	16,66
EATP 30 mg/kg	57,57	EATP 30 mg/kg	51,61
EATP 100 mg/kg	75,43	EATP 100 mg/kg	73,68
Prednisolona 3 mg/kg	87,44	Prednisolona 3 mg/kg	87,66

Fonte: A autora.

Na demonstração de sensibilidade ao frio, os animais foram observados após a aplicação da acetona. A inibição máxima da sensibilidade ao frio foi medida em 86,95% e 82,35% para EATP (100 mg/kg) às 3 h e 4 h após a aplicação de carragenina, respectivamente (Gráfico 7A-B). A dose de 30 mg/kg do EATP também reduziu a sensibilidade, demonstrando uma porcentagem de inibição de 57,57% após 2h e 51,61% após 4h (Tabela 7).

Gráfico 7 – Efeito da administração oral de EATP no teste de estimulação ao frio.



Legenda: Os animais receberam EATP, via oral, (3, 30 e 100 mg/kg), solução salina estéril 0,9% (controle) e prednisolona (3 mg/kg) e estimulação ao frio 3 h e 4 h. Cada barra representa a média de 6 animais. Teste ANOVA: a = controle; b = $p < 0,001$; c = $p < 0,05$ em comparação com o grupo controle.

Tabela 7 – % de inibição nociceptiva a estimulação ao frio.

Estimulação ao frio após 3 h	% inibição	Estimulação ao frio após 4 h	% inibição
EATP 3 mg/kg	34,78	EATP 3 mg/kg	17,64
EATP 30 mg/ kg	56,52	EATP 30 mg/ kg	47,05
EATP 100 mg/kg	86,95	EATP 100 mg/kg	82,35
Prednisolona 3 mg/kg	92,76	Prednisolona 3 mg/kg	90,2

Fonte: A autora.

Dessa forma, pode-se verificar que o EATP apresentou atividade anti-hiperalgésica, inibindo a hiperalgesia mecânica e a sensibilidade ao frio até mesmo nos testes utilizando concentrações menores de EATP (30 mg/kg), repercutindo em uma porcentagem de inibição acima de 50% em ambos. No que se refere aos efeitos anti-inflamatórios do EATP, foi necessário a utilização de 100 mg/kg (dose máxima utilizada) para que ocorresse a diminuição da resposta inflamatória ocasionada pelo edema induzido pela carragenina.

8 CONCLUSÃO

No estudo anatômico de folhas de *Tetrapanax papyrifer* as principais características que se destacam são folha anfihipoestomática, presença de tricomas tectores pluricelulares unisseriados na base (4-6 células) e com porção apical ramificada, mesofilo dorsiventral, feixes vasculares colaterais, nervura mediana com formato biconvexo, além da presença de drusas de oxalato de cálcio e ductos secretores.

A análise microquímica revelou a presença de compostos fenólicos no floema da nervura central e pecíolo. No parênquima esponjoso da lâmina foliar e na bainha amilífera do sistema vascular do pecíolo foi observado a existência de grãos de amido. As características botânicas e químicas neste estudo auxiliam na identificação de *T. papyrifer* e fornecem subsídios farmacognósticos ao controle da qualidade de drogas vegetais e fitoterápicos.

Na investigação dos compostos químicos do óleo essencial, por CG-EM, foram identificadas 22 substâncias, com predominância em terpenos, sendo estes classificados em monoterpenos (α -pineno, β -pineno, limoneno e terpineol) e sesquiterpenos (δ -elemene, α -copaeno, β -elemene, α -gurjuneno, cariofileno, β -copaeno, α -humuleno, *allo*-aromadendreno, germacreno D, β -selineno, α -selineno, biciclogermacreno, α -muuroleno, α -cadineno, nerolidol, globulol, guaiol e α -muurolol).

Na análise fitoquímica do extrato aquoso, observou-se a presença de compostos fenólicos e flavonoides, em maior concentração, reafirmando os resultados dos testes para a ação antioxidantes.

Nos testes para a verificação da atividade anti-inflamatória, o EATP na concentração de 100 mg/kg obteve excelentes resultados, diminuindo o edema formado e, principalmente, apresentando atividade anti-hiperalgésica justificando a utilização popular do infuso de *T. papyrifer* para doenças de caráter inflamatório.

Verificou-se ainda que, a partir de buscas em periódicos e trabalhos, não há estudos sobre a temática especificamente apresentada nesta pesquisa. Dessa forma, o estudo possibilitará a oportunidade da sua continuidade.

REFERÊNCIAS

- ADMS, R.P.; **Identification of essential oils componentes by gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream, IL: Allured Business Media, 2012.
- AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrição**, v. 18, n. 1, 2002. DOI: 10.1016/s0899-9007(01)00695-5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11827770/>. Acesso em: 10 out. 2023.
- ALAMGIR, A.N.M. **Therapeutic use of medicinal plants and their extracts**: volume 1 [livro eletrônico], v. 2, Sheffield: Springer Cham, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-92387-1>. Acesso em: 5 ago. 2023.
- ALLENSPACH, M.; STEUER, C. α -Pinene: A never-ending story. **Elsevier**, Zürich, v. 190, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112857>. Acesso em: 01 set. 2023.
- ALMEIDA, V.P. *et al.* Investigations on the morpho-anatomy and histochemistry of the European mistletoe: *Viscum album* L. subsp. *album*. **Scientific Reports**, v. 13, n. 4604, 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-29799-z Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-29799-z> Acesso em: 11 set. 2023.
- ALVES, L.F.; Produção de fitoterápicos no Brasil: história, problemas e Perspectivas. **Rer. Virtual Quim.**, v. 5, n. 3, p. 450-513, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20130038> Disponível em: <https://rvq-sub.s bq.org.br/index.php/rvq/article/view/414/335> Acesso em: 25 maio 2024.
- ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/32841>. Acesso em: 12 out. 2023.
- ANTUNES, K.A. *et al.* Authentication and quality controlo f the Brazilian traditional herb “espinheira-santa” (*Monteverdia ilicifolia*) by morpho-anatomy and microscopy. **Microscopy and microanalysis**, v. 29, n. 5, p. 1809-1821, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/micmic/ozad098> Disponível em: <https://academic.oup.com/mam/article-abstract/29/5/1809/7252910?> Acesso em: 5 ago. 2023.
- AZEVEDO, T.K.B.; PAES, J.B.; CALEGARI, L. SANTANA, G.M. Teor de taninos condensados presente na casca de Jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) em função das Fenofases. **Floresta e Ambiente**, v. 24, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.026613>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/loram/a/Wc5CZqHJXnSfJpLWpHzfhRL/?lang=pt#ModalArticles>. Acesso em: 15 out. 2023.
- BAPTISTA, N.M.Q. de. **Investigação de propriedades biológicas de óleos essenciais de Lippia sp. (VERBENACEAE)**. 2018. Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Recife, Recife, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/32284>. Acesso em: 07 ago. 2023.

BARATTO, L.C. A Farmacognosia e os estudos das plantas medicinais no Brasil. In: Baratto LC, editor. **A Farmacognosia no Brasil Memórias da Sociedade Brasileira de Farmacognosia**. Petrópolis: Ed do Autor; 2021. p. 12-33.

BASE de dados Nacional de Espécies exóticas invasoras. Disponível em: <http://bd.institutohorus.org.br>. Acesso em: 27 jul. 2022.

BERGAMASHI, K.B. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/6b17/a8dffc7fdac0edbe127a973b1227c51577e1.pdf> Acesso em: 02 fev. 2024.

BERTOLDI, M.C. **Atividade antioxidante *in vitro* da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006. Disponível: <https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/2913>. Acesso em: 09 out. 2023.

BRANDÃO, M.G.L. das. **Plantas úteis e medicinais na obra de Frei Vellozo**. Belo Horizonte: 3i Editora Ltda, 2018. Disponível em: <https://www.ufmg.br/mhnbj/ceplamt/wp-content/uploads/2020/01/Vellozo-para-internet.pdf> Acesso em: 27 jul. 2022.

BRANQUINHO, L.S. *et al.* Anti-inflammatory and toxicological evaluation of essential oil from *Piper glabratum* leaves. **J. Ethnopharmacology**, v. 23, n. 198, p. 372-378, 2017. DOI: 10.1016/j.jep.2017.01.008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28109914/>. Acesso em: 11 set. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política Distrito Federal. **Programa e Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva da Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Política Distrito Federal. **Anuário Estatístico do Mercado Farmacêutico 2022**. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva da Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2023.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, 1998. DOI: 10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9838798/>. Acesso em: 9 out. 2023.

BUDEL, J.M. *et al.* Foliar anatomy and microscopy of six Brazilian species of *Baccharis* (Asteraceae). **Micros. Res. Tech.**, v. 81, n. 8, p. 832-842, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/jemt.23045>. Acesso em: 5 ago. 2023.

CONCEIÇÃO, L.O; AOYAMA, E.M. Anatomia e histoquímica da lâmina foliar de espécies conhecidas por quebra-pedra (*Euphorbia prostrata* Aiton, *Euphorbia hyssopifolia* L., *Phyllanthus amarus* Schumach. & Thonn e *Phyllanthus tenellus* Roxb.). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 18, n. 2, supl I, p. 571-581, 2016. DOI: 10.1590/1983-084X/15_226 Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/Zy5gm7rZfNVNdtXsm6vtRHg/?lang=pt> Acesso em: 16 maio 2022.

COSTA, D.F.N. **Potencial imunomodulador e antimicrobiano do (+)- α -Pineno e (+)- β -Pineno**. Dissertação (Pós-Graduação em Odontologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017. Disponível em: https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFPB-2_d87efa2fc6da134d3ce505847120b78b. Acesso em: 01 set. 2023.

COUTINHO, M.A.S.; MUZITANO, M.F.; COSTA, S.S. Flavonoides: potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Rev. Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009. DOI: 10.5935/1984-6835.20090024. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/51>. Acesso em 10 out. 2023.

D'ANDREA, G. Quercetin: a flavonol with multifaceted therapeutic applications? **Fitoterapia**, 2015. DOI: 10.1016/j.fitote.2015.09.018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26393898/>. Acesso em: 13 out. 2023.

DAVID, R.; CARDE, J.P. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du *Pin Maritime* au Moyen du reactif Nadi. **CR Acad. Sci. D**, Paris, v. 258, p. 1338-1340, 1964.

DORNAS, W.C. *et al.* Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n. 3, p. 241-249, 2007. Disponível em: <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/500>. Acesso em: 10 out. 2023.

DUARTE, M. C. T. Atividade Antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **MultiCiência**, Campinas, n. 7, 2006. Disponível em: <https://www.ufpb.br/nepfhf/contents/documentos/artigos/fitoterapia/atividade-antimicrobiana-de-plantas> Acesso em: 16 maio 2022.

FERREIRA, L.S.dos. **Caracterização do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata*) coletado sazonalmente na floresta nacional do Tapajós, Pará, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais da Amazônia) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufopa.edu.br/jspui/handle/123456789/172>. Acesso em: 01 set.2023.

FIASCHI, P.; MENDAÇOLLI, S.L.J.; CABRAL, L.P.; FRODIN, D.G. Araliaceae. In: WANDERLEY, M.G.L; SHEPHERD, G.J.; MELHEM, T.S.; GIULIETTI, A.M. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2007. Disponível em: https://www.infraestruturameioambiente.sp.gov.br/institutodebotanica/wp-content/uploads/sites/235/2016/06/FFESP-Volume-V_06_24.pdf. Acesso em: 26 jun. 2023.

FIASCHI, P.; PIRANI, J.R. Four new species of *Schefflera* (Araliaceae) from Espírito Santo state, Brazil. **Kew Bulletin**, v. 60, n. 1, p. 77-85. 2005. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/4110886> Acesso em: 20 jun. 2023.

FIGUEREDO, A.C.S. *et al.* **Histoquímica e citoquímica em plantas: Princípios e protocolos.** [livro eletrônico]. Lisboa: Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal, 2007. Disponível em: http://www.uesc.br/centros/cme/arquivos/apostila_histoquimica_lisboa_2014.pdf. Acesso em: 11 set. 2023.

FORMAGIO, A.S.N. *et al.* Evaluation of Antioxidant Activity, Total Flavonoids, Tannins and Phenolic Compounds in Psychotria Leaf Extracts. **Antioxidants**, v. 3, n. 4, p. 745-757, 2014. DOI: 10.3390/antiox3040745. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/3/4/745>. Acesso em: 22 jan. 2024.

FORMAGIO, A.S.N. *et al.* Potencial Alelopático e antioxidante de extratos vegetais. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 629-638, 2013. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/18233/15223>. Acesso em: 04 ago. 2023.

FROTA, J.K.C. **Avaliação química e atividade antitumoral *in vitro* do óleoresina de *Copaifera reticulata* Ducke.** 2018. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, 2018. Disponível em: https://repositorio.ufopa.edu.br/jspui/bitstream/123456789/454/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o_Avalia%C3%A7%C3%A3oQu%C3%ADmicasAtividade.pdf. Acesso em: 7 ago. 2023.

FUJITA, S. On the componentes of the essential oil from *Tetrapanax papyrifera* K.Koch. **Agric. Biol. Chem.**, v. 44, n. 8, p. 1953-1955, 1980. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb1961/44/8/44_8_1953/_pdf Acesso em: 13 jun. 2024.

GALÚCIO, C.S. *et al.* Recuperação de sesquiterpenos do óleo-resina de copaíba a partir da destilação molecular. **Química nova**, v. 39, n. 7, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160096>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/sTNCrWm3xSSkqJCptZ9RnHH/#ModalArticles>. Acesso em: 07 ago. 2023.

GAMERRO, J.C.; ZULOAGA, F.O. *Dendropanax affinis*, nueva combinación y sinopsis de las Araliaceae argentinas. **Instituto de Botánica Darwinion**, Buenos Aires, v. 35, n.1/4, p. 163-166, 1998. Disponível em: <https://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/407>. Acesso em: 7 ago. 2023.

GOVAERTS, R. *et al.* The world checklist os vascular plants, a continuously updated resource for exploring global plant diversity. **Scientific data**, v. 8, n. 215, p. 01-10, 2021. DOI: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.15035046> Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41597-021-00997-6>. Acesso em: 3 jan. 2023.

GRUSHVITZKY, I.V. *et al.* Comparative anatomic and morphological investigation of the leaf in the genus *Panax* L. (Araliaceae). In: LYU, B. (ed.). **Voprosy sravnitel'noi morfologii semenbykh rastenii**. Leningrad: Mauka, p.80-89, 1975.

HALL, J.E. **Guyton & Hall Tratado de fisiologia médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

HEINZMANN, M.B.; SPITZER, V.; SIMÕES, C.M.O. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. (org.). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 163-184.

HERNÁNDEZ, M.; CIVITELLA, S.F.; ROSATO, V.G. Uso medicinal popular de plantas y líquenes de la Isla Paulino, Provincia de Buenos Aires, Argentina. **Bol. Latinoamericano y del Caribe de Pl. Med. y Aromáticas**, Chile, v. 9, n. 4, p. 258- 268, 2010. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85615195003.pdf>. Acesso em: 6 jan. 2024.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **IBGE avalia os registros de dados sobre a biodiversidade brasileira**. Geociências, 2023. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/38420-ibge-avalia-os-registros-de-dados-sobre-a-biodiversidade-brasileira>. Acesso em: 27 nov. 2023.

JEONG, B-G. *et al.* Ginsenoside contents and antioxidant activities of cultivated mountain ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) with different ages. **The Korean Society os Food Preservation**, Coréia, v. 26, n. 1, p. 90-100, 2019. Disponível em: https://www.ekosfop.or.kr/archive/view_article?pid=kjfp-26-1-90. Acesso em: 6 jul. 2024.

KASSUYA, R.M. **Efeito anti-inflamatório do extrato etanólico obtido da parte aérea do *Blutaparon portulaciodes***. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados/MS, 2019.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia básica e clínica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

KIM, D-S. *et al.* Alpha-Pinene exhibits anti-inflammatory activity through the suppression of MAPKs and the NF-κB Pathway in mouse peritoneal macrophages. **The American Journal of Chineses Medicine**, v. 43, n. 4, p. 731-742, 2015. DOI: DOI: 10.1142/S0192415X15500457. Disponível em: <https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S0192415X15500457>. Acesso em: 9 set. 2023.

KRÜGER, A.A. **“Paper” made from Pith – A revolution of Rice Paper in early modern China e Europe**. 2019. Dissertação (Mestrado em Artes) - Universidade Ruprecht-Karls de Heidelberg. Faculdade de Filosofia, Heidelberg, 2019.

KUJALA, T.S.; LOPONEN, J.M.; KLIKA, K.D.; PIHLAJA. Fenólicos e betacianinas na raiz de beterraba vermelha (*Beta vulgaris*): Distribuição e efeito do armazenamento refrigerados no conteúdo do total fenólico e três compostos individuais. **J. Agric. Química Alimentar**, v. 48, n. 11, 2000. DOI: 10.1021/jf000523q. Acesso em: 9 out. 2023.

LIMA, R.A. *et al.* A importância da taxonomia, fitoquímica e bioprospecção de espécies vegetais visando o combate e enfrentamento ao COVID-19. **SAJEBTT**. v. 7, n. 1, p. 607-6017, 2020. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/3721>. Acesso em: 01 mar. 2024.

MACHADO, C.D. *et al.* Contributions of trichome micromorphology to the characterization of species traded as “BOLDO”. **Elsevier**, v. 279, n. 151827, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151827>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367253021000669>. Acesso em: 4 ago. 2023.

MACHADO, C.D. *et al.* Ethnopharmacological investigations of the leaves of *Cecropia pachystachya* Trécul (Urticaceae): a native brazilian tree species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 270, n. 113740, 2021; DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2020.113740>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037887412033628X?via%3Dihub>. Acesso em: 4 ago. 2023.

MACHADO, C.D. *et al.* *Schinus molle*: anatomy of leaves and stems, Chemical composition and insecticidal activities of volatile oil Against bed bug (*Cimex lectularius*). **Rev. Bras. Farmacog.**, v. 29, n. 1, p 1-10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.10.005> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X18303673?via%3Dihub> Acesso em: 16 maio 2024.

MANFRON, J. Farmacobotânica: uma ferramenta importante para a detecção de adulterantes em matérias-primas vegetais. In: BARATTO, L.C. (ed.). **A Farmacognosia no Brasil Memórias da Sociedade Brasileira de Farmacognosia**. Petrópolis: Ed do Autor, 2021. p. 259-276.

MARCUCCI, A.C. *et al.* Espectroscopia UV-VIS e reação com o radical DPPH para a detecção de flavonoides e determinação do potencial antioxidante de extratos de própolis. **Rev. Eletrôn. Ciên. Exatas**, v. 1, n. 1, 2020. Disponível em: <https://www.revistaeletronicafunvic.org/index.php/c14ffd12/article/view/190/195>. Acesso em: 10 out. 2023.

MEDEIROS, P. de *et al.* Modelos neuropsicobiológicos para estudo da dor e das emoções. **Psicologia em Pesquisa**, v. 14, n. 3, p. 66-82. Disponível em: <https://periodicos.ufff.br/index.php/psicologiaempesquisa>. Acesso em: 13 fev. 2024.

MELGAÇO, S.S.C. *et al.* Nefrotoxicidade dos anti-inflamatórios não esteroidais. **Rev. Medicina (Ribeirão Preto)**, Ribeirão Preto, v. 43, n. 4, p. 382-390, 2010. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v43i4p382-390> Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/188> . Acesso em: 01 ago. 2023.

MELLO, J.C.O.; SANTOS, S.C. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 235-248.

MENEZES, A.C.P.; CASTRO, C.F.S. Avaliação físico-química e atividade do óleo essencial de *Myrocarpus fastigiatus* e óleo-resina de *Copaifera multijuga*, **Rev. Arquivos Científicos (IMMES)**, Macapá, v. 3, n. 1, p. 117-123, 2020. Disponível em: <https://arqcientificosimmes.emnuvens.com.br/abi/article/view/356> Acesso em: 8 ago. 2023.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN. **Tropicos - Araliaceae Project**. Disponível em: <http://legacy.tropicos.org/Project/Araliaceae>. Acesso em: 7 out. 2024.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Quim. Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005. DOI:

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000500029>. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/qn/a/YJDjDfvLBpkkbFXML3GPjdt/?lang=pt#>. Acesso em: 13 out. 2023.

MOON, S-H. *et al.* Cytotoxicity and Apoptosis-induced Activity of Extracts from *Tetrapanax papyriferus*. **Cancer Prevention Research**, Coréia, v. 15, n. 3, p. 241- 247, 2010.
 Disponível em: <https://www.jcpjournal.org/journal/view.html?pn=search&uid=187&vmd=Full>
 Acesso em: 25 maio 2024.

NESBITT, M.; PROSSER, R.; WILLIAMS, I. Rice-paper plant – *Tetrapanax papyrifer* The Gauze of the Gods and its products. **Curtis's Botanical Magazine**, Kew, v. 27, n. 1, p. 71-92, 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/227754061>. Acesso em: 16 maio 2024.

OLIVEIRA, F. de.; AKISUE, G. **Fundamentos básicos de Farmacobotânica e de morfologia vegetal**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2009.

OLIVEIRA, M.G. de. **Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE-DAD para quantificação da hibalactona isolada das partes subterrâneas de *Hydrocotyle umbellata* L. (Araliaceae) e otimização da sua extração por ultrassom**. 2018.
 Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.

OSTROUMOVA, T.A.; OSKOLSKI, A.A. Survey of the leaf anatomy of Araliaceae and some related taxa. **Plant. Div. Evol**, v. 128, n. 3, p. 423-441, 2010. Disponível em:
https://www.researchgate.net/profile/Alexei-Oskolski/publication/233614826_Survey_of_the_leaf_anatomy_of_Araliaceae_and_some_related_taxa/links/53ce7fa80cf2d9fc4314a800/Survey-of-the-leaf-anatomy-of-Araliaceae-and-some-related-taxa.pdf?_sg%5B0%5D=started_experiment_milestone&origin=journalDetail Acesso em: 05 ago. 2023.

PAIVA, S.R.; HERINGER, A.P.; FIGUEIREDO, M.R.; KAPLAN, M.A.C. Taninos condensados de espécies de Plumbaginaceae. **Floresta e Ambiente**, v. 9, n. 1, p. 153-157, 2002. Disponível em: <https://floram.org/article/588e2200e710ab87018b45e7>. Acesso em: 15 out. 2023.

PETENATTI, E.M.; PETENATTI, M.E.; DEL VITO, L.A. Medicamentos Herbarios en el Centro-Oeste Argentino. "Ambay": Control de calidad de la droga oficial y sus adulterantes. **Acta Farm. Borzaeretlse**, v. 17, n. 3, p. 197-212, 1998. Disponível em:
https://www.academia.edu/16672027/Medicamentos_Herbarios_en_el_Centro_Oest_e_Argentino_I_Ambay_Control_de_Calidad_de_la_Droga_Oficial_y_sus_Adulterante_s.
 Acesso em: 4 ago. 2023.

PIRES, J.S. *et al.* Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas. **Instituto de Biociências**, Universidade de São Paulo, 2017. Disponível em: <https://docplayer.com.br/112837262-Ensaio-em-microplaca-de-substancias-redutoras-pelo-metodo-do-folin-ciocalteu-para-extratos-de-algas.html>. Acesso em: 9 out. 2023.

RAMALHO, S. R. **Avaliação da atividade antioxidante e quantificação do teor de fenóis, flavonóides e taninos condensados de *Psychotria carthagenensis* e *P. leiocarpa***. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

RAMAN, V. *et al.* Application of microscopy in the quality control of licorice roots: comparative anatomy of the roots and rhizomes of five species of *Glycyrrhiza*. **Microscopy and Microanalysis**, v. 28, n. 1, p. 2150-2166, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1431927622012399>. Disponível em: <https://academic.oup.com/mam/article-abstract/28/6/2150/6995573>? Acesso em: 5 ago. 2023.

RAMBO, M.A. **Óleos voláteis de espécies de *Ocotea* nativas do Rio Grande do Sul: composição química e atividade antioxidante, anti-inflamatória e antifúngica**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014. Disponível em: www.lume.ufrgs.br/handle/10183/183335. Acesso em: 8 set. 2023.

RATES, S.M.K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Rev. Bra. Farmacogn.**, v. 11, n. 2, p. 57-69, 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/WX4tXvNGQ9XKxJZz8XZM6Dv/?format=pdf&lang=pt> Acesso em: 20 set. 2023.

RIBEIRO, D.A. *et al.* Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 912-930, 2014. DOI: 10.1590/1983-084X/13_059. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/k8cDGCLh3WTwtBtYjttCSfs/?lang=pt> Acesso em: 16 maio 2022.

ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S. **Robins e Cotran, as bases patológicas das doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

RODRIGUES, A.C.; AMANO, E.; ALMEIDA, S.L. de. **Anatomia vegetal**. Florianópolis: Biologia/EaD/UFSC, 2015. Disponível em: <https://antigo.uab.ufsc.br/biologia/files/2020/08/Anatomia-Vegetal.pdf>. Acesso em: 4 ago. 2023.

ROH, E-J.; KIM, B-K.; KIM, D-S. Antioxidative activity and antiaging effects of *Tetrapanax papyriferum* extract. **J. of the Korean Oil Chemists'Soc.**, Coréia, v. 28, n. 2, p. 219-224, 2011. DOI: 10.4014/kjmb.1306.06002 Disponível em: <https://koreascience.kr/article/JAKO201134036353878.page>. Acesso em: 25 maio 2023.

ROJAS, S.Y.; CUDMANI, N.; ROJO S.J de.; ISLA, M.I. Estudios Morfoanatómicos y Actividad Antineumocócica y Antioxidante de Hojas de *Tetrapanax papyriferum* (Hook.) C. Koch. **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 27, n. 1, p. 05-09, 2008. Disponível em: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/100869> Acesso em: 13 jun. 2023.

ROYAL BOTANIC GARDENS, KEW. Plants of the World Online. ***Tetrapanax* (K.Koch) K.Koch**. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:3112-1> . Acesso em: 7 out. 2024.

SALEHI, B. *et al.* Therapeutic potential of α - and β -Pinene: A Miracle Gift of nature. **Biomolecules**, v. 9, n. 11. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom9110738> Acesso em: 28 ago. 2023.

SANDOVAL, A.C. *et al.* O uso indiscriminado dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). **Rev. Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, Rondônia, v. 8, n. 2, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/0.31072/rcf.v8i2.589> Disponível em: <https://revista.faema.edu.br/index.php/Revista-FAEMA/article/view/589> Acesso em: 01 ago. 2023.

SANTOS, D.S.; RODRIGUES, M.M.F. Atividades Farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica**, Macapá, v. 7, n. 3, p. 29-35, 2017. DOI: **10.18468/estcien.2017v7n3.p29-35**. Disponível em: <https://periodicos.unifap.br/index.php/estacao/article/view/3639>. Acesso em: 10 out. 2023.

SiBBR. Sistema de informação sobre a Biodiversidade Brasileira. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. **IBGE avalia os registros de dados sobre a biodiversidade brasileira**. 2023. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/38420-ibge-avalia-os-registros-de-dados-sobre-a-biodiversidade-brasileira> Acesso em: 27 nov. 2023.

SILVA, J.V. da. ***Trichilia silvatica* (C. DC.)**: Perfil fitoquímico, avaliação antioxidante e antiinflamatória. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/bitstream/prefix/1391/1/JacenirVieiradaSilva.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2024.

SILVA, M.L.C. *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-681, 2010. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744097017>. Acesso em: 13 dez. 2023.

SILVA, M.S. **Avaliação antioxidante e quantificação de metabólitos secundários de *Psychotria deflexa* D. C. (RUBIACEAE)**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2015. Disponível em: <https://dspace.ufgd.edu.br/jspui/handle/123456789/609>. Acesso em: 02 fev. 2024.

SILVA, P.S.S. da. **Caracterização da composição química dos óleos essenciais de *Lychnophora pinaster* Mart. em função da sazonalidade**. 2013. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2013. Disponível em: https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UNSP_41640fcfc7109eaaaa63800c0bdc0c65. Acesso em: 07 ago. 2023.

SOBRINHO, T.J.S.P. *et al.* Otimização de metodologia analítica para o doseamento de flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Quim. Nova**, v. 33, n. 2, p. 288-291, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/psWT3DPPxsYRmVb9BLCQvGh/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 10 out. 2023.

SOUSA, C.M.M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/4d6yvCyDmhHyfP9ZJqV6nDy/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 09 out. 2023.

SUK, K.; OH, Y. N.; LEE, J. Y.; SON, B. Y.; CHOI, W.; LEE, E-W.; KWON, J.; KIM, B. W. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of seven medicinal herbs including *Tetrapanax papyriferus* and *Piper longum* Linne. **Korean J. Microbiol. Biotechnol.**, Coréia, v. 41, n. 2, p. 253-262, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.4014/kjmb.1207.07022>. Disponível em: <https://koreascience.kr/article/JAKO201321241028837.page>. Acesso em: 25 maio 2022.

VENTRELLA, M.C.; ALMEIDA, A.L.; NERY, L.A.; COELHO, V.P.M. de. **Métodos histoquímicos aplicados às sementes** [livro eletrônico]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. Coordenadoria de Educação Aberta e a Distância, 2013.

VIGUIER, R. Recherches anatomiques sur la classification des Araliacées. **Ann. Sci. Nat. Bot**, v. 9, n. 4, 1906.

VILLIERS, B.J.de.; TILNEY, P.M.; WYK, B.V. The taxonomic significance of leaf anatomical characters in *Cussonia* and related genera (Araliaceae). **Botanical J. of the Linnean Society**, v. 164, n. 3, p. 246-263, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2010.01085.x>. Disponível em: <https://academic.oup.com/botlinnean/article/164/3/246/2418519?> Acesso em: 5 ago. 2023.

WU, W. Y.; WEBER, H. C., IMHOF, S. Morphogenesis and Structure of Hairs of *Tetrapanax papyriferus* (Hook.) K.Koch (Araliaceae). **Biologie d. Pflanzen**, v. 73. 2004. p. 213-221. Disponível em: https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/15978/paleo_Wu_et_al_2004_Biologie_d._Pflanzen_.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 25 maio 2022.

ZAMPIERI, F.G. **Caracterização morfoagronômica, avaliação da composição química e atividade antimicrobiana de óleo-resina de pimentas do gênero *Capsicum***. 2022. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, Alegre, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ifes.edu.br/handle/123456789/2104>. Acesso em: 7 ago. 2023.

ZHANG, D. *et al.* Therapeutic Effect of *Tetrapanax papyriferus* and Hederagenin on Chronic Neuropathic Pain of Chronic Constriction Injury of Sciatic Nerve Rats Based on KEGG Pathway Prediction and Experimental Verification. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, p. 01-11, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2020/2545806>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2020/2545806/> Acesso em: 25 maio 2022.

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A.; ZUCOLOTO, S.M. Flavonoides. *In*: **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 209-234.

ANEXO A – AUTORIZAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Dourados-MS, 17 de novembro de 2017.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **"Estudo fitoquímico e avaliação da atividade farmacológica de espécies vegetais"**, protocolo nº 07/2017, sob responsabilidade de Anelise Samara Nazari Formagio – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFGD) da Universidade Federal da Grande Dourados, em reunião de 02 de outubro de 2017.

Vigência do Projeto	20/11/2017 – 20/11/2022
Espécie/linhagem	Mus musculus / Swiss Rattus norvegicus / Wistar
Nº de animais	256 Mus musculus / Swiss 50 Rattus norvegicus / Wistar
Peso/idade	Mus sp. 25-30g / 45 dias Rattus sp 200-300g / 60 dias
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Camundongos Swiss e Ratos Wistar – Biotério da Faculdade Ciências da Saúde/FCS-UFGD

Melissa Negrão Sepulveda

Melissa Negrão Sepulveda
Coordenadora CEUA

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFGD – Rua João Rosa Góes, 1761 – Vila Progresso.
Dourados/MS. E-mail: ceua@ufgd.edu.br