

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

ANDRESSA ROCKENBACH

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E BIOATIVIDADES DO ÓLEO ESSENCIAL DE
ESPÉCIMES FEMININO E MASCULINO DE *Baccharis dracunculifolia* DC.**

SANTA HELENA

2021

ANDRESSA ROCKENBACH

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E BIOATIVIDADES DO ÓLEO ESSENCIAL DE
ESPÉCIMES FEMININO E MASCULINO DE *Baccharis dracunculifolia* DC.**

**Chemical composition and bioactivities of essential oil from female and male
specimen of *Baccharis dracunculifolia* DC.**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentada como requisito para obtenção do título de
Licenciado em Ciências Biológicas da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jociani Ascari

SANTA HELENA

2021



Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

ANDRESSA ROCKENBACH

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E BIOATIVIDADES DO ÓLEO ESSENCIAL DE
ESPÉCIMES FEMININO E MASCULINO DE *Baccharis dracunculifolia* DC.**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Licenciado em Ciências Biológicas da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 06/dezembro/2021

Jociani Ascari
Titulação (Doutorado)
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Adriana Maria Meneghetti
Titulação (Doutorado)
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Daniel Rodrigues Blanco
Titulação (Doutorado)
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SANTA HELENA

2021

Dedico este trabalho a minha família, que sempre me incentivou e apoiou totalmente para buscar a formação acadêmica, priorizando todos os momentos da graduação, não medindo esforços para me auxiliar.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser força e luz em todos os instantes;

A minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Jociani Ascari pelas oportunidades de desenvolvimento pessoal e profissional, pelos conhecimentos e paciência;

Ao Dr. Gustavo Heiden pelas identificações botânicas;

À Dr^a. Dilamara Riva Scharf e ao Dr. Edésio Simionatto pelas análises cromatográficas;

Ao Dr. Michel Fleith Otuki e à Margareth Mello Brandenburg pelos ensaios de atividade anti-inflamatória;

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Santa Helena por disponibilizar os materiais e laboratórios de pesquisa;

Ao Murilo Silva de Oliveira por todo o auxílio no laboratório de pesquisa, companheirismo, amizade, por me lembrar que devemos confiar em nós mesmos sempre, imprescindível para o desenvolvimento deste trabalho;

A minha irmã Bruna Rockenbach, por ser meu porto seguro, pelo apoio, auxílio, confiança e amor em todos os momentos de minha vida;

Aos meus pais Olindo Rockenbach e Silei Cecília Löff Rockenbach e a minha vó Maria Lúcia Rockenbach que sempre incentivaram na busca pelo conhecimento, pelo cuidado, apoio e por nunca ter me deixado desistir, crucial para toda a minha vida e formação acadêmica;

À Aline Aparecida de Chaves pela amizade, irmandade e confiança, por ser paz e estabilidade em todas as situações, por nunca me deixar desistir e nunca desistir de mim;

À Jennifer Gomes da Silva e à Teresita Victoria de Dios Ortiz Frá pela amizade, companheirismo, parceria e por acreditar em nosso potencial, fundamentais para meu crescimento acadêmico e como pessoa;

Ao Cesar Augusto Kappes pelo companheirismo e amizade ao longo de todos os anos, por ser mansidão, por me apoiar veementemente, por manter minha racionalidade e incentivar a nunca deixar de sonhar.

RESUMO

ROCKENBACH, Andressa. **Composição química e bioatividades do óleo essencial de espécimes feminino e masculino de *Baccharis dracunculifolia* DC.** 2021. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas), Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Santa Helena, 2021.

Baccharis dracunculifolia DC. é uma importante espécie do gênero *Baccharis* L., nativa no Brasil, porém não endêmica, ocorre nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, utilizada na medicina tradicional para o tratamento de inapetência, esgotamento físico, distúrbios gástricos, afecções febris, inflamações e diabetes. Devido a relevância e a necessidade de novos estudos com essa espécie, este trabalho tem como objetivo a análise e identificação química por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e detector de ionização de chamas (CG-EM-DIC) dos óleos essenciais das folhas de espécimes masculinos (BDM) e femininos (BDF) de *B. dracunculifolia* e avaliação da atividade anti-inflamatória tópica e atividade antioxidante. O material vegetal foi coletado na cidade de Santa Helena, Paraná, exsiccadas foram confeccionadas e identificadas, posteriormente foram depositadas no Herbário da Embrapa Clima Temperado. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação com o aparelho Clevenger modificado. Avaliou-se a atividade anti-inflamatória tópica observando o efeito antiedematogênico induzido por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) na orelha direita dos camundongos após 6 horas e 24 horas, migração de células inflamatórias e redução da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), utilizando a dexametasona (DEXA) como controle positivo e a atividade antioxidante frente ao radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). A análise CG-EM-DIC caracterizou 81,11% da amostra masculina, identificando majoritariamente o biciclogermacreno (14,18%), o β -cariofileno (8,44%), o (E)-nerolidol (8,02%) e o limoneno (6,76%), enquanto que na amostra feminina identificou-se 73,56%, identificando majoritariamente o (E)-nerolidol (15,49%), o biciclogermacreno (11,88%), o limoneno (10,03%) e o β -cariofileno (6,66%). No teste anti-inflamatório, o óleo BDM diminuiu a formação do edema em todas as doses testadas, com $67,4 \pm 9,4\%$ de inibição (0,1 mg/orelha), $44,4 \pm 7,9\%$ (0,3 mg/orelha) e $81,8 \pm 5,9\%$ (1,0 mg/orelha) em 6 horas e BDF apresentou $37,5 \pm 12,6\%$ apenas na dose 1,0 mg/orelha, comparado ao grupo controle, de maneira que após 24 horas, os resultados foram ainda melhores, BDM apresentou $85,6 \pm 7,4\%$ (0,1 mg/orelha), $52,6 \pm 10,2\%$ (0,3 mg/orelha) e $95,0 \pm 5,0\%$ (1,0 mg/orelha) e BDF apresentou $87,4 \pm 12,5\%$ novamente apenas na dose 1,0 mg/orelha, quando comparado ao grupo controle. A diminuição da atividade enzimática da MPO foram de $77,6 \pm 22,2\%$ (0,1 mg/orelha), $71,1 \pm 13,9\%$ (0,3 mg/orelha) e $93,6 \pm 0,6\%$ (1,0 mg/orelha) para BDM, enquanto que na amostra BDF observou-se melhor atividade apenas na dose 1,0 mg/orelha com $81,8 \pm 45,5\%$ de redução em comparação ao grupo controle. A migração celular quando comparada com o grupo controle apresentou redução com a administração de BDM e BDF, sendo que os melhores resultados foram obtidos nas doses 1,0 mg/orelha com $97,1 \pm 0,4\%$ para BDM e $96,8 \pm 0,5\%$ para BDF. Na atividade antioxidante o óleo BDF apresentou $55,51 \mu\text{g}$ de ácido ascórbico equivalente por mL de amostra (μg de AAE/mL) na concentração 12,5 mg/mL, inibindo 25,53% do DPPH, enquanto que BDM apresentou $50,77 \mu\text{g}$ de AAE/mL na concentração 12,5 mg/mL,

inibindo 23,31% do DPPH. Mediante este trabalho é possível concluir que os óleos essenciais de ambos espécimes apresentaram significantes atividades anti-inflamatória e antioxidante, corroborando com a utilização da espécie na medicina tradicional.

Palavras chave: *Baccharis dracunculifolia* DC. Óleos essenciais. Atividade anti-inflamatória. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

ROCKENBACH, Andressa. **Chemical composition and bioactivities of essential oil from female and male specimen of *Baccharis dracunculifolia* DC.** 2021. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas), Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Santa Helena, 2021.

Baccharis dracunculifolia DC. is an important species of the genus *Baccharis* L., native from Brazil, but not endemic, it occurs in the South, Southeast and Midwest regions, and it's used in traditional medicine for the treatment of inappetence, physical exhaustion, gastric disorders, febrile affections, inflammation and diabetes. Due to the relevance and the need of further studies with this species, this work aims to analyze and chemically identify by gas chromatography coupled with mass spectrometry and flame ionization detector (GC-MS-FID) of essential oils from leaves of male (BDM) and female (BDF) specimens of *B. dracunculifolia* and the evaluation of topical anti-inflammatory and antioxidant activity. The plant material has been collected in the city of Santa Helena, Paraná, exsiccates were made and identified, later deposited in the Herbarium of Embrapa Clima Temperado. Essential oils were obtained by hydrodistillation with a modified Clevenger apparatus. Topical anti-inflammatory activity has been evaluated by observing the anti-edematogenic effect induced by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) in the right ear of mice after 6 hours and 24 hours, migration of inflammatory cells and reduced activity of the myeloperoxidase enzyme (MPO), using dexamethasone (DEXA) as a positive control and the antioxidant activity against the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical. The GC-MS-FID analysis has characterized 81.11% of the male sample, mainly identifying bicyclogermacrene (14.18%), β -caryophyllene (8.44%), (E)-nerolidol (8.02%) and limonene (6.76%), while in the female sample it has identified 73.56%, mainly identifying (E)-nerolidol (15.49%), bicyclogermacrene (11.88%), limonene (10.03%) and β -caryophyllene (6.66%). In the anti-inflammatory test, BDM oil has reduced edema formation at all doses tested, with $67.4 \pm 9.4\%$ inhibition (0.1 mg/ear), $44.4 \pm 7.9\%$ (0.3 mg/ear) and $81.8 \pm 5.9\%$ (1.0 mg/ear) in 6 hours and BDF has presented $37.5 \pm 12.6\%$ only in the 1.0 mg/ear dose, compared to the group control, so that after 24 hours, the results have been even better, BDM has presented $85.6 \pm 7.4\%$ (0.1 mg/ear), $52.6 \pm 10.2\%$ (0.3 mg/ear) and $95.0 \pm 5.0\%$ (1.0 mg/ear) and BDF has presented $87.4 \pm 12.5\%$ again only in the 1.0 mg/ear dose, when compared to the control group. The decrease in MPO enzymatic activity has been $77.6 \pm 22.2\%$ (0.1 mg/ear), $71.1 \pm 13.9\%$ (0.3 mg/ear) and $93.6 \pm 0.6\%$ (1.0 mg/ear) for BDM, while in the BDF sample there has been better activity only at the dose 1.0 mg/ear with $81.8 \pm 45.5\%$ reduction compared to the control group. Cell migration when compared to the control group has showed a reduction with the administration of BDM and BDF, and the best results have been obtained at doses of 1.0 mg/ear with $97.1 \pm 0.4\%$ for BDM and $96.8 \pm 0.5\%$ for BDF. In antioxidant activity, BDF oil has presented 55.51 μg of ascorbic acid equivalent per mL of sample (μg of AAE/mL) at a concentration of 12.5 mg/mL, inhibiting 25.53% of DPPH, while BDM has presented 50.77 μg of AAE/mL at a concentration of 12.5 mg/mL, inhibiting 23.31% of DPPH. Through this work it is possible to conclude that the essential oils of both specimens have presented significant anti-inflammatory and antioxidant activities, corroborating with the use of the species in traditional medicine.

Keywords: *Baccharis dracunculifolia* DC. Essential oils. Anti-inflammatory activity. Antioxidant activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Regiões de ocorrência da <i>B. dracunculifolia</i> no Brasil.....	17
Figura 2 - Espécime masculina de <i>B. dracunculifolia</i>	19
Figura 3 - Espécime feminina de <i>B. dracunculifolia</i>	19
Figura 4 - Espécie <i>B. dracunculifolia</i> na região Oeste do estado do Paraná.....	27
Figura 5 - Equipamento utilizado para extração do óleo essencial através de hidrodestilação.....	28
Figura 6 - Cromatograma evidenciando os compostos majoritários da amostra BDM.....	35
Figura 7 - Cromatograma evidenciando os compostos majoritários da amostra BDF.....	35
Figura 8 - Ação dos óleos essenciais masculino (à esquerda) e feminino (à direita) frente ao edema de orelha em inflamação aguda induzida por TPA após 6 horas...36	
Figura 9 - Ação dos óleos essenciais masculino (à esquerda) e feminino (à direita) frente ao edema de orelha em inflamação aguda induzida por TPA após 24 horas.....	37
Figura 10 - Ação dos óleos essenciais masculino (à esquerda) e feminino (à direita) frente à enzima MPO em dermatite aguda induzida por TPA.....	38
Figura 11 - Ação dos óleos essenciais masculino (à esquerda) e feminino (à direita) frente à migração celular em dermatite aguda induzida por TPA.....	38
Figura 12 - Corte histológico referente à ação do óleo essencial BDM frente à migração celular em dermatite aguda induzida por TPA.....	39
Figura 13 - Corte histológico referente à ação do óleo essencial BDF frente à migração celular em dermatite aguda induzida por TPA.....	39
Figura 14 - Poços da avaliação antioxidante com os óleos essenciais.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

AAE - Equivalente Ácido Ascórbico
ANOVA - Análise de variância
BDF - *Baccharis dracunculifolia* DC. feminino
BDM - *Baccharis dracunculifolia* DC. masculino
CG-EM-DIC - Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas e Detector de Ionização de Chamas
DC. - De Candole
DPPH - 2,2- difenil-1-picrilhidrazil
DEXA - Dexametasona
ECT - Embrapa Clima Temperado
E.P.M - Erro padrão da média
H&E - Hematoxilina e Eosina
HTAB - Hexadeciltrimetilamônio
IK - Índice de Kovats
mDO - Mili-densidade Óptica
MPO - Mieloperoxidase
PBS - Tampão fosfato
R² - Coeficiente de correlação linear
TMB - Tetrametilbenzidina
TPA - 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato
TR - Tempo de Retenção
µg AAE/mL - µg de ácido ascórbico equivalente por mL de amostra

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo geral	14
2.2	Objetivos específicos.....	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1	Gênero <i>Baccharis</i> L.....	14
3.2	<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.....	17
3.3	Óleos Essenciais	21
3.4	Caracterização química de óleos essenciais	22
3.5	Atividades biológicas	23
3.5.1	Atividade anti-inflamatória	23
3.5.2	Atividade antioxidante	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1	Coleta e identificação do material vegetal	27
4.2	Preparação do material vegetal.....	27
4.3	Obtenção do óleo essencial	28
4.4	Análises químicas dos óleos essenciais	28
4.5	Atividade anti-inflamatória tópica	30
4.5.1	Experimentos de Dermatite Aguda	30
4.5.2	Atividade Enzimática da Mieloperoxidase (MPO)	31
4.5.3	Análises Histológicas.....	31
4.6	Atividade antioxidante frente ao radical 2,2- difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) ..	32
4.7	Análises estatísticas	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1	Análise química dos óleos essenciais.....	33
5.1	Atividade anti-inflamatória tópica	36
5.2	Atividade antioxidante	41
6	CONCLUSÕES	44
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	44

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Baccharis* L. é composto por cerca de 466 espécies, com distribuição em países como a Colômbia, Argentina, México, Chile e Brasil. O gênero *Baccharis* é majoritariamente dióico e tal dioicidade é incomum na Família Asteraceae (BESTEN, 2016; CAMPOS et al., 2016; GLOBAL COMPOSITAE DATABASE, 2021).

As espécies deste gênero são de grande relevância na medicina popular, pois muitas delas são utilizadas no tratamento e controle de diversos tipos de doenças, tais como: inflamações, anemias, diabetes, males do estômago, fígado, doenças na próstata, além de desintoxicação do organismo (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

Dentre as espécies mais estudadas quanto à atividade biológica e composição química, estão a *Baccharis dracunculifolia* DC., *B. trimeria*, *B. trinervis*, *B. grisebachii*, *B. tricuneata*, *B. megapotamica*, *B. salicifolia*, *B. coridifolia*, *B. crispa* e *B. incarum* (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

Boeing et al. (2021) avaliaram o efeito do ácido p-cumárico isolado do extrato hidroalcoólico de *B. dracunculifolia* para tratamento de úlcera gástrica induzida por ácido acético em ratos e verificou-se que o composto diminuiu a úlcera em relação ao grupo tratado com veículo, sendo considerado uma alternativa de fonte natural para tratamento, respaldando o uso tradicional da espécie.

A espécie *B. dracunculifolia* é amplamente estudada quanto as suas atividades biológicas e a interação com as abelhas *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (BASTOS, 2001). Esta espécie é considerada fonte vegetal principal da própolis verde no Brasil, tendo em vista que seus compostos misturados pelas abelhas têm potencial anti-inflamatório e antibiótico (SANTOS et al., 2011; CAMPOS et al., 2016).

A espécie é conhecida por ser fonte de artepilin C, principal constituinte da própolis verde, atribuindo-se tanto à planta, quanto à própolis as mais importantes atividades biológicas: atividade anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral, antimicrobiana, indutor de apoptose, imunomodulador, ressaltando a utilização do produto sintético para tratamento especializado em vários tipos de câncer e na indústria alimentícia (SFORCIN et al., 2012; BESTEN, 2016).

As pesquisas relacionadas à composição química de *B. dracunculifolia* apontam para a presença de importantes moléculas bioativas, tais como: espatulenol,

(E)-nerolidol, limoneno, germacreno, óxido de cariofileno, γ -muuroleno, aromadendreno, viridiflorol, γ -cadineno, biciclogermacreno, globulol, entre outras (MELO; BCZUSKA, 2021).

Dessa forma, analisando os relatos etnofarmacobotânicos e os estudos químicos e atividades biológicas providas dos materiais vegetais de *B. dracunculifolia*, demonstra-se assim a necessidade e a relevância de novas pesquisas com essa espécie, enfatizando nesse trabalho os ensaios anti-inflamatório e antioxidante do óleo essencial das folhas dos espécimes feminino e masculino.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar quimicamente os óleos essenciais das folhas de espécimes masculinos e femininos de *Baccharis dracunculifolia* DC. provenientes da região Oeste do Paraná e avaliar as atividades anti-inflamatória e antioxidante.

2.2 Objetivos específicos

- Obter os óleos essenciais;
- Avaliar o efeito da aplicação tópica dos óleos essenciais na resposta inflamatória do 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) e da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO);
- Verificar a influência dos óleos essenciais em modelo de migração celular;
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos óleos essenciais.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Gênero *Baccharis* L.

O gênero *Baccharis* pertence à família Asteraceae, a qual é representada por 32.982 espécies, sendo classificadas em 14 subfamílias que se distribuem por todos os continentes, com exceção da Antártica, além de ocuparem todos os tipos de

habitats (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; CAMPOS et al., 2016, GLOBAL COMPOSITAE DATABASE, 2021). Devido a essa grande biodiversidade e distribuição, as espécies dessa família são grandemente utilizadas na medicina tradicional e amplamente estudadas quanto as atividades biológicas e a sua composição química, dentre os gêneros da família, destaca-se o gênero *Baccharis* (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

O gênero *Baccharis* faz parte da tribo Astereae, sendo o mais diverso da tribo, e à subtribo Baccharidinae, distribuindo-se principalmente pelo Brasil, Chile, Argentina, Colômbia e México, atingindo regiões elevadas (BUDEL et al., 2005). Este gênero é encontrado em todos biomas do Brasil, com sua maior parte presente no Sudeste, Centro-Oeste e Sul, de modo que o Paraná é um dos mais importantes centros de diversidade do gênero no país (CAMPOS et al., 2016).

As espécies desse gênero geralmente são arbustos perenes de 0,5 a 4 metros de altura, sendo que as espécies ficam concentradas em sua maioria no Brasil e nos Andes, sugerindo que estes seriam os locais prováveis de origem do táxon (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

A literatura relata que as espécies deste gênero possuem importância na medicina tradicional, pois são comumente utilizadas na forma de infusões e extratos alcoólicos que auxiliam males do fígado, estômago, diabetes, inflamações, doenças na próstata, anemias e atuando para desintoxicar o organismo (BUDEL et al., 2005; VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

Dentre as atividades biológicas envolvendo as principais espécies estudadas do gênero, destacam-se os efeitos citotóxicos, antimicrobianos, hipoglicemiantes, alelopáticos e anti-inflamatórios (FERRONATTO et al., 2006).

A espécie *B. grisebachii* é utilizada na medicina popular da província de San Juan, na Argentina, para tratamento de úlceras gástricas, para uso antisséptico e antibiótico de uso externo e foi avaliada por Hadad et al. (2007). Neste trabalho apresenta-se o estudo sobre a constituição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial da parte aérea dessa espécie, verificando como componentes principais, dos 43 identificados: éter metílico de timol, timol, acetato de timila, globulol, α -humuleno e α -pineno e na atividade antimicrobiana, o óleo apresentou valores de CIM < 250 μ g/mL contra *Aspergillus* spp. (125 μ g/mL), *Cryptococcus neoformans* (125

µg/mL) e particularmente contra *Trichophyton mentagrophytes* e *T. rubrum* (62,5 µg/mL).

Segundo Boller et al. (2010) o extrato bruto de *B. illinita* inibiu significativamente a atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO), o edema de orelha induzido pelo 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) e a migração de neutrófilos, sendo que as frações hexano, acetona e acetato de etila obtidas também evidenciaram ação anti-inflamatória, de forma que os 3 componentes isolados da fração acetato de etila (ácido kaurenóico, α -spinaesterol, ácido oleanólico) inibiram também o edema induzido pelo TPA, tais efeitos seriam determinados pelo sinergismo dos compostos presentes no extrato bruto de *B. illinita*, corroborando com o uso tradicional na forma de infusão com cascas e folhas para combater inflamações, infecções e como protetor gástrico.

De acordo com Pereira et al. (2017) o óleo essencial de cladódios de *B. milleflora* utilizada na medicina popular como estomáquica e diurética, apresentou o biciclogermacreno, germacreno D, (E)-cariofileno e α -humuleno como compostos voláteis principais, além de evidenciar atividade citotóxica com $CI_{50} < 50$ µg/mL para as células Raji, Jurkat e HL-60 em 24, 48 e 72 horas e exibiu também redução no conteúdo de DNA celular para todas as linhagens tumorais analisadas.

A espécie *B. coridifolia* utilizada popularmente para tratar infecções parasitárias e cinomose equina, sugerindo propriedades antibacterianas, de modo que Freitas et al. (2020) analisaram a composição química do óleo essencial de *B. coridifolia*, constatando como compostos principais: germacreno D, biciclogermacreno e (E)-cariofileno, além de atividade antibacteriana relevante contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (512 µg/mL) e *Staphylococcus aureus* (128 µg/mL) e atividade moduladora de antibióticos.

Segundo Silva et al. (2021) a espécie *B. trimera* possui relevante uso na medicina tradicional para tratar infecções gastrointestinais, sugerindo potencial atividade contra a candidíase abdominal invasiva, dessa forma avaliaram a composição química e o potencial antifúngico do óleo essencial de *B. trimera*, verificando como componentes principais: acetato de carquejila, palustrol, β -pineno e viridiflorol, além de promissoras atividades anti-*Candida* e potencialização do efeito do fuconazol contra *Candida albicans*.

3.2 *Baccharis dracunculifolia* DC.

A espécie *B. dracunculifolia* é conhecida popularmente como alecrim do campo, alecrim de vassoura, vassourinha do campo ou vassourinha, é nativa no Brasil, porém não endêmica. Apresenta-se como um arbusto perene e dióico, a qual manifesta espécimes masculinos e femininos em plantas diferentes (SANTOS et al., 2012; HEIDEN; SCHNEIDER, 2015; BESTEN, 2016; COSTA, 2016).

B. dracunculifolia ocorre naturalmente no Brasil, Argentina, Paraguai, Uruguai e nos vales elevados da Bolívia. No Brasil, sua ocorrência se dá nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste principalmente (Figura 1), sendo comum em áreas de Cerrado, Pampa e Mata Atlântica, nas vegetações como pastagens abandonadas, campos abertos e áreas de sucessão, no entanto, sua ocorrência não se limita a tais vegetações (SANTOS et al., 2012; HEIDEN; SCHNEIDER, 2015; BESTEN, 2016; COSTA, 2016).



Figura 1 - Regiões de ocorrência da *B. dracunculifolia* no Brasil.
FONTE: HEIDEN, 2020.

B. dracunculifolia trata-se de um arbusto lenhoso, dióico, com folhas simples, alternas, lanceoladas, uninérveas, membranáceas, margem inteira, base atenuada, ápice agudo, nervura mediana evidente na face abaxial, medindo aproximadamente 1-2 cm de comprimento e 3-4 mm de largura (BUDEL et al., 2004). Apresentam tricomas tectores e glandulares nas folhas e ápices foliares, o que permite a interação desta com insetos, particularmente com as abelhas, além disso possuem ramos pilosos, bastantes ramificações nos galhos e fruto do tipo aquênio (BARROSO, 1976;

GOMES; FERNANDES, 2002; SOUSA, 2007; PEGORINI; MARANHO; ROCHA, 2008; FIGUEIREDO, 2010; SFORCIN et al., 2012).

As abelhas *A. mellifera* coletam material resinoso dos tricomas tectores e glandulares presentes nas folhas, flores e brotos da *B. dracunculifolia* e o transportam até a colmeia, aonde será produzida a própolis verde a partir da mistura da resina coletada com cera e secreções glandulares (SFORCIN et al., 2012; BESTEN, 2016).

As inflorescências do tipo capítulo são pouco pedunculadas, numerosas e solitárias nas axilas das folhas mais elevadas, originando racemos foliados nos ramos jovens (Figura 2 e 3) (MINTEGUIAGA et al., 2021).

Capítulos masculinos com involúcros amplamente campanulados de 3-5 mm de comprimento e 2,5-3 mm de diâmetro: filários 3-seriados levemente pubescentes (brácteas involucrais), formato ovalado e ovalado com ápices agudos. Flores masculinas: 20-50 com ramos curtos aderentes. Os capítulos femininos também apresentam involúcros campanulados, em geral um pouco maiores que os masculinos: 4-5 de comprimento e 3-5 mm de diâmetro, 3 ou 4 filários pubescentes seriados, em forma lanceolada com ápices agudos. Flores femininas: 30-60 com aquênios cilíndricos e glabros (1,0-1,5 mm de comprimento) e papus branco (MINTEGUIAGA et al., 2021, p.92).

Quanto à anatomia foliar da espécie:

A lâmina foliar apresenta epiderme uniestratificada, cujas células possuem formato poligonal com parede relativamente delgada e são revestidas por cutícula delgada e estriada. A folha mostra estômatos do tipo anomocítico em ambas as faces, sendo caracterizada como anfiestomática e estes se localizam no mesmo nível ou ligeiramente acima das demais células epidérmicas. Tricomas glandulares pluricelulares, uni e bisseriados, com porção apical arredondada, reunidos pela base em tufo, são observados nas duas faces e se inserem em pequena depressão. Apresentam citoplasma denso, cujo conteúdo reage positivamente à pesquisa de substâncias lipofílicas (BUDEL et al., 2004, p.478).

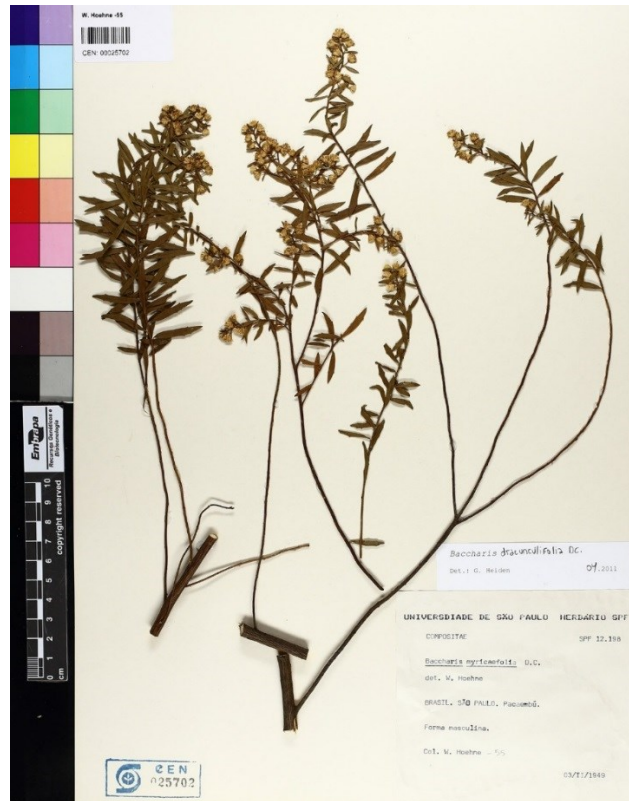


Figura 2 - Espécime masculina de *B. dracunculifolia*.
FONTE: HEIDEN, 2011.

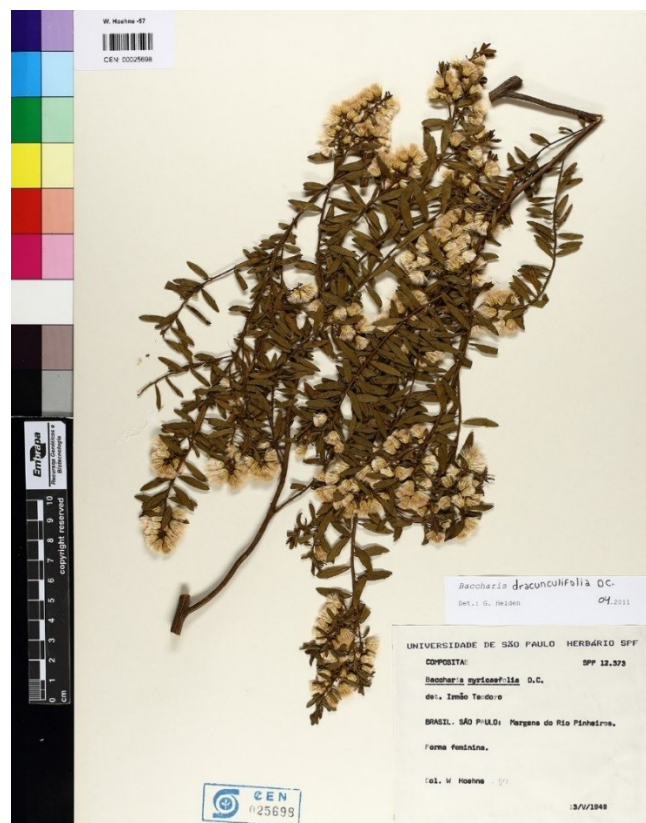


Figura 3 - Espécime feminina de *B. dracunculifolia*.

FONTE: HEIDEN, 2011.

A *B. dracunculifolia* pode apresentar características morfológicas variantes de acordo com a sazonalidade, fatores ambientais, variações climáticas, disponibilidade de nutrientes, e que influenciam dessa forma também na produção de metabólitos pela planta (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; HEIDEN; SCHNEIDER, 2015).

A composição do óleo essencial de *B. dracunculifolia* encontrada na literatura, consiste na presença de derivados terpênicos e compostos fenólicos, sendo os compostos majoritários comumente encontrados: o monoterpeno β -pineno, o sesquiterpeno espatulenol, o sesquiterpeno (E)-nerolidol (AGOSTINI et al., 2005; BESTEN, 2016; SALAZAR et al., 2018; CAZELLA et al., 2019; PEDROTTI; RIBEIRO; SCHWAMBACH, 2019; TOMAZZOLI et al., 2021; ZIMMERMANN et al., 2021).

A espécie *B. dracunculifolia* é utilizada na medicina tradicional, geralmente consumida na forma de chás e infusões, para o tratamento de inapetência, esgotamento físico, distúrbios gástricos, afecções febris, inflamações e diabetes (COSTA, 2016; PAROUL et al., 2016). Na literatura científica menciona-se diversas atividades biológicas da *B. dracunculifolia*, tais como atividade anti-inflamatória, antioxidante, citotóxica e antimicrobiana (FUKUDA et al., 2006; SANTOS et al., 2010; FABRI et al., 2011).

Segundo Ferronato et al. (2006) que efetuaram a avaliação da atividade antioxidante dos óleos essenciais de *B. uncinella* e *B. dracunculifolia* por intermédio de reações oxidantes acopladas do ácido linoleico e do β -caroteno, cujos resultados demonstraram inibição ao desenvolvimento de espécies reativas de oxigênio nos dois óleos essenciais testados, sendo que o óleo de *B. dracunculifolia* inibiu em até 65,66% e o óleo de *B. uncinella* em 52,18% equivalentes para 50 μ L, denotando a atividade antioxidante de ambos os óleos essenciais.

Cazella et al. (2019) verificaram a composição química do óleo essencial da parte aérea de *B. dracunculifolia* no período de floração, determinada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), obtendo o espatulenol e o trans-nerolidol como componentes principais e na atividade antimicrobiana, o óleo apresentou atividades bactericida e bacteriostática, principalmente contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, além de atividades fungicida e fungistática.

De acordo com a Pedrotti, Ribeiro e Schwambach (2019) que analisaram a ação dos óleos essenciais de *B. trimera* e *B. dracunculifolia* no controle da podridão fúngica pós-colheita em uvas, apresentando na composição química determinada por CG-EM, os compostos principais: acetato de carquejila para *B. trimera* e β -pineno, espatulenol, ledol e limoneno para *B. dracunculifolia*, já na atividade antifúngica *in vitro* o óleo essencial de *B. dracunculifolia* demonstrou atividade fungistática, enquanto o óleo de *B. trimera* exibiu atividade fungicida.

Conforme Tomazzoli et al. (2021) investigaram a similaridade da composição química dos óleos essenciais de 10 populações de *B. dracunculifolia* no estado do Paraná, determinada por CG-EM e por cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chamas (CG-DIC), verificando como constituintes principais: β -pineno e (E)-nerolidol; além de avaliarem atividade antioxidante frente ao DPPH, verificando que óleos de populações distintas apresentaram capacidade antioxidante variadas de 27,78 a 91,67%.

3.3 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais, também chamados de óleos voláteis ou óleos etéreos, são misturas complexas de substâncias químicas provenientes do metabolismo secundário das plantas, cuja síntese ocorre durante o crescimento do vegetal, processo esse que podem ter influência de fatores abióticos ou bióticos do meio. Tais compostos possuem baixo peso molecular e podem ser extraídos de todas as partes das plantas (KOKETSU; GONÇALVES, 1991; MORAIS, 2009; SFORCIN et al., 2012; BESTEN, 2016).

Os óleos essenciais são lipofílicos e possuem aspecto oleoso à temperatura ambiente, de modo geral contêm odores intensos e agradáveis, também denominados de essências. Tais características conferem vantagens adaptativas para as plantas no ambiente em que vivem, tais como: defesa contra herbívoros e patógenos, na atração de polinizadores e dispersores de sementes, sendo que a composição química é variável dentre as partes do vegetal (SANTOS et al., 2011; PROBST, 2012).

A constituição química dos óleos essenciais é estabelecida por fatores genéticos, entretanto, as interações provenientes do ambiente em que a planta se encontra, como interações planta/ planta, planta/ insetos, planta/ microrganismos;

idade e estágio de desenvolvimento, para além dos fatores bióticos, os abióticos como: temperatura, nutrição, pluviosidade, luminosidade, horário e época de coleta, técnicas de colhimento e pós-colhimento podem redirecionar as vias metabólicas, levando à síntese biológica de diferentes compostos (MORAIS, 2009).

Os principais constituintes químicos dos óleos essenciais são os derivados terpênicos, como os monoterpenos e os sesquiterpenos, e os fenilpropanoides, além de grupos álcoois, aldeídos, ésteres, cetonas, entre outros (MIRANDA et al., 2016; HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017).

Muitos métodos podem ser empregados para a obtenção dos óleos essenciais, como a extração por hidrodestilação, arraste a vapor d'água, por solventes orgânicos apolares, enfloração, extração por CO₂ supercrítico, prensa a frio de pericarpo de frutos cítricos, entre outros (MORAIS, 2009). O método de hidrodestilação é relativamente simples e consiste na imersão do material vegetal na água aquecida, de maneira com que os componentes voláteis são arrastados até um condensador pelo vapor d'água, retornando ao estado líquido, permitindo a separação do óleo volátil por diferença de densidade (SIMÕES et al., 2017).

3.4 Caracterização química de óleos essenciais

A Cromatografia Gasosa é uma técnica para separar e analisar constituintes químicos de amostras de óleos voláteis por exemplo, podendo também utilizar detectores nessa técnica, sendo que os principais usados são por espectrometria de massas e por ionização de chama (SIMÕES et al., 2017).

A Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) apresenta alta eficiência no reconhecimento e constatação de constituintes de óleos essenciais. Este método refere-se basicamente na separação dos componentes da amostra conferindo um espectro de massas em cada pico registrado. A espectrometria de massas gera íons parcialmente constantes por meio de ionização molecular e subsequentemente fraciona-os, esses fracionamentos são separados pela relação carga-massa e é estabelecida a abundância relativa de cada íon. Através da análise dos fracionamentos é possível indicar a fórmula molecular e o peso, entre outras informações que confirmam a estrutura química de cada composto (SOUSA, 2007).

A coluna cromatográfica também pode ser conectada a um detector de ionização de chama (DIC), de modo que ao sair da coluna, o composto passa pela chama e posteriormente é detectado e transformado em pico, utilizando-se o tempo de retenção (TR) e/ou o índice de Kovats (FOKOU; DONGMO; BOYOM, 2020).

3.5 Atividades biológicas

3.5.1 Atividade anti-inflamatória

O processo inflamatório é um recurso de proteção fundamental para o organismo, pois sua função consiste na defesa contra agentes que podem danificar células e tecidos, além da remoção de restos celulares que foram prejudicados devido alguma injúria. Entretanto, os processos inflamatórios e de reparo também podem provocar danos ao organismo, uma vez que sua duração e intensidade ultrapassem o necessário e suficiente para controlar o agente agressor. Diversas drogas com capacidade de intervir no processo de inflamação são objetos de pesquisa e interesse, restringindo seu tempo de persistência ou amenizando sua intensidade (ALMEIDA, 2013).

O processo de inflamação compreende a entrada de um antígeno no organismo, em seguida o macrófago que encontra o antígeno passa a produzir citocinas nos sítios de infecção que irão ativar células endoteliais de vênulas adjacentes a produzir selectinas, quimiocinas e ligantes para integrinas (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

Selectinas e ligantes de selectinas medeiam as ligações de baixa afinidade dos leucócitos sanguíneos e seu deslizamento ao longo da superfície do endotélio, de modo que em geral, o primeiro leucócito convocado é o neutrófilo, também denominado de leucócito polimorfonuclear (PMN), posteriormente os leucócitos em rolamento e com velocidade reduzida se ligam as quimiocinas fixadas na superfície endotelial, resultando na ativação das integrinas dos leucócitos que amplificam a afinidade da ligação, a partir disso é iniciada a migração leucocitária por meio das junções celulares entre os tecidos e as células endoteliais (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019; MALE et al., 2021).

Caso a inflamação aguda não seja contida ou haja prolongação da lesão tecidual, passa a ocorrer o processo de inflamação crônica, podendo ocorrer remodelamento do tecido, com fibrose e angiogênese nos sítios de inflamação crônica (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

De modo geral um dos fármacos mais indicados para tratar doenças envolvidas com mecanismos inflamatórios e imunes de modo a inibir seus mediadores, são os corticosteroides tópicos, tendo como exemplo: dexametasona, betametasona, hidrocortisona, prednisona, prednisolona, entre outros (AZULAY; AZULAY; AZULAY-ABULAFIA, 2017).

Entretanto, a corticoterapia tópica pode causar diversos efeitos colaterais, como: acne, atrofia, distúrbio da barreira epidérmica, hipopigmentação, hipertricose, eczema de contato, infecções cutâneas, telangiectasia, dermatite perioral, estrias, estados poiquilodérmicos, púrpura, rosácea esteroide, granuloma glúteo infantil e também efeitos colaterais sistêmicos, como: supressão do eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal (após utilização de corticosteroide potente), diabetes melito, hiperglicemia, síndrome de Cushing e efeitos mineralocorticosteroides, mediante todos esses efeitos colaterais, verifica-se a importância e/ou urgência de compostos de origem natural com potencial anti-inflamatório como alternativas aos corticosteroides (AZULAY; AZULAY; AZULAY-ABULAFIA, 2017).

Muitos ensaios podem ser executados a fim de testar agentes naturais que possam ter propriedades anti-inflamatórias de valor farmacológico, um modelo usado é o edema de orelha induzido pelo 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) para análise da resposta inflamatória, visto que esse agente induz hiperproliferação celular e inflamação cutânea em animais, similarmente a várias doenças de pele, para além disso, análises histológicas também corroboram para obter respostas de influxo celular (GÁBOR, 2000).

Em um sítio de inflamação aguda, geralmente o neutrófilo é o primeiro leucócito a se deslocar do sangue para o tecido alvo, justamente por responder aos sinais quimiotáticos mais rapidamente e ser encontrado em abundância no sangue. Ao decorrer do processo inflamatório, os granulócitos dos neutrófilos liberam seu conteúdo, contendo a enzima mieloperoxidase (MPO), que permite assim indicar a infiltração dessas células para o local da inflamação, portanto sendo um importante método de avaliação de atividade anti-inflamatória, juntamente com análises da

histologia que possibilita a visualização da migração celular e do efeito de redução do edema (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

Além disso, a determinação do efeito da enzima mieloperoxidase (MPO), encontrada em grânulos azurófilos de leucócitos polimorfonucleares pode ser usada para verificar a infiltração leucocitária, já que é um marcador indireto da existência destes tipos de células (BRITO, 2012; MALE et al., 2021).

3.5.2 Atividade antioxidante

Radicais livres são moléculas que possuem elétrons desemparelhados, tornando-se amplamente reativos e instáveis, são liberadas pelo metabolismo do organismo, podendo gerar envelhecimento precoce, doenças degenerativas e morte de células. Podem ser formados nas mitocôndrias, na membrana ou no citoplasma e o seu alvo celular relaciona-se com o sítio de formação (VASCONCELOS et al., 2014).

Espécies reativas de oxigênio contendo radicais livres são liberadas pela ativação dos neutrófilos desencadeada pelo processo inflamatório, de maneira com que onde haja estresse oxidativo provindo da inflamação, é provável que ocorra lesão tecidual (SILVA FILHO, 2012, ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013, CASTRO; RIVERA; FRANCO, 2018).

Portanto, compostos antioxidantes podem ser benéficos para a saúde e melhorar a qualidade de vida já que possuem a capacidade de fornecer proteção para o organismo, adiando ou prevenindo o começo de doenças crônicas, cardiovasculares e neurodegenerativas (OLIVEIRA, 2015).

Existem diferentes técnicas para verificar a capacidade antioxidante de compostos, extratos e óleos essenciais. Destaca-se o método de redução do radical livre instável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), que possui boa estabilidade no escuro, simplicidade, aplicabilidade e viabilidade. O radical é originado sinteticamente e uma amostra pode apresentar capacidade de redução ou neutralização deste radical, esta reação pode ser acompanhada pelos valores de absorbância com um espectrofotômetro UV/visível (OLIVEIRA, 2015).

Os mecanismos de reação constituem principalmente na transferência eletrônica ou na transferência de átomo de hidrogênio para ocasionar a redução ou neutralização do radical, devido justamente a localidade do elétron livre por toda a

extensão da molécula do DPPH. O radical apresenta cor violeta ou púrpura com absorção na solução de metanol ou etanol a um comprimento de onda de 515-520 nm, tornando-se estável e gerando a configuração reduzida DPPH-H estável, perdendo com o tempo a cor violeta ou púrpura para violeta claro ou amarelo pálido (OLIVEIRA, 2015).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta e identificação do material vegetal

As folhas de espécimes masculinos e femininos de *B. dracunculifolia* foram coletadas em maio de 2018 no período matutino na cidade de Santa Helena, sob as coordenadas 24° 48' 15"S; 54° 15' 16"W. Para a identificação dos espécimes botânicos, foram coletados ramos de inflorescências masculinas e femininas de *B. dracunculifolia* (Figura 4) e confeccionou-se as exsicatas.

Os espécimes foram identificados pelo botânico Dr. Gustavo Heiden e posteriormente depositadas no Herbário da Embrapa Clima Temperado (ECT) em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, sob os números de registro ECT0003427 para o espécime feminino (BDF) e ECT0003428 para o espécime masculino (BDM).



Figura 4 - Espécie *B. dracunculifolia* na região Oeste do estado do Paraná.
FONTE: OLIVEIRA, 2017.

4.2 Preparação do material vegetal

As folhas foram devidamente separadas dos galhos e colocadas para secar durante quatro dias sob temperatura ambiente. Posteriormente o material vegetal foi

triturado em moinho de facas e armazenado sob refrigeração no freezer (-18 °C a -25 °C) até a data das respectivas extrações dos óleos essenciais.

4.3 Obtenção do óleo essencial

Os óleos essenciais dos espécimes foram extraídos no Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Santa Helena pelo método de hidrodestilação com um extrator do tipo Clevenger modificado (Figura 5) (STALH; SCHILD, 1981).

Para a obtenção do hidrolato 100 gramas de material vegetal foram submetidos à hidrodestilação por três horas contínuas, logo após o óleo essencial foi separado do hidrolato por extração líquido-líquido utilizando-se éter etílico como solvente extrator e a mistura de óleo essencial e éter etílico foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e rotaevaporada sob temperatura reduzida.

Os rendimentos dos óleos essenciais foram calculados com base na diferença entre a massa inicial seca de cada material vegetal e o óleo essencial final, sendo expressos em porcentagem.



Figura 5 - Equipamento utilizado para extração do óleo essencial através de hidrodestilação.
FONTE: OLIVEIRA, 2017.

4.4 Análises químicas dos óleos essenciais

As análises cromatográficas das amostras de óleos essenciais foram realizadas no Laboratório da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB).

Para a análise dos óleos essenciais por Cromatografia Gasosa utilizou-se um cromatógrafo a gás Shimadzu GCMS-QP2010 Plus empregando uma coluna não-polar Rtx-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm). As condições aplicadas nas análises foram a razão de divisão de 1/20, 250 °C para o injetor, 250 °C para a fonte de íons e 280 °C para a interface. A temperatura do forno no início foi de 60 °C durante os cinco primeiros minutos e regulada para aumentar 3 °C por minuto até atingir a temperatura de 240 °C. Identificou-se os compostos com base na comparação dos índices de retenção relativos calculados utilizando uma série de n-alcanos (C8-C19) e os espectros de massa do banco de dados do aparelho comparados com que há publicado na literatura (ADAMS, 2009).

Afim de obter-se as massas relativas dos componentes presentes na amostra foi utilizado um cromatógrafo a gás Shimadzu 2010 com detector de ionização de chamas e uma coluna OV-5 (30m x 0,25mm x 0,25µm). Utilizou-se gás hélio como gás de arraste a uma taxa de fluxo contínuo de 1 mL/min, a taxa de divisão de 1/20, e o volume de injeção foi de 1 µL de amostra diluída em éter etílico, com o detector a 280 °C, e o injetor a 250 °C. A temperatura da coluna no início foi de 60 °C durante os cinco primeiros minutos e regulada para aumentar 3 °C por minuto até atingir a temperatura de 240 °C.

Para identificar e quantificar foi efetuado o cálculo do índice de Kovats, a partir do Tempo de Retenção (TR) de cada pico no cromatograma, de acordo com a fórmula abaixo:

$$IK = 100 * C + 100 * \frac{T_a - T_b}{T_c - T_b}$$

em que:

IK = índice de Kovats;

C = número do carbono padrão com o TR menor do que o composto considerado;

T_a = TR do composto considerado;

T_b = Primeiro TR do carbono padrão abaixo do TR do composto;

T_c = Primeiro TR do carbono padrão acima do TR do composto.

Identificou-se os compostos comparando os espectros de massa da análise cromatográfica com o banco de dados do *software* do cromatógrafo e com dados da

literatura científica. Já a quantificação dos compostos se deu comparando e relacionando os picos dos cromatogramas de CG-EM com CG-DIC e os IK calculados (ADAMS, 2009).

4.5 Atividade anti-inflamatória tópica

A atividade anti-inflamatória foi realizada no Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal do Paraná, sob a supervisão do Dr. Michel Fleith Otuki¹.

Os experimentos foram realizados seguindo recomendações das diretrizes ARRIVE – do inglês, *Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments* (KILKENNY et al., 2011), bem como do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais do setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR), sob numeração de registro 1257.

Os experimentos foram realizados em camundongos *Swiss* fêmeas com 8 a 10 semanas de idade, com peso entre 20 a 25 gramas. Os animais foram dispostos em diferentes grupos aleatoriamente com água e ração sendo fornecidos *ad libitum*, alojados no biotério da Universidade Federal do Paraná no Setor de Ciências Biológicas, sob condições padronizadas de ciclo de claro e escuro de 12 horas (h) com luzes ligadas às 7h, com temperatura ambiente controlada ($23 \pm 2^\circ \text{C}$) e umidade ($60 \pm 10\%$).

Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno de fundo sólido, forrada com maravalha e autoclavável nas medidas de 41 x 34 x 17,8 cm, em grupos de seis a nove animais. Os animais utilizados passaram por um período de adaptação antes do início dos experimentos de 48 horas e passaram pelos experimentos uma única vez.

4.5.1 Experimentos de Dermatite Aguda

Utilizou-se um modelo pré-clínico para induzir dermatite de contato do tipo irritativa, modelo de aplicação tópica e única de 12-Otetradecanoilforbol-13-acetato

¹ Este trabalho foi realizado pela equipe do professor Michel Otuki, os resultados foram recebidos e interpretados por mim. A ciência do professor colaborador está vinculada ao artigo publicado.

(TPA). Modelo este de manuseio fácil e reprodutível, baseando-se na administração do agente causador do estímulo inflamatório (TPA) na orelha direita dos animais, havendo uma resposta inflamatória que foi avaliada por meio da geração do edema e averiguação da migração celular em consecutiva análise histológica. Dessa forma, avaliou-se a geração do edema por meio da aferição da orelha dos camundongos, e sua espessura basal, na região medial da orelha, com o auxílio de um micrômetro digital (MT045B, Shangai Metal Great Tools Co., Ltd., Xangai, China), anteriormente à indução do processo inflamatório e posteriormente em dois momentos no tempo: 6 h e 24 h após a administração do TPA na dose de 2,5 µg por orelha (GÁBOR, 2000; DE YOUNG et al., 1989).

Aplicou-se o óleo essencial de BDM e BDF em doses de 0,1; 0,3 e 1,0 mg/orelha, bem como o controle positivo de dexametasona (DEXA) 0,1 mg por orelha, de modo que em todos os tratamentos foram inseridos 20 µl por orelha.

4.5.2 Atividade Enzimática da Mieloperoxidase (MPO)

Foram coletadas amostras de 6 mm de tecido no fim do tratamento, então foram adicionadas a 0,75 mL de tampão fosfato de sódio 80 mM (pH 5,4) com 0,5% de hexadeciltrimetilamônio (HTAB) e homogeneizado por volta de 45 s a 0 °C, seguido da inclusão de 0,75 mL do tampão descrito anteriormente. Posteriormente foi centrifugado a 12000 xg a 4 °C por 15 min. Triplicatas de 30 µL do sobrenadante foram inseridas em placas de 96 poços, com posterior adição de 200 µL de solução (PBS 80 mM, PBS 0,22 M e peróxido de hidrogênio 0,017%) em cada poço para análise de MPO. Para essa análise enzimática a reação foi iniciada adicionando-se tetrametilbenzidina (TMB) 18,4 mM em solução aquosa de dimetilformamida a 8%. A placa foi incubada a 37 °C por 3 min e a reação foi interceptada pelo acréscimo de acetato de sódio 1,46 M em cada poço. A atividade enzimática foi estabelecida colorimetricamente utilizando leitor de placas (Bio-Tek Ultra Microplate reader EL 808) com comprimento de onda de 620 nm (BRADLEY et al., 1982; DE YOUNG et al., 1989; SÁNCHEZ et al., 1999).

4.5.3 Análises Histológicas

As amostras da pele dos camundongos tratados foram recolhidas e fixadas em solução ALFAC (85 mL de álcool 80%, 10 mL de formol 40% e 5 mL de ácido acético glacial) em um intervalo de tempo de 16 horas, sendo seguidamente conservadas em álcool 70% até o começo do processo de desidratação. Posteriormente, as orelhas foram desidratadas, emblocadas em parafina, seccionadas em cortes de 5 µm com um micrótomo e foram coradas com hematoxilina e eosina (H&E) posteriormente.

A migração de leucócitos, edema, a distribuição das camadas da epiderme, a presença de células nucleadas na epiderme e a espessura da epiderme foram avaliadas em áreas de representatividade com aumento de 200x e/ou 400x. Realizou-se a quantificação dos leucócitos contidos na epiderme e derme por meio da contagem dessas células por campo com aumento de 400x, analisando-se 5 campos de 3 ou mais cortes histológicos diferentes. Essas análises foram efetuadas utilizando-se o *software* ImageJ.

4.6 Atividade antioxidante frente ao radical 2,2- difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

A atividade antioxidante foi realizada no Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Santa Helena.

Realizou-se o teste de atividade antioxidante dos óleos essenciais BDM e BDF em triplicata utilizando-se a metodologia com radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) segundo o método de Granato et al. (2015) adaptado. Os óleos essenciais foram submetidos a testes com concentrações variadas entre 6,25 mg/mL a 100 mg/mL. Foi colocada uma alíquota de 40 µL das amostras diluídas em microplacas de 96 poços, e foi adicionada 260 µL de uma solução metanólica 0,10 mol/L de DPPH. Deixou-se a mistura reagir em ambiente escuro e temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente foi medida a diminuição da absorbância do DPPH a um comprimento de onda de 517 nm em um espectrofotômetro de microplacas de 96 poços. Utilizou-se metanol como controle e a solução de DPPH sem amostras de óleo essencial como branco.

A porcentagem de inibição do radical DPPH foi calculada conforme a seguinte equação: % de inibição do DPPH = $(1 - [\text{amostra A517} / \text{branco A517}]) \times 100$. A expressão da capacidade antioxidante total foi dada equivalente ácido ascórbico

(AAE), calculando-se através de uma curva padrão de ácido ascórbico com concentrações na faixa de 0,98 µg/mL a 14 µg/mL, efetuando-se o coeficiente de correlação linear (R^2). Os resultados foram apresentados em µg equivalente ácido ascórbico/mL.

4.7 Análises estatísticas

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). Avaliou-se entre os grupos a significância estatística por intermédio de análise de variância (ANOVA) de uma via seguida de teste post-hoc de Bonferroni, ou análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida pelo teste post-hoc de Bonferroni para o modelo crônico de TPA. O nível de significância aceito para os testes foi de $p < 0,05$. Todos os testes foram realizados fazendo o uso do *software* Statistical GraphPad Prism versão 6.0, La Jolla California, USA.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise química dos óleos essenciais

O rendimento obtido do óleo essencial de *B. dracunculifolia* masculino (BDM) foi de 1,12% e o rendimento do óleo de *B. dracunculifolia* feminino (BDF) foi de 1,25% em referência à massa inicial seca do material vegetal. Besten et al. (2012) obtiveram o rendimento do óleo essencial de *B. dracunculifolia*, sendo de 0,81% para a amostra feminina e 0,85% para a amostra masculina.

A caracterização química por CG-EM-DIC identificou 81,11% da amostra BDM com 31 compostos detectados, e na amostra BDF identificou-se 73,56% com 29 compostos detectados conforme apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição relativa (%) dos componentes detectados nas análises dos óleos essenciais das folhas de espécimes masculino (BDM) e feminino (BDF) de *B. dracunculifolia* evidenciando em negrito os compostos majoritários.

FONTE: Autoria própria, 2021.

Compostos	RI ^a	RI ^b	BDF	BDM
α -Pineno	933	939	1,74	1,64
β -Pineno	977	979	7,84	5,25
Mirceno	992	990	0,91	0,81

Limoneno	1030	1029	10,03	6,76
Ocimeno <(E)-β->	1049	1050	0,36	0,26
Terpinen-4-ol	1179	1177	0,12	0,14
α-Terpineol	1192	1188	0,23	0,20
δ-Elemeno	1339	1338	0,55	0,65
α-Cubebeno	1352	1351	0,27	0,35
α-Ylangeno	1374	1375	0,12	0,14
Isoledeno	1375	1376	0,11	0,16
α-Copaeno	1378	1376	0,33	0,48
β-Elemeno	1395	1390	0,85	0,91
α-Gurjuneno	1413	1409	0,49	0,74
β-Cariofileno	1423	1419	6,66	8,44
β-Gurjuneno	1432	1433	0,22	0,28
Aromadendreno	1442	1441	1,84	2,40
α-Humuleno	1457	1454	1,40	1,64
allo-aromadendreno	1464	1460	1,50	1,46
γ-Muuroleno	1481	1479	0,34	0,53
Germacreno D	1486	1481	9,21	9,94
Biciclogermacreno	1502	1500	11,88	14,18
α-Muuroleno	1505	1500	0,75	1,09
γ-Cadineno	1518	1513	0,88	1,36
δ-Cadineno	1529	1523	3,95	5,51
trans-Cadina-1,4-dieno	1537	1534	ND	0,26
α-Cadineno	1542	1538	0,16	0,28
α-Calacoreno	1547	1545	ND	0,13
Nerolidol	1570	1563	15,49	8,02
Espatulanol	1584	1578	5,56	4,79
Viridiflorol	1597	1592	2,16	2,34
Porcentual de compostos (%)			73,56	81,11
Rendimentos (m/m) (%)			1,12	1,28

RI^a: Valores de índices de retenção relativa calculado utilizando a coluna RTX-5 (CG-EM) e a série de n-alcanos C8–C19. RI^b: Índices de retenção relativa publicados com uma coluna OV-5; ND: não detectado ou <0,10%.

Os constituintes majoritários do espécime BDM foram: biciclogermacreno (14,18%), β-cariofileno (8,44%), (E)-nerolidol (8,02%) e limoneno (6,76%) (Figura 6) e para o espécime BDF foram: (E)-nerolidol (15,49%), biciclogermacreno (11,88%), limoneno (10,03%) e o β-cariofileno (6,66%) (Figura 7).

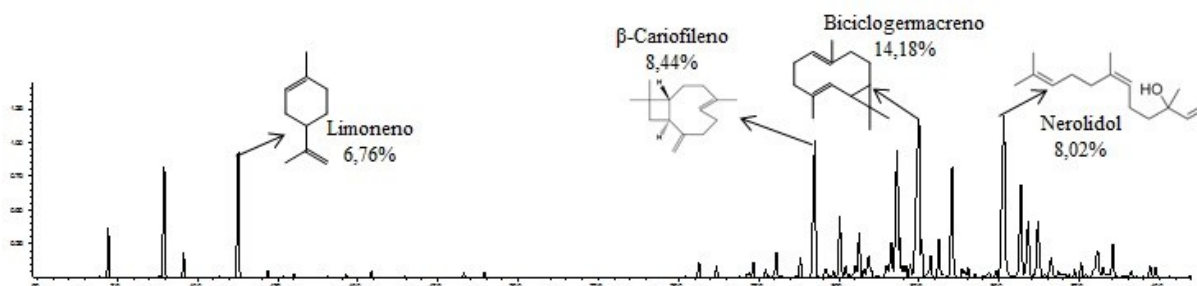


Figura 6 - Cromatograma evidenciando os compostos majoritários da amostra BDM.
 FONTE: Autoria própria, 2021.

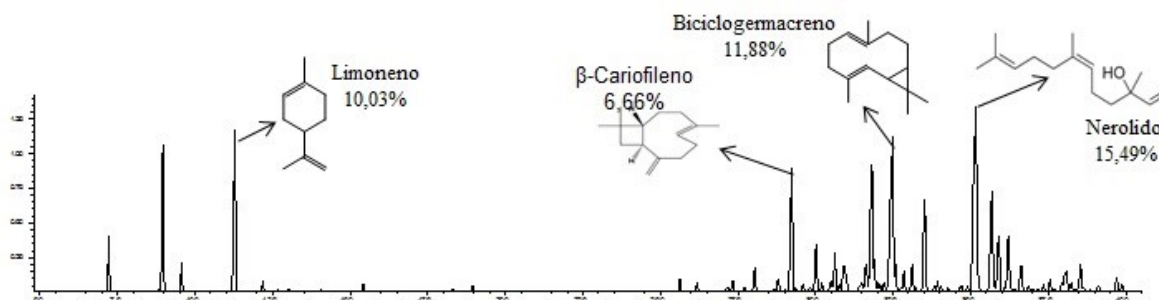


Figura 7 - Cromatograma evidenciando os compostos majoritários da amostra BDF.
 FONTE: Autoria própria, 2021.

Através da comparação dos componentes químicos dos óleos essenciais de *B. dracunculifolia* da região dos Campos Gerais, verificado por Besten et al. (2012) e da região Oeste do Paraná deste trabalho, verifica-se que existem variações fitoquímicas e quantitativas, de maneira que o óleo essencial feminino dos Campos Gerais, exibiu como compostos majoritários: o (E)-nerolidol (18,73%), o bicyclogermacreno (9,51%), o espatulenol (8,96%) e o β -cariofileno (7,47%) e o óleo essencial masculino apresentou: (E)-nerolidol (19,84%), o bicyclogermacreno (9,60%), o espatulenol (8,90%) e o β -cariofileno (7,05%). Observa-se que há compostos existentes nas amostras de uma região que não ocorrem na outra, devido às condições influenciadas por fatores bióticos (interações planta/planta, planta/insetos, planta/microrganismos; idade e estágio de desenvolvimento) e abióticos (temperatura, nutrição, pluviosidade, luminosidade, horário e época de coleta, técnicas de colhimento e pós-colhimento) particularmente encontrados em cada região, podendo assim alterar o metabolismo secundário dos espécimes da espécie e conseqüentemente do óleo essencial (MORAIS, 2009).

Dessa forma também Minteguiaga et al. (2018) obtiveram o perfil químico do óleo essencial de partes aéreas de espécimes femininos e masculinos de *B.*

dracunculifolia coletados em Estación Porvenir, Paysandú, no Uruguai, identificando como componentes principais: (E)-nerolidol (17,3%), β -pineno (10,9%), limoneno (8,9%) e espatulenol (5,2%) para a amostra feminina e (E)-nerolidol (16,7%), β -pineno (10,5%), limoneno (9,1%) e espatulenol (5,5%) para a amostra masculina.

5.1 Atividade anti-inflamatória tópica

O TPA aplicado topicamente provocou um significativo aumento na espessura da orelha dos camundongos após 6 e 24 horas de sua administração. Quanto ao efeito antiedematogênico do óleo essencial BDM e BDF na dermatite irritativa induzida por TPA após 6h (Figura 8), todas as concentrações de BDM obtiveram diminuição na formação do edema quando comparadas ao grupo controle, de modo que a dose 0,1 mg/orelha apresentou inibição de $67,4 \pm 9,4\%$, a de 0,3 mg/orelha: $44,4 \pm 7,9\%$ e a de 1,0 mg/orelha: $81,8 \pm 5,9\%$; já em BDF, a diminuição do edema foi significativa apenas na dose 1,0 mg/orelha sendo de $37,5 \pm 12,6\%$ em relação ao grupo controle; o controle positivo DEXA (0,1 mg/orelha) reduziu em $94,7 \pm 3,4\%$ para ambas BDM e BDF em comparação ao grupo controle.

Após 24h de aplicação do TPA (Figura 9), a inibição do edema por BDM na concentração 0,1 mg/orelha foi de $85,6 \pm 7,4\%$, em 0,3 mg/orelha foi de $52,6 \pm 10,2\%$ e em 1,0 mg/orelha foi de $95,0 \pm 5,0\%$ em relação ao grupo controle; na BDF, a concentração 1,0 mg/orelha demonstrou significativa redução do edema, sendo de $87,4 \pm 12,5\%$ quando comparada ao grupo controle; o controle positivo DEXA diminuiu em $96,1 \pm 3,8\%$ para BDM e $93,3 \pm 6,7\%$ para BDF em comparação ao grupo controle.

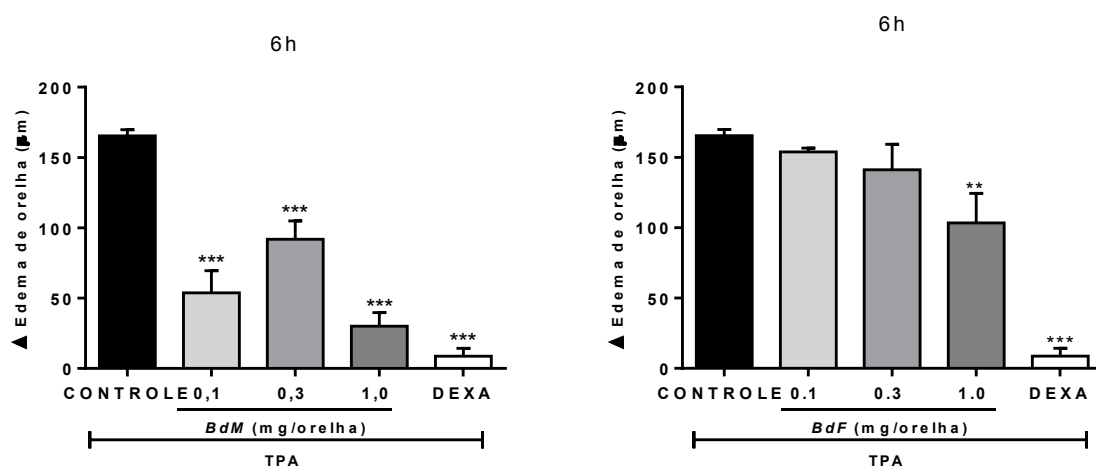


Figura 8 - Ação dos óleos essenciais masculino (à esquerda) e feminino (à direita) frente ao edema de orelha em inflamação aguda induzida por TPA após 6 horas. As barras verticais representam a média \pm EPM (n=6). Os símbolos (*) representam o nível de significância em comparação ao grupo controle: ***p < 0,001, **p < 0,01.
 FONTE: Autoria própria, 2021.

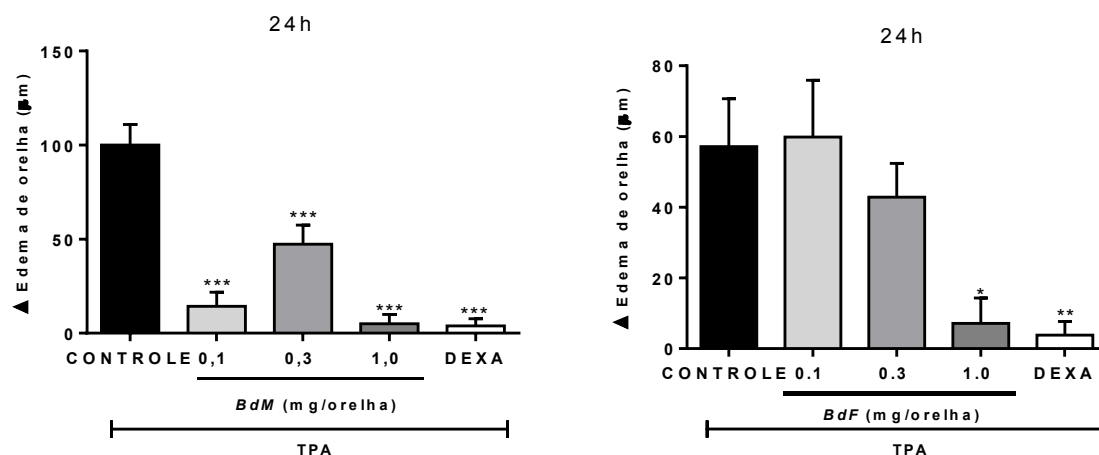


Figura 9 - Ação dos óleos essenciais masculino (à esquerda) e feminino (à direita) frente ao edema de orelha em inflamação aguda induzida por TPA após 24 horas. As barras verticais representam a média \pm EPM (n=6). Os símbolos (*) representam o nível de significância em comparação ao grupo controle: ***p < 0,001, **p < 0,01, *p < 0,05.
 FONTE: Autoria própria, 2021.

Em relação ao efeito do óleo essencial masculino e feminino sobre a migração de células e atividade da enzima MPO na dermatite irritativa induzida por TPA (Figura 10), o TPA aplicado topicamente intensificou a atividade da enzima MPO, já o óleo BDM reverteu a ampliação da atividade enzimática da MPO em todas as concentrações, sendo essa redução de $77,6 \pm 22,2\%$ para 0,1 mg/orelha; $71,1 \pm 13,9\%$ para 0,3 mg/orelha e $93,6 \pm 0,6\%$ para 1,0 mg/orelha em comparação ao grupo controle; já em BDF observou-se diferença estatística apenas na concentração 1,0 mg/orelha, sendo de $81,8 \pm 45,5\%$ em relação ao grupo controle. A DEXA (controle positivo) causou redução na atividade da MPO em $98,5 \pm 0,4\%$ para ambas BDM e BDF.

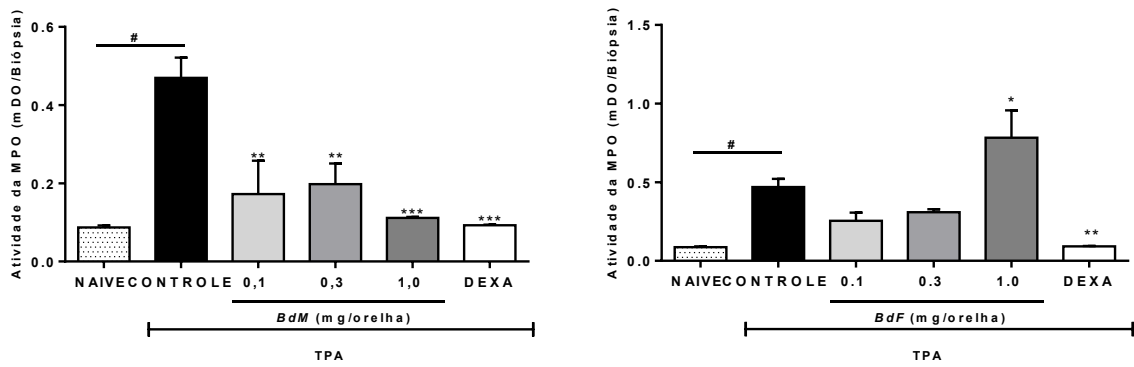


Figura 10 - Ação dos óleos essenciais masculino (à esquerda) e feminino (à direita) frente à enzima MPO em dermatite aguda induzida por TPA. Os símbolos (*) representam o nível de significância em comparação ao grupo controle: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e (#) em relação ao controle quando comparado ao Naive. As barras verticais representam a média \pm EPM (n=3-6).

FONTE: Autoria própria, 2021.

Além disso, por meio de análises da histologia, observou-se que o óleo essencial BDM e BDF diminuiu o número de migração celular para BDM (Figura 11 e 12) na dose 0,1 mg/orelha em $64,3 \pm 3,9\%$, na dose 0,3 mg/orelha em $82,7 \pm 2,7\%$ e na dose 1,0 mg/orelha em $97,1 \pm 0,4\%$; já em BDF (Figura 11 e 13) a concentração 0,1 mg/orelha reduziu em $56,8 \pm 2,2\%$ o número de células migratórias, a concentração 0,3 mg/orelha reduziu em $76,7 \pm 2,3\%$ e a concentração 1,0 mg/orelha reduziu em $96,8 \pm 0,5\%$. A DEXA causou redução em $97,6 \pm 0,6\%$ para ambas BDM e BDF.

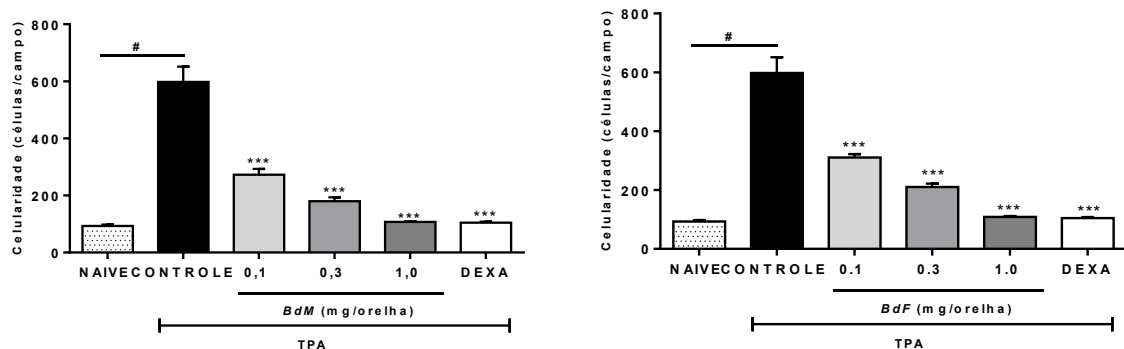


Figura 11 - Ação dos óleos essenciais masculino (à esquerda) e feminino (à direita) frente à migração celular em dermatite aguda induzida por TPA. Os símbolos (*) representam o nível de significância em comparação ao grupo controle: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ e (#) em relação ao controle quando comparado ao Naive. As barras verticais representam a média \pm EPM (n= 3-6).

FONTE: Autoria própria, 2021.

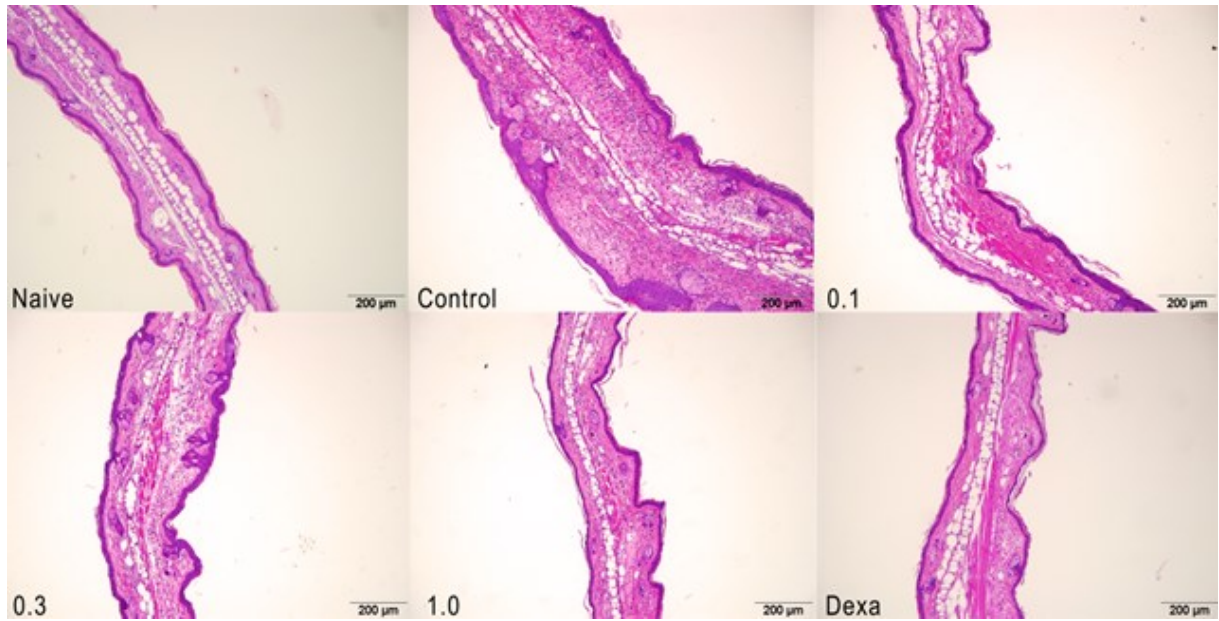


Figura 12 - Corte histológico referente à ação do óleo essencial BDM frente à migração celular em dermatite aguda induzida por TPA.
 FONTE: Autoria própria, 2021.

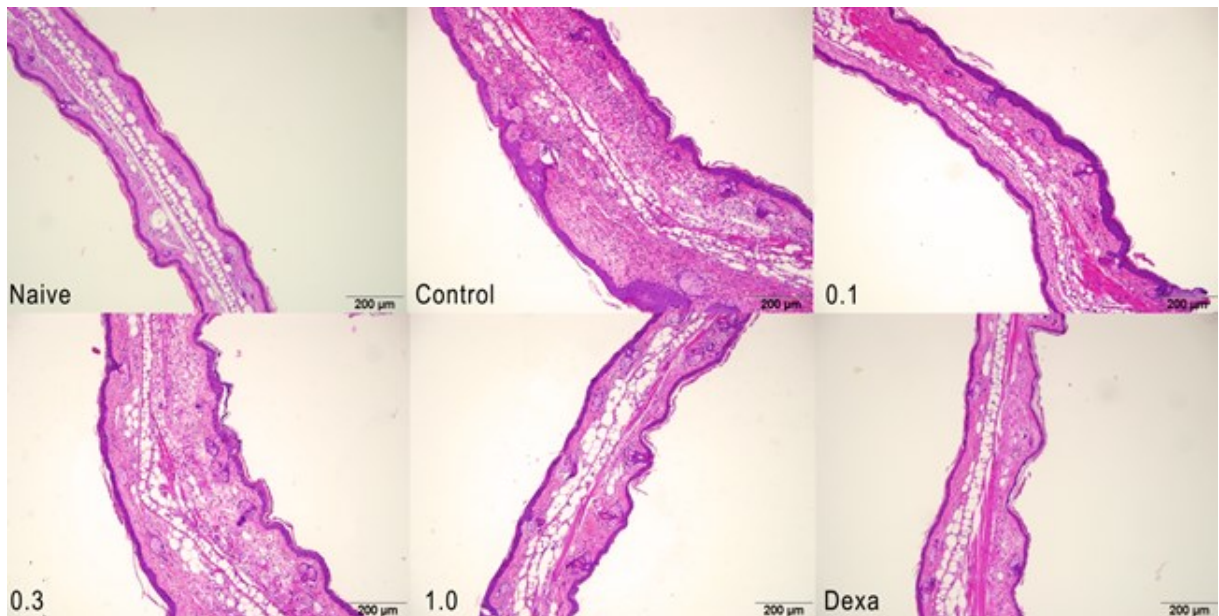


Figura 13 - Corte histológico referente à ação do óleo essencial BDF frente à migração celular em dermatite aguda induzida por TPA.
 FONTE: Autoria própria, 2021.

Observou-se neste trabalho que apesar da constituição química dos compostos majoritários dos óleos essenciais masculinos e femininos serem bastantes similares, em detrimento à ação bioativa desempenhada nos ensaios anti-inflamatórios, verifica-se que BDM obteve melhor efeito quando comparado ao BDF, podendo-se inferir que

tal atividade possivelmente esteja associada com os demais componentes minoritários em sinergismo ou seja resultante da associação entre os compostos majoritários.

Conforme Bastaki et al. (2021) investigaram a atividade do nerolidol em modelo de colite induzida por ácido acético em ratos, os autores observaram que o nerolidol provocou melhora significativa na diminuição do peso corporal, na histologia, restituiu os antioxidantes, inibiu o malondialdeído de se formar, reduziu a atividade da mieloperoxidase, diminuiu significativamente as citocinas pró-inflamatórias e a calprotectina, validando o potencial do nerolidol frente à doença intestinal, à inflamação, à peroxidação lipídica, inibindo o estresse oxidativo e preservando os tecidos e a histologia do cólon.

Okyar et al. (2010) analisaram a influência de diferentes terpenos (nerolidol, mentol e d-limoneno) para suprimir os efeitos colaterais causados pelo ácido tiaprofênico (analgésico e fármaco anti-inflamatório) e elevar a concentração deste no tecido alvo, verificando que o d-limoneno provocou ampliação na penetração pela pele do rato *ex vivo*, enquanto o mentol e o nerolidol não influenciaram na solubilidade do gel do ácido tiaprofênico, desse modo, o d-limoneno foi escolhido para análise *in vivo*, conferindo um aumento de cerca de 10 vezes à AUC_{0-48h} pela adição de 5% de d-limoneno na formulação.

Segundo Ascari et al. (2019) que analisaram a composição química dos óleos essenciais provenientes das folhas de espécimes femininos e masculinos de *B. punctulata*, realizando a avaliação das propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, verificou-se que os óleos essenciais diferiram estatisticamente quanto a sua composição química, apresentando como compostos majoritários do óleo essencial masculino: δ -elemeno (14,29%), germacreno D (11,29%) e biciclogermacreno (10,90%) e do óleo essencial feminino: biciclogermacreno (42,44%), germacreno D (21,18%) e β -cariofileno (14,06%). Além disso observou-se que os tratamentos tópicos dos óleos essenciais dos espécimes femininos e masculinos inibiram a geração de edema influenciado por TPA nos grupos referentes e inibiram o aumento da atividade da MPO, além de que nos testes DPPH e espécies reativas de oxigênio, ambas as amostragens diminuíram o influxo de células inflamatórias e conferiram atividade antioxidante *in vitro*.

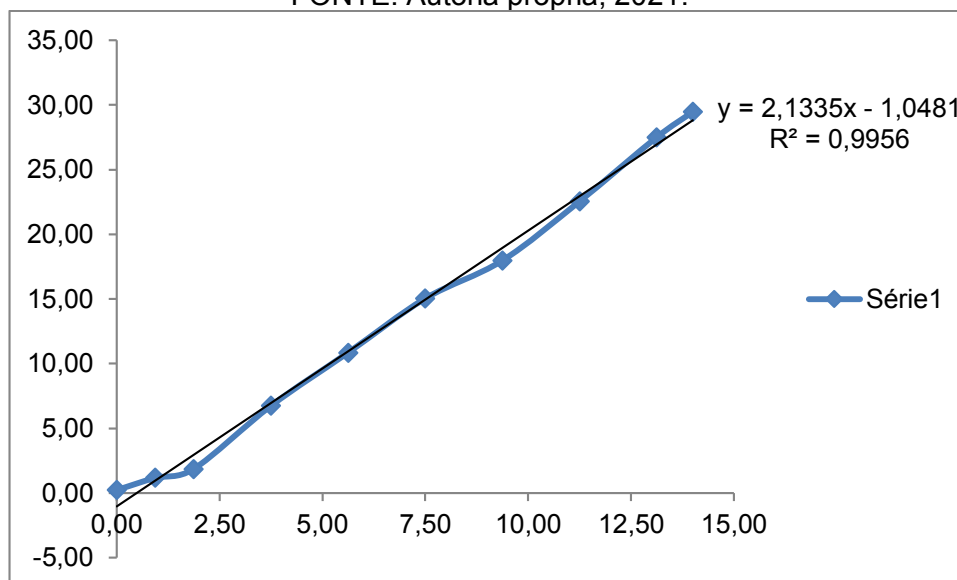
Os testes anti-inflamatórios corroboram-se entre si, visto que o efeito de redução do edema de orelha foi acompanhado da diminuição da atividade da enzima MPO e da inibição da migração de células inflamatórias para o local da infecção, do mesmo modo, quando há minimização do processo inflamatório, também haverá menor concentração de espécies reativas de oxigênio (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

5.2 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante de óleos essenciais pode ser expressa também em função do padrão ácido ascórbico, referente a sua capacidade antioxidante para misturas complexas. Foi obtida uma curva analítica de ácido ascórbico (Gráfico 1) segundo os valores de porcentagem de inibição do radical DPPH de concentrações em série de ácido ascórbico. Obteve-se $y = 2,1335x - 1,0481$ na equação da reta da curva padrão de ácido ascórbico e coeficiente de correlação linear $R^2 = 0,9956$.

Gráfico 1 - Curva analítica do padrão de referência (n = 9) do ácido ascórbico para a capacidade antioxidante de inibição do radical DPPH• e seu coeficiente de correlação linear (R^2).

FONTE: Autoria própria, 2021.



Com base na equação da reta gerada pela curva analítica ($y = 2,1335x - 1,0481$), realizaram-se os cálculos da atividade antioxidante das amostras pelo ensaio DPPH, dado em μg de ácido ascórbico equivalente por mL de amostra ($\mu\text{g AAE/mL}$),

dessa maneira quanto mais elevado o valor equivalente ao ácido ascórbico, mais eficiente é a capacidade antioxidante do óleo essencial, expressa pela degradação gradual da cor violeta ou púrpura ao longo das concentrações dos óleos essenciais testados (Figura 14).

Na atividade antioxidante, o óleo essencial BDF apresentou 55,51 μg de AAE/mL na concentração de 12,5 mg/mL, observando-se inibição de 25,53% do DPPH, já o óleo essencial BDM demonstrou 50,77 μg de AAE/mL na concentração de 12,5 mg/mL, sendo 23,31% de inibição do DPPH.

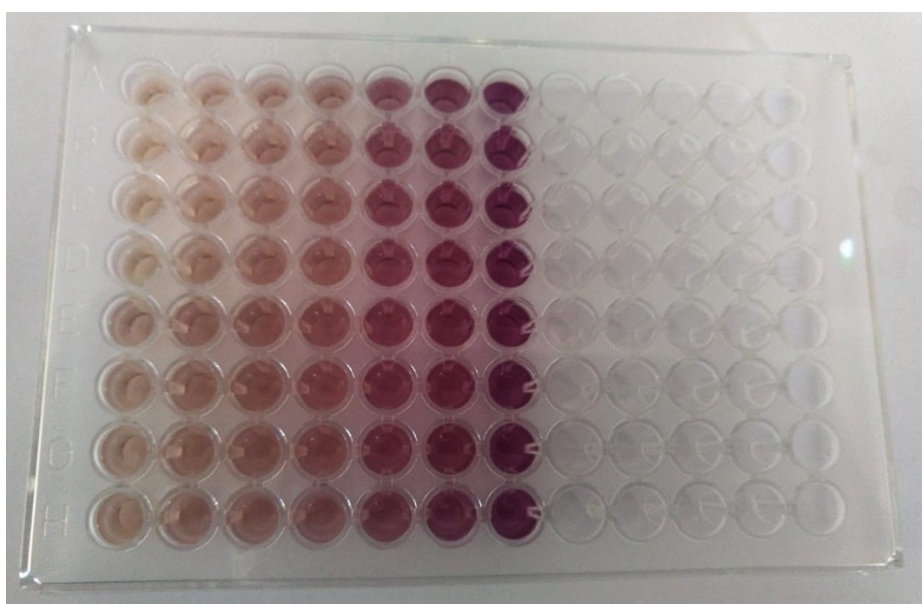


Figura 14 - Poços da avaliação antioxidante com os óleos essenciais.
FONTE: Autoria própria, 2021.

Como aferido neste trabalho, na atividade antioxidante, os óleos essenciais masculinos e femininos não apresentaram diferença estatística significativa entre os espécimes, divergindo do que foi averiguado na atividade anti-inflamatória.

Neto, Sousa e Freitas (2013) analisaram a atividade antioxidante do nerolidol contra a formação de óxido nítrico, o desenvolvimento de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e a produção do radical hidroxila, observaram que houve redução na produção do óxido nítrico e do radical hidroxila, devido provavelmente a capacidade antioxidante *in vitro*, e relatou-se que o nerolidol preveniu a peroxidação lipídica induzida, inibindo o TBARS desenvolvido, de modo similar ao controle padrão de Trolox.

De acordo com Souza et al. (2007) que avaliaram a composição química e a atividade antioxidante dos óleos voláteis das folhas e inflorescências de *Eupatorium polystachyum* DC. verificaram que os compostos majoritários das amostras foram muito similares qualitativamente, apresentando na sua composição química o limoneno (22,8 e 20,5%), o β -mirceno (15,3 e 10,8%) e o β -pineno (14,7 e 9,8%) entre os monoterpenos e o biciclogermacreno (12,0 e 19,2%), o β -cariofileno (10,4 e 15,4%) e o germacreno D (7,2 e 9,4%) entre os sesquiterpenos, tais compostos se assemelham entre os identificados neste trabalho, além disso na capacidade antioxidante realizada através do método DPPH, os óleos demonstraram considerável potencial antioxidante por bioautografia na diluição com éter etílico (v/v) de 1:10.

É possível perceber também a relevância da avaliação de bioatividades anti-inflamatórias e antioxidantes em conjunto, uma vez que se um óleo essencial apresentar resultados significativos em ambos os ensaios, é possível inferir que ao minimizar a inflamação, o óleo também reduzirá o estresse oxidativo, visto que tais processos estão correlacionados (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

6 CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de espécimes masculinos e femininos de *B. dracunculifolia* da região Oeste do estado do Paraná diferiram quanto a sua composição química e também quantitativamente, além de que os compostos majoritários dos óleos essenciais constituem um indicativo para as atividades biológicas relacionadas a eles.

O teste anti-inflamatório destacou o óleo essencial masculino com promissora atividade frente à inflamação induzida pelo TPA, na capacidade antiedematogênica, na redução da atividade da MPO e na histologia em comparação com o óleo essencial feminino.

Já no ensaio antioxidante, o óleo essencial feminino de *B. dracunculifolia* apresentou maior inibição frente ao radical DPPH do que o óleo essencial masculino, porém, constatando-se pouca diferença estatística significativa entre os espécimes.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a identificação do perfil fitoquímico dos óleos essenciais, diferenciando-se espécimes masculinos de femininos de *B. dracunculifolia*, verificou-se que as variações encontradas nos componentes químicos colaboram para um potencial bioativo distinto entre os espécimes, além de que estudos na literatura científica corroboram com este indicativo, percebendo-se a relevância da separação dos espécimes masculinos e femininos, além do que as interações provenientes de fatores abióticos e fatores bióticos influenciam diretamente na composição química dos óleos essenciais.

A atividade anti-inflamatória tópica evidenciou o potencial do óleo essencial masculino, causando efeito antiedematogênico e reduzindo o aumento da atividade da enzima MPO em todas as concentrações testadas, diferentemente do óleo feminino que relatou melhor ação apenas na maior dose testada e em relação a migração celular, o óleo masculino também apresentou maior capacidade anti-inflamatória do que o feminino, demonstrando-se a importância de estudos posteriores para o possível desenvolvimento de produtos de interesse farmacológico e medicinal.

Conforme averiguado na atividade antioxidante, o óleo essencial de *B. dracunculifolia* feminino obteve maior porcentagem de inibição do DPPH em

comparação com o óleo essencial masculino que obteve uma porcentagem similar, sem variações estatísticas significativas, caracterizando a capacidade antioxidante, validando assim a importância de estudos com atividades biológicas distintas, de modo a verificar o efeito de ambos os espécimes dos óleos essenciais em separado.

Devido a constatação de pesquisas científicas em relação aos componentes majoritários de *B. dracunculifolia* e suas atividades biológicas, são necessários estudos complementares com o propósito de isolar tais compostos pelos métodos de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou coluna cromatográfica por exemplo, e testá-los isoladamente, podendo assim verificar se a bioatividade observada se dá pela decorrência de algum composto químico majoritário em específico ou não, ou pela combinação dos compostos majoritários em sinergismo ou ainda pelo sinergismo entre compostos minoritários.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia básica: funções e distúrbios do sistema imunológico**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. 4 th. Illinois, USA: Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 2009.

AGOSTINI, F. et al. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 215-220, 2005.

ALMEIDA, P. D. O. **Avaliação da atividade anti-inflamatória de triterpenos isolados de óleo-resinas de *Protium paniculatum* Engler (Burseraceae)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

ASCARI, J. et al. Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of the essential oils from male and female specimens of *Baccharis punctulata* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 234, p. 1-7, 2019.

AZULAY, R. D.; AZULAY, D. R.; AZULAY-ABULAFIA, L. **Dermatologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

BARROSO, G. M. Compositae – Subtribo BACCHARIDINAE Hoffmann: Estudo das espécies ocorrentes no Brasil. **Rodriguésia**, n. 40, p. 1-281, 1976.

BASTAKI, S. M. A. et al. Nerolidol, a sesquiterpene, attenuates oxidative stress and inflammation in acetic acid-induced colitis in rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 69, n. 21, p. 5887-5896, 2021.

BASTOS, E. M. A. F. **Origem botânica e indicadores de qualidade da “própolis verde” produzida no Estado de Minas Gerais, Brasil**. 2001. Tese (Doutorado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

BESTEN, M. A. et al. Chemical Composition Similarity between the Essential Oils Isolated from Male and Female Specimens of Each Five *Baccharis* Species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 6, p.1041-1047, 2012.

BESTEN, M. A. **Metabólitos secundários de três espécies do gênero *Baccharis*: *Baccharis milleflora*, *Baccharis trimera* e *Baccharis dracunculifolia***. 2016. Tese (Doutorado em Química) – Associação Ampla UEL/UEPG/UNICENTRO, Ponta Grossa.

BOEING, T. et al. Gastric healing effect of p-coumaric acid isolated from *Baccharis dracunculifolia* DC on animal model. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 394, n. 1, p 49-57, 2021.

BOLLER, S. et al. Anti-inflammatory effect of crude extract and isolated compounds from *Baccharis illinita* DC in acute skin inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, p. 262-266, 2010.

BRITO, P. S. **Avaliação da atividade anti-inflamatória tópica do composto PelleC1 Isolado da *Combretum leprosum***. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.

BUDEL, J. M. et al. Morfoanatomia foliar e caulinar de *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 4, p. 477-83, 2004.

BUDEL, J. M. et al. O progresso da pesquisa sobre o gênero *Baccharis*, Asteraceae: I - Estudos botânicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p.268-271, 2005.

BRADLEY, P. P. et al. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 78, n. 3, p. 206-209, 1982.

CAMPOS, F. R. et al. *Baccharis* (Asteraceae): Chemical Constituents and Biological Activities. **Chemistry and Biodiversity**, v. 13, p. 1-17, 2016.

CASTRO, J.; RIVERA, D.; FRANCO, L. A. Topical anti-inflammatory activity in TPA-induced mouse ear edema model and *in vitro* antibacterial properties of *Cordia alba* flowers. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 49, n. 3, p. 331-336, 2018.

CAZELLA, L. N. et al. Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) Aerial Parts at Flowering Period. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 27, p. 1-9, 2019.

COSTA, G. M. B. A. **Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos e de óleo essencial de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*)**. 2016. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade de Brasília, Brasília.

FABRI, R. L. et al. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 183-189, 2011.

FERRONATTO, R. et al. Atividade antioxidante dos óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Arquivos de Ciências da Saúde**, v. 10, n. 2, p. 67-70, 2006.

FIGUEIREDO, A. S. G. **Efeito da sazonalidade no perfil químico e na atividade antioxidante de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) e ação modulatória desta planta sobre o metabolismo oxidativo de neutrófilos**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

FOKOU, J. B. H.; DONGMO, P. M. J.; BOYOM, F. F. **Essential Oil's Chemical Composition and Pharmacological Properties**. In: *Essential Oils - Oils of Nature*, Londres: IntechOpen, 2020.

FREITAS, P. R. et al. Characterization and antibacterial activity of the essential oil obtained from the leaves of *Baccharis coridifolia* DC against multiresistant strains. **Microbial Pathogenesis**, v. 145, p. 1-5, 2020.

FUKUDA, M. et al. Studies on the constituents of the leaves of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) and their cytotoxic activity. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 54, p. 1465-1468, 2006.

GÁBOR, M. **Mouse ear inflammation models and their pharmacological applications**. Budapest, Akadémiai Kiadó, 2000.

GLOBAL COMPOSITAE DATABASE. 2021. Disponível em: <[https://www.compositae.org/aphia.php?p=browser&accepted=1&id\[\]=1081107&id\[\]=1074873&id\[\]=1075079&id\[\]=415090#focus](https://www.compositae.org/aphia.php?p=browser&accepted=1&id[]=1081107&id[]=1074873&id[]=1075079&id[]=415090#focus)>. Acesso em: 10 dez. 2021.

GLOBAL COMPOSITAE DATABASE. 2021. Disponível em: <<https://www.compositae.org/aphia.php?p=stats>>. Acesso em: 31 out. 2021.

GRANATO, D. et al. Authentication of geographical origin and crop system of grape juices by phenolic compounds and antioxidant activity using chemometrics. **Journal of food Science**, v. 80, n. 3, p. C584-C593, 2015.

GOMES, V.; FERNANDES G. W. Germinação de aquênios de *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 4, p. 421-427, 2002.

HADAD, M. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from *Baccharis grisebachii* Hieron (Asteraceae). **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 52, n. 2, p. 1186-1189, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-97072007000200015&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 29 out. 2021.

HEIDEN, G. **Espécime masculina de *B. dracunculifolia***. 2011. 1 fotografia. Disponível em: <<https://specieslink.net/search/>>. Acesso em: 05 nov. 2021.

HEIDEN, G. **Espécime feminina de *B. dracunculifolia***. 2011. 1 fotografia. Disponível em: <<https://specieslink.net/search/>>. Acesso em: 05 nov. 2021.

HEIDEN, G. **Regiões de ocorrência da *B. dracunculifolia* no Brasil**. 2020. 1 fotografia. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB5177>>. Acesso em: 08 jul. 2021.

HEIDEN, G.; SCHNEIDER, A. *Baccharis* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB5177>>. Acesso em: 05 nov. 2021.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C. M. O. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia - do Produto Natural ao Medicamento. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

KILKENNY, C. et al. Animal Research: Reporting in Vivo Experiments-The ARRIVE Guidelines. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 31, n. 4, p. 991-993, 2011.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L. **Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1991. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/doc8-1991_000gc3p3vcp02wx5ok01dx9lc4wnplbh.pdf>. Acesso em: 08 jul. 2021.

MALE, D. et al. **Imunologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., 2021.

MELO, D. M.; BCZUSKA, G. C. **Contituíntes químicos da espécie *Baccharis dracunculifolia* - revisão de literatura**. 2021. Disponível em: <<http://www.cesca.com.br/revistas/index.php/sic/article/view/1292>>. Acesso em: 05 nov. 2021.

MINTEGUIAGA, M. et al. Volatile Constituents from *Baccharis* spp. L. (Asteraceae): Chemical Support for the Conservation of Threatened Species in Uruguay. **Chemistry & Biodiversity**, v. 15, n. 5, p. 1-9, 2018.

MINTEGUIAGA, M. et al. ***Baccharis dracunculifolia* DC**. In: MÁTHÉ, A.; BANDONI, A. Medicinal and Aromatic Plants of South America Vol. 2: Argentina, Chile e Uruguai. Springer, 2021.

MIRANDA, C. A. S. F. et al. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 50-63, 2009. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/143457/1/2009AA-051.pdf>>. Acesso em: 08 jul. 2021.

NETO, J. D. N.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Avaliação do potencial antioxidante *in vitro* do nerolidol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 125-130, 2013.

OKYAR, A. et al. The Effect of Terpenes on Percutaneous Absorption of Tiaprofenic Acid Gel. **Archives of Pharmacal Research**, v. 33, n. 11, p. 1781-1788, 2010.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.

OLIVEIRA, M. S. **Espécie *B. dracunculifolia* na região Oeste do estado do Paraná**. 2017. 1 fotografia.

OLIVEIRA, M. S. **Equipamento utilizado para extração do óleo essencial através de hidrodestilação**. 2017. 1 fotografia.

PAROUL, N. et al. Composição química e atividade antioxidante de *Baccharis trimera* Pers e *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). **Revista Perspectiva**, v. 40, n. 151, p. 55-64, 2016.

PEDROTTI, C.; RIBEIRO, R. T. S.; SCHWAMBACH, J. Control of postharvest fungal rots in grapes through the use of *Baccharis trimera* and *Baccharis dracunculifolia* essential oils. **Crop Protection**, v. 125, p. 1-7, 2019.

PEGORINI, F.; MARANHO, L. T.; ROCHA, L. D. Organização estrutural das folhas de *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 3, p. 272-275, 2008.

PEREIRA, C. B. et al. Cytotoxic mechanism of *Baccharis milleflora* (Less.) DC. essential oil. **Toxicology in Vitro**, v. 42, p. 214-221, 2017.

PROBST, I. S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista. Botucatu.

SALAZAR, G. J. T. et al. Phytochemical characterization of the *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) essential oil and antibacterial activity evaluation. **Industrial Crops & Products**, v. 122, p. 591-595, 2018.

SÁNCHEZ, T. et al. Role of leukocyte influx in tissue prostaglandin H synthase-2 overexpression induced by phorbol ester and arachidonic acid in skin. **Biochemical Pharmacology**, v. 58, p. 877-879, 1999.

SANTOS, D. A. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 543-550, 2010.

SANTOS, R. F. et al. Produção de fitomassa, teor e produtividade do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. em função da adubação orgânica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. especial, p. 574-581, 2011.

SANTOS, R. F. et al. Composição química e produtividade dos principais componentes do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. em função da adubação orgânica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. esp., p. 224-234, 2012.

SFORCIN, J. M. et al. ***Baccharis dracunculifolia***: Uma das principais fontes vegetais da própolis brasileira. São Paulo: Unesp, 2012. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/113675/ISBN9788539303762.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 05 nov. 2021.

SILVA FILHO, A. A. et al. **Atividades biológicas da *Baccharis dracunculifolia***. In: SFORCIN, J. M. et al. *Baccharis dracunculifolia*: Uma das principais fontes vegetais da própolis brasileira. São Paulo: Unesp, 2012. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/113675/ISBN9788539303762.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 05 nov. 2021.

SILVA, T. G. et al. Phytochemical characterization and inhibition of *Candida* sp. by the essential oil of *Baccharis trimera* (Less.) DC. **Archives of Microbiology**, v. 203, p. 3077-3087, 2021.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SOUSA, J. P. B. **Influência da sazonalidade no perfil químico dos óleos essenciais e das substâncias fixas de *Baccharis dracunculifolia* cultivada, utilizando-se cromatografia em fases gasosa e líquida**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SOUZA, T. J. T. et al. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 368-372, 2007.

STALH, E.; SCHILD, W. **Drogenanalyse II**: inhaltsstoffe und Isolierungen. NewYork, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 461p., 1981.

TOMAZZOLI, M. M. et al. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from Populations of *Baccharis dracunculifolia* DC. in Southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, p. 1-14, 2021.

VASCONCELOS, T. B. et al. Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo? **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 16, n. 3, p. 213-219, 2014.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos Químicos, Econômicos e Biológicos. **Química Nova**, v. 28, p.85-94, 2005.

DE YOUNG, L. M. et al. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents and Actions**, Basel, v. 26, n. 3-4, p. 335-341, 1989.

ZIMMERMANN, R. C. et al. Insecticide activity and toxicity of essential oils against two stored-product insects. **Crop Protection**, v. 144, p. 1-8, 2021.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Página inicial do artigo *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) essential oil displays anti-inflammatory activity in models of skin inflammation.

Journal of Ethnopharmacology 259 (2020) 112840



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Ethnopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jethpharm



Baccharis dracunculifolia (Asteraceae) essential oil displays anti-inflammatory activity in models of skin inflammation



Margareth Mello Brandenburg^a, Fernanda Grillo Rocha^a, Priscila Lúcia Pawloski^a, Bruna da Silva Soley^a, Andressa Rockenbach^b, Dilamara Riva Scharf^c, Gustavo Heiden^d, Jociani Ascari^b, Daniela Almeida Cabrini^a, Michel Fleith Otuki^{a,*}

^a Department of Pharmacology, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil

^b Phytochemistry Laboratory, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, PR, Brazil

^c Chromatography Laboratory, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC, Brazil

^d Embrapa Clima Temperado, Rodovia BR 392, km 78. Pelotas, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Inflammation
Skin
Essential oil
Baccharis dracunculifolia

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) is a commonly used plant in traditional medicine known as “alecrim-do-campo”. Popularly it has been used as an immunostimulant, antibiotic, anti-inflammatory among other applications. So far, only a few studies have investigated the *B. dracunculifolia* anti-inflammatory effect and none has investigated the effectiveness of essential oil on skin diseases.

Aim of the study: The study aimed at evaluating the topical anti-inflammatory activity of *B. dracunculifolia* essential oil (BdEO) in mice models of acute and chronic skin inflammation.

Materials and methods: BdEO was obtained from leaves and it was analyzed with Gas Chromatograph. Topical anti-inflammatory activity of BdEO (0.1, 0.3 and 1.0 mg/ear) was evaluated in Arachidonic Acid or TPA-induced acute and chronic skin inflammation in mice. Parameters such edema, cell migration and keratinocytes proliferation were evaluated. In addition, safety and a possible mechanism of action for BdEO essential oil were also investigated.

Results: Our results indicate that mainly terpenoids compounds compose BdEO. In addition, topical treatment with BdEO inhibited inflammatory parameters in both acute and chronic models of skin inflammation. This protective effect was associated with reduced edema formation, smaller cellular influx into the inflamed tissue and reduction of keratinocytes hyperproliferation. Although BdEO appears to exert its anti-inflammatory effect through a corticosteroid pathway, no local or systemic side effects were observed.

Conclusion: Taken together, the present results showed that the essential oil obtained by hydrodistillation from *B. dracunculifolia* leaf samples exhibit remarkable topical anti-inflammatory properties. Therefore, our study demonstrated evidence for BdEO topical anti-inflammatory efficacy and safety, suggesting that it could be considered for developing of a new phytotherapeutic formulation as treatment for skin diseases.

1. Introduction

The genus *Baccharis* represents a large part of the Asteraceae family with more than 360 described species, widely distributed throughout South America and are commonly seen as small shrubs with different morphologies (Ramos Campos et al., 2016). Thus, *B. dracunculifolia* is a native plant in Brazil widely used for medicinal purpose as immunomodulator, anti-bacterial, antidiabetic agent, and many other

properties (Freires et al., 2015; Trojan-Rodrigues et al., 2012). Bankova et al. (1999) described that *B. dracunculifolia* is the major source of Brazilian green propolis, and since then, its use has grown in scientific and commercial applications. Indeed, in South America, *B. dracunculifolia* leaves have an important role in economy, where its essential oil arouses great interest, especially to the perfumery industry (Budel and Duarte, 2010).

Several studies have evaluated *B. dracunculifolia* medicinal action,

* Corresponding author. Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Farmacologia, Av. Coronel Francisco Heráclito dos Santos, s/n, CEP: 81.530900, PO Box: 19031, Curitiba, Paraná, Brazil.

E-mail addresses: margarethbrandenburg@gmail.com (M.M. Brandenburg), fer_grillo@hotmail.com (F.G. Rocha), priscilapawloski@yahoo.com.br (P.L. Pawloski), brunasoley@gmail.com (B.D.S. Soley), andressa.rockenbach2000@gmail.com (A. Rockenbach), dilaquimica@gmail.com (D.R. Scharf), gustavo.heiden@gmail.com (G. Heiden), jociascari@gmail.com (J. Ascari), cabrini@ufpr.br (D.A. Cabrini), otuki@ufpr.br (M.F. Otuki).

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112840>

Received 26 September 2019; Received in revised form 23 March 2020; Accepted 1 April 2020

Available online 05 April 2020

0378-8741/ © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.