

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICA
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MURILO SILVA DE OLIVEIRA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DAS FOLHAS DE ESPÉCIMES FEMININO E MASCULINO DE
Baccharis punctulata DC.

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

SANTA HELENA
2021

MURILO SILVA DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DAS FOLHAS DE ESPÉCIMES FEMININO E MASCULINO DE
Baccharis punctulata DC.**

**Chemical and biological characterization of the essential oils from leaves of
female and male specimens of *Baccharis punctulata* 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).
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jociani Ascari

SANTA HELENA

2021

MURILO SILVA DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL
DAS FOLHAS DE ESPÉCIMES FEMININO E MASCULINO DE
Baccharis punctulata DC.**

Este trabalho de conclusão de curso foi apresentado no dia 07 de maio de 2021, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas, outorgado pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O aluno Murilo Silva de Oliveira foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Edicleia Aparecida Bonini e Silva
UTFPR-SH

Prof^a. Dr^a. Rejane Barbosa de Oliveira
UTFPR-SH

Prof^a. Dr^a. Jociani Ascari
Orientadora - UTFPR

Dedico este trabalho à Odília Alves de Oliveira, minha avó, sábia mulher analfabeta que com sua simplicidade me fez apaixonar e respeitar a vida.

AGRADECIMENTOS

Aos cosmos e sua respectiva entropia;

À minha orientadora, Dra. Jociani Ascari pelos os conhecimentos, confiança e amizade partilhados ao longo desses anos;

Ao professor Dr. Domingos Sávio Nunes pela mentoria e conhecimentos partilhados;

Ao Dr. Gustavo Heiden pela identificação botânica;

À Dra. Dilamara Riva Scharf e Dr. Edésio Simionatto pelas as análises cromatográficas;

Ao Dr. Michel Otuki e Ms. Bruna Soley pelos os ensaios farmacológicos;

Ao Dr. Daniel Granato pelos os ensaios antioxidantes;

À Andressa Rockenbach pelo companheirismo e ajuda, os quais foram essenciais para desenvolvimento deste trabalho;

Aos técnicos dos laboratórios pelos os conhecimentos partilhados e ajuda;

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná *campus* Santa Helena por ter cedido a estrutura para produção e perpetuação do conhecimento e a Fundação Araucária pelo o apoio financeiro;

À Odília Alves de Oliveira, por ter me ensinado os valores morais para conviver em sociedade, pelo seu amor e apoio;

Aos meus pais Thais Alessandra R. da Silva e Sebastião Custódio de Oliveira e ao meu irmão Danilo Silva de Oliveira por nunca ter me deixado desistir, pelo o amor, carinho e apoio financeiro;

À Ana Paula dos Santos Humberto pelas as brigas, confidências, sorrisos, carbonos compartilhados e por ter me tornado humano;

À Margarida Nogueirinha pelas as conversas, momentos solidão partilhados madrugadas a dentro e por ter feito parte da melhor noite da minha vida;

À Jaqueline Antonello e Maria Penguin pela amizade em construída ao longo do intercâmbio, conversas e companheirismo nos momentos de alegrias e tristezas;

À Cleide Bezzera por ter me acolhido como filho;

Ao Euristenede Vanuel por ter sido como irmão, por sempre me apoiar e principalmente pelas as belas conversas filosóficas madrugadas a dentro;

Não te abandones, pois, ao fogo, para que ele não te inverta, não te inutilize, como aconteceu comigo por algum tempo. Há sabedoria que é angústia; porém há uma angústia que é uma loucura. E em algumas almas se aninha uma águia que pode igualmente descer aos barrancos mais profundos e sombrios, como também subir e tornar-se invisível nos espaços cheios de sol. E ainda que voasse sempre dentro do barranco, esse barranco se encontra entre montanhas, de modo que, até na sua descida mais profunda, a águia das montanhas está a maior altura do que os outros pássaros da planície, por mais alto que voem.

(MELVILLE, p. 473, 1851)

RESUMO

SILVA DE OLIVEIRA, Murilo. **Caracterização química e biológica do óleo essencial das folhas de espécimes feminino e masculino de *Baccharis punctulata* DC.** 2021. 52f. 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 punctulata (Astareae) é uma espécie dioica pouco estudada quanto à sua composição química. Essa espécie é utilizada na Província de Bustillo, Bolívia, no tratamento de asma, contusões e luxações, porém não há nenhum trabalho científico que corrobora com o seu uso tradicional. O objetivo deste trabalho foi analisar a composição química dos óleos essenciais das folhas dos espécimes feminino (BPF) e masculino (BPM) de *B. punctulata* por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas e Detector de Ionização de Chamas (CG-EM-DIC) e avaliar suas atividades frente aos testes antioxidante e anti-inflamatório. Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação utilizando *apparatus* Clevenger modificado. A atividade anti-inflamatória foi avaliada por meio da inibição da formação de edema induzido na orelha de camundongos com 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA), inibição da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), redução das espécies reativas de oxigênio (EROs) e migração celular e a atividade antioxidante foi medida frente ao radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Os compostos majoritários para BPF foram o biciclogermacreno (42,44%), germacreno D (21,18%), β -cariofileno (14,06%) e limoneno (3,40%) e para BPM δ -elemeno (14,29%), germacreno D (11,29%), biciclogermacreno (10,90%) e β -farneseno (6,74%). A administração isolada de TPA promoveu um aumento na atividade enzimática da MPO, e a inibição do aumento da atividade MPO para BPF foi de $13,69 \pm 0,20\%$ (0,1 mg/orelha), $22,35 \pm 0,11\%$ (0,3 mg/orelha) e $44,98 \pm 0,27\%$ (1,0 mg/orelha) enquanto que para BPM foi de $22,40 \pm 0,29\%$ (0,1 mg/orelha), $36,49 \pm 0,07\%$ (0,3 mg/orelha) e $52,19 \pm 0,28\%$ (1,0 mg/orelha). O controle positivo dexametasona (0,1 mg/orelha) foi capaz de reverter o aumento da atividade enzimática da MPO em $65,16 \pm 0,003$. A análise histológica demonstrou que a aplicação tópica de TPA promoveu influxo celular, entretanto essa inflamação foi reduzida com a aplicação tópica das amostras de BPF e BPM e do controle positivo. Os resultados observados nos testes EROs e DPPH mostram que ambas as amostras foram capazes de reduzir o influxo de células inflamatórias e que possuem propriedades anti-inflamatórias *in vivo* e antioxidantes *in vitro*. Foi possível concluir que os óleos essenciais dos espécimes feminino e masculino de *B. punctulata* possuem diferenças químicas e possuem atividade anti-inflamatória e antioxidante respaldando o uso tradicional desta espécie na medicina popular.

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

ABSTRACT

SILVA DE OLIVEIRA, Murilo. **Chemical and biological characterization of the essential oils from leaves of female and male specimens of *Baccharis punctulata* DC.** 2021. 52f. 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 punctulata (Asteraceae) is a dioecious specie little studies chemically. This specie is use in Bustillo Province, Bolivia, in asthma, contusion and luxation treatments, but there is no any work that supports your traditional use. The objective this work was to analyze the chemical composition of the essential oils from female (BPF) and male (BPM) of *B. punctulata* by Gaseous Chromatography coupled Mass Spectrometry and Flame Ionization Detector and to evaluate anti-inflammatory and antioxidant activities. The essential oils were extracted by hydrodistillation using medicated Clevenger *apparatus*. The anti-inflammatory activity was evaluated by through of inhibition of edema induced by 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate in ear mice, inhibition of activity myeloperoxidase, reduction of reactive oxygen species and cell migration, the antioxidant activity was evaluated front DPPH radical. The majority compouds for BPF were bicyclogermacrene (42.44%), germacrene D (21.18%), β -caryophyllene (14.06%) and limonene (3,40%) and for BPM δ -elemene (14,29%), germacrene D (11,29%), bicyclogermacrene (10,90%) e β -farnesene (6,74%). The isolate administration of TPA promoted a increase in MPO enzymatic activity and the inhibition of increase of MPO enzymatic activity for BPF was of $13.69 \pm 0.20\%$ (0.1 mg/ear), $22.35 \pm 0.11\%$ (0.3 mg/ ear) e $44.98 \pm 0.27\%$ (1.0 mg/ ear) while for BPM was of $22.40 \pm 0.29\%$ (0.1 mg/ear), $36.49 \pm 0.07\%$ (0.3 mg/ear) e $52.19 \pm 0.28\%$ (1.0 mg/ear). The dexamethasone positive control (0,1 mg/ear) was able to reverse the increase of MPO enzymatic activity at in 65.16 ± 0.003 . The histological analysis demonstrated that application of TPA promotes the call influx, however this inflammation was reduced with topical application of the samples BPF and BPM and of positive control. The results observed in ROS and DPPH assays show that both samples were able to reduce the inflammatory cells influx and have anti-inflammatory *in vivo* and antioxidant *in vitro* propriety. Was possible to conclude that the essential oils from female and male specimens of *B. punctulata* have chemical differences and have anti-inflammatory and antioxidant activity, supporting the use this specie in folk medicine.

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

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Distribuição da Família Asteraceae no mundo.	15
Figura 2: Distribuição do gênero <i>Baccharis</i> no Brasil.	17
Figura 3: <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC. (A); <i>Baccharis crispa</i> Spring. (B) e <i>Baccharis uncinella</i> DC. (C).	17
Figura 4: Monoterpenos e sequiterpenos frequentes nos óleos essenciais de <i>Baccharis</i>	20
Figura 5: Estruturas de <i>Baccharis punctulata</i> , Folhas (A); Inflorescências masculinas (B); Inflorescências femininas (C).	21
Figura 6: Processo inflamatório.	23
Figura 7: Redução do radical DPPH.	25
Figura 8: <i>Apparatus</i> utilizados na extração dos óleos essenciais.....	26
Figura 9: Cromatogramas das amostras BPF (A) e BPM (B).	31
Figura 10: Efeito dos óleos essenciais BPF e BPM sobre a inflamação induzida por TPA (A), Redução da atividade da enzima MPO (B).	34
Figura 11: Cortes transversais de orelhas de camundongos.	35
Figura 12: Contagem das células dos cortes histológicos.	36
Figura 13: Efeitos de BPF e BPM sobre EROs.	36
Figura 14: Potencial antioxidante de BPF e BPM frente ao radical DPPH.	38

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

BPF- *Baccharis punctulata* Feminino

BPM- *Baccharis punctulata* Masculino

CG-EM-DIC- Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas e Detector de Ionização de Chamas

DCHF- 2,7 diclorofluoresceína

DCHF-DA- 2',7' diacetato de diclorofluoresceína

DEXA- Dexametasona

DPPH- 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

ERO- Espécies Reativas de Oxigênio

mg AAE/g- mg Ácido Ascórbico Equivalente por g de Óleo Essencial

MPO- Mieloperoxidase

TPA - 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo geral	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1	Óleos essenciais	14
3.2	Família Asteraceae	15
3.3	Gênero <i>Baccharis</i>	16
3.3.1	Distribuição e Morfologia	16
3.3.2	Uso tradicional e bioatividades	18
3.3.3	Composição química dos óleos essenciais	18
3.4	Espécie <i>Baccharis punctulata</i>	20
3.4.1	Distribuição, morfologia e anatomia vegetal	20
3.4.2	Uso tradicional e bioatividades	22
3.4.3	Composição química dos óleos essenciais	22
3.5	Bioatividades	23
3.5.1	Atividade anti-inflamatória	23
3.5.2	Atividade antioxidante	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1	Coleta e preparo do material vegetal	26

4.2	Extração dos óleos essenciais	26
4.3	Análises cromatográficas	27
4.4	Ensaio Anti-inflamatório	28
4.4.1	Animais.....	28
4.4.2	Inflamação aguda de orelha induzida por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA).....	28
4.4.3	Ensaio sobre a atividade enzimática da Mioeloperoxidase (MPO).....	29
4.4.4	Análise histológica.....	29
4.4.5	Avaliação de EROs.....	30
4.5	Ensaio antioxidante	30
4.6	Análise estatística	30
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
5.1	Composição química dos óleos essenciais	31
5.2	Atividade Anti-inflamatória e Antioxidante	33
6	CONCLUSÕES	40

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a base de dados Flora do Brasil (2021) há o registro de 38.676 espécies de plantas no Brasil, sendo que 19.681 são endêmicas. Algumas dessas espécies são utilizadas na medicina popular para o tratamento de diversas doenças, porém apenas cerca de 0,4% da flora brasileira possui estudos químico, e dentre as famílias utilizadas tradicionalmente se destaca a família Asteraceae (GURIB-FAKIM, 2006; RICARDO et al., 2017;).

A família Asteraceae possui diversos gêneros utilizados na medicina popular, destacando-se o gênero *Baccharis* L., distribuído desde do Sul do Canadá até o Sul da Argentina e Chile, no Brasil, com exceção do estado Amapá, encontra-se distribuída por todo o território, tendo maior incidência nas regiões Sul e Sudeste (GIULIANO, 2001; VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; CAMPOS et al., 2016).

Espécies do gênero *Baccharis* são majoritariamente dioicas e apresentam-se como arbustos, cujo tamanho normalmente não ultrapassa quatro metros de altura, com caules e ramificações cilíndricas, enquanto que a morfologia das folhas e inflorescências variam de espécie para espécie, ressalta-se que algumas espécies possuem caules reduzidos a cladódios (GIULIANO, 2001; HEIDEN; ANTONELLI; PIRANI, 2019).

Na América do Sul a população em geral faz uso de infusões e extratos alcoólicos de espécies do gênero *Baccharis* para o tratamento de várias doenças tais como inflamações cutâneas e internas, desordens intestinais, diabetes, entre outras (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; CAMPOS et al., 2016).

A espécie com maior relato de uso tradicional é a *Baccharis trimera* DC., utilizada para tratamento de infecções, inflamações, desordens hepáticas e gástricas (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; RABELO; COSTA, 2018) e Barbosa et al. (2020) avaliou a atividade hepatoprotetora do extrato etanólico de *B. trimera*, o qual apresentou atividades promissoras frente aos testes avaliados.

De acordo com Ascari et al. (2012) o óleo essencial das folhas da espécie *Baccharis uncinella* DC. apresentou atividade sedativa corroborando com o uso tradicional pelos índios Laklaño como sedativo e regulador da pressão sanguínea.

Baccharis punctulata DC. é utilizada na província de Bustillo, Bolívia, no tratamento de asma, contusões e luxações, porém não há informações científicas que respalde seu uso tradicional (FERNANDEZ; SANDI; KOKOSKA, 2003). Assim, o objetivo desse trabalho é analisar a composição química e verificar as bioatividades dos óleos essenciais das folhas dos espécimes feminino e masculino de *B. punctulata*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi analisar a composição química e bioatividades dos óleos essenciais das folhas dos espécimes feminino e masculino de *B. punctulata*.

2.2 Objetivos específicos

- Obter os óleos essenciais de ambos espécimes;
- Analisar o perfil químico dos óleos essenciais de ambos espécimes;
- Verificar a atividade anti-inflamatória dos óleos essenciais obtidos *in vivo*;
- Verificar a atividade antioxidante dos óleos essenciais obtidos *in vitro*;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são constituídos principalmente por hidrocarbonetos terpênicos, entretanto pode-se encontrar grupos oxigenados tais como aldeídos, cetonas, óxidos, entre outros. Estes compostos são originários do metabolismo secundário vegetal. Nas plantas são responsáveis pela proteção contra herbivoria e patógenos além de atrair animais polinizadores (CSEKE; KAUFMAN; KIRAKOSYAN, 2007).

Os óleos essenciais brutos e seus compostos isolados são amplamente empregados nas indústrias cosmética, alimentícia e farmacêutica. Devido à produção em larga escala de óleos essenciais de frutos cítricos o Brasil ocupa a posição de maior produtor de óleos essenciais no mundo, porém no passado

também foi o principal produtor e importador dos óleos essenciais de sassafrás e menta (BIZZO; HOVEL; REZENDE, 2009).

As extrações dos óleos essenciais podem ser feita por diversos métodos, como por exemplo por meio de fluído supercrítico, *enfleurage*, hidrodestilação e extração por arraste de vapor d' água, os dois últimos são mais utilizados nos laboratórios por serem de simples execução e com baixo custo (REVERCHON, 1997; PENSUK; PADUMANONDA; PICHANSON, 2007; SILVEIRA et al., 2012)

Após o processo de extração os óleos essenciais são submetidos às análises cromatográficas afim de verificar a composição química, sendo a mais utilizada a cromatografia gasosa, pois é capaz de separar e detectar os compostos de maneira eficaz e permite acoplar no final da coluna diversos detectores tais como espectrômetro de massas (EM) e detector de ionização de chamas (DIC) (LANÇAS, 2017).

3.2 Família Asteraceae

Segundo a base de dados *Global Compositae Data Base* (2021) a família Asteraceae é o maior do clado das Angiospermas, possui 32.876 espécies que na atual classificação estão distribuídas em 12 subfamílias e 1765 gêneros, as quais, com exceção da Antártida e a Região Ártica, podem ser encontradas em todos os continentes, porém ocorrem com maior incidência na Zona Tropical, (Figura 1).

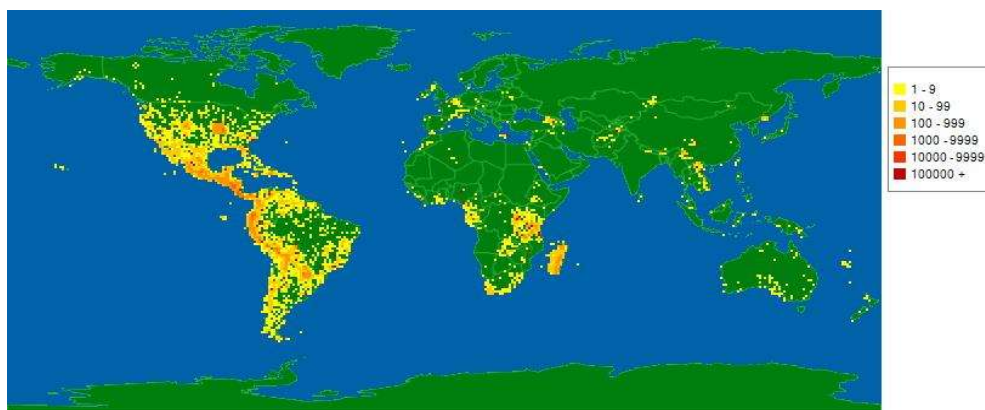


Figura 1: Distribuição da Família Asteraceae no mundo.
Fonte: <https://www.tropicos.org/>. **Acesso:** 27 Fev. 2021.

O êxito evolutivo de Asteraceae consiste principalmente em três características morfológicas e uma fisiológica. As características morfológicas são presença de pólen tricolpado, inflorescências do tipo capítulo e a presença de frutos do tipo aquênio (PANERO; FUNK, 2008; JUDD et al., 2009; SUDARMONO, 2019; WANG et al., 2020). A característica fisiológica está relacionada com a síntese de diversos metabólitos secundários como por exemplo os terpenos, flavonóides, alcalóides entre outros, os quais são utilizados na defesa contra herbívoros e na atração de polinizadores (MEZACHE et al., 2018; REIDEL et al., 2018; LABED et al., 2019).

Devido à grande diversidade de espécies concomitante com a ampla distribuição, espécies da família Asteraceae são comumente utilizadas pela população na medicina tradicional para o tratamento de enfermidades como por exemplo malária, câncer, anemia, epilepsia, doenças cutâneas, inflamações, desordens intestinais, cólicas, entre outras (SALDAÑA et al., 2018; MORAES-NETO et al., 2019; PENG et al., 2019).

3.3 Gênero *Baccharis*

3.3.1 Distribuição e Morfologia

A tribo Astereae é composta por 205 gêneros e aproximadamente 3.080 espécies distribuídas em 18 subtribos, destaca-se a subtribo Baccharidinae Less., a qual é constituída pelos os gêneros *Baccharis* e *Archibaccharis* Heering (PANERO; FUNK, 2008).

De acordo com a base de dados *The Plant List* (2021) o gênero *Baccharis* é constituído por 430 espécies, as quais encontram-se distribuídas do Sul do Canadá até o Sul da Argentina e do Chile (GIULIANO, 2001; VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; CAMPOS et al., 2016;). No Brasil há o registro de 179 espécies deste gênero distribuídas por quase todo o território do país, com prevalência nas regiões Sul e Sudeste (Figura 2). Sendo 115 espécies endêmicas, das quais oito espécies estão ameaçadas de extinção (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; MARTINELLI; MORAIS, 2013).



Figura 2: Distribuição do gênero *Baccharis* no Brasil.
Fonte: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>. **Acesso:** 30 Mar. 2020

Espécies do gênero *Baccharis* ocorrem em regiões de altitudes elevadas, descampadas com alta incidência de radiação solar, entretanto espécies podem ser encontradas em encostas de rios e riachos, a diversidade de *habitats* que ocupam deve-se as diversas adaptações morfológicas que possuem (HEIDEN; BAUMGRATZ; ESTEVES, 2012; VERDI; BRIGHENTE PIZZOLATTI, 2005).

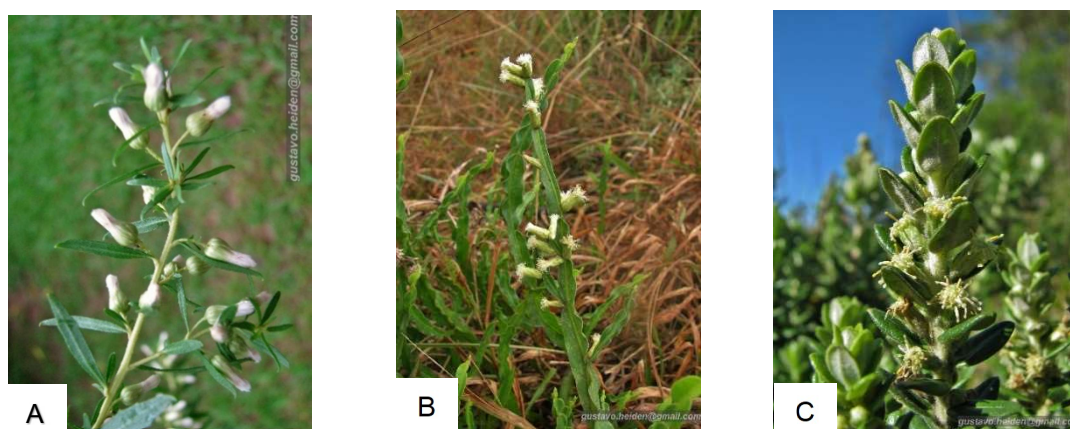


Figura 3: *Baccharis dracunculifolia* DC. (A); *Baccharis crispa* Spring. (B) e *Baccharis uncinella* DC. (C).

Fonte: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>. **Acesso:** 30 Mar. 2021.

Além disso, tais espécie, geralmente apresentam-se como arbustos, cujo tamanho não ultrapassa quatro metros de altura, possuem caule e ramificações cilíndricas, a morfologia das folhas e inflorescências do tipo capítulo variam de espécie para espécie, algumas espécies apresentam caules reduzidos a cladódios e são predominantemente dioicas (Figura 3) (GIULIANO, 2001; HEIDEN; ANTONELLI; PIRANI, 2019). Estudos morfoanatômicos das folhas

dessas espécies relatam a presença de grandes quantidades de óleo no parênquima paliçádico e tricomas glandulares e tectores (BUDEL et al., 2018a, 2018b).

3.3.2 Uso tradicional e bioatividades

Espécies gênero *Baccharis* são utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de enfermidades tal como inflamações cutâneas, desordens intestinais, diabetes (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; CAMPOS et al., 2016).

A espécie *B. trimera* uma das mais citadas na literatura, cujo nome popular é carqueja, é utilizada na medicina popular para tratamento de infecções, inflamações, desordens hepáticas e gástricas (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; RABELO; COSTA, 2018). Souza et al. (2019) e Barbosa et al. (2020) verificaram a atividade do extrato etanólico de *B. trimera* frente a modelos *in vivo* respectivamente para fatores de risco cardiovasculares e hepáticos, os resultados obtidos nos estudos mostram que extrato de *B. trimera* apresentou promissora atividade cardioprotetora e hepatoprotetora.

Baccharis milleflora (Less.) DC. é utilizada popularmente para o tratamento de desordens intestinais e inflamações. Pereira et al. (2017) testou o óleo essencial desta espécie frente às linhagens de células leucêmicas Jurkat, Raji e HL-60, o óleo essencial foi capaz de inibir a proliferação de todas as linhagens de células submetidas ao ensaio.

Outro relato de uso tradicional e bioatividade correlata é da espécie *B. uncinella*, utilizada como sedativo e para regular a pressão sanguínea pelos os índios Laklaño localizados em Ibirama, Santa Catarina. De acordo com estudo realizado por Ascari et al., (2012) o óleo essencial das folhas coletadas na reserva Laklaño, em Santa Catarina, demonstraram atividade sedativa considerável.

3.3.3 Composição química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais provenientes de espécies do gênero *Baccharis* são constituídos principalmente por monoterpenos e sequisterpenos oxigenados ou

não (CAMPOS et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2019; PEDROTTI et al., 2019; FREITAS et al. 2020).

Os monoterpenos (Figura 4) comumente encontrados nos óleos essenciais de espécies deste gênero são α -tujeno, α -pineno, β -pineno, limoneno, mirceno, linalool e acetato de carquejila (BUDEL et al., 2018b; OLIVEIRA et al., 2019; RABELO; COSTA, 2018). Os sequiterpenos, Figura 4, com maior abundância são α -humuleno, β -cariofileno, óxido de cariofileno, biciclogermacreno, germacreno D, espatulenol e nerolidol (FREITAS et al., 2020; PEDROTTI et al., 2019; VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

Vários fatores podem influenciar na composição química dos óleos essenciais tais como a localização e horário da coleta, composição do solo, índices pluviométricos, radiação solar, estágio vegetativo da planta, diocismo e até mesmo as estruturas vegetais submetidas à extração (BOBBO-NETO; LOPES, 2007; LAGO et al., 2008; BESTEN et al., 2012; BESTEN et al., 2014).

Lago et al. (2008) verificaram a composição química dos óleos essenciais de indivíduos masculinos e femininos de *B. trimera*, o espécime feminino apresentou como compostos majoritários β -cariofileno (16,1%), α -cadineno (11,6%) e α -cadinol (8,5%) já o espécime masculino α -humuleno (20,3%), germacreno D (12,9) e β -cariofileno (10,2%).

Zuccolotto et al. (2019) também verificaram a composição química dos espécimes feminino e masculino de *Baccharis burchellii* Baker, o espécime feminino apresentou biciclogermacreno (17,8%), β -cariofileno (11,8%) e γ -muuroleno (10,8%) como compostos majoritários enquanto que no espécime masculino biciclogermacreno (20,7%), β -Eudesmol (12,3%) e Thujopsan-2- α -ol (9,1%).

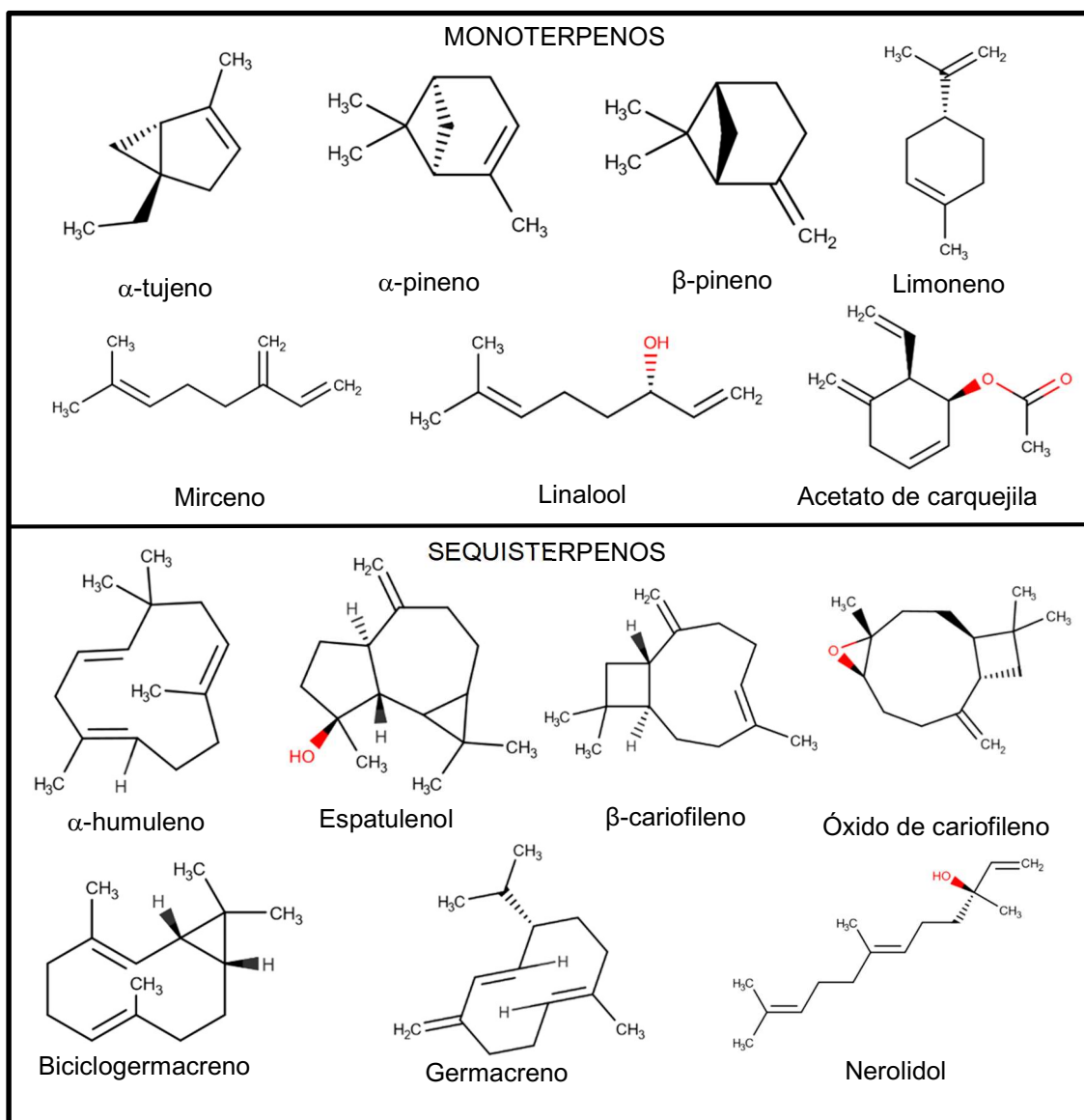


Figura 4: Monoterpenos e sequiterpenos presentes nos óleos essenciais do gênero *Baccharis*.
Fonte: Autoria própria

3.4 Espécie *Baccharis punctulata*

3.4.1 Distribuição, morfologia e anatomia vegetal

De acordo com a base de dados *Tropicos* (2021) a espécie *B. punctulata* (Figura 5) conhecida popularmente como chirca-do-mato, encontra-se distribuída em regiões da América do Sul como Bolívia, Argentina, Uruguai, Paraguai, no Brasil nas regiões Sul e Sudeste.

B. punctulata é uma espécie dióica e sua morfologia consiste em:

Arbustos ou subarbustos, 0,6–2,5 m alt. Folhas com pecíolo 0,2–1,1 cm compr.; lâmina 2,2–9,8 × 0,4–24,5 cm, coriácea, elíptica a ovada, ápice agudo, base cuneada; 3 nervuras acródomas 0,5–1 cm suprabasais, ambas as faces com pouca resina ou não resinosas, aparentemente glabras. Panículas 8–30 × 7–18 cm, piramidais, às vezes cilíndricas, geralmente terminais, às vezes axilares, concentradas no ápice dos ramos; pedúnculos 1–8 mm compr.; brácteas reduzidas ou escamiformes 0,3–1,5 × 0,1–0,7 cm, mais curtas que a capitulescência. Capítulo masculino 4,5–7,3 mm alt.; involúcro Flores masculinas 20 × 45; corola 4–5,5 mm compr., tubo 2–2,5 mm compr., fauce 0,2–0,5 mm compr., lacínias 1,7–2,5 mm compr.; anteras exsertas; estilete 5–6,3 mm compr.; papilho 2,5–4,5 mm compr., ápice espessado. Capítulo feminino 3,7–9,6 mm alt.; involúcro 3,3–5,4 × 2,3–6,7 mm, 3–5-seriado; brácteas involucrais externas ovadas, medianas elípticas, internas linear-elípticas, ápice fimbriado, margens inteiras, escariosas. Flores femininas 70–150; corola 2,5–3,5 mm compr., ápice truncado, coroa subapical de tricomas presente; estilete 3,5–5 mm compr. Cipselas 1,5–2 mm compr., cilíndricas, levemente achatadas, 6–8-costadas, pubérulas; papilho 4–6 mm compr., não acrescente (HEIDEN; BAUMGRATZ; ESTEVES, 2012, p.672).

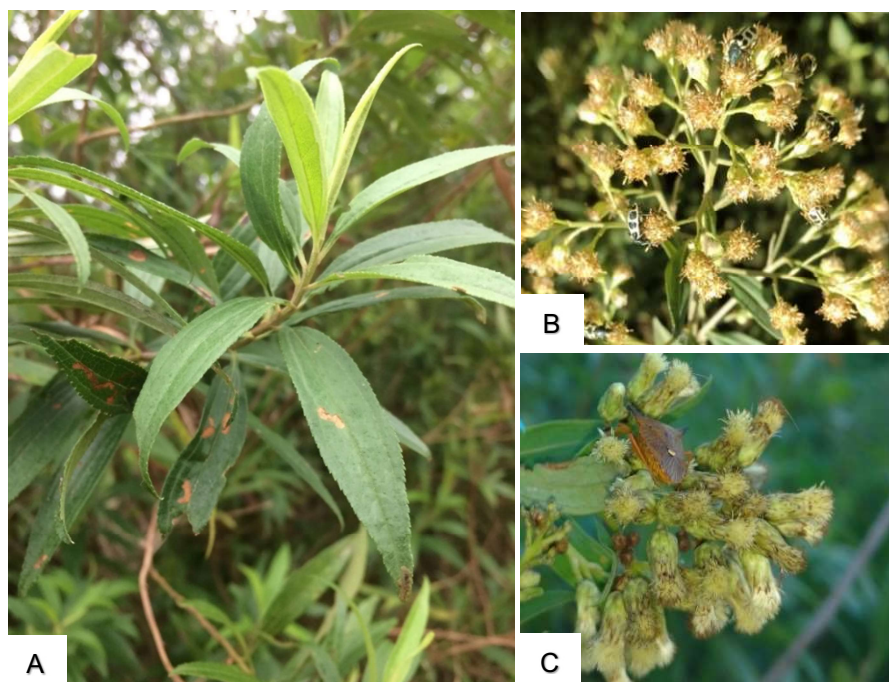


Figura 5: Estruturas de *Baccharis punctulata*, Folhas (A); Inflorescências masculinas (B); Inflorescências femininas (C).

Fonte: Autoria própria.

Os estudos morfoanatômicos das folhas de *B. punctulata* realizados por Budel et al. (2018b) apresentaram a presença de tricomas bisseriado glandular

e tricomas glandular flagellioforme do tipo II com grânulos de óleos. Análises realizadas com os cortes histológicos corados com sudan III mostraram a presença de grânulos de óleos em alta concentração no parênquima paliçádico e em menor quantidade parênquima esponjoso.

3.4.2 Uso tradicional e bioatividades

A infusão de folhas de *B. punctulata* é utilizada na medicina tradicional para o tratamento de asma, luxações e contusões na província de Bustillo, Bolívia (FERNANDEZ; SANDI; KOKOSKA, 2003).

Budel et al. (2018a) avaliaram a atividade antimalárica, anti-tripanosoma e inseticida do óleo essencial das partes aéreas de *B. punctulata* o qual se mostrou ativo para todos os ensaios. Alvarenga et al. (2018) verificaram a atividade imunomoduladora do extrato de acetato de etila de *B. punctulata* frente a proliferação de células mononucleares humanas, o qual apresentou atividade significativa, indicando o aumento na imunidade consequente do aumento da proliferação de células mononucleares.

3.4.3 Composição química dos óleos essenciais

Poucos estudos relatam a composição química dos óleos essenciais das folhas de *B. punctulata* (SCHOSSLER et al., 2009; BUDEL et al. 2018a; MINTEGUIAGA et al., 2018). Os compostos majoritários dos óleos essenciais das folhas estudados por Schossler et al., (2009) coletadas no Rio Grande do Sul foram biciclogermacreno (9,73%), cis-cadin-4-en-7-ol (6,77%) e Z-ocimeno (6,33%).

Minteguiaga et al., (2018) ao analisarem o óleo essencial das partes aéreas coletadas em Paysandú, Uruguai, observaram como majoritários germacreno D-4-ol isômero (7%), β -felandreno (5,20%) e acetato de bornila (5,20%). Budel et al. (2018a) ao analisarem o óleo essencial de partes aéreas dessa espécie coletada no Paraná obtiveram α -bisabolol (26,63%), limoneno (11,35%) e espatulenol (9,96%) como principais compostos.

3.5 Bioatividades

3.5.1 Atividade anti-inflamatória

O processo inflamatório geral (Figura 6) consiste no reconhecimento do agente infeccioso pelo os macrófagos, os quais respondem a esse estímulo liberando citocinas e quimiocinas (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013). As citocinas liberadas estimulam a síntese de selectinas e ligante de integrinas no endotélio das vênulas, posteriormente os leucócitos expressam carboidratos de membrana que se ligam fracamente as selectinas enquanto que as integrinas presente na superfície dos leucócitos ligam-se fortemente as ligantes de integrinas (MURPHY, 2014).

As quimiocinas se ligam aos proteoglicanos estimula a alta afinidade das integrinas presente superfície dos leucócitos em relação aos ligantes de integrinas presente no endotélio das vênulas e estimulam a migração por quimiotaxia dos leucócitos (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013).

O fluxo de sangue desfaz a ligação entre os carboidratos e selectinas, resultando no rolamento dos leucócitos sob o endotélio venular que é interrompido pela a forte ligação entre as integrinas e ligantes de integrinas, logo em seguida os leucócitos migram entre as células do endotélio e chegam ao local onde se encontra o agente infeccioso e inicia o processo para eliminá-los (MURPHY, 2014).

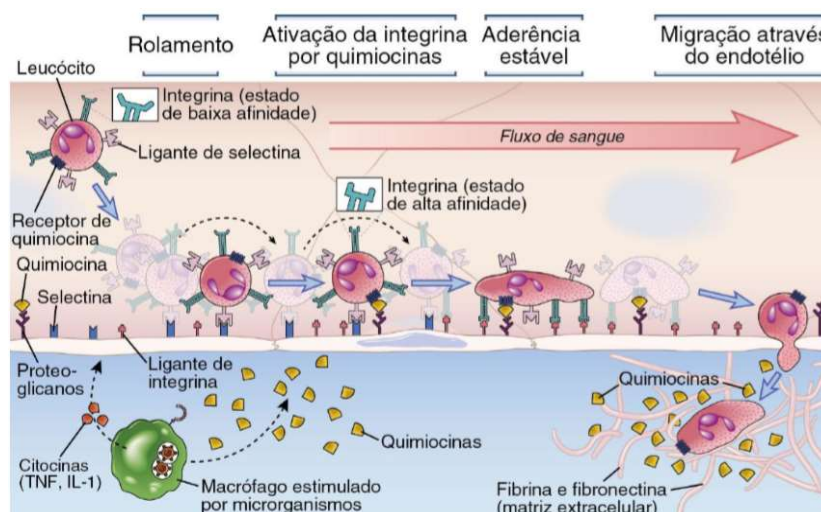


Figura 6: Processo inflamatório geral.
Fonte: ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, (2013).

Diversas estratégias são utilizadas para verificar a atividade anti-inflamatória de óleos essenciais, extratos vegetais e compostos isolados, uma delas consiste em monitorar a inflamação após a aplicação dos produtos naturais e isso pode ser feito por meio de quantificação de enzimas e radicais livres geradas no processo inflamatório e pela migração celular (CHANDRAN; ABRAHAMSE; PARIMELAZHAGAN, 2018; GIUSTARINI, et al., 2018; RUPACHANDRA et al., 2019; RODRIGUES et al., 2020; WU et al., 2020).

A enzima MPO é um dos indicadores para monitorar o processo inflamatório, pois é encontrada nos leucócitos, logo as concentrações de MPO no sítio local da inflamação indicam se este processo ocorreu ou não, e caso tenha ocorrido permite verificar a sua veemência (DOMINGOS et al., 2019; RUPACHANDRA et al., 2019; NAKAMURA et al., 2020; CELLIERS et al., 2020).

Concomitante à MPO são aplicadas técnicas histológicas para verificar a intensidade do processo inflamatório por meio da quantificação dos leucócitos que migraram para o tecido, esse monitoramento é realizado através da comparação de cortes histológicos do tecido inflamado tratado com os cortes histológicos dos grupos controles, tais análises podem ser realizadas manualmente ou por meio de *softwares* (GIUSTARINI, et al., 2018; LIU et al., 2018; BARBOSA et al., 2020; RODRIGUES et al., 2020).

Os processos inflamatórios possuem estreita relação com as EROs, pois os mesmos são liberados no processo inflamatório ou caso sejam liberados de maneira excessiva por outros fatores podem ativar a cascata inflamatória, logo assim como a enzima MPO as EROs também permitem monitorar os processos inflamatórios, para verificar as concentrações de EROs são utilizadas técnicas de inflorescência (TANG et al., 2019; WU et al., 2020).

Poucos estudos demonstram que os metabólitos secundários podem agir inibindo a síntese do fator nuclear kappa b, fator de necrose tumoral, isoleucina 6 e interferindo na cadeia enzimática do ácido araquidônico (BORGES et al., 2017; 2019; MOHAN et al., 2018; OLIVEIRA-TININO et al., 2018; PATIL et al., 2019).

3.5.2 Atividade antioxidante

Os radicais livres consistem em moléculas ou átomos que possuem um ou mais elétrons desemparelhados sendo considerados instáveis, a maioria são subprodutos originados do metabolismo oxidativo do próprio corpo. As EROs mais comuns são o ânion superóxido e os radicais hidroxila e peroxila (ALVES et al., 2010; RAMALHO; JORGE, 2005).

Esses radicais causam uma série de transtornos para o organismo, pois podem interagir com proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, causando e intensificando mutações, inflamações, doenças auto-imunes, entre outros problemas (ALVES et al., 2010). O potencial antioxidante consiste na capacidade de um composto doar elétrons para o radical livre tornando-o estável enquanto que o próprio composto doador se estabiliza pelo mecanismo de ressonância (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

Há diversos tipos de antioxidantes sintéticos no mercado que são empregados nas indústrias farmacêuticas e de alimentos, entretanto há suspeitas que os mesmos possam estar associados a processos cancerígenos, logo a busca por antioxidantes naturais e menos agressivos tornou-se necessária (CIMRIN et al., 2019).

Diversas metodologias permitem verificar a atividade antioxidante de amostras, entretanto destaca-se o ensaio frente ao radical DPPH por ser simples e de baixo custo, esse ensaio consiste na redução do DPPH mediante a interação com compostos doadores de H (Figura 7) (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006; PIRES et al., 2017).

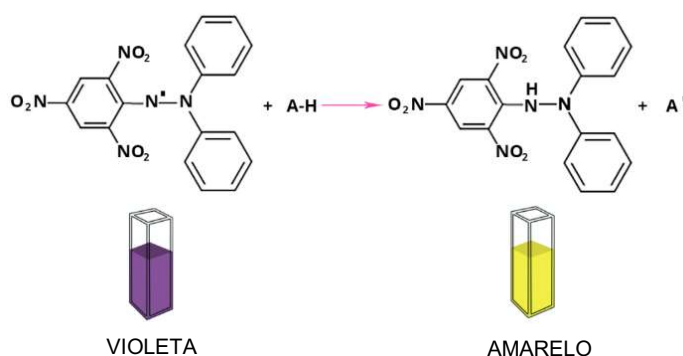


Figura 7: Redução do radical DPPH.

Fonte: <http://chimactiv.agroparistech.fr>. **Acesso:** 04 Abr. 2021.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta e preparo do material vegetal

Ramos de espécimes feminino (BPF) e masculino (BPM) de *B. punctulata* localizados no perímetro rural da cidade de Santa Helena, Paraná, nas coordenadas 24°48'15"S; 54°15'16"W a 368 metros de altitude foram coletados em fevereiro de 2017 no período da manhã.

Após a coleta, as folhas foram separadas dos caules e secas em temperatura ambiente por 4 dias, posteriormente trituradas em moinho de facas e mantidas sob refrigeração até a data da extração dos óleos essenciais.

Ramos frescos foram utilizados para a confecção de exsiccatas, as quais foram identificadas pelo o botânico Dr. Gustavo Heiden e depositadas no Herbário ECT da Embrapa Clima Temperado em Pelotas, Rio Grande do Sul, sob numeração ECT0003431 (BPM) e ECT0003425 (BPF).

4.2 Extração dos óleos essenciais

A obtenção dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná *campus* Santa Helena a partir de 100 g de material vegetal seco pelo método de hidrodestilação com uso do *apparatus* Clevenger modificado (Figura 8) (STALH; SCHILD, 1981). A extração teve duração de aproximadamente três horas. O hidrolato obtido foi submetido à extração líquido-líquido com éter etílico. A mistura de éter etílico com óleo essencial foi seca com sulfato de sódio anidro e rotaevaporada sob pressão reduzida e com temperatura controlada. O rendimento do óleo essencial foi calculado em relação à massa seca do material vegetal.



Figura 8: *Apparatus* utilizados na extração dos óleos essenciais.
Fonte: Autoria própria.

4.3 Análises cromatográficas

As análises por CG-EM-DIC foram realizadas no Laboratório de Cromatografia da Faculdade Regional de Blumenau, Santa Catarina. Para as análises CG-EM utilizou-se o cromatógrafo a gás Shimadzu GCMS-QP2010 Plus com coluna não-polar Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) com detector de massas. As condições utilizadas 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 inicial foi de 60° C durante os cinco primeiros minutos e ajustada para aumentar 3 °C por minuto até atingir a temperatura de 240 °C.

Para a quantificação dos compostos presentes nas amostras foi utilizado o cromatógrafo a gás Shimadzu 2010 acoplado ao detector de ionização de chamas e com coluna OV-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). Foi utilizado 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 μ L de amostra diluída em éter etílico, com o detector a 280°C, e o injetor a 250 °C. A temperatura inicial foi de 60° C durante os cinco primeiros minutos e ajustada para aumentar 3 °C por minuto até atingir a temperatura de 240 °C.

A identificação e a quantificação foi feita a partir do cálculo do índice de Kováts com a seguinte fórmula:

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

onde:

IK= índice de Kováts;

C = número de carbonos padrão à esquerda;

Ta = tempo de retenção do composto considerado;

Tb = número de carbonos padrão à esquerda;

Tc = número de carbonos padrão à direita.

Os compostos foram identificados por meio da comparação dos espectros de massas obtidos pela análise com os espectros de massas da base de dados do *software* do cromatógrafo e dos dados publicado na literatura (ADAMS, 2009). A quantificação dos compostos se deu pela a comparação e relação dos IK dos picos dos cromatogramas obtidos por CG-EM e CG-DIC

4.4 Ensaio Anti-inflamatório

4.4.1 Animais

Os animais utilizados para realizar o experimento foram fêmeas de camundongos *Swiss* com peso entre 25 a 30 g, com disponibilidade de água e alimento *ad libitum*, mantidas em um ciclo de 12 horas de luz e escuro sob temperatura controlada a $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os animais foram ambientados no laboratório uma hora antes do teste.

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal do Paraná em Curitiba, Paraná de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pela Comissão de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná com protocolo de número 1187.

4.4.2 Inflamação aguda de orelha induzida por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA)

A inflamação aguda de pele foi induzida com a aplicação de TPA, posteriormente aplicou-se topicamente as amostras dos óleos essenciais BPF e BPM nas concentrações de 0,1; 0,3 e 1,0 mg/orelha, e o controle positivo dexametasona (DEXA) 1,0 mg/orelha (OTUKI et al., 2005).

Após seis horas de indução da inflamação com TPA foi mensurada a espessura das orelhas com um micrômetro digital (Great, MT-04513), posteriormente os camundongos foram eutanasiados e as orelhas submetidas a análise histológica, aos ensaios de redução da atividade da enzima MPO e redução de EROs (OTUKI et al., 2006).

4.4.3 Ensaio sobre a atividade enzimática da Mieloperoxidase (MPO)

O ensaio da MPO foi realizado de acordo com a metodologia de Bradley et al. (1982), modificado por Young et al. (1989). As amostras das orelhas com 6 mm foram adicionadas a 0,75 mL de solução fosfato de sódio 80 mmol/L e PBS pH 5,4 contendo 0,5% de hexadeciltrimetilamônio e homogeneizadas. O homogenato foi decantado em microtubos e adicionados 0,75 mL de PBS, posteriormente 1,5 mL da amostra foi centrifugada a 11.200 x g a 4 °C por 20 minutos.

O ensaio enzimático da MPO foi realizado em triplicatas de 30 µm de sobrenadante em placas com 96 poços, posteriormente adicionou-se 200 µL de uma solução contendo 10 µL de 80 mmol/L PBS pH 5,4, 85 µL de 0,22 mmol/L PBS pH 5,4 e 15 µL de peróxido de hidrogênio 0,017% em poço. A reação foi iniciada com a adição de 20 µL 18,4 mmol/L de tetrametilbenzidina dissolvida em dimetilformamida, logo em seguida a placa foi incubada a 37 °C por três minutos, a interrupção da reação se deu pela a adição de 30 µL de 1,46 mol/L acetato de sódio, pH 3,0.

Determinou-se a atividade enzimática colorimetricamente com o leitor de placas (EL808; BioTech Instruments, INC) ajustado para medir a absorbância de 620 nm para MPO e os resultados foram expressos como mDO/biópsia.

4.4.4 Análise histológica

As amostras de 6 mm de orelhas foram fixadas em solução contendo 80% de etanol, 40% de formalina e ácido acético, posteriormente foram embebidas em parafina e seccionados em lâminas de 5 µm e coradas com eosina e hematoxilina. As lâminas foram fotografadas em com aumento de 400x e as fotografias foram analisadas com o *software* ImageJ® version 1.48 (National Institute of Health, USA).

4.4.5 Avaliação de EROs

O teste de EROs foi realizado de acordo com a metodologia de Hempel et al. (1999) com pequenas modificações. As amostras foram homogeneizadas em 8 mmol/L de PBS pH 7,2 durante 45 segundos a 0 °C, posteriormente os homogenatos foram incubados com 2 mmol/L de 2',7' diacetato de diclorofluoresceína (DCHF-DA) durante 40 minutos.

A conversão de DCHF-DA em 2,7 diclorofluoresceína (DCHF) foi avaliada com leitor de placas (EL808; BioTech Instruments, INC) com 485 nm de excitação e 530 nm de emissão. Os resultados foram expressos como unidade fluorescente.

4.5 Ensaio antioxidante

A atividade antioxidante das amostras BPF e BPM foram mensurados frente à captura do radical livre DPPH, o ensaio foi realizado em triplicata de acordo com a metodologia de Granato et al. (2015) no Departamento de Engenharia de Alimentos na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná.

As amostras foram diluídas em propanona e o DPPH foi preparado em álcool etílico na concentração de 0,10 mmol/L. Em uma microplaca misturou-se 40 µL de amostra diluída com 260 µL da solução de DDPH, a reação ocorreu no escuro por 30 minutos. Como controle negativo utilizou-se a propanona, os resultados foram comparados com uma curva padrão de ácido ascórbico (7,5 – 50 mg/L, $R^2 = 0,9975$) e os resultados foram expressos em mg ácido ascórbico equivalente por g de óleo essencial (mg AAE/g).

4.6 Análise estatística

Os dados foram submetidos a Análise de Variância *One Way*, seguida pelo teste post-hoc de diferença menos significativa de Fisher, para avaliar a significância estatística dos testes realizados *in vivo* (GRANATO et al., 2014).

Para a análise da química da composição e da atividade antioxidante *in vitro* das amostras, ambos óleos essenciais foram comparados pelo teste t de *Student* não pareado. O nível de significância aceito para os testes foi <0,05.

Todos os testes foram realizados usando os GraphPad Prism versão 6.0 (LaJolla, Califórnia, EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Composição química dos óleos essenciais

Os rendimentos dos óleos essenciais em relação ao peso seco do material vegetal foram de 1,62% e 0,87% respectivamente para os espécimes feminino (BPF) e masculino (BPM), rendimentos esses maiores do que os rendimentos dos óleos essenciais de *B. punctulata* obtidos por Gonzáles (2019) de 91,8% e 85,9% para espécime feminino e masculino respectivamente.

Na Tabela 1 apresenta-se a composição química das amostras, foi possível identificar 96,32% dos compostos da amostra BPF e 74,65% da BPM. No total foram identificados 45 compostos, sendo 27 compostos identificados na amostra BPF e 18 na amostra BPM. Ressalta-se que ambas as amostras apresentaram altas concentrações de sequiterpenos não oxigenados, sendo 85,83% para BPF e 63,55% para BPM, e baixas concentrações de monoterpenos oxigenados sendo 0,92% e 0,59% respectivamente para BPF e BPM.

Os compostos majoritários para BPF foram o biciclogermacreno (42,44%), germacreno D (21,18%) e β -carifileno (14,06%), enquanto a amostra BPM apresentou como compostos majoritários o δ -elemeno (14,29%), germacreno D (11,29%) e biciclogermacreno (10,90%), é possível verificar que há diferença entre a composição química óleos essenciais BPF e BPM analisados, e a composição dos mesmos difere com o que há publicado na literatura.

O óleo essencial de partes aéreas de *B. punctulata* coletadas no Uruguai por Minteguiaga et al. (2018) apresentou como majoritários germacreno D-4-ol isômero (7%), β -felandreno (5,20%) e acetato de bornila (5,20%), enquanto as análises dos óleos essenciais dessa espécie coletada no Paraná realizadas por Budel et al. (2018) obtiveram α -bisabolol (26,63%), limoneno (11,35%) e espatulenol (9,96%) como principais compostos.

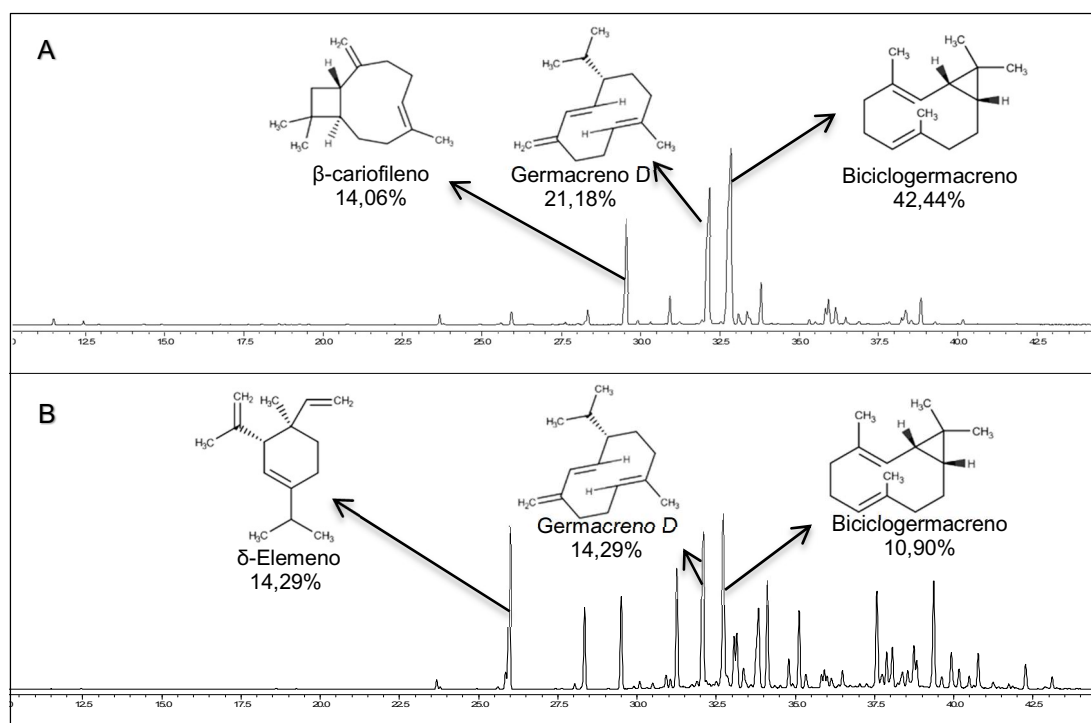


Figura 9: Cromatogramas das amostras BPF (A) e BPM (B).

Fonte: Autoria própria

Estudo realizado por González (2019) com óleos essenciais de partes aéreas de *B. punctulata* coletadas na Argentina mostrou que os compostos majoritários para o espécime feminino foram verbocidentafurano (47,50%), δ -elemeno (4,80%) e *allo*-aromadendreno (4,80%) já para masculino foram o verbocidentafurano (43,90%), δ -elemeno (9,10%) e amorfa-4,7 (11)-dieno, este foi o primeiro relato da composição química de espécimes diferentes de *B. punctulata*.

Tais diferenças podem estar relacionadas a expressão gênica distinta entre os espécimes, fatores abióticos, como a intensidade da radiação solar, composição química do solo, índices pluviométricos e também a fatores relacionados à ativação da defesa induzida por herbívoros (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Tabela 1 – Composição relativa (%) dos componentes identificados nas análises dos óleos essenciais das folhas de espécimes feminino BPF e masculino BPM de *B. punctulata*.

Compostos	RI ^a	RI ^b	*BPF	*BPM	¹ Valor de p
Limoneno	1026	1029	3,40 ± 0,15	ND	NA
β-ocimeno	1046	1050	1,08 ± 0,04	ND	NA
Terpinen-4-ol	1176	1177	0,13 ± 0,00	ND	NA
Acetato de bornila	1285	1285	0,66 ± 0,01	0,59 ± 0,01	<0,001
Safrol	1287	1287	0,13 ± 0,00	ND	NA
δ-elemeno	1336	1338	1,97 ± 0,01	14,29 ± 0,06	<0,001
Copaeno	1374	1376	0,11 ± 0,00	ND	NA
β-cubebeno	1389	1388	0,21 ± 0,00	ND	NA
β-elemeno	1391	1390	1,12 ± 0,00	6,11 ± 0,02	<0,001
β-cariofileno	1419	1419	14,06 ± 0,07	5,59 ± 0,03	<0,001
β-gurjuneno	1428	1433	0,13 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,003
γ-elemeno	1433	1436	ND	0,69 ± 0,00	NA
Aromadendreno	1438	1441	0,25 ± 0,00	ND	NA
α-humuleno	1453	1454	1,54 ± 0,01	0,27 ± 0,00	<0,001
β-farneseno	1456	1456	ND	6,74 ± 0,03	NA
Allo-aromadendreno	1460	1460	0,24 ± 0,00	ND	NA
γ-muurolo	1477	1479	0,14 ± 0,03	ND	NA
Germacreno D	1482	1481	21,18 ± 0,16	11,29 ± 0,04	<0,001
Valencene	1491	1496	0,30 ± 0,01	0,37 ± 0,00	<0,001
Biciclogermacreno	1499	1494	42,44 ± 0,10	10,90 ± 0,05	<0,001
α-selineno	1505	1498	0,41 ± 0,01	ND	NA
Hidroxitolueno butilado	1512	1515	0,12 ± 0,00	4,31 ± 0,03	<0,001
δ-cadineno	1523	1523	1,77 ± 0,01	4,46 ± 0,03	<0,001
Elemol	1549	1549	0,30 ± 0,01	1,28 ± 0,01	<0,001
Germacreno B	1557	1561	ND	2,73 ± 0,02	NA
(E)-nerolidol	1562	1563	1,52 ± 0,01	ND	NA
Espatuleno	1578	1578	0,23 ± 0,00	0,60 ± 0,01	<0,001
Óxido de cariofileno	1580	1583	ND	0,19 ± 0,01	NA
τ-cadinol	1642	1640	0,24 ± 0,00	ND	NA
Torreyol	1647	1646	0,64 ± 0,01	4,13 ± 0,08	<0,001
α-cadinol	1655	1654	0,95 ± 0,02	ND	NA
Total identified (%)			96,32	74,65	NA
NI (%)			3,63 ± 0,14	18,37 ± 0,46	NA
Monoterpenos hidrocarbonados (%)			4,48 ± 0,19	0	NA
Monoterpenos oxigenados (%)			0,92 ± 0,01	0,59 ± 0,01	<0,001
Sesquiterpenos hidrocarbonados (%)			85,83 ± 0,38	63,55 ± 0,29	<0,001
Sequiterpenos oxigenados (%)			4,00 ± 0,05	10,51 ± 0,14	<0,001
Rendimentos (m/m) (%)			1,62	0,87	NA

RI^a: Valores de índices de retenção relativa calculado utilizando a coluna RTX-5 (CG-EM) e a série de n-alcenos C8–C19. RI^b: índices de retenção relativa publicados com uma coluna DB-5; ND: não detectado ou <0,10%, NI: não identificado; NA: não aplicado. *: média calculada da composição relativa utilizando a coluna OV-5 (CG-DIC) e a série de n-alcenos C8–C19. ¹Valores de p obtidos pelo teste t de *Student* não pareado.

5.2 Atividade Anti-inflamatória e Antioxidante

Na Figura 10A pode-se observar que os óleos essenciais de ambos espécimes foram capazes de reduzir a formação do edema induzido por TPA. A

redução do edema da amostra BPM foi de $37,09 \pm 18,25\%$ (0,1 mg/orelha), $30,97 \pm 16,75\%$ (0,3 mg/orelha) e $47,68 \pm 12,74\%$ (1,0 mg/orelha) enquanto que para a amostra BPF foi de $25,37 \pm 5,32\%$ (0,1 mg/orelha), $43,13 \pm 13,87\%$ (0,3 mg/orelha) e $43,13 \pm 14,86\%$ (1,0 mg/orelha). O controle positivo, DEXA, reduziu a inflamação em $84,86 \pm 15,22\%$ (0,1 mg/orelha).

Diante desses resultados observa-se que a amostra BPM apresentou maior atividade na concentração de 1,0 mg/orelha com redução do edema de $47,68 \pm 12,74\%$, na BPF observou-se que não houve o aumento da redução do edema de $43,13 \pm 13,87\%$ a partir da concentração de 0,3 mg/orelha.

A redução da atividade da enzima MPO (Figura 10B), demonstrada para BPF foi de $13,69 \pm 0,20\%$ (0,1 mg/orelha), $22,35 \pm 0,11\%$ (0,3 mg/orelha) e $44,98 \pm 0,27\%$ (1,0 mg/orelha) enquanto para BPM foi de $22,40 \pm 0,29\%$ (0,1 mg/orelha), $36,49 \pm 0,07\%$ (0,3 mg/orelha) e $52,19 \pm 0,28\%$ (1,0 mg/orelha), o DEXA reduziu a atividade da MPO em $65,16 \pm 0,003$ (0,1 mg/orelha). Ambas as amostras apresentaram melhor atividade frente à redução da atividade da enzima MPO na concentração de 1,0 mg/orelha, para BPM a redução foi de $52,19 \pm 0,28\%$ e para a BPF de $44,98 \pm 0,27\%$.

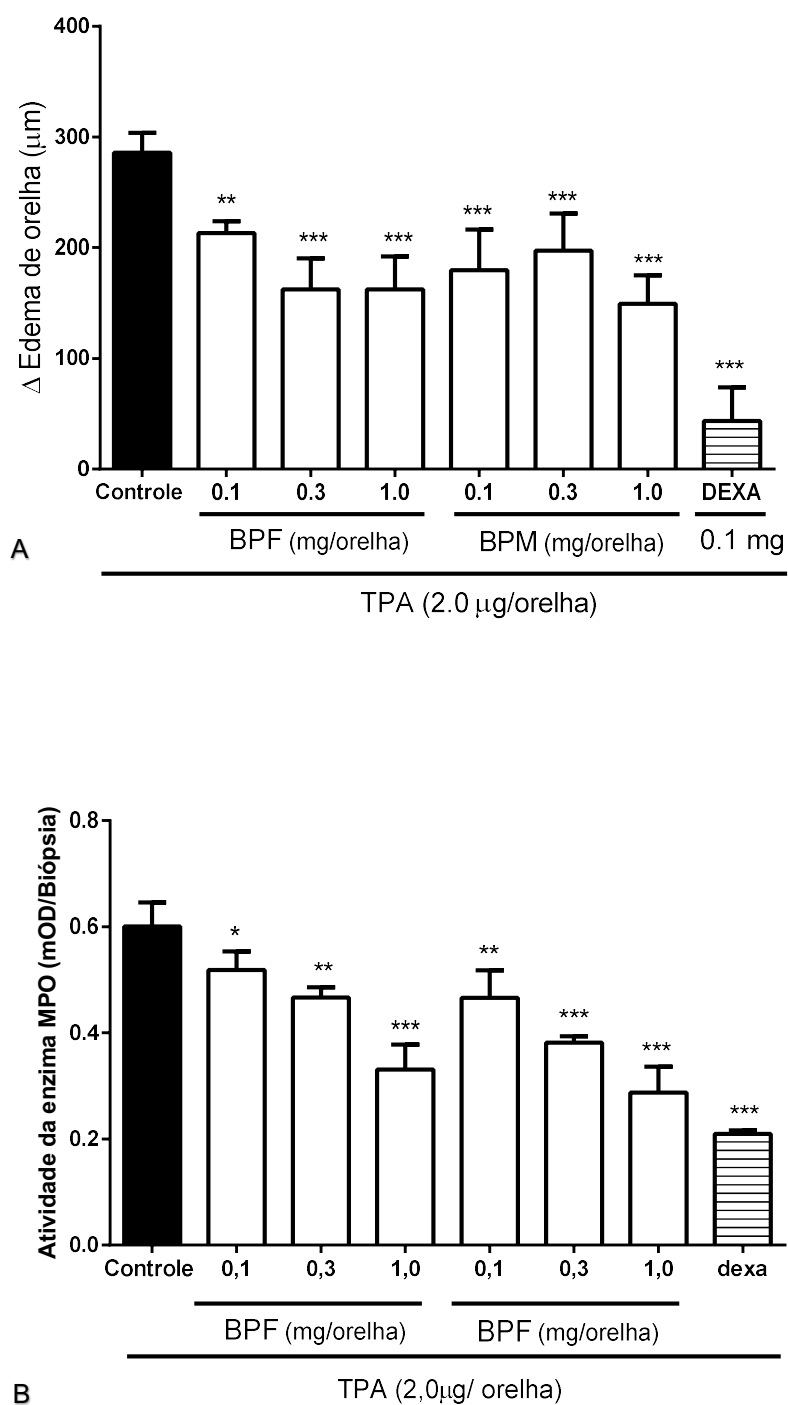


Figura 10: Efeito dos óleos essenciais BPF e BPM sobre a inflamação induzida por TPA (A), Redução da atividade da enzima MPO (B). As barras representam a média \pm EPM para 5-6 animais. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ e * $p < 0,05$ em comparação com o controle.

Fonte: Autoria própria.

As análises histológicas (Figura 11) mostram que ambas as amostras quando comparadas com o controle negativo, TPA, foram ativas sob a inflamação induzida e é visível que a BPF foi mais ativa. A redução dos núcleos corados (Figura 12) induzidas pela BPF e BPM na concentração de 1,0 mg/orelha quando comparada com o controle negativo, TPA, foram de $52,43 \pm 6,9\%$ para BPF e $33,58 \pm 8,6\%$ para BPM, enquanto a redução da migração celular do controle positivo DEXA (0,1 mg/orelha) foi de $68,31 \pm 4,39\%$.

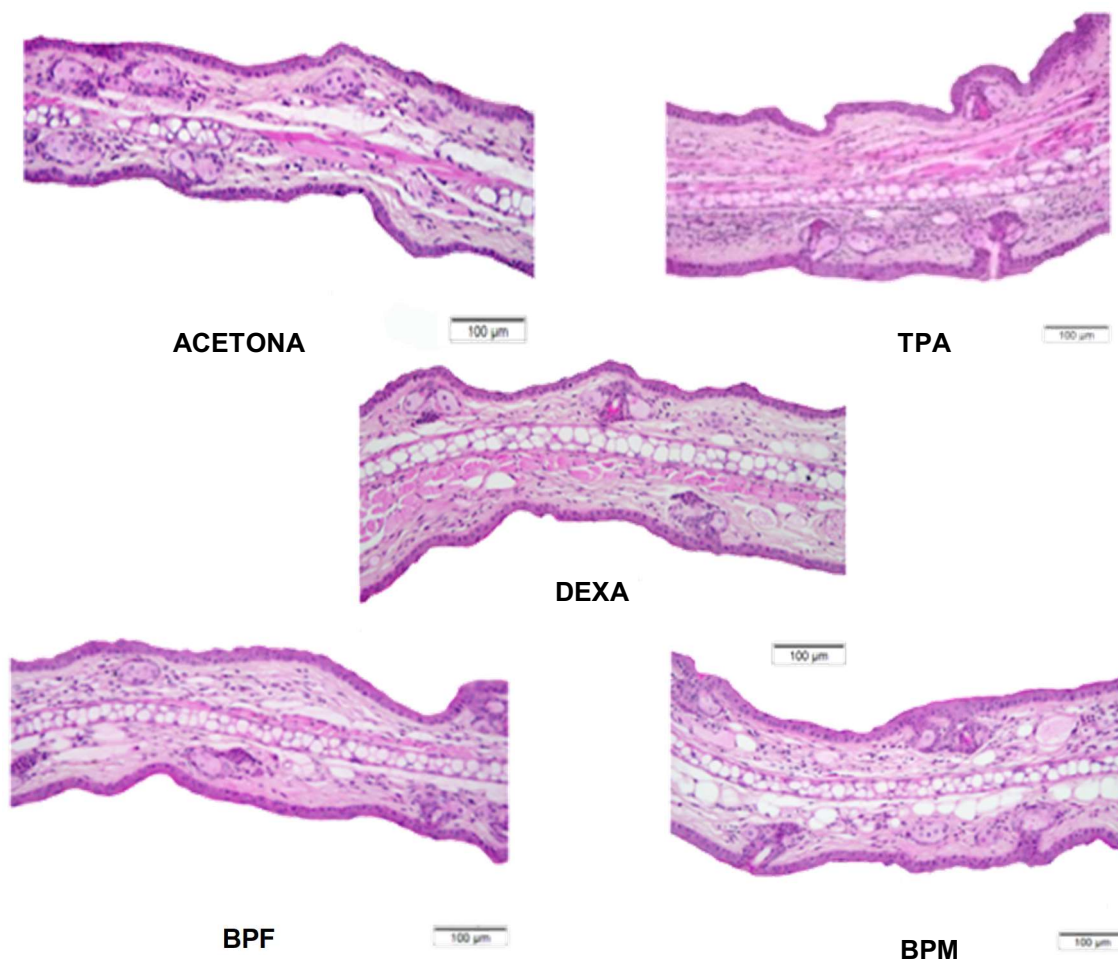


Figura 11: Cortes transversais de orelhas de camundongos, amostras coradas com hematoxilina-eosina com aumento de 400x

Fonte: Autoria própria

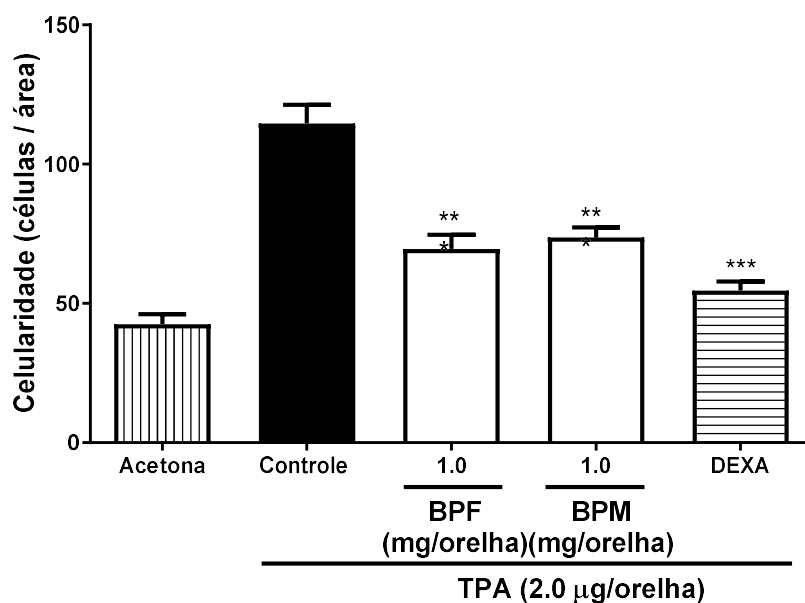


Figura 12: Contagem das células dos cortes histológicos (B).*** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ comparado ao grupo controle.

Fonte: Autoria própria

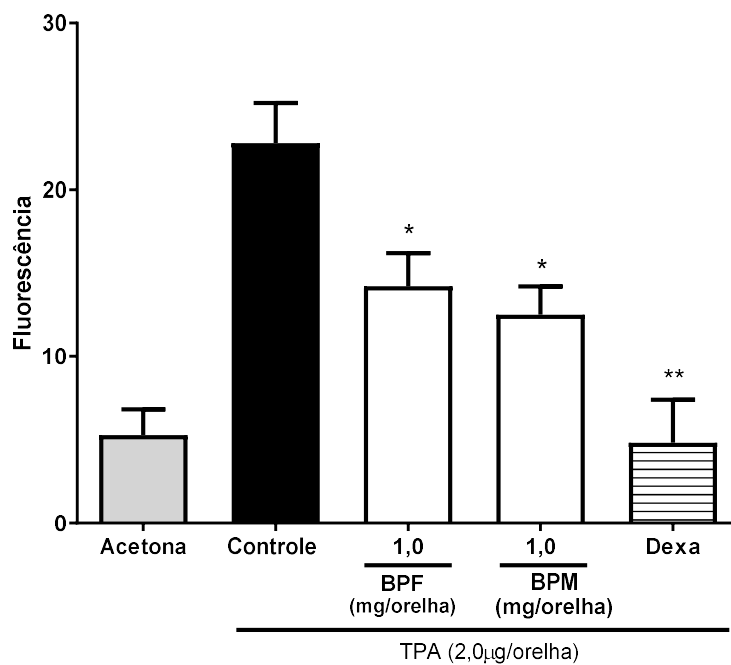


Figura 13: Efeitos de BPF e BPM sobre EROs. As barras representam a média \pm EPM para 5-6 animais.*** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ e * $p < 0,05$ em comparação com o controle.

Fonte: Autoria própria.

Os resultados obtidos no ensaio de EROs (Figura 13) por meio da sonda fluorescente DCFH-DA mostram que a aplicação tópica de TPA aumentou a quantidade de EROs, entretanto os tratamentos quando comparado ao controle positivo foram capazes de reduzir as EROs em $58,83 \pm 2,00\%$ e $49,12 \pm 1,7\%$ para BPM e BPF, respectivamente.

O processo inflamatório é caracterizado pela a migração de leucócitos polimorfonucleares para o local onde o agente causador da inflamação se encontra, tais grupos de células possuem grandes quantidades da enzima mieloperoxidase, portanto os resultados obtidos pelo o ensaio da MPO corrobora com a redução do edema de orelha, visto que quanto menor for o edema menor será a concentração de MPO no local (BUCHAN et al., 2019). Neste contexto, os valores obtidos através da contagem de núcleos presentes nos cortes histológicos demonstraram que houve diminuição da presença de células polimorfonucleares na orelha, corroborando com os demais ensaios da redução do edema e MPO.

Diversos estudos mostram que a ação de defesa dos leucócitos polimorfonucleares resulta naturalmente no aumento das EROs no local da infecção, também observável no controle negativo da Figura 12, entretanto ambas as mostras foram capazes de reduzir os valores de EROs, resultados esses que corroboram com os demais testes realizados (KABANOV et al., 2019; WINBERG et al. 2019). A atividade anti-inflamatória que ambas as amostras apresentaram, pode estar relacionada com a presença dos compostos majoritários biciclogermacreno e germacreno D, porém há poucos estudos sobre a ação biológica desses compostos.

Estudo realizado por Vieira et al. (2009) avaliou o óleo essencial das folhas de *Ageratum fastigiatum* (Gardner) R.M. King & H. Rob. (Asteraceae) contendo germacreno D (24,15%), α -humuleno (11,45%) e β -cedreno (10,63%) frente aos ensaios anti-inflamatórios de edema de pata e exsudação pleural em ratos, os resultados demonstraram redução no processo de inflamação em 41,18% e 47,29% respectivamente.

Tosun et al. (2016) verificaram a atividade anti-inflamatória do óleo essencial dos frutos de *Seseli gummiferum* Pall. ex Smith (Apiaceae) tendo como

compostos majoritários germacreno D (54,10%) e sabineno (22,40%) frente aos ensaios de inibição de óxido nítrico, prostaglandina e fator de necrose tumoral $\kappa\beta$ induzidas nas linhagens de células RAW 264.7 e em todos os testes o óleo essencial foi capaz de inibir esses indutores do processo inflamatório.

O óleo essencial de *Croton campestris* A. St.-Hil (Euphorbiaceae) tendo 1,8-cineol (16,98%), β -cariofileno (15,91%), germacreno D (14,51%) e biciclogermacreno (10,41%) como compostos majoritários foi avaliado frente a edemas induzido na orelha e contusões abdominais causadas em camundongos, enquanto β -cariofileno purificado foi testado nas contusões abdominais. O óleo essencial reduziu 30% (25 mg/orelha) da formação do edema e inibiu 90,3% (200 mg/kg) da contusão abdominal, enquanto o β -cariofileno reduziu 87,3% (4.97 mg/kg) da contusão abdominal (OLIVEIRA-TININO et al., 2018).

Ambas as amostras apresentaram atividade antioxidante frente ao radical DPPH (Figura 14), corroborando com o ensaio das EROs. A amostra BPM apresentou atividade de 0,33mg AAE/g, a qual quando comparada com a BPF, cuja atividade foi de 0,18mg AAE/g, foi mais ativa.

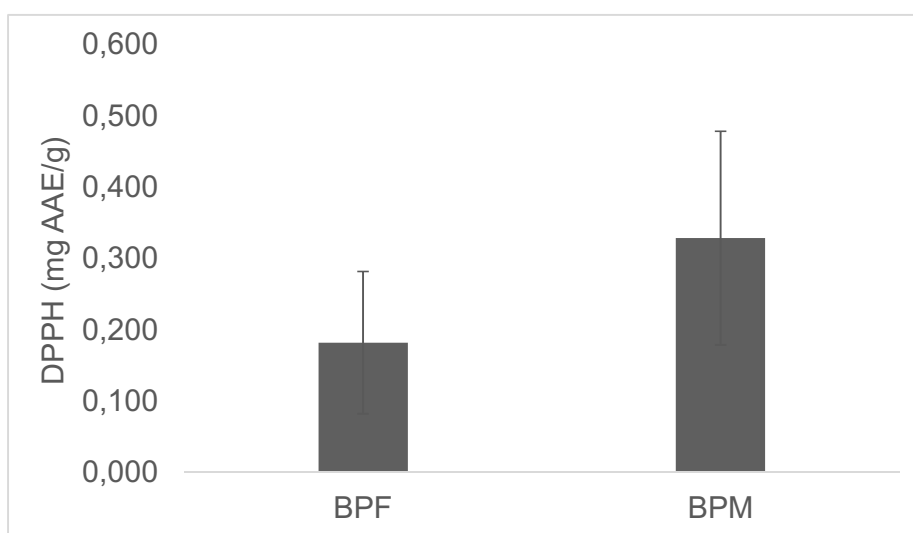


Figura 14: Potencial antioxidante de BPF e BPM frente ao radical DPPH expresso em mg de ácido ascórbico equivalente por grama de óleo essencial. Valores são média \pm SD, $p < 0.05$.

Fonte: Autoria própria.

Os resultados obtidos corroboram com os resultados da análise frente às EROs, dando mais respaldo a atividade anti-inflamatória das amostras BPF e

BPM. A atividade antioxidante observada para as amostras pode estar relacionada com os compostos majoritários apresentados.

Calleja et al. (2013) verificou a atividade antioxidante do β -cariofileno em diferentes concentrações frente ao DPPH, ânion superóxido, 5-liperoxidase, *stress* oxidativo na linhagem de células CFS-2G, em todos os ensaios o composto apresentou atividades, agiu como antioxidante e foi capaz de reduzir o *stress* oxidativo. De acordo com Sampaio et al., (2019) o óleo essencial das folhas de *Eugenia gracillima* Kiaersk (Myrtaceae) contendo germacreno D (16.10%), γ -muuroleno (15.60%), biciclogermacreno (8.53%) como compostos majoritários apresentou atividade antioxidante frente aos radicais DPPH e 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico.

6 CONCLUSÕES

As análises químicas deste estudo permitiram concluir que espécimes diferentes da mesma espécie podem ter diferenças no metabolismo secundário, resultando em perfis químicos diferentes.

Os resultados obtidos pelos os ensaios biológicos permitem inferir que os óleos essenciais de ambos os espécimes de *B. punctulata* possuem atividades anti-inflamatória e antioxidante, respaldando pela primeira vez o seu uso na medicina popular.

Os resultados deste trabalho foram publicados em congressos nacionais, Apêndice A e B, e na revista científica *Journal of Ethnopharmacology* sob o título *Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of the essential oils from male and female specimens of Baccharis punctulata* (Asteraceae), Apêndice C.

A revisão bibliográfica e os resultados aqui obtidos mostram parte do potencial biológico que os compostos provenientes das plantas possuem, potencial esse que por si só já é uma grande justificativa para o desenvolvimento e implementação de políticas que fomentem e instiguem a pesquisa com os produtos naturais, visto que a cura de muitas doenças certamente está sob os pés das mais simples populações.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. *Imunologia básica; funções e distúrbios do sistema imunológico* p. 336 , Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.
- ADAMS, R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. 4th ed. Illinois: Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 2009.
- ALVARENGA, N. et al. Extractos vegetales de tres especies del género *Baccharis* inducen la proliferación de células mononucleares humanas. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Paraguay*, v. 16, n. 2, 2017.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. *Química Nova, Brasil*, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ASCARI, J. et al. Sedative effects of essential oils obtained from *Baccharis uncinella*. *Pharmaceutical Biology, United Kingdom*, v. 50, n. 1, p. 113–119, 2011.
- FLORA DO BRASIL 2020. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB5151>>. Acesso em: 27 Fev. 2021.
- BARBOSA, R. J. et al. Promising therapeutic use of *Baccharis trimera* (Less.) DC. as a natural hepatoprotective agent against hepatic lesions that are caused by multiple risk factors. *Journal of Ethnopharmacology, Netherlands*, p. 112729, 2020.
- BARBOSA, L. M. Q. et al. Bullfrog Oil Reduces the Carrageenan-induced Edema in Wistar Rats by in vitro Reduction of Inflammatory Mediators. *Journal of Oleo Science, Japan*, v. 69, n. 2, p. 133-142, 2020.
- BESTEN et al. Chemical composition of essential oils from cladodes and inflorescences from male and female specimens of *Baccharis milleflora*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, India*, v. 17, n. 5, p. 899-905, 2014.
- 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, Brasil*, v. 23, n. 6, p. 1041-1047, 2012.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, Cl. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Química Nova, Brasil*, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BORGES, R. S. et al. Anti-inflammatory and antialgic actions of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and a molecular docking study of its major chemical constituents. *Inflammopharmacology*, Switzerland, v. 26, n. 1, p. 183-195, 2017.

BORGES, R. S. et al. *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of Ethnopharmacology*, Netherlands, v. 229, p. 29-45, 2019.

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.

BUCHAN, K. D. et al. A transgenic zebrafish line for *in vivo* visualization of neutrophil myeloperoxidase. *PloS One*, United States, v. 14, n. 4, 2019.

BUDEL, J. M. et al. Essential Oils of Five *Baccharis* species: and biological activities. *Molecules*, Switzerland, v. 23, n. 10, p. 1-19, 2018a.

BUDEL, J. M. et al. Foliar anatomy and microscopy of six Brazilian species of *Baccharis* (Asteraceae). *Microscopy Research and Technique*, United States, v. 81, n. 8, p. 832-842, 2018b.

CALLEJA, M. A. et al. The antioxidant effect of β -caryophyllene protects rat liver from carbon tetrachloride-induced fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation. *British Journal of Nutrition*, United Kingdom, v. 109, n. 3, p. 394-401, 2013.

CAMPOS, R. et al. *Baccharis* (Asteraceae): chemical constituents and biological activities. *Chemistry & Biodiversity*, Switzerland, v. 13, p. 1–17, 2016.

CELLIERS, A. et al. Neutrophil myeloperoxidase index in dogs with babesiosis caused by *Babesia rossi*. *Frontiers in Veterinary Science*, Switzerland, v. 7, p. 72, 2020.

CHANDRAN, R. I; ABRAHAMSE, H.; PARIMELAZHAGAN, T. Cytotoxic, analgesic and anti-inflammatory properties of *Syzygium calophyllifolium* bark. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, France, v. 103, p. 1079-1085, 2018.

CIMRIN, T. et al. Effects of the dietary supplementation of layer diets with natural and synthetic antioxidant additives on yolk lipid peroxidation and fatty acid composition of eggs stored at different temperatures and duration. *Brazilian Journal of Poultry Science*, Brasil, p. 1-8, v. 21, n. 2, 2019.

CSEKE, L. J.; KAUFMAN, P. B.; KIRAKOSYAN, Ara. The biology of essential oils in the pollination of flowers. *Natural Product Communications, United States*, v. 2, n. 12, p. 1317-1336, 2007.

GLOBAL COMPOSITAE DATABASE. Disponível em: <<http://www.compositae.org>>. Acesso em: 27 Fev. 2021.

DOMINGOS, O. S. et al. Anti-Inflammatory Derivatives with Dual Mechanism of Action from the Metabolomic Screening of *Poincianella pluviosa*. *Molecules, Switzerland*, v. 24, n. 23, p. 4375, 2019.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. *Food Science and Technology, Croatia*, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

FERNANDEZ, E. C.; SANDI, Y. E.; KOKOSKA, L. Ethnobotanical inventory of medicinal plants used in the Bustillo Province of the Potosi Department, Bolivia. *Fitoterapia, Netherlands*, v. 74, n. 4, p. 407-416, 2003.

FREITAS, P. R. et al. GC-MS-FID and potentiation of the antibiotic activity of the essential oil of *Baccharis reticulata* (Ruiz & Pav.) pers. and α -pinene. *Industrial Crops and Products, Netherlands*, v. 145, p. 1-5, 2020.

GIULIANO, D. A. Clasificación infragenérica de las especies argentinas de *Baccharis* (Asteraceae, Astereae). *Darwiniana, Argentina*, v. 39, n. 1-2, p. 131-154, 2001.

GIUSTARINI, G. et al. Tissue influx of neutrophils and monocytes is delayed during development of trovafloxacin-induced tumor necrosis factor-dependent liver injury in mice. *Journal of Applied Toxicology, United Kingdom*, v. 38, n. 5, p. 753-765, 2018.

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

GONZÁLEZ, M. D. Chemical composition of the leaf oil from *Baccharis punctulata* DC. at two phenological stages. *Journal of Essential Oil Research*, v. 31, n. 6, p. 573-581, 2019.

GRANATO, D.; CALADO, V. M. A.; JARVIS, B. Observations on the use of statistical methods in food science and technology. *Food Research International, Netherlands*, v. 55, p. 137-149, 2014.

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, United States*, v. 80, n. 3, p. C584-C593, 2015.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine, United Kingdom*, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

HEIDEN, G.; BAUMGRATZ, J. F. A.; ESTEVES, R. L. *Baccharis* subgen. Molina (Asteraceae) no estado do Rio de Janeiro Brasil. *Rodriguesia, Brasil*, v. 63, n. 3, p. 649–687, 2012.

HEIDEN, G.; ANTONELLI, A.; PIRANI, J. R. A novel phylogenetic infrageneric classification of *Baccharis* (Asteraceae: Astereae), a highly diversified American genus. *Taxon, Netherlands*, v. 68, n. 5, p. 1–34, 2019.

HEMPEL, S. L. et al. Dihydrofluorescein diacetate is superior for detecting intracellular oxidants: comparison with 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, 5 (and 6)-carboxy-2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, and dihydrorhodamine 123. *Free Radical Biology and Medicine, Netherlands*, v. 27, n. 1-2, p. 146-159, 1999.

JUDD, W. S. et al. *Sistemática vegetal: um enfoque filogenético*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

KABANOV, D. S. et al. Impact of CD14 on Reactive Oxygen Species Production from Human Leukocytes Primed by *Escherichia coli* Lipopolysaccharides. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, United Kingdom*, v. 2019, p. 1-9, 2019.

LABED, F. et al. Amino acid-sesquiterpene lactone conjugates from the aerial parts of *Centaurea pungens* and evaluation of their antimicrobial activity. *Fitoterapia, Netherlands*, v. 133, p. 51-55, 2019.

LAGO, J. H. G. et al. Chemical composition of male and female *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) essential oils. *Biochemical Systematics and Ecology, United Kingdom*, v. 36, n. 9, p. 737-740, 2008.

LANÇAS, F. M. *Fundamentos da Cromatografia Gasosa*. Campinas: Átomo, 273p., 2017.

LIU, Y. et al. Pharmacological investigation of the anti-inflammation and anti-oxidation activities of diallyl disulfide in a rat emphysema model induced by cigarette smoke extract. *Nutrients, Switzerland*, v. 10, n. 1, p. 79, 2018.

MARTINELLI, G.; MORAIS, M. A. Livro vermelho da flora do Brasil. 1º ed. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1100p., 2013.

MELVILLE, H. Moby Dick or the wale. 1º ed. New York: Harper & Brothers, 635p., 1851.

MEZACHE, N. et al. Senecipyrrrolidine, an unusual pyrrolidine alkaloid isolated from *Jacobaea gigantea* (Desf.) Pels (Asteraceae). Natural Product Research, United Kingdom, v. 33, n. 15, p. 2182-2191, 2019.

MINTEGUIAGA, M. et al. Volatile constituents from *Baccharis* spp. L. (Asteraceae): chemical support for the conservation of threatened Species in Uruguay. Chemistry & Biodiversity, Switzerland, v. 15, n. 5, p. 1-23, 2018.

MOHAN, S. et al. An anti-inflammatory molecular mechanism of action of α -mangostin, the major xanthone from the pericarp of *Garcinia mangostana*: An in silico, *in vitro* and *in vivo* approach. Food & Function, United Kingdom, v. 9, n. 7, p. 1-30, 2018.

MORAES-NETO, R. N. et al. Asteraceae plants as sources of compounds against Leishmaniasis and Chagas disease. Frontiers in Pharmacology, Switzerland, v. 10, p. 477, 2019.

MURPHY, K. Imunobiologia de Janeway, 8º ed. Porto Alegre: Artmed, 868 p., 2012.

NAKAMURA, A. et al. Anti-inflammatory effect of Itraconazole on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-and 2, 4, 6-trinitrophenyl chloride-induced skin inflammation in mice. Mycoses, Germany, v. 63, n. 3 p.189-196. 2020.

OLIVEIRA, C. T. et al. Chemical Characterization, Antioxidant Capacity and Antimicrobial Potential of Essential Oil from the Leaves of *Baccharis oreophila* Malme. Chemistry & Biodiversity, Switzerland, v. 16, n. 2, p. 1-8, 2019.

OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M. et al. Anti-inflammatory and anti-edematogenic action of the Croton Campestris A. St.-Hil (Euphorbiaceae) essential oil and the compound β -caryophyllene in *in vivo* models. Phytomedicine, Germany, v. 41, p. 82-95, 2018.

OTUKI, M. F. et al. Topical anti-inflammatory effects of the ether extract from *Protium kleinii* and α -amyrin pentacyclic triterpene. European Journal of Pharmacology, Netherlands, v. 507, n. 1-3, p. 253-259, 2005.

PANERO, J. L.; FUNK, V. A. The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the Asteraceae revealed. Molecular Phylogenetics and Evolution, United States, v. 47, n. 2, p. 757-782, 2008.

PATIL, K. R. et al. Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*, Switzerland, v. 20, n. 18, p. 4367, 2019.

PEDROTTI, C. et al. Control of postharvest fungal rots in grapes through the use of *Baccharis trimera* and *Baccharis dracunculifolia* essential oils. *Crop Protection*, Netherlands, v. 125, p. 1-7, 2019.

PENG, W. et al. Anti-allergic rhinitis effects of caffeoylquinic acids from the fruits of *Xanthium strumarium* in rodent animals via alleviating allergic and inflammatory reactions. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Brasil, v. 29, n. 1, p. 46-53, 2019.

PENSUK, W.; PADUMANONDA, T.; PICHAENSOONTHON, C. Comparison of the chemical constituents in *Michelia alba* flower oil extracted by steam distillation, hexane extraction and enfleurage method. *Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine*, Thailand, v. 5, n. 1, p. 30-39, 2007.

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

PIRES, J. et al. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Brasil, p. 1-6, 2017.

RABELO, A. C. S.; COSTA, D. C. A review of biological and pharmacological activities of *Baccharis trimera*. *Chemico-Biological Interactions*, Ireland, v. 296, p. 65-75, 2018.

RAMALHO, V. C.; JORGE, Neuza. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química nova*, Brasil, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

REIDEL, R. V. B. et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from four Asteraceae plants grown in Egypt. *Zeitschrift für Naturforschung C*, Germany, v. 73, n. 7-8, p. 313-318, 2018.

REVERCHON, E. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. *The Journal of Supercritical Fluids*, Netherlands, v. 10, n. 1, p. 1-37, 1997.

RICARDO, L. M. et al. Plants from the Brazilian traditional medicine: species from the books of the Polish physician Piotr Czerniewicz (Pedro Luiz Napoleão Chernoviz, 1812-1881). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 388-400, 2017.

RODRIGUES, R. O. et al. Antioxidant, anti-inflammatory and healing potential of ethyl acetate fraction of *Bauhinia unguolata* L. (Fabaceae) on in vitro and in vivo wound model. *Molecular Biology Reports*, Netherlands, p. 1-15, 2020.

RUPACHANDRA, S. et al. Evaluation of Anti-inflammatory Efficacy of RA-V: a Natural Cyclopeptide. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, United States, v. 190, n. 2, p. 732-744, 2020.

SALDAÑA, R. A. C. et al. Saber etnobotánico, riqueza y valor de uso de plantas medicinales en Monterrey, Villa Corzo, Chiapas (México). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, Chile, p. 350-362, 2018.

SAMPAIO, M. G. V. et al. Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil. *Natural product Research*, United Kindgom, p. 1-5, 2019.

SCHOSSLER, P. et al. Volatile compounds of *Baccharis punctulata*, *Baccharis dracunculifolia* and *Eupatorium laevigatum* obtained using solid phase microextraction and hydrodistillation. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Brasil, v. 20, n. 2, p. 277-287, 2009.

SILVEIRA, J. C. et al. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. *Enciclopédia Biosfera*, Brasil, v. 8, n. 15, p. 2038-2052, 2012.

SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia do Produto Natural ao Medicamento*. 1º ed. Porto Alegre: Artmed, 502p., 2017.

SOUZA, M. M. Q. et al. *Baccharis trimera* (Less.) DC: An innovative cardioprotective herbal medicine against multiple risk factors for cardiovascular disease. *Journal of Medicinal Food*, United States, 2019.

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

SUDARMONO. Pollen diversity in the Bogor Botanic Gardens, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, Indonesia, v. 20, n. 4, p. 931-936, 2019.

TANG, J. et al. Quercetin and Quercitrin Attenuates the Inflammatory Response and Oxidative Stress in LPS-Induced RAW264. 7 Cells: In Vitro Assessment and a Theoretical Model. *BioMed Research International*, United Kindgom, v. 2019, p. 1-9, 2019.

THE PLANT LIST. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Compositae/Baccharis/>. Acesso em: 27 Fev. 2021.

TOSUN, A. et al. Chemical profiles and anti-inflammatory activity of the essential oils from *Seseli gummiferum* and *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum*. *Natural Product Communications*, United States, v. 11, n. 10, p. 1523-1526, 2016.

TROPICOS. Disponível em: <https://www.tropicos.org/>. Acesso em: 27 Fev. 2021.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos químicos, econômicos e biológicos. Química Nova, Brasil, v. 28, n. 1, p. 85–94, 2005.

VIEIRA, G. V. et al. Analgesic and anti-inflammatory properties of essential oil from *Ageratum fastigiatum*. Brazilian Archives of Biology and Technology, Brasil, v. 52, n. 5, p. 1115-1121, 2009.

WANG, Z.-H. et al. *Sinoseris* (Crepidinae, Cichorieae, Asteraceae), a new genus of three species endemic to China, one of them new to science. Willdenowia, v. 50, n. 1, p. 91–110, Germany, 2020.

WINBERG, L. K. et al. Erythrocytes restrict microvesicle-induced production of reactive oxygen species by polymorphonuclear leukocytes. Apmis, United Kindgom, v. 127, n. 7, p. 538-542, 2019.

WU, A. et al. Natural phenylethanoid glycosides isolated from *Callicarpa kwangtungensis* suppressed lipopolysaccharide-mediated inflammatory response via activating Keap1/Nrf2/HO-1 pathway in RAW 264.7 macrophages cell. Journal of Ethnopharmacology, Netherlands, p. 112857, 2020.

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, Switzerland, v. 26, n. 3-4, p. 335-341, 1989.

ZUCCOLOTTO et al. Chemical, antioxidant, and antimicrobial evaluation of essential oils and an anatomical study of the aerial parts from *Baccharis* species (Asteraceae). Chemistry & biodiversity, Switzerland, p. 1-30, v. 16, n. 4, 2019.

APÊNDICES

APÊNDICE A: Resumo Óleo Essencial de Espécimes Masculino e Feminino de *Baccharis punctulata* DC. publicado no IX Simpósio de Graduação e Pós-Graduação de Química da UEPG



Química a favor da saúde:
discussões e perspectivas



ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIMES MASCULINO E FEMININO DE *Baccharis punctulata* DC.

Murilo S. de Oliveira (IC)^{1*}; Jociani Ascari (PQ)¹; Domingos S. Nunes (PQ)²; Daniel Granato (PQ)³; Dilamara Riva Scharf (PQ)⁴; Edésio Luiz Simionatto (PQ)⁴; Gustavo Heiden (PQ)⁵. *murilo_tinelli@hotmail.com

¹Coordenação de Ciências Biológicas - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena, UTFPR, PR Brasil.

²Departamento de Química - Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG, PR, Brasil.

³Departamento de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG, PR, Brasil.

⁴Departamento de Química - Universidade Regional de Blumenau, FURB, SC, Brasil.

⁵Embrapa Clima Temperado, RS, Brasil.

Palavras Chave: *Baccharis punctulata*, óleos essenciais, CG-EM.

Introdução

Espécies do gênero *Baccharis* são pouco estudadas quanto à sua composição química e atividades biológicas, no entanto algumas têm apresentado elevado potencial farmacológico¹. Tais espécies são muito utilizadas na medicina popular no controle e tratamento de doenças, além de usos de importância econômica e ambiental. Diversos relatos confirmam os usos da medicina popular associados às ações farmacológicas de espécies deste gênero¹. *Baccharis punctulata* DC. é uma espécie com distribuição espontânea nas regiões sul e sudeste do Brasil. Embora não encontre uso na medicina tradicional brasileira, as folhas são utilizadas pelas comunidades rurais da Província de Bustillo na Bolívia para o tratamento de asma, luxações e contusões². A composição química dessa espécie vegetal ainda não é completamente conhecida. As partes aéreas da planta possuem óleo essencial cuja composição foi estudada por Schossler et al. (2009)³ através de GC-MS e GC-FID. Esses autores citam entre os principais constituintes os seguintes compostos obtidos por hidrodestilação: limoneno, z-ocimeno, cis-cadin-4-en-7-ol e biciclogermacreno. Em alguns poucos estudos sobre óleos essenciais tem sido levado em consideração que as espécies deste gênero são dióicas, podendo haver diferenças entre o metabolismo secundário de espécimes masculinos e femininos de uma mesma espécie. Nesse cenário, o objetivo deste trabalho foi analisar a composição química dos óleos essenciais das folhas de espécimes masculina (BPM) e feminina (BPF) de *B. punctulata* localizadas no Oeste do estado do Paraná.

Resultados e Discussão

Espécimes BPM e BPF foram coletados em Santa Helena - PR em fevereiro de 2016, na posição geográfica 24°48'15" Sul e 54°15'16" Oeste a 368m de altitude. As exsicatas foram identificadas pelo botânico Gustavo Heiden e depositadas no Herbário ECT da Embrapa Clima Temperadas, Pelotas, RS, sob os números BPM (ECT 0003425) e BMP (ECT 0003431).

Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado por 3 horas usando 100 g de folhas secas à temperatura ambiente. O rendimento das amostras de óleo essencial de BPF foi de 1.62% e de BPM 0.87%. A análise química das amostras foi realizada por GC-MS e GC-FID. Os índices de Kovats obtidos foram comparados com dados publicados⁴. A análise por GC-MS-FID permitiu constatar a ocorrência de limoneno (3.40%) como representante majoritário dos monoterpenos (5.40%) em BPF e em BPM apenas o acetato de bornila (0.59%). Os sesquiterpenos encontrados em maior proporção em BPM são: δ -elemeno (14.29%), germacreno D (11.29%), biciclogermacreno (10.90%), β -farneseno (6.74%), β -elemeno (6.11%) e β -cariofileno (5.59%) e em BPF, biciclogermacreno (42.44%), germacreno D (21.18%) e β -cariofileno (14.06%). Analisando os sesquiterpenos majoritários observa-se que há diferença estatística entre as amostras BPM e BPF. De uma forma geral, a composição química do óleo essencial dos espécimes BPF e BPM assemelha-se aos compostos observados na literatura para esta espécie.

Conclusões

O perfil químico dos óleos de espécimes masculino e feminino de *B. punctulata* foi investigado e foi possível verificar a presença em maiores quantidades dos compostos biciclogermacreno, germacreno D, δ -elemeno e β -cariofileno. Este é o primeiro estudo químico de voláteis de espécimes masculinos e femininos desta espécie vegetal.

Agradecimentos

À Fundação Araucária pela bolsa de IC-UTFPR e ao CNPq pelas bolsas Produtividade (DSN e DG).

¹Campos, F. R. et al., *Chem Biodivers*, 2016, 13, 1.

²Fernandez, E.C.; Sandi, Y.E.; Kokoska, L. *Fitoterapia*, 2003, 74, 407.

³Schossler, P., et al. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2009, 20, 277.

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

APÊNDICE B- Resumo *Chemical Composition and Anti-Inflammatory Activity of the Essential Oil from the Leaves of male and Female Specimens of Baccharis punctulata* DC. publicado na 6^o Brazilian Conference On Natural Products.



6TH BCNP
Brazilian Conference
On Natural Products
XXXII RESEM



Federal University of Espírito Santo
Vitória – ES/Brazil
November 05–08/2017

Chemical Composition and Anti-Inflammatory Activity of the Essential Oil from the Leaves of Male and Female Specimens of *Baccharis punctulata* DC.

de Oliveira, M.S.¹, Ascari, J.1, Nunes, D.S.², Granato, D.², Scharf, D.R.³, Simionatto, E.L.³, Heiden, G.⁴ Soley, B.S.⁵, Otuki, M.F.⁵

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena, UTFPR, PR, Brasil;

²Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG, PR, Brasil; ³Universidade Regional de Blumenau, FURB, SC, Brasil; ⁴Embrapa Clima Temperado, RS, Brasil; ⁵Universidade Federal do Paraná, UFPR, PR, Brasil;
murilo_tinelli@hotmail.com

Species of the genus *Baccharis* are used in traditional medicine in the control and treatment of various diseases, in addition to their economic and environmental importance. Increasingly, studies on its chemical composition and biological activities confirm the uses in traditional medicine associated with the pharmacological actions of species of this genus, especially as anti-inflammatories and agents of gastric protection¹. *Baccharis punctulata* DC. is a species that occurs spontaneously, with distribution in the southern and southeastern regions of Brazil. Although there is no use in traditional Brazilian medicine, the leaves are used by the rural communities of the Province of Bustillo in Bolivia for the treatment of asthma, dislocations and contusions². The objective of this work was to analyze the chemical composition and the anti-inflammatory activity of the essential oils of the leaves, using a model of skin inflammation in mice. Male (BPM) and female specimens (BPF) of *B. punctulata* were collected in the western part of the state of Paraná. The essential oils were obtained by hydrodistillation in a modified Clevenger apparatus for 3 h. The yield of BPF samples was 1.62% (w/w) and BPM 0.87% (w/w). The chemical analysis was performed by GC-MS-FID and showed the occurrence of sesquiterpenes found in greater proportion in BPM, being: δ -elemene (14.29%), germacrene D (11.29%) and bicylogermacrene (10.90%) and in BPF, bicylogermacrene (42.44%), germacrene D (21.18%) and β -caryophyllene (14.06%). The most commonly used *in vivo* animal model to study the cutaneous inflammatory process is the induction of edema in the ear of mice³. Topical application of phorbol esters, such as TPA, induces inflammation and hyperproliferative responses in animals. The treatments with BPM and BPF, as well as dexamethasone (DEXA, positive control), were performed topically shortly after the application of the phlogistic agent. The activity of the myeloperoxidase (MPO) enzyme used as an indication of the presence of polymorphonuclear leukocytes in the inflamed tissue was also evaluated for the aforementioned samples, as well as the histological analysis. Topical administration of the essential oils BPM and BPF was able to reduce the formation of the edema induced by TPA in the treated groups. These inhibitions were equal to 25.37 \pm 5.32% (0.1 mg/ear), 43.13 \pm 13.87% (0.3 mg/ear) and 43.13 \pm 14.86% (1 mg/ear), when we consider BPF sample. The BPM was able to revert the formation of ear edema in 37.09 \pm 18.25% (0.1 mg/ear), 30.97 \pm 16.75% (0.3 mg/ear) and 47.68 \pm 12.74% (1 mg/ear). While DEXA promoted inhibition equal to 84.86 \pm 15.22% (0.1 mg/ear). The administration of TPA promoted an increase in MPO activity, as well as the inhibition of the increase in MPO activity when the animals were treated with GMP at concentrations of 0.1 mg (13.69 \pm 0.20%), 0.3 mg (22.35 \pm 0.11%) and 1 mg / ear (44.98 \pm 0.27%). Topical treatment with BPM was able to inhibit the MPO enzyme activity at 22.40 \pm 0.29% (0.1 mg/ear), 36.49 \pm 0.07% (0.3 mg/ear) and 52.19 \pm 0.28%. The DEXA (0.1 mg/ear) was able to reverse the increase of the enzymatic activity of MPO in 65.16 \pm 0.003%. Histological analysis corroborated with the results expressed above. Based on the results of the chemical analysis it is observed that there is statistical difference (p<0.05) between the BPM and BPF essential oils. The essential oil samples showed promising anti-inflammatory activity in the model tested.

1 Campos, F. R. et al., Chem Biodivers. 2016, 13, 1.

2 Fernandez, E.C.; Sandi, Y.E.; Kokoska, L. Fitoterapia. 2003, 74, 407.

3 Gabor, M., 2003. Methods in Molecular Biology. 2003, 225, 129-137.

Realization



Promoter



Sociedade Brasileira de Química

APÊNDICE C – Primeira página do artigo *Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of the essential oils from male and female specimens of Baccharis punctulata* (Asteraceae)

Journal of Ethnopharmacology 234 (2019) 1–7



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Ethnopharmacology

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



Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of the essential oils from male and female specimens of *Baccharis punctulata* (Asteraceae)



Jociani Ascari^{a,*}, Murilo Silva de Oliveira^a, Domingos Sávio Nunes^b, Daniel Granato^b, Dilamara Riva Scharf^c, Edésio Simionatto^c, Michel Otuki^d, Bruna Soley^d, Gustavo Heiden^e

^a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Prolongamento da Rua Cerejeira, s/n, CEP 85892-000 Bairro São Luiz - Santa Helena, PR, Brazil

^b Universidade Estadual de Ponta Grossa, Avenida Carlos Cavalcanti 4748, CEP: 84030-900 Ponta Grossa, PR, Brazil

^c Universidade Regional de Blumenau, Campus II/Bloco I - Sala 007, Rua São Paulo, 3250, CEP: 89030-000 Blumenau, SC, Brazil

^d Universidade Federal do Paraná, Politécnico - Anexo da Farmacologia Sala 102, Avenida Coronel Francisco H. dos Santos, s/n, Bairro: Jardim das Américas, CEP: 81530-900 Curitiba, PR, Brazil

^e Embrapa Clima Temperado, Rodovia BR 392, km 78. Caixa Postal 403, CEP: 96010-971 Pelotas, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Baccharis punctulata
Essential oil
Topical anti-inflammatory

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: *Baccharis punctulata* (Asteraceae), popularly known as “Chillka saru saru” in Bolivia, has been used by rural communities in Bustillo Province of the Potosi Department for treatment of asthma, luxations and contusions.

Aim of the study: To analyze the chemical composition of the essential oils obtained from leaves of female (BPF) and male (BPM) specimens and evaluate their anti-inflammatory and antioxidant properties.

Material and methods: Chemical composition analyses of *Baccharis punctulata* essential oils isolated by hydrodistillation from leaves of male and female specimens were performed by GC-FID-MS. The *in vivo* anti-inflammatory activity was evaluated using the model of TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) induced ear edema, and the polymorphonuclear cell migration was evaluated by mieloperoxidase (MPO) and analyzed histologically. To measure the reactive oxygen species (ROS) in the inflamed tissue, the DCFH-DA fluorescent probe was used. The chemical *in vitro* antioxidant activity of essential oils was determined using the 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) free radical assay.

Results: The chemical analysis showed high proportion of sesquiterpenes in the volatiles samples obtained from BPM, such as δ -elemene (14.29%), germacrene D (11.29%) and bicyclogermacrene (10.90%), and in the sample from BPF, bicyclogermacrene (42.44%), germacrene D (21.18%) and β -caryophyllene (14.06%). A statistical difference ($p < 0.05$) on chemical composition between both essential oils was observed. Topical administration of both BPM and BPF essential oils was able to inhibit the formation of TPA-induced edema in the treated groups. Isolated administration of TPA promoted an increase in MPO enzyme activity, and inhibition of the increase of MPO activity was observed when animals were treated with BFP at concentrations of 0.1 mg/ear ($13.69 \pm 0.20\%$), 0.3 mg/ear ($22.35 \pm 0.11\%$), and 1.0 mg/ear ($44.98 \pm 0.27\%$). Topical treatment with BPM was able to inhibit MPO activity at $22.40 \pm 0.29\%$ (0.1 mg/ear), $36.49 \pm 0.07\%$ (0.3 mg/ear) and $52.19 \pm 0.28\%$ (1.0 mg/ear). The positive control of dexamethasone (DEXA, 0.1 mg/ear) was able to revert the increase in the enzymatic activity of MPO caused by TPA (65.16%). Histological analysis showed that topical application of TPA promoted intense cellular infiltration. This inflammatory parameter was reduced with the topical application of the BPF and BPM oil samples as well as with DEXA. The results observed in the ROS and DPPH tests suggest that both samples were able to reduce the inflammatory cells influx and have *in vitro* antioxidant properties, respectively.

Conclusions: This study presents, for the first time, the chemical composition of the essential oils obtained from

* Corresponding author.

E-mail addresses: jascari@utfpr.edu.br (J. Ascari), murilo_tinelli@hotmail.com (M.S. de Oliveira), senunsd@gmail.com (D.S. Nunes), granatod@gmail.com (D. Granato), dilaquim@gmail.com (D.R. Scharf), edesiofurb@gmail.com (E. Simionatto), michelotuki@yahoo.com.br (M. Otuki), brunasoley@gmail.com (B. Soley), gustavo.heiden@gmail.com (G. Heiden).

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.01.005>

Available online 17 January 2019
0378-8741/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.