

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE – UERN  
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS – FANAT  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS – PPGCN  
MESTRADO EM CIÊNCIAS NATURAIS – MCN

DAYANE CARLA COSTA PAIVA

ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DO  
EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA ENTRECASCA DE *Pseudobombax  
marginatum* (St. Hill) Rob. PROVENIENTE DA CAATINGA POTIGUAR.

MOSSORÓ – RN

2013

DAYANE CARLA COSTA PAIVA

ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DO EXTRATO  
HIDROALCOÓLICO DA ENTRECASCA DE *Pseudobombax marginatum* (St. Hill)  
Rob. PROVENIENTE DA CAATINGA POTIGUAR.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, da Faculdade de Ciências Exatas e Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Naturais. Área de concentração: Recursos Naturais.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Dayseanne Araujo Falcão.

MOSSORÓ – RN

2013

**Catálogo da Publicação na Fonte.  
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.**

Paiva, Dayane Carla Costa.

Atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do extrato hidroalcoólico da entrecasca de *Pseudobombax marginatum* (St. Hill) Rob. proveniente da caatinga potiguar. / Dayane Carla Costa Paiva. – Mossoró, RN, 2013.

65 f.

Orientador(a): Profª Drª Dayseanne Araujo Falcão.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais). Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais .

1. Plantas medicinais - Dissertação. 2. Inflamação - Dissertação. 3. Nocicepção - Dissertação. I. Falcão, Dayseanne Araujo. II. Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. III. Título.

UERN/BC

CDD 633.88

Bibliotecária: Elaine Paiva de Assunção CRB 15 / 492

DAYANE CARLA COSTA PAIVA

ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DO EXTRATO  
HIDROALCOÓLICO DA ENTRECASCA DE *Pseudobombax marginatum* (St. Hill)  
Rob. PROVENIENTE DA CAATINGA POTIGUAR.

Aprovada, em 22 de fevereiro de 2013.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dayseanne Araujo Falcão (Orientadora)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Danielle Peretti

---

Prof. Dr. Francisco Barros Barbosa

A Deus.

Aos meus pais, Antonio Luiz e Delfina.

## AGRADECIMENTOS

*"Quando se diz obrigado, se dizem muitas coisas mais, que vêm de muito longe com a origem do indivíduo, e de tão perto como o pulsar do coração".*

*(Pablo Neruda).*

Primeiramente a Deus, Pai caridoso e protetor em todos os momentos, nos que mais precisei e também naqueles que nem mesmo merecia. É dEle essa vitória!

A professora Dayseanne Falcão, orientadora, motivadora, amiga. Obrigada pela atenção e confiança depositada. Seu trabalho foi além da orientação, permitiu-me conhecer, viver e aprender com pessoas maravilhosas, incluído sua família, linda, grande e abençoada, me receberam de braços abertos em sua casa. Grata!

Ao professor Ramiro Camacho, ao meu primo Lamarck Rocha, ao amigo Diego Nathan e todos do Laboratório de Ecologia e Sistemática Vegetal, que subsidiaram a identificação e coleta da nossa plantinha, a Embiratanha.

Ao professor Arnaldo Viana, professor Jaécio Diniz, a Simone Rocha e a todos do Laboratório de Cromatografia que tornaram possível a extração e prospecção do extrato.

Ao professor Alexandre Barbuto, a colega Elizabeth e a todos do laboratório de Tumores que me dedicaram uma parte de seu tempo, me acolheram e orientaram numa experiência enriquecedora, que ainda gerará bons frutos.

A professora Sara Thomazzi que viabilizou toda experimentação animal. A Cliomar Alves e sua esposa Danniela Gomes, um casal abençoado, que me receberam com muito carinho e com a maior gratuidade me orientaram, ensinaram e acompanharam na execução de todo trabalho experimental. Obrigada!

A professora Luciana Itto, que gentilmente nos prestou sua ajuda na reta final deste trabalho.

A todos que compõem o Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais. Aos funcionários e professores, com carinho as professoras Dayseanne e Cynthia. Estamos juntos na busca do aperfeiçoamento e melhorias para o programa.

E também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão de bolsa de estudo.

A todos os meus colegas de curso, onde encontrei um forte de amizade e companheirismo fortalecido pelas dúvidas, dificuldades, problemas e alegrias compartilhadas entre todos. Um obrigada especial a turminha; Maria Clara, Antonio Segundo, Roberto Ragagnin e André Jailson. Obrigada Bruna Abreu, minha amiga de todas as horas, desde o primeiro dia da graduação, sempre unidas.

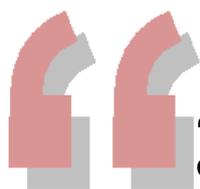
Ao meu querido amor Camilo Dantas; meu melhor amigo, que nunca me deixa sozinha, grande incentivador de meus projetos e também meu tradutor e leitor de inglês. Obrigada por todo tempo e pensamento que dedica a mim. E também obrigada a toda sua família, em especial sua mãe Liana Couto e sua avó Zélia Couto que me receberam, e até cuidaram, como uma filha.

Aos meus pais, pai e mãe; ao meu irmão Costa Júnior. Vocês sim conhecem todas as vírgulas da história; e me alicerçam, apoiam e confortam em todos os momentos. Para vocês é mais difícil escrever, mas vocês sabem o quanto amo cada um de vocês. Tudo que sou devo imensamente aos valores que me passam.

Aos meus familiares e amigos que acreditam e torcem por minha felicidade e sucesso. A tia Maria, sempre presente. As primas Sônia Nascimento e Zinete Oliveira, que estiveram à disposição em momentos importantes.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram. O meu carinho e gratidão pela força e confiança. Que Deus abençoe a todos!

Obrigada.



**“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, e sim em ter novos olhos”.**

**Marcel Proust**  
Romancista francês

## RESUMO

O uso de plantas medicinais é uma prática milenar, cujos conhecimentos são preservados oralmente por gerações. Na região potiguar, a entrecasca da Embiratanha (*Pseudobombax marginatum*) é usada principalmente no combate a dores e inflamações. Este trabalho teve por objetivo elucidar as propriedades anti-inflamatórias e antinociceptivas do extrato hidroalcoólico da entrecasca (EHE) de *P. marginatum*. Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Sergipe (CEPA 98/2011), os experimentos foram realizados em ratos *Wistar* e camundongos *Swiss* machos. A prospecção fitoquímica do extrato, baseada no método de Matos (1997), detectou metabólitos como taninos, flavonóis, flavanonas, flavanonois, xantonas e esteroides livres. Os animais foram pré-tratados com o EHE de *P. marginatum* (10, 30, 100 e 300 mg/kg, v.o.) ou com o veículo (salina 0,9%, 10 mL/kg, v.o.), 60 minutos antes do teste. Grupos controle foram pré-tratados com dexametasona (2 mg/kg, s.c) ou AAS (300 mg/kg, v.o) 60 minutos antes ou ainda com morfina (3 ou 10 mg/kg, i.p) ou diazepam (1,5 mg/kg; i.p) 30 minutos antes do teste. No teste de edema de pata, os animais que receberam as doses de 100 e 300 mg/kg do EHE *P. marginatum* apresentam um perfil de inibição do edema, não observado nos tratados com veículo. Adicionalmente, o cálculo da área sob a curva da dose de 100 mg/kg detectou uma inibição de 48% no volume do edema ( $p < 0,001$ ). A atividade da enzima mieloperoxidase foi diminuída ( $p < 0,001$ ) no tecido dos animais pré-tratados com as doses 100 e 300 mg/kg do EHE *P. marginatum*,  $21,7 \pm 5,62$  e  $20,5 \pm 8,3$  UMPO/mg de tecido, respectivamente, comparado aos animais tratados com veículo ( $53,2 \pm 11,38$ ). No modelo de peritonite, as doses de 30, 100 e 300 mg/kg,  $3,1 \pm 0,25$ ;  $2,8 \pm 0,27$  e  $2,2 \pm 0,16 \times 10^6$  leucócitos/mL, respectivamente foram capazes de inibir a migração de polimorfonucleares ( $p < 0,001$ ), quando comparadas ao veículo ( $7,6 \pm 0,93 \times 10^6$  leucócitos/mL). A inibição da migração de leucócitos totais foi de 56% para o grupo de 300mg/kg e 53% para a dexametasona. Durante a avaliação antinociceptiva, no teste de contorções abdominais, observou-se uma redução das mesmas nos animais tratados com as doses de 10, 30, 100 e 300 mg/kg; 49%, 73%, 78% e 83%, respectivamente ( $p < 0,001$ ). No teste da Placa quente não foi verificado um aumento da tolerância à dor pelos animais pré-tratados com o EHE *P. marginatum* ( $p < 0,05$ ). E na avaliação das fases do teste da formalina, os animais tratados com as dose de 30

e 100 mg/kg ( $64,5 \pm 7,2$  s e  $59,2 \pm 12,2$  s) diminuíram o tempo de lambida comparado ao veículo ( $98,7 \pm 8,9$  s) durante a segunda fase ( $p < 0,05$ ). No teste do campo aberto foi verificado que as doses de 30 ( $56,6 \pm 1,8$ ) e 100 ( $57,4 \pm 2,9$ ) mg/kg não interferiram no desempenho motor dos animais. O EHE de *P. marginatum* apresenta atividade biológica anti-inflamatória e analgésica sobre a dor periférica de origem inflamatória. A dose de 100 mg/kg mostrou melhor desempenho nos testes aplicados.

**Palavras-chave:** *Pseudobombax marginatum*. Inflamação. Nocicepção.

## ABSTRACT

The use of medicinal plants is a common practice, knowledge orally pass by generations. In potiguar region the inner bark of Embiratanha (*Pseudobombax marginatum*) is used mainly to fighting pain and inflammation. The research seeks to elucidate the anti-inflammatory and antinociceptiva properties of hydroalcoholic inner bark (HE) of *P. marginatum*. Approved by The Ethics Committee on Animal Research of the Federal University of Sergipe (CEPA 98/2011) experiments tests were carried out with *Wistar* rats and *Swiss* mice male. The phytochemical screening, based on the method of Matos (1997), detected metabolites like tannins, flavonols, flavanones, flavanonois, xanthonnes and free steroid. The animals were pre-treated with *P. marginatum* HE (10, 30, 100 and 300 mg/kg, v.o.) or with vehicle (saline 0.9%, 10 mL/kg, p.o.), 60 minutes before the test. Standard control groups were pre-treated with dexamethasone (2 mg/kg, s.c.) or ASA (300 mg/kg, p.o) 60 minutes before or with morphine (3 or 10 mg/kg, i.p.) or diazepam (1.5 mg/kg; i.p) 30 minutes before the test. In the paw edema test, the animals that received the doses of 100 and 300 mg/kg of *P. marginatum* HE presented a profile of edema inhibition, not noted in the ones treated with vehicle. Additionally, the calculating the area under the curve the dose of 100 (1.9±0.3) mg/kg caused an inhibition of 48% edema's volume ( $p<0.001$ ). The activity of the enzyme myeloperoxidase was decreased ( $p<0.001$ ) in the animals tissues pre-treated with the doses 100 and 300 mg/kg of *P. marginatum* HE, 21.7±5.62 and 20.5±8.3 UMPO/mg of tissue, respectively, compared to the animals treated with vehicle (53.2±11.38). In the peritonitis model, the doses of 30, 100 and 300 mg/kg, 3.1±0.25; 2.8±0.27 and 2.2±0.16 x10<sup>6</sup> leukocytes/mL, respectively were able to inhibited the migration of polymorphonuclear ( $p<0.001$ ), when compared to the vehicle (7.6±0.93 leukocytes/mL). The inhibition of total leukocyte migration was 56% to the group of 300mg/kg of *P. marginatum* HE and 53% to dexamethasone. In the antinociceptive evaluation, in the writhing test, noticed a reduction of contortions in animals treated with the doses of 10, 30, 100 and 300 mg/kg, respectively 49%, 73%, 78% and 83% ( $p<0.001$ ). In the hot plate test it was not verified an increased of pain tolerance in the animals pre-treated with *P. marginatum* HE ( $p<0.05$ ). And in the evaluation of the formalin test phases, the animals treated with the doses of 30 and 100mg/kg (64.5±7.2 s and 59.2±12.2 s) decreased the duration of liking compared to the vehicle (98.7±8.9 s) during the second phase( $p<0.05$ ). In the open field test was

verified the doses of 30 ( $56.6\pm 1.8$ ) and 100 ( $57.4\pm 2.9$ ) mg/kg did not interfere in the animals motor performance. The *P. marginatum* HE showed biological anti-inflammatory and analgesic activity over the peripheral pain from inflammatory origin. The dose of 100 mg/kg showed a better performance in the applied tests.

**Keywords:** *Pseudobombax marginatum*. Inflammation. Nociception

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01:	Floresta Nacional de Açú .....	21
Figura 02:	Embiratanha .....	22
Figura 03:	Mecanismos de migração dos leucócitos para o sítio inflamatório ...	26
Figura 04:	Edema de pata induzido por carragenina 1%: Curva tempo resposta .....	39
Figura 05:	Edema de pata induzido por carragenina 1%: Área sob a curva .....	40
Figura 06:	Atividade da enzima MPO no músculo edemático .....	41
Figura 07:	Migração leucocitária na peritonite .....	42
Figura 08:	Contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,8% .....	43
Figura 09:	Latência ao estímulo térmico na placa quente .....	43
Figura 10:	Teste da formalina .....	44
Figura 11:	Locomoção no campo aberto .....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Trabalhos de Etnobotânica que citam a <i>Pseudobombax marginatum</i> .....	24
Tabela 2 – Coloração indicativa da presença de antocianinas, antocianidinas e flavonoides .....	30
Tabela 3 – Coloração indicativa da presença de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas .....	31
Tabela 4 – Prospecção preliminar dos constituintes químicos do EHE de <i>P. marginatum</i> .....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AIEs** Anti-inflamatórios Esteroidais  
**AINEs** Anti-inflamatórios Não Esteroidais  
**AAS** Ácido Acetilsalicílico  
**ASC** Área Sob a Curva  
**°C** Graus Celsius  
**CEPA** Comitê de Ética em Pesquisa Animal  
**COX** Ciclooxygenase  
**CGRP** Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina  
**Dexa** Dexametasona  
**EDTA** Ácido Etilenodiaminotetracético  
**EHE** Extrato Hidroalcoólico da Entrecasca  
**FeCl<sub>3</sub>** Cloreto Férico  
**FLONA** Floresta Nacional  
**HCl** Ácido Clorídrico  
**H<sub>2</sub>O** Água  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** Água Oxigenada  
**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** Ácido Sulfúrico  
**HTAB** Brometo de Hexadeciltrimetilamônio  
**IASP** Associação Internacional para o Estudo da Dor  
**IL-1** Interleucina 1  
**i.p.** Intra Peritoneal  
**L** Litro  
**mL** Mililitro  
**mM** Milimol  
**MOSS** Herbário Dárdano de Andrade Lima  
**MPO** Mieloperoxidase  
**N** Normal  
**NaOH** Hidróxido de Sódio  
**Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** Sulfato de Sódio  
**NH<sub>4</sub>OH** Hidróxido de Amônio  
**NO** Óxido Nítrico  
**PAF** Fator de Ativação Plaquetária

**pH** Potencial de Hidrogênio Iônico

**SISBIO** Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

**s.c.** Subcutânea

**SP** Substância P

**TNF- $\alpha$**  Fator de Necrose Tumoral Alfa

**UMPO** Unidade de Mieloperoxidase

**v.o.** Via Oral - Gavagem

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
2.1 ETNOBOTÂNICA .....	18
2.2 CAATINGA .....	20
2.3 EMBIRATANHA ( <i>Pseudobombax marginatum</i> ) .....	22
2.4 INFLAMAÇÃO .....	24
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	<b>29</b>
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO E PROCESSAMENTO FITOQUÍMICO .....	29
<b>3.1.1 Identificação e coleta da <i>Pseudobombax marginatum</i></b> .....	<b>29</b>
<b>3.1.2 Produção do EHE de <i>Pseudobombax marginatum</i></b> .....	<b>29</b>
<b>3.1.3 Prospecção fitoquímica do EHE de <i>P. marginatum</i></b> .....	<b>29</b>
3.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EHE DE <i>P. marginatum</i> .....	33
<b>3.2.1 Animais</b> .....	<b>33</b>
<b>3.2.2 Pré-tratamento</b> .....	<b>33</b>
<b>3.2.3 Avaliação da atividade anti-inflamatória</b> .....	<b>34</b>
<b>3.2.4 Avaliação da atividade antinociceptiva</b> .....	<b>35</b>
<b>3.2.5 Avaliação da atividade motora</b> .....	<b>37</b>
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	37
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
4.1 MATERIAL BIOLÓGICO E PROCESSAMENTO FITOQUÍMICO .....	38
4.2 ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EHE DE <i>P. marginatum</i> .....	39
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	<b>46</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>53</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>54</b>
ANEXO A – Autorização do SISBIO .....	61
ANEXO B – Declaração CEPA .....	64
ANEXO C – Confirmação de submissão do artigo .....	65

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é uma prática desenvolvida pelo homem há milênios, para o tratamento, cura e/ou prevenção de diversas enfermidades. No Brasil a manipulação destes recursos apresenta influência da cultura indígena, africana e europeia, e vem sendo acumulada em seu 'acervo' até hoje. O conhecimento tradicional do uso de produtos naturais têm contribuído de forma importante no desenvolvimento de drogas terapêuticas utilizadas atualmente pela medicina; entretanto, este potencial é ainda largamente inexplorado (CALIXTO et al, 2000; WALKER, 2010).

O conhecimento tradicional tem sua base calçada nas experiências de vivência e transmissão desse conhecimento de geração a geração (RICHERSON et al, 2009). O leque de informações disponíveis hoje foi adquirido através do desenvolvimento das ciências aplicadas a estes conhecimentos populares. No entanto, ainda existe uma grande parcela de conhecimento desprovido de estudos científicos. A modernização da sociedade, suas mudanças de valores e hábitos, compromete essa transferência de informações; fato que vem se observando em várias comunidades brasileiras e de outros países da América do Sul (OLIVEIRA et al, 2010).

A etnobotânica é uma ciência que agrega conhecimentos multidisciplinares. Silva (2002) listou o desenvolvimento do conceito desta disciplina que se propõe a resgatar os conhecimentos populares das relações homem-vegetação. Os trabalhos etnobotânicos são mediadores na translocação e catalogação dos conhecimentos tradicionais de uma comunidade, tornando-se instrumentos guias na realização de pesquisas com produtos naturais que visam verificar as aplicações biológicas dessas espécies utilizadas no âmbito popular ou ainda no delineamento de outras estratégias.

As pesquisas etnobotânicas vêm crescendo, particularmente em países como o Brasil. O enfoque dos trabalhos varia conforme a região, mas o tema predominantemente contemplado aborda o âmbito das plantas medicinais (OLIVEIRA et al, 2009). Diversas substâncias de origem vegetal possuem atividade anti-inflamatória comprovada cientificamente. Dentre elas, podemos citar como exemplo os terpenos, os taninos, as saponinas e os flavonoides. Este último, os flavonoides, são considerados um dos grupos mais importantes, por apresentarem

diversas atividades biológicas, como a ação anti-inflamatória (COUTINHO et al, 2009). A exploração do potencial destes recursos, já gerou experiências bem sucedidas. O Acheflan, um medicamento fitoterápico, é um anti-inflamatório de uso local, sintetizado a partir do óleo essencial das folhas da *Cordia verbenacea* DC. O princípio ativo extraído para esta medicação é eficaz e seguro no tratamento de traumas e lesões associadas normalmente a inflamação muscular (ACHEFLAN, s.d.).

O Nordeste brasileiro é uma região com grande potencialidade para o desenvolvimento de pesquisas relacionadas à área de etnobotânica. O uso de plantas medicinais ainda é frequente, tanto no meio rural quanto no urbano, principalmente por parte da população carente, que recorrem à vegetação nativa, em busca da cura de seus problemas (MOSCA e LOIOLA; 2009). Plantas da caatinga como Aroeira (*Myracrodruon urundeuva*), Pau-d'arco-roxo (*Tabebuia impetiginosa*), Catingueira (*Caesalpinia pyramidalis*), Jatobá (*Hymenaea courbaril*) entre muitas outras são usadas frequentemente. Na região potiguar, a *Pseudobombax marginatum*, mais conhecida popularmente por Embiratanha, é também uma das plantas de uso medicinal, utilizada principalmente como anti-inflamatório (CARTAXO et al, 2010; PAULINO et al, 2011; ROQUE et al, 2010).

Com o intuito de contribuir no diálogo entre os saberes tradicionais e científicos e na formalização de novos conhecimentos, este trabalho objetivou principalmente elucidar, por meio de ensaios biológicos em animais de experimentação, o efeito anti-inflamatório e antinociceptivo exercido pelo extrato hidroalcoólico da entrecasca (EHE) de *P. marginatum* sobre o processo inflamatório agudo. Especificamente, buscou-se extrair e identificar no extrato hidroalcoólico a presença de metabólitos secundários pelo método de prospecção fitoquímica qualitativa. Avaliou-se a ação do extrato sobre a resposta inflamatória com o teste de edema de pata em rato, o ensaio de mieloperoxidase e com o teste de peritonite induzida por carragenina 1%; e também investigou-se a resposta nociceptiva com o teste de contorções abdominais, teste da placa quente, teste de formalina e teste de campo aberto. Desta forma, a pesquisa explorou e relacionou os dados da ação do EHE de *P. marginatum* com seus constituintes e por consequência, validou também o conhecimento tradicional pertencente à população local, além de sugerir uma nova espécie a ser utilizada nas pesquisas farmacêuticas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ETNOBOTÂNICA

A Etnociência, de acordo com Diegues e Arruda (2001), surgiu da linguística com o objetivo de estudar o conhecimento de diferentes populações sobre os processos naturais. A disciplina busca entender a lógica subjacente ao conhecimento humano sobre a natureza, as taxonomias e as classificações totalizadoras do ambiente.

A Etnobiologia é definida como o estudo das ciências biológicas praticada por diversos grupos humanos estudados pela etnologia. A princípio os estudos surgiram não com interesse nos conhecimentos dos povos, mas sim nos produtos que poderiam ser usados pela civilização ocidental. Da Etnobiologia, diversos campos podem ser definidos de acordo com a compartimentalização da ciência; como a botânica, zoologia, farmacologia entre muitas outras áreas (CLÉMENT, 1998).

A Etnobotânica é um dos ramos que surgiu com estas especializações. Os conhecimentos etnobotânicos há bastante tempo são utilizados em diversas práticas e por diversas culturas; no entanto, como ciência é um campo de estudo relativamente novo. Ao longo desse tempo diversas conceituações já lhe foram atribuídas; Borges et al (2008), conceituam a Etnobotânica como sendo a ciência que “compreende o estudo das sociedades humanas, passadas e presentes, bem como, as interações ecológicas, genéticas, evolutivas, simbólicas e culturais destas sociedades com as plantas”.

Hoje, a disciplina já ganhou espaço no meio acadêmico, e é importante instrumento de trabalho em diversas áreas. Desta forma, o “crescimento exigiu o entendimento da disciplina na sua diversidade teórico-metodológica, consequência do seu caráter inter-, multi- e intradisciplinar, e a necessidade de sua sistematização nos cursos de graduação e de pós-graduação, especialmente no Brasil” (FONSECA-KRUEL, SILVA e PINHEIRO, 2005).

A principal proposta desta ciência é a sistematização do conhecimento popular. No Brasil, a miscigenação de etnias e culturas é um fator que contribui diretamente na diversidade de saberes, cada um com suas particularidades. São comunidades que depositam conhecimentos milenares e únicos, que precisam ser

preservados, e que podem desaparecer em meio às modificações antrópicas no ambiente.

### **2.1.1 Pesquisa etnobotânica de plantas medicinais**

O crescimento dos trabalhos etnobotânicos apresentou um expressivo aumento nas últimas décadas, principalmente em países da América Latina. No Brasil é evidente tamanha ascensão no número de pesquisadores ou de trabalhos nesta área. Destas publicações, aproximadamente 64% enfocam estudos sobre plantas medicinais (OLIVEIRA et al, 2009).

Os estudos etnobotânicos voltados às plantas medicinais são um caminho alternativo para a descoberta de produtos naturais bioativos. A investigação através desta abordagem etnodirigida para a busca de novos fármacos aumenta a probabilidade de sucesso nas pesquisas. Pesquisas demonstram que entre as plantas escolhidas pelo método aleatório e etnodirigido, verifica-se que apenas 43% das plantas apresentam atividade quando coletadas aleatoriamente; enquanto que para a coleta realizada pelo método etnodirigido, 83% delas apresentaram atividade biológica. (KHAFAGI e DEWEDR 2000 *apud* ALBUQUERQUE e HANAZAKI, 2006).

Em virtude desta maior probabilidade de acerto, as pesquisas farmacológicas, em sua grande maioria, optam por usar essa disciplina como uma ponte entre os conhecimentos científicos e os populares. Logo, o processamento das etapas que compõem uma pesquisa, torna-se mais rápido e viável em vista desta probabilidade.

As pesquisas com plantas medicinais envolvem investigações da medicina tradicional e popular (etnobotânica); isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos (química orgânica: fitoquímica); investigação farmacológica de extratos e dos constituintes químicos isolados (farmacologia); transformações químicas de princípios ativos (química orgânica sintética); estudo da relação estrutura/atividade e dos mecanismos de ação dos princípios ativos (química medicinal e farmacologia) e finalmente a operação de formulações para a produção de fitoterápicos. A integração destas áreas na pesquisa de plantas medicinais conduz a um caminho promissor e eficaz para descobertas de novos medicamentos (MARCIEL et al, 2002).

O que se percebe, é que a pesquisa por compostos bioativos extraídos de plantas envolve uma diversidade de profissionais, que interagem entre suas áreas de domínio e, além disto, agregam o conhecimento etnobotânico na potencialização de seus trabalhos para a produção de novos fármacos.

Enquanto as pesquisas não acontecem, o uso de plantas medicinais é cada vez mais frequente. Muitas destas plantas são comercializadas com a promessa de “benefícios seguros, já que se trata de fonte natural”. Mas, sem nenhuma validade científica, as supostas propriedades farmacológicas anunciadas podem não existir ou ainda prejudicar o indivíduo que faz uso (VEIGA JR e PINTO; 2005).

## 2.2 CAATINGA

Na região Nordeste do Brasil, o bioma Caatinga é o principal ecossistema. Ele se estende numa área de 73.683.649 ha, que equivale a 6,83% do território nacional. É um bioma unicamente brasileiro que está localizado em um domínio de climas semiáridos e que apresenta grande variedade de paisagens e relativa riqueza biológica (IBAMA, 2011).

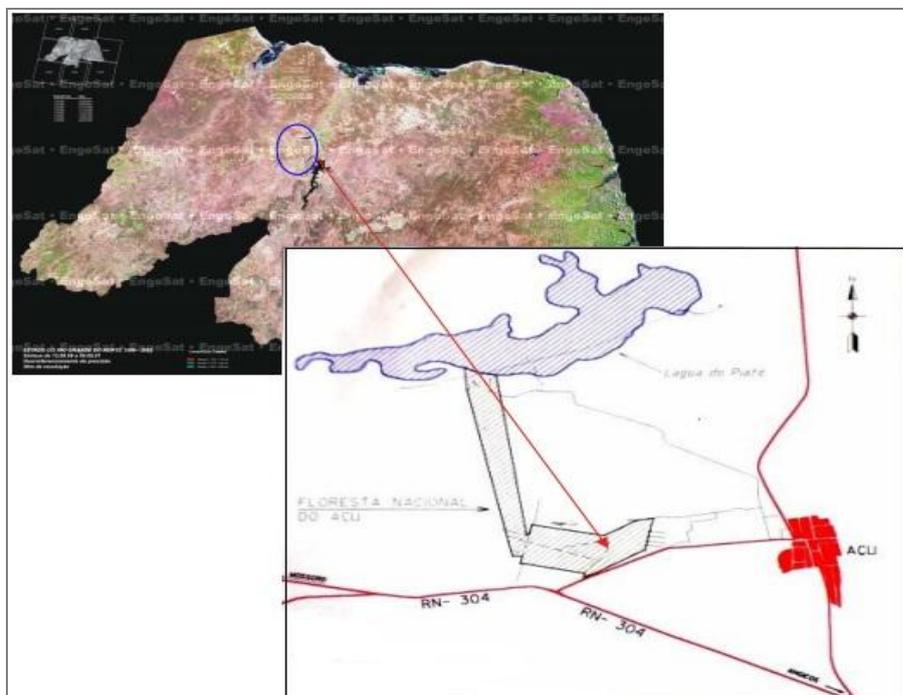
Comumente a Caatinga é descrita como um ecossistema pobre, mas o que se vê são inúmeros estudos que descrevem e demonstram as riquezas e potencialidades deste bioma. Os registros detalham um número de 932 espécies de plantas vasculares, 187 de abelhas, 240 de peixes, 167 de répteis e anfíbios, 62 famílias e 510 espécies de aves e 148 espécies de mamíferos. O número de endemismo também surpreende; para as espécies vegetais, considerando somente as plantas lenhosas e as suculentas, existem 18 gêneros e 318 espécies endêmicas. Estas e outras potencialidades transformam este bioma em um laboratório para estudos e pesquisas nos mais diversos campos das ciências (LEAL et al, 2005).

Mesmo frente a tanta riqueza a vegetação original de caatinga já foi alterada e fragmentada pelas atividades humanas num percentual superior a 28%. A perda destas paisagens tem consequências graves para a manutenção da biodiversidade, podem levar ao desaparecimento de espécies e organismos endêmicos (LEAL et al, 2003). Mas, ainda existem muitos remanescentes de mata preservada pelo Brasil. Neste sentido, a implantação de Unidades de Conservação nesse bioma, é uma estratégia eficaz, que vem sendo implantada para a manutenção dos recursos que a Caatinga dispõe. No Rio Grande do Norte existe um total de cinco unidades de conservação, dentre elas a Floresta Nacional de Açu (MMA, 2012).

### 2.2.1 Floresta Nacional de Açu – FLONA/AÇU

O município de Açu no estado do Rio Grande do Norte, hoje abriga em seu território um remanescente de Caatinga preservada. É uma unidade de conservação de uso sustentável do tipo floresta nacional. Foi em 18 de julho de 2001, por meio da portaria de nº. 245 q o Ministério do Meio Ambiente estabeleceu que o Horto Florestal de Açu, criado pela Lei nº 1.975, de 10 de agosto de 1950, teria a destinação de Floresta Nacional, passando a denominar-se Floresta Nacional de Açu (BRASIL, 2001).

A FLONA/Açu-RN (figura 01), hoje com sua delimitação ampliada, tem uma área de 518,18 ha. É uma típica área do semiárido nordestino, de clima quente-seco e temperatura média de 27°C na maior parte do ano. Fisionomicamente tem um aspecto marcado por uma vegetação exuberante do tipo arbóreo-arbustiva, com predominância de espécies adaptadas aos processos de dessecação. A fauna foi pouco estudada, mas levantamentos destacam a presença de aves, répteis e mamíferos. O refugio e a abundância de alimento presente na unidade indica a existência de uma fauna tão rica quanto à flora já mencionada (MELO, 2005).



**Figura 01: Floresta Nacional de Açu.** Mapa do estado do Rio Grande do Norte, com destaque para área da Floresta Nacional de Açu no município de Açu. Fonte: modificado de MARTINS, 2007.

Dentre as espécies encontradas na FLONA/Açu, temos a *Pseudobombax marginatum*. Foi de exemplares da Embiratanha existente nesta floresta, que foi extraída a casca e entrecasca para os procedimentos experimentais propostos nesta pesquisa.

### 2.3 EMBIRATANHA (*Pseudobombax marginatum*)

A *Pseudobombax marginatum* (A. St.-Hil.)A. Robyns, é uma planta de ampla distribuição. É encontrada em domínios geográficos como a Amazônia, Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica. Na região Nordeste, se distribui pelos estados de Maranhão, Ceará, Paraíba e Bahia. No estado do Rio Grande do Norte trabalhos taxonômicos, com base nas coleções pertencentes aos herbários do estado, citam a espécie como uma nova ocorrência da flora Potiguar (DUARTE, 2010; PONTES *et al*, 2008).



**Figura 02: Embiratanha;** (a) árvore, (b) tronco, (c) folhas, (d) flor e (e) fruto de *Pseudobombax marginatum*. FONTE: Arquivo pessoal, 2011.

A Embiratanha, (figura 02) conhecida também por Sumaúna, Imbiruçu, ou Paineira-imiruçu é uma árvore de 6-12 m de altura, dotada de copa alongada e rala, o tronco é mais ou menos ereto e cilíndrico, com casca quase lisa e fibrosa. As folhas são compostas com pecíolo comum, e as flores são solitárias, axilares e grandes, sobre um pedúnculo longo e grosso. O fruto desenvolve-se em cápsula elipsoide, lenhosa, e deiscente com sementes envoltas por fibras esbranquiçadas (LORENZI, 2002).

Atualmente a *P. marginatum* está classificada na família Malvaceae. Essa é uma família diversificada, composta por herbáceas, subarbustos, arbustos, árvores e lianas. Constitui uma das maiores famílias botânicas, com a incorporação de outras famílias pelo sistema de classificação botânica APG (Grupo de Filogenia de Angiospermas). Foram incluídas as famílias Sterculiaceae, Tiliaceae e Bombacaceae. Essa última onde está inserida a *P. marginatum* (BOVINI, 2010).

Anteriormente, a Embiratanha pertencia à família Bombacaceae, sustentada apenas por características taxonomicamente frágeis. Os trabalhos mais recentes corroboram com a insustentabilidade da distinção destas famílias (SOUZA e LORENZI, 2008). Dessa forma, a família Bombacaceae vem sendo mencionada como subfamília *Bombacoideae* da família *Malvaceae*. No entanto, as duas formas de nomenclatura ainda são encontradas em trabalhos científicos e consideradas corretas.

### 2.3.1 Utilização da Embiratanha

Existem poucos estudos disponíveis sobre a *P. marginatum*. Na literatura verifica-se que é uma planta apreciada na caprinocultura, como forragem para ruminantes de pequeno porte. Existe o registro de seu uso na carpintaria naval, para a confecção de barcos. Sua madeira também é utilizada para caixotaria, forros, confecção de brinquedos entre outros. Sua copa ornamental pode ser utilizada para fins paisagísticos, enquanto que sua casca é empregada para confecção de cordas rústicas, daí a razão de seus nomes populares (LEAL et al, 2003; AMORIM, 2010; LORENZI, 2002).

Trabalhos na área de etnobotânica (tabela 1) citam a utilização medicinal da casca e/ou entrecasca da Embiratanha (*Pseudobombax marginatum*) por moradores e especialistas de comunidades potiguares. A planta é preparada como água ou chá

e usada principalmente no combate a dores inflamatórias. Nota-se, ainda, que a Embiratanha é uma árvore pouco conhecida, sendo apenas as populações mais tradicionais que detém o conhecimento de suas propriedades medicinais.

**Tabela 1** – Trabalhos de Etnobotânica que citam a *Pseudobombax marginatum*.

<b>Local/Comunidade</b>	<b>Uso/Aplicação</b>	<b>Referência</b>
Góis, Apodi-RN	A água da casca pode ser usada como anti-inflamatória, contraceptiva, para úlceras e gastrites.	PAULINO et al, 2012
Estado do Rio Grande do Norte	Planta medicinal nativa	PAULINO et al, 2011
Laginhas, Caicó-RN	A maceração da entrecasca pode ser usada para dor de coluna.	ROQUE et al, 2010
Região Nordeste do Brasil	A decoção da entrecasca pode ser usada contra inflamações.	AGRA et al, 2008
Mossoró-RN	Usada como anti-inflamatória	OLIVEIRA, 1976

Fonte: elaborada pela autora, 2012.

## 2.4 INFLAMAÇÃO

Um simples organismo unicelular, como as bactérias e o mais complexo mamífero, como os humanos, possuem mecanismos que respondem a estímulos hostis e apresentam um sistema que busca manter o equilíbrio homeostático do organismo agredido. Nos vertebrados, a resposta deste sistema envolve a fisiologia, bioquímica e imunologia do organismo e é denominada de inflamação (VOLTARELLI, 1994).

A inflamação é um processo fisiológico que ocorre em decorrência da ativação de alguns mecanismos que provocam alterações nos componentes humorais e celulares após injúria tecidual. A exposição a um patógeno gera uma migração de células circulantes, que são direcionadas pela presença de substâncias quimiotáticas no sítio inflamatório. A resposta na área da lesão caracteriza a área

inflamada que apresenta sinais clínicos como rubor, calor, edema, dor e prejuízo funcional (CRUVINEL et al, 2010).

São as células do sistema imunológico que de forma coletiva desenvolvem a resposta de defesa contra micro-organismos infecciosos ou substâncias estranhas. O próprio termo imunidade se refere à proteção. Desta forma, o sistema imune está presente em praticamente todos os tecidos do organismo. A capacidade de circular e realizar trocas entre o sangue, à linfa e os tecidos é de fundamental importância para a geração das respostas imunológicas, inclusive a inflamação (ABBAS et al, 2011).

#### **2.4.1 Resposta inflamatória aguda**

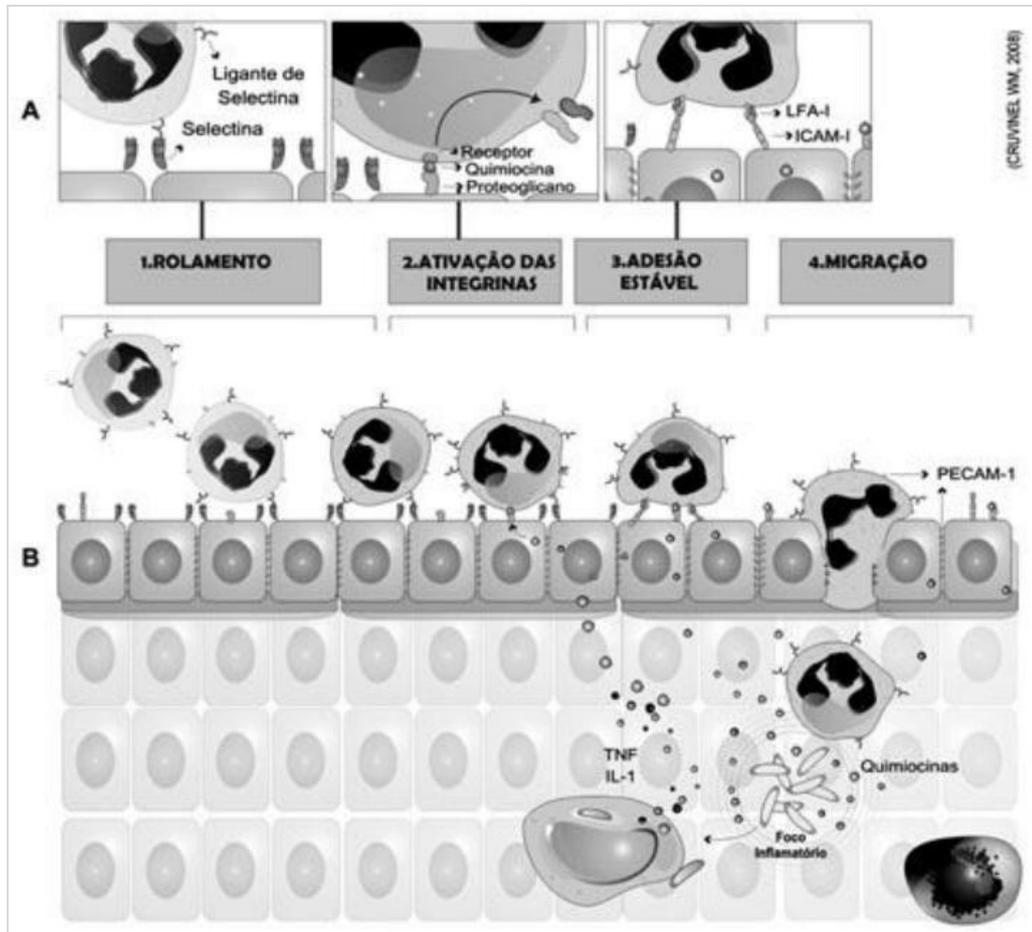
A resposta inflamatória gerada pelo sistema imunológico tem a finalidade de remover o estímulo indutor da resposta e iniciar a recuperação tecidual do local agredido. Em revisão do sistema imunitário, Cruvinel et al (2010) descrevem os eventos da resposta inflamatória.

A evolução tem início imediatamente após o dano. As células residentes do tecido são estimuladas e uma fase vascular é iniciada; vasodilatação local e aumento da permeabilidade capilar são mediados por aminas vasoativas, histamina e serotonina liberados por mastócitos e monócitos. Estes eventos permitem que um exsudato rico em proteínas e água extravase para o espaço extravascular. Além disto, o endotélio ativado passa a expressar moléculas de superfície que favorecem a aderência e migração de leucócitos para o tecido. Também são ativados componentes do sistema complemento, do sistema de cininas e do sistema de coagulação. Adicionalmente, os macrófagos residentes liberam citocinas inflamatórias, como IL-1, TNF- $\alpha$  e quimiocinas.

A migração leucocitária (figura 03) acontece com a ativação do endotélio. As selectinas permitem a adesão fraca dos neutrófilos, as integrinas promovem a adesão forte e as quimiocinas ativam e estimulam a migração dos neutrófilos para o foco inflamatório. Estas interações fazem com que os neutrófilos rolem pela parede do vaso e sejam expostos aos fatores quimiotáticos. O gradiente quimiotático crescente direciona a migração dos neutrófilos ao sítio inflamatório.

Simultaneamente a este processo, mediadores lipídicos também são produzidos. Estes mediadores são derivados do ácido araquidônico; são produzidos

em consequência da ativação de fosfolipases que clivam fosfolipídios constituintes da membrana celular, gerando prostaglandinas, leucotrienos e PAF (fator de ativação plaquetária). As prostaglandinas produzidas têm funções inflamatórias que induz a febre, a hiperalgesia e a vasodilatação (MESQUITA JR et al, 2008).



**Figura 03: Mecanismos de migração dos leucócitos para o sítio inflamatório.** (A) detalhe e (B) visão geral das etapas da migração: 1. Rolamento, 2. Ativação das integrinas, 3. Adesão estável e 4. Migração/diapedese. Fonte: MESQUITA Jr et al, 2008.

Este processo se inicia com um dano à membrana celular, que é constituída fundamentalmente por fosfolipídios. Quando uma lesão afeta esta membrana a enzima fosfolipase A2, presente nos leucócitos e plaquetas, é ativada por citocinas pró-inflamatórias como a interleucina IL-1. Esta enzima leva à degradação dos fosfolipídios, resultando na produção de ácido araquidônico. Este, ao ser metabolizado, forma os leucotrienos, pela ação da enzima lipooxigenase, e também forma prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos, pela ação da enzima ciclooxigenase (HILÁRIO, TERRERI e LEN, 2006).

### **2.4.2 Dor**

O desenvolvimento da resposta inflamatória comumente é acompanhado de sensação dolorosa. A dor é um processo fisiológico e necessário, ela permite que o indivíduo tenha consciência de que sua integridade está sendo ameaçada ou que ocorre alguma disfunção em seu organismo. Ela é classificada pela IASP (International Association for the Study of Pain) como uma “experiência sensorial e emocional desagradável que está associada com lesões reais ou potenciais”. No sistema nociceptivo, os nociceptores são terminações nervosas capazes de traduzir um estímulo agressivo de natureza térmica, química ou mecânica. Este estímulo é transmitido até o sistema nervoso central e interpretado no córtex cerebral como dor (ROCHA et al, 2007; NETO, COSTA e SIQUEIRA, 2009).

Durante o avanço da inflamação, a produção dos mediadores também podem sensibilizar terminações nervosas livres, ativando os mecanismos nociceptivos e causando a dor. Uma lesão tissular promove a liberação de mediadores químicos como as citocinas, histaminas, serotonina, eicosanóides e radicais livres. Estes mediadores, além de participarem da resposta inflamatória também, promovem e facilitam a transmissão dolorosa levando a hiperalgesia e liberação de neurotransmissores excitatórios como o aspartato, glutamato e substância P (MURI, SPOSITO e METSAVAHT, 2009).

### **2.4.3 Intervenção medicamentosa**

Mesmo sendo o mecanismo de inflamação e nocicepção indispensáveis à homeostase corpórea, o desconforto causado por essa resposta exige, em alguns casos, a intervenção com o uso de medicamentos. Os glicocorticoides ou anti-inflamatórios esteroidais (AIEs) e os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), são fármacos capazes de interferir neste processo reacional de defesa do organismo, minimizando os danos e proporcionando maior conforto (COUTINHO et al, 2009).

Os glicocorticoides são esteroides lipofílicos. Esta classe de medicamentos possui um amplo espectro de indicações terapêuticas, mas o tratamento envolvendo mecanismos de imunomodulação ou de inflamação é a sua principal indicação. No sistema imune, a ação dos AIEs ocorre em diversos pontos, como na modulação da

taxa de expressão de fatores de transcrição; ou quando inibem a fosfolipase A2 (LONGUI, 2007).

Os AINEs representam um grupo heterogêneo, em sua maior parte são ácidos orgânicos com ação analgésica, antitérmica e anti-inflamatória. Estes medicamentos agem inibindo as enzimas COX, com consequente diminuição da produção de prostaglandinas e combate a inflamação, a dor e a febre (HILÁRIO, TERRERI e LEN, 2006).

Estes medicamentos tem ação eficaz sobre a inflamação, no entanto o uso prolongado destas drogas pode acarretar no aparecimento de efeitos colaterais que chegam a impossibilitar alguns tratamentos. Na corticoterapia, os efeitos estão relacionados ao tempo de tratamento e uso de glicocorticoides de ação mais prolongada. São implicações em uma variedade de sistemas no organismo; no sistema endócrino-metabólico, imunológico, cardiovascular e muitos outros. Os efeitos colaterais causados pelo uso de AINES é também relacionado aos tratamentos mais longos. O uso crônico destes medicamentos pode acarretar em esofagite, gastrite ou duodenite, úlcera gástrica ou duodenal (LONGUI, 2007; HILÁRIO, TERRERI, LEN, 2006).

Atualmente, a principal abordagem terapêutica acontece com o uso destes fármacos; desta forma, a grande incidência de efeitos colaterais por estes medicamentos se torna um estímulo para a procura de novas alternativas terapêuticas.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 MATERIAL BIOLÓGICO E PROCESSAMENTO FITOQUÍMICO

##### 3.1.1 Identificação e coleta da *Pseudobombax marginatum*

Na FLONA-Açu/RN, mediante autorização (SISBIO, nº 29549-1), a coleta das cascas e entrecascas de *P. marginatum* procedeu-se com uma incisão no sentido horizontal do tronco, na altura média de 2 metros e corte no sentido vertical. Uma quantidade média de 06 Kg de peso fresco de casca e entrecasca foi coletada.

Para a espécie testemunha, órgãos da árvore foram coletados, identificados, herborizados e depositados no Herbário Dárdano de Andrade Lima (MOSS – acrônimo segundo THIERS et al, 2009), localizado na Universidade Federal do Semi-Árido (UFERSA).

##### 3.1.2 Produção do extrato hidroalcoólico da entrecasca (EHE) de *P. marginatum*

A entrecasca de *P. marginatum* foi separada e seca em estufa com circulação de ar por 72 horas. O material foi então triturado, colocado em recipiente de vidro âmbar e a ele adicionado 8 L de etanol a 70% para maceração sob agitação ocasional, durante um período médio de 72 horas. Foram realizadas ainda outras duas macerações com a renovação do líquido extrator do material.

O líquido extraído passou por uma primeira filtração em kitasato sobre pressão reduzida e uma segunda filtração por gravidade com funil fechado com algodão. O filtrado em seguida foi concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida à temperatura de  $\pm 80$  °C, para separação do etanol. A solução obtida foi colocada para secar sobre o vapor do banho maria em temperatura constante de 100 °C para evaporação da água e obtenção do material sólido.

##### 3.1.3 Prospecção fitoquímica do EHE de *P. marginatum*

O extrato foi submetido à triagem fitoquímica preliminar para detecção das principais classes de metabólitos secundários através de reações químicas que

resultam no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado, característico para cada classe de substâncias. Seguindo a metodologia de Matos (1997), duas alíquotas do extrato foram separadas para os testes seguintes, uma delas foi seca e a outra foi diluída em H<sub>2</sub>O destilada, e distribuída em 7 tubos de ensaio enumerados (3mL/ tubo):

### 3.1.3.1 Teste para fenóis e taninos

No tubo (1), 3 gotas de FeCl<sub>3</sub> foram adicionadas. Agitou-se e observou-se variação da cor e formação de precipitado comparando-se a um teste branco.

Colorações entre o azul e o vermelho são indicativas da presença de fenóis, quando o “branco” for negativo. Precipitado escuro em tonalidade azul indica a presença de taninos hidrolisáveis; e verde, a presença de taninos condensados.

### 3.1.3.2 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides

O pH foi modificado em três tubos (2, 3 e 4), sendo respectivamente acidulado para pH 3 e alcalinizado para pH 8,5 e 11. Foi observada a mudança na coloração do material de acordo com a tabela 2, observando que a presença de um constituinte pode mascarar a cor indicativa de outro.

Tabela 2 – Coloração indicativa da presença de antocianinas, antocianidinas e flavonoides

<b>Constituintes</b>	<b>Cor em meio</b>		
	<b>Ácido (3)</b>	<b>Alcalino (8,5)</b>	<b>Alcalino (11)</b>
Antocianinas e Antocianidinas	<i>Vermelha</i>	<i>Lilás</i>	<i>Azul-púrpura</i>
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	-	-	<i>Amarela</i>
Chalconas e Auronas	<i>Vermelha</i>	-	<i>Verm. púrpura</i>
Flavanonóis	-	-	<i>Verm. Laranja</i>

Fonte: Matos (1997).

### 3.1.3.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas

Dois tubos (5 e 6), foram respectivamente, acidulado com HCl até pH 3 e alcalinizado com NaOH até pH 11. Em seguida foram aquecidos durante 3 minutos, e foi observado, de acordo com a Tabela 3, o aparecimento ou intensificação da cor indicativa do constituinte, por comparação com os tubos correspondentes (2 e 4) do teste anterior. Neste teste a presença de um constituinte pode mascarar a cor indicativa de outro.

Tabela 3 – Coloração indicativa da presença de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas

<b>Constituintes</b>	<b>Cor em meio</b>	
	<b>Ácido</b>	<b>Alcalino</b>
Leucoantocianidinas	<i>Vermelha</i>	-
Catequinas (taninos catéquicos)	<i>Pardo-amarela</i>	-
Flavanonas	-	<i>Verm. laranja</i>

Fonte: Matos (1997).

### 3.1.3.4 Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas

Em um tubo (7), alguns centigramas de magnésio granulado e 0,5 mL de HCl concentrado foram adicionados. Ao final da reação (fim da efervescência), observou-se por comparação (tubo 5) a mudança na cor da mistura.

O aparecimento ou intensificação de cor vermelha é indicativo da presença de flavanonas, flavanonois e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.

### 3.1.3.5 Teste para esteroides e triterpenoides (Lieberman-Burchard)

Uma porção do resíduo seco do extrato foi extraída com 2 mL de clorofórmio e filtrado em um funil fechado com algodão e alguns decigramas de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Ao filtrado foi adicionado 1 mL de anidrido acético e juntou-se cuidadosamente três gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Agitou-se suavemente para se observar o rápido desenvolvimento de cores.

A coloração azul evanescente seguida de verde permanente é indicativa da presença de esteroides livres. Coloração parda até vermelha indica triterpenoides pentacíclicos livres.

#### 3.1.3.6 Teste para saponinas

O resíduo anterior do extrato, insolúvel em clorofórmio, foi dissolvido em 6 mL de H<sub>2</sub>O destilada e filtrado. A solução foi agitada fortemente por 3 minutos, e observou-se a formação de espuma. A espuma persistente e abundante indica a presença de saponinas.

A inconstância do colarinho de espumas formado nos indicou a ausência de saponinas, desta forma, o teste confirmatório não foi aplicado.

#### 3.1.3.7 Teste para alcaloides

Uma porção do extrato foi diluído em solução aquosa com pH 3, filtrada e separada em três partes às quais foram adicionadas respectivamente 3 gotas do reagente de Dragendorf, Mayer e Wagner. A formação de precipitado característico a cada reação indica a presença de alcaloides.

#### 3.1.3.8 Teste para quinonas

Em 5 mL de solução etérea do extrato foram adicionados 2 mL de solução 6N de NH<sub>4</sub>OH. Agitou-se bem a mistura e deixou-se separar as duas fases para se observar o aparecimento de coloração na fase aquosa. A cor vermelha na camada aquosa alcalina indica a presença de quinona.

#### 3.1.3.9 Determinação do teor de extrativos

O extrato seco, após o mínimo de 24 horas em dessecador, foi pesado para o cálculo do percentual de extrativos (solúveis em álcool-água) com relação ao peso da planta seca.

## 3.2 ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EHE DE *Pseudobombax marginatum*.

### 3.2.1 Animais:

Os animais usados foram camundongos *Swiss*, machos (20 – 30g), e ratos *Wistar*, machos (120 – 180g), obtidos no Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. Eles foram distribuídos aleatoriamente em grupos de seis (n=6) e acondicionados em caixas de policarbonato forradas com maravalha (8 camundongos ou 4 ratos por caixa) e permaneceram no biotério em sala com ciclo de luz de 12 horas, temperatura controlada (25-28°C), ração balanceada e água *ad libitum*.

Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos no período das 8 às 17 horas, e de acordo com as normas de procedimentos sobre cuidados com os animais para uso em pesquisa do Comitê de Ética em Pesquisa Animal – CEPA da Universidade Federal de Sergipe<sup>1</sup> (Protocolo de aprovação nº 98/2011), o qual segue os princípios de cuidados com animais de laboratório.

Após o manuseio os animais foram eutanasiados com dose excessiva de anestésico seguida de deslocamento cervical, foram acondicionados em sacos plásticos brancos e descartados definitivamente conforme a rotina do próprio biotério.

### 3.2.2 Pré-tratamento

Os animais foram deixados em jejum de 12 horas e aclimatizados no laboratório por  $\pm 2$  horas antes dos procedimentos. Os grupos de roedores foram pré-tratados com o veículo (sol. salina 0,9%, 10 mL/kg v.o), ou com EHE de *P. marginatum* diluído (10, 30, 100, ou 300 mg/kg, v.o), ou com uma droga padrão: dexametasona (2 mg/kg, s.c), AAS (300 mg/kg, v.o), morfina (3 ou 10 mg/kg, i.p) ou

---

<sup>1</sup> O projeto foi submetido ao CEPA da Universidade Federal de Sergipe, onde os experimentos com animais foram realizados. Para que este procedimento fosse possível, houve a necessidade de fazer a submissão constando como coordenadora do mesmo a prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sara Maria Thomazzi, que tem vínculo com a instituição.

diazepam (1,5 mg/kg; i.p: Compaz - Cristália<sup>®</sup>); ou ainda naloxona (5 mg/kg, i.p: Narcan - Cristália<sup>®</sup>), antagonista da morfina utilizada no teste da placa quente.

### 3.2.3 Avaliação da atividade anti-inflamatória

#### 3.2.3.1 Edema de pata em rato

Ratos *Wistar* foram pré-tratados com veículo, EHE de *P. marginatum* e dexametasona. Seguindo-se a metodologia descrita por Winter et al. (1962) e modificações. Sessenta minutos após o pré-tratamento a atividade anti-inflamatória foi avaliada pela indução de um edema de pata pela carragenina 1%, administrada no volume de 0,1 mL/animal na região subplantar da pata traseira direita do rato.

O volume da pata foi medido através de um hidropletismômetro (modelo 7140, Ugo Basile, Itália), observando-se o deslocamento da coluna de líquido. As medidas do volume foram realizadas imediatamente antes da injeção s.c. do agente edematogênico, medida basal, e foram novamente realizadas após a injeção em intervalos regulares de 1, 2, 3 e 4 horas (HARRIS e SPENCER, 1962).

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM da variação do volume (mL) de pata encontrada entre os grupos. Também foram calculados os valores da área sob a curva (ASC), utilizando a regra trapezoidal, em todos os grupos. E a porcentagem de inibição no edema foi calculada com base na ASC.

#### 3.2.3.2 Ensaio de mieloperoxidase (MPO) da pata de rato.

Os animais submetidos ao teste anterior foram eutanasiados ao final da 4ª hora. Foi coletada a pata que recebeu o estímulo do agente edematogênico, carragenina, e utilizado o tecido muscular da região sub-plantar para realização do ensaio.

O tecido foi coletado, pesado, picotado e mantido em tampão fosfato [50 mM, pH 6,0 contendo 0,5% de brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB, Sigma Chem. Co, EUA)]. Em seguida foi homogeneizado e mantido em banho maria, 60°C por 2 horas, para degradação da catalase (OHTA, KONGO e KISHIKAWA, 2003). As amostras foram centrifugadas a 14.000 rpm, por 2 min a 4°C, e o sobrenadante submetido ao ensaio espectrofotométrico. O ensaio foi realizado em duplicata em

placa de 96 poços. A cada poço foi adicionado 5µL do sobrenadante com 200µL de solução de di-hidroclorato de o-dianisidina (Sigma Chem.Co, EUA; 0,167 mg/mL, preparada em tampão fosfato de potássio 50 mM contendo 0,005% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e imediatamente após, foi realizada leitura da absorbância em 460 nm.

O resultado em Unidades de MPO (UMPO)/mg de tecido, considera que 1 UMPO corresponde a quantidade de enzima que degrada 1 µmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por min; o que gera uma variação de absorbância de 0,0113 unidades de absorbância. (BRADLEY et al., 1982; CAMARGO et al., 2008).

### 3.2.3.3 Peritonite induzida por carragenina

Os camundongos *Swiss* foram pré-tratados com veículo, EHE de *P. marginatum* e dexametasona. Após 1 hora do pré-tratamento, de acordo com metodologia de Mendes et al (2010) modificada, foi injetada i.p. 0,25 mL de uma solução de carragenina 1%. Passadas 4 horas da injeção de carragenina, os animais foram anestesiados por inalação com halotano e eutanasiados com deslocamento cervical. Para coleta dos fluidos peritoneais foi injetado i.p 3 mL de solução salina contendo 1 mM de EDTA.

Com o líquido coletado foi realizada contagem de leucócitos totais em câmara de Neubauer sob microscópio óptico e contagem diferencial com esfregaço sob lamina obtido por citocentrifugação (600 rpm/10 min). Os resultados foram expressos como número de leucócitos/mL e a porcentagem de inibição de leucócitos (I%) foi calculada pela fórmula:  $I\% = (1 - T/C) \times 100$ , onde T representa a contagem de leucócitos dos grupos tratados e C representa a contagem de leucócitos do grupo controle/veículo.

### 3.2.4 Avaliação da atividade antinociceptiva

#### 3.2.4.1 Teste de contorções abdominais induzida pelo ácido acético

As contorções abdominais consistem de uma contração no músculo abdominal junto com um alongamento dos membros traseiros, induzidas pela injeção de ácido acético em camundongos (TORNOS et al, 1999; KOSTER et al, 1959).

Camundongos *Swiss* foram pré-tratados com veículo, EHE de *P. marginatum* e AAS. Após 60 minutos do pré-tratamento foi aplicado o estímulo doloroso com a injeção i.p. de ácido acético a 0,8% (0,1mL/10g de peso). As contorções abdominais foram observadas em câmaras com dois animais por vez, e registradas durante um período de 20 minutos, começando 5 minutos após a administração do ácido acético.

#### 3.2.4.2 Teste da placa quente

Camundongos *Swiss* foram pré-tratados com veículo, EHE *P. marginatum* (60 minutos antes do teste), e com morfina 3 mg/kg i.p. (30 minutos antes do teste). Em outros dois grupos, a naloxona (5 mg/kg i.p.) foi aplicada 30 minutos antes do pré-tratamento com a dose de 300 mg/kg do EHE *P. marginatum* e do pré-tratamento com morfina (3 mg/kg i.p.). Após o tempo decorrido, os animais foram colocados individualmente sobre uma placa metálica aquecida a  $55\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

O tempo decorrido até o aparecimento de reações ao estímulo térmico (latência, em segundos), tais como lambem/morder ou sapatear a pata traseira, foi registrado como um índice de nocicepção (WOOLFE e MACDONALD, 1944). As medidas foram realizadas nos tempos de 0, 15, 30 e 60 minutos após o primeiro estímulo térmico. E um corte no período, equivalente a 30 segundos, foi imposto para evitar injúria nas patas, sendo, portanto, considerado o tempo de latência máxima.

#### 3.2.4.3 Teste da formalina

O teste da formalina foi realizado de acordo com Dubuisson e Dennis (1977), e modificado posteriormente por Hunskaar e Hole (1987). Os camundongos *Swiss* foram pré-tratados com veículo, EHE de *P. marginatum*, AAS (300 mg/kg; 60 minutos antes do teste) e morfina (10 mg/kg; 30 minutos antes do teste).

Após o pré-tratamento foi injetado 20  $\mu\text{L}$  da solução de formalina a 2% na região intraplantar na pata traseira direita do animal. O tempo que o animal gastou lambendo ou mordendo sua pata foi medido durante a primeira (0-5 minutos) e a segunda (15-30 minutos) fases do teste. Os dados apresentam o tempo de

lambida/mordida em segundos, que correspondem ao grau de dor/inibição da dor expressa pelo animal.

### **3.2.5 Avaliação da atividade motora**

#### **3.2.5.1 Teste do campo aberto**

Camundongos *Swiss* foram pré-tratados com veículo, EHE de *P. marginatum* (60 min antes do teste) ou diazepam (30 min antes do teste). E a atividade locomotora dos animais foi investigada no campo aberto (Insight<sup>®</sup>, Ribeirão Preto-SP) de 60 cm de diâmetro.

Após pré-tratamento os animais foram colocados individualmente no campo aberto, após 1 minuto de ambientação, foi registrada a frequência de locomoção dos animais durante 4 min, que consistiu do ato do animal penetrar com as quatro patas em uma das divisões da arena do campo aberto. Os dados foram expressos como número de campos cruzados, segundo descrição de Capaz *et al.*, (1981).

### **3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), obtidos com grupos de 6 – 9 animais. O ensaio *in vitro* foi realizado em triplicata e também apresentado com média  $\pm$  EPM. Os dados foram analisados e apresentados utilizando como instrumentos os *softwares* GraphPad Prism versão 5.00 e Microsoft Office Excel 2007; foi aplicada análise de variância (ANOVA), seguida de teste de médias; teste de Tukey ou teste-t para comparação entre dois grupos. Os valores com  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 MATERIAL BIOLÓGICO E PROCESSAMENTO FITOQUÍMICO

A Embiratanha (*Pseudobombax marginatum*) foi identificada com auxílio de literatura especializada e comparação com material tipo<sup>2</sup>; pelo prof. Dr. Ramiro Camacho e equipe do Laboratório de Ecologia e Sistemática Vegetal (LEVS/UERN). A espécie testemunha (*voucher* 13726) foi herborizada e incorporada à coleção do Herbário Dárdano de Andrade Lima (MOSS – acrônimo segundo THIERS, 2009), localizado na Universidade Federal do Semi-árido. Com a entrecasca coletada foi realizada extração hidroalcoólica e uma pequena parcela foi destinada a prospecção fitoquímica preliminar (tabela 4).

Tabela 4 – Prospecção preliminar dos constituintes químicos do EHE de *P. marginatum*

<b>Classe de metabólito secundário</b>	<b>Resultado</b>
Fenóis	Inconclusivo
Taninos	Positivo
Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas	Negativo
Flavonois, Flavanonas, Flavanonois e/ou Xantonas*	Positivo
Esteróides livres	Positivo
Saponinas	Negativo
Alcaloides	Negativo
Quinonas	Negativo

(\*) resultado para estes constituintes livres ou para seus heterosídeos.

A tabela apresenta os resultados obtidos com a prospecção. Foi detectada a presença de taninos, de flavonois, flavanonas, flavanonois e/ou xantonas além de esteroides livres. Os resultados negativos podem não implicar na ausência do constituinte, sendo possível que as quantidades dos mesmos tenham sido insuficientes para serem detectadas ou ainda que tenha ocorrido a interferência de outros constituintes na formação das cores durante os testes.

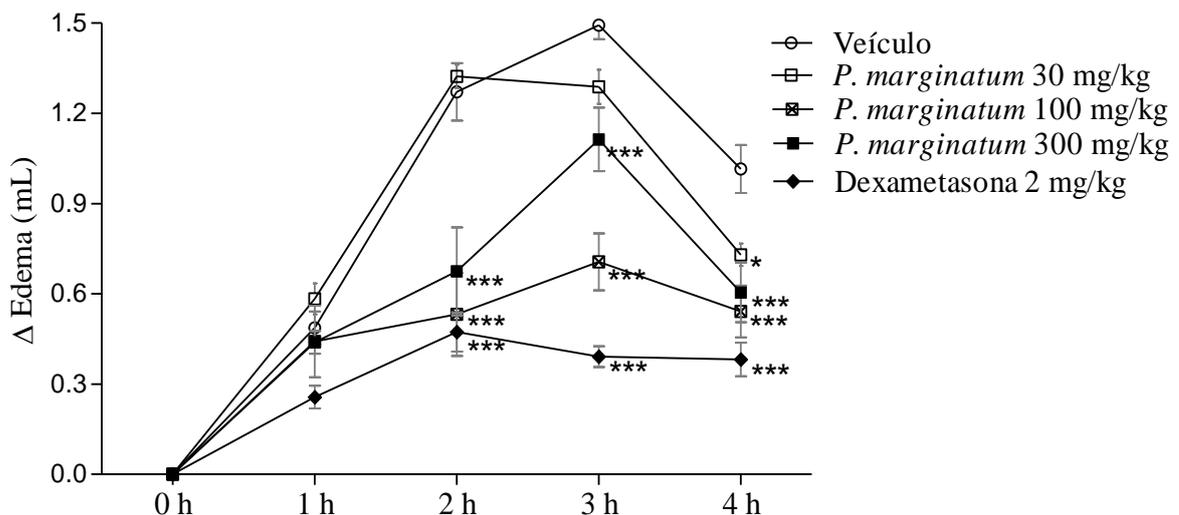
<sup>2</sup> Material tipo: material que define o nome de um táxon.

Foi observado ainda que com a extração hidroalcoólica, utilizando etanol 70% como solvente, obteve-se um rendimento de 5,5% de extrativos solúveis.

## 4.2 ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EHE *P. marginatum*

### 4.2.1 Edema de pata em rato

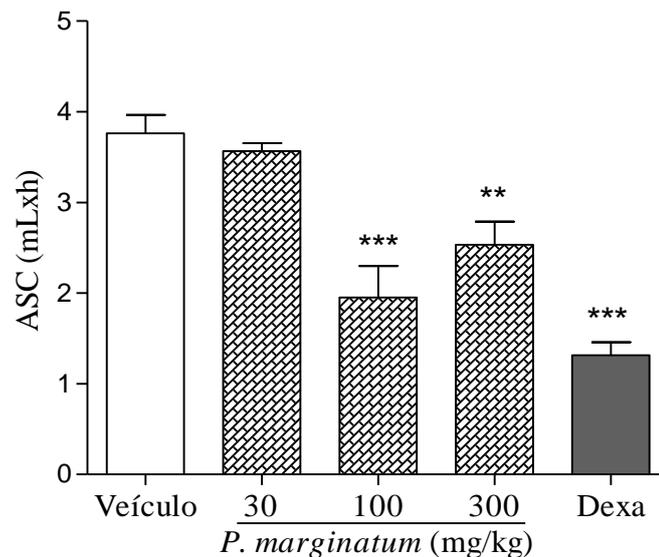
A curva do perfil do edema (figura 4) mostra que, a partir da indução na primeira hora não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos. A partir da segunda hora de avaliação, entretanto, foi observada uma influência do extrato sobre o perfil do edema nos animais dos grupos teste quando comparados aos grupos controle (veículo e dexametasona). Os grupos tratados com o EHE *P. marginatum* nas doses de 100 e 300 mg/kg mostraram diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo pré-tratado com veículo na 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> hora após indução. Quando comparado ao controle padrão, na terceira hora, nenhuma das doses do EHE *P. marginatum* se comportaram de forma estatisticamente semelhante à dexametasona, mas na quarta hora, em relação ao dexametasona as doses de 100 e 300 mg/kg de EHE *P. marginatum* são estatisticamente iguais.



**Figura 04: Edema de pata induzido por carragenina 1%: Curva tempo resposta.** Variação do volume do edema em função do tempo de resposta inflamatória. Grupos pré-tratados com veículo (s. salina 0,9%), EHE *P. marginatum* (30, 100 ou 300 mg/kg) ou dexametasona (2mg/kg). Valores de média e E.P.M.. Valor estatisticamente diferente comparado ao veículo em cada hora com \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  no teste de Tukey com  $n=6$ .

Na figura 05, área sob a curva (ASC), pode-se observar que o comportamento do edema nos animais pré-tratados com as doses de 100 e 300 mg/kg de EHE *P. marginatum* foi estatisticamente diferente do apresentado pelos animais pré-tratados com o veículo. Em comparação feita com a droga padrão, a dose de 100 mg/kg apresentou o mesmo perfil, estando com valores estatisticamente iguais aos da dexametasona.

Com os valores de ASC é possível determinar também a Porcentagem de Inibição do Edema ( $I_{\%}$ ) de cada grupo; um dado que também apresenta os mesmos valores de significância estatística da ASC. A droga padrão dexametasona apresentou uma  $I_{\%dexa} = 65,03$  e as doses de 30, 100 e 300 mg/kg do EHE *P. marginatum* proporcionam respectivamente  $I_{\%30} = 5,19$ ;  $I_{\%100} = 48,13$  e  $I_{\%300} = 32,71$ .

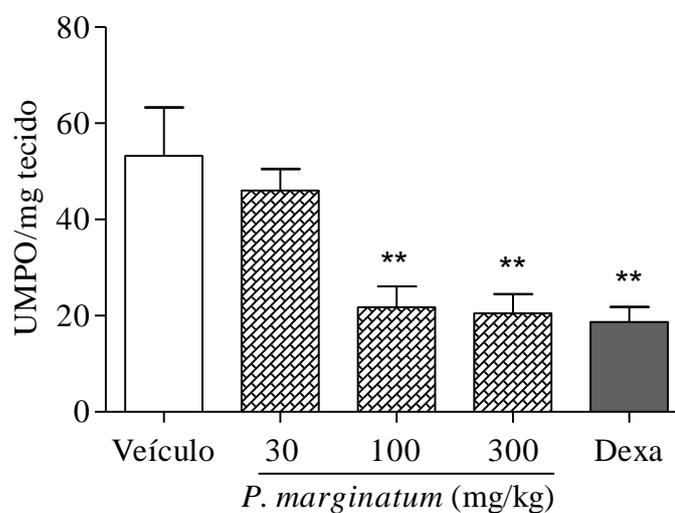


**Figura 05: Edema de pata induzido por carragenina 1%: Área sob a curva.** Valores da área obtidos com a regra trapezoidal. Grupos pré-tratados com veículo (s. salina 0,9%), EHE *P. marginatum* (30, 100 ou 300 mg/kg) ou dexametasona (2mg/kg). Valores de média e E.P.M. Valor estatisticamente diferente comparado ao veículo com  $**p < 0,01$  e  $***p < 0,001$  no teste de Tukey com  $n=6$ .

#### 4.2.2 Ensaio de MPO

A medida da atividade da enzima Mieloperoxidase, (figura 06), corresponde à migração de neutrófilos para o tecido lesado. Foi observado, de forma estatisticamente significativa, que nos animais pertencentes aos grupos pré-tratados com o extrato nas doses de 100 e 300 mg/kg e nos pré-tratados com a droga padrão

houve uma diminuição na quantidade de UMPO/mg de tecido quando comparados com os animais pré-tratados apenas com o veículo, o que corresponde indiretamente a diminuição na intensidade da migração de neutrófilos para o sítio inflamatório. Adicionalmente, a quantidade de UMPO/mg de tecido dos animais que foram previamente tratados com as doses de 100 e 300 mg/kg do extrato também foram estatisticamente equivalentes aos tratados com a droga usual, a dexametasona.



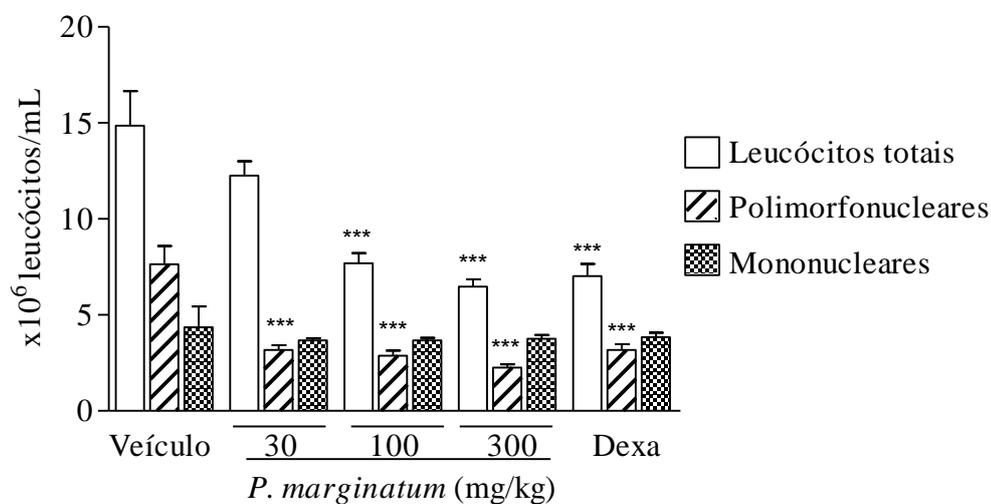
**Figura 06: Atividade da enzima MPO no músculo edemático.** Grupos pré-tratados com veículo (s. salina 0,9%), EHE *P. marginatum* (30, 100 ou 300 mg/kg) ou dexametasona (2mg/kg). Ensaio realizado com o sobrenadante do homogenato do tecido, lido em filtro de 460 nm. Valor estatisticamente diferente comparado ao veículo com \*\* $p < 0,01$  no teste de Tukey com  $n=6$ .

#### 4.2.3 Peritonite

A migração leucocitária (figura 07) foi estatisticamente diferente entre os grupos; para os leucócitos totais, o grupo que recebeu dexametasona e os grupos que receberam EHE de *P. marginatum* nas doses de 100 e 300 mg/kg são estatisticamente diferentes do veículo e iguais entre si. Na contagem diferencial os valores de leucócitos mononucleares não diferiram em nenhum dos grupos analisados. E na contagem de leucócitos polimorfonucleares os valores de todos os grupos tratados com o EHE de *P. marginatum* ou com a droga dexametasona diferem do veículo e são estatisticamente iguais entre si. Estes valores indicam que para todas as variáveis estudadas neste teste (leucócitos totais, mononucleares e

polinucleares), as doses de 100 e 300 mg/kg do EHE *P. marginatum*, se comportaram da mesma forma que a dexametasona, droga padrão.

Estes valores são apresentados também como Percentual de inibição da migração de leucócitos totais para cavidade peritoneal (Im%). Comparando-se ao grupo pré-tratado com veículo, a inibição foi respectivamente de Im%<sub>30</sub> = 17,44; Im%<sub>100</sub> = 48,28 e Im%<sub>300</sub> = 56,43 para as doses de 30, 100 e 300 mg/kg do EHE *P. marginatum* e de Im%<sub>dexa</sub> = 52,73 para droga padrão utilizada, a dexametasona.

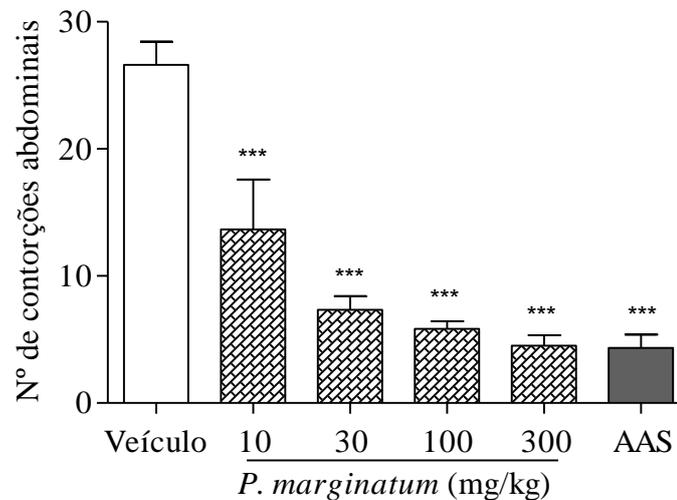


**Figura 07: Migração leucocitária na peritonite.** Contagem de células realizada com o lavado peritoneal. Grupos pré-tratados com veículo (s. salina 0,9%), EHE *P. marginatum* (30, 100 ou 300 mg/kg) ou dexametasona (2 mg/kg). Valores de média e E.P.M.. Valor estatisticamente diferente comparado ao veículo de cada variável com \*\*\* $p < 0,001$  no teste de Tukey com  $n=6$ .

#### 4.2.4 Contorções abdominais induzidas por ácido acético.

Na figura 08, os grupos pré-tratados com a droga AAS e com as doses de 10, 30, 100 e 300 mg/kg do EHE *P. marginatum* apresentaram um decréscimo estatisticamente significativo no número de contorções quando comparamos ao grupo pré-tratado com veículo. As doses do extrato testadas apresentaram um padrão de analgesia eficiente, sendo que as doses de 30, 100 e 300 mg/kg agiram de forma estatisticamente equivalente a droga padrão utilizada.

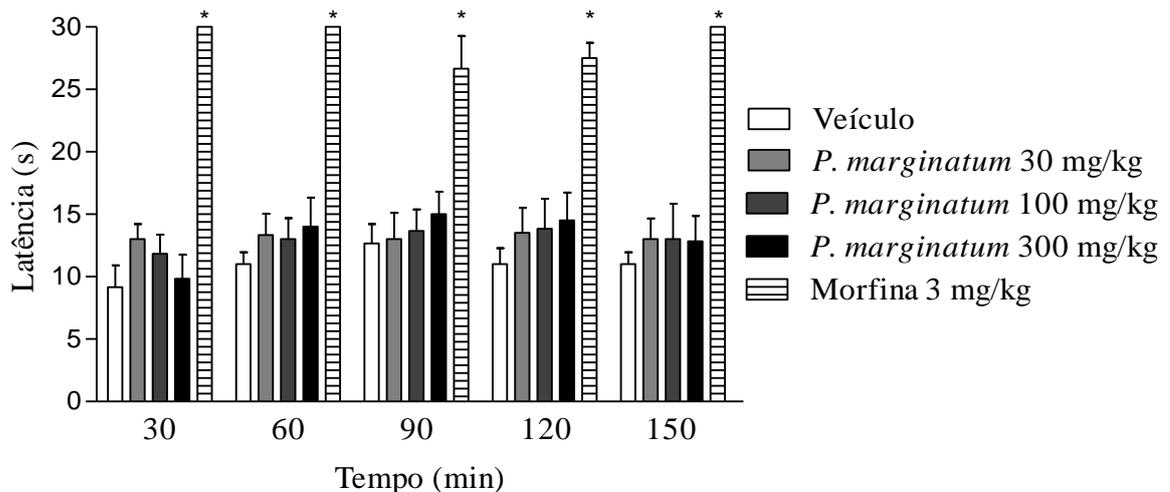
A redução no número de contorções, comparando-se ao veículo foi respectivamente de 48,8%, 72,5%, 78,5% e 83,1% para os grupos pré-tratados com as doses de 10, 30, 100 e 300 mg/kg; e de 83,8% para o grupo padrão pré-tratado com AAS.



**Figura 08: Contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,8%.** Grupos pré-tratados com veículo (s. salina 0,9%), EHE *P. marginatum* (10, 30, 100 ou 300 mg/kg) ou AAS (300 mg/kg). Valores de média e E.P.M. Valor estatisticamente diferente comparado ao veículo com \*\*\* $p < 0,001$  no teste de Tukey com  $n=6$ .

#### 4.2.5 Placa quente

No teste da Placa quente não foi verificado um aumento da tolerância à dor pelos animais pré-tratados com o EHE *P. marginatum* quando o estímulo térmico foi aplicado. Na figura 09, se observa que os animais pré-tratados com as doses de 30,



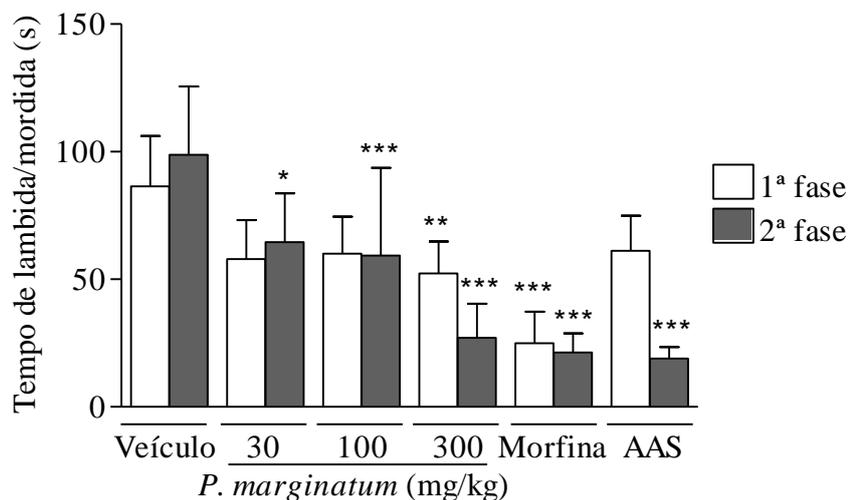
**Figura 09: Latência ao estímulo térmico na placa quente.** Grupos pré-tratados com veículo (s. salina 0,9%), EHE *P. marginatum* (10, 30, 100 ou 300 mg/kg), ou morfina (3 mg/kg). Valores de média e E.P.M. Valor estatisticamente diferente comparado ao veículo com \* $p < 0,05$  no teste de Tukey com  $n=6$ .

100 e 300 mg/kg do EHE *P. marginatum* reagiram de forma estatisticamente semelhante aos que receberam o veículo em todos os tempos analisados. O grupo padrão, pré-tratado com morfina, foi o único a apresentar uma latência maior ao estímulo térmico nos tempos analisados quando comparado ao veículo.

Simultaneamente ao teste da placa quente foi aplicada uma prova com Naloxona (resultados não mostrados), onde os valores obtidos com estes grupos seriam confrontados com os dados correspondentes aos grupos pré-tratados com o extrato. Esta prova verifica a possibilidade do extrato agir pelo sistema opióide, mecanismo utilizado pela morfina. No presente estudo, o EHE *P. marginatum* não induziu o mesmo comportamento que a morfina.

#### 4.2.6 Formalina

Na primeira fase de avaliação (primeiros 5 minutos após aplicação da formalina) os animais pré-tratados com a dose de 300 mg/kg do EHE *P. marginatum* e com a droga padrão morfina, correspondem aos grupos que apresentam-se estatisticamente diferentes do grupo veículo (figura 10). Na segunda fase do teste



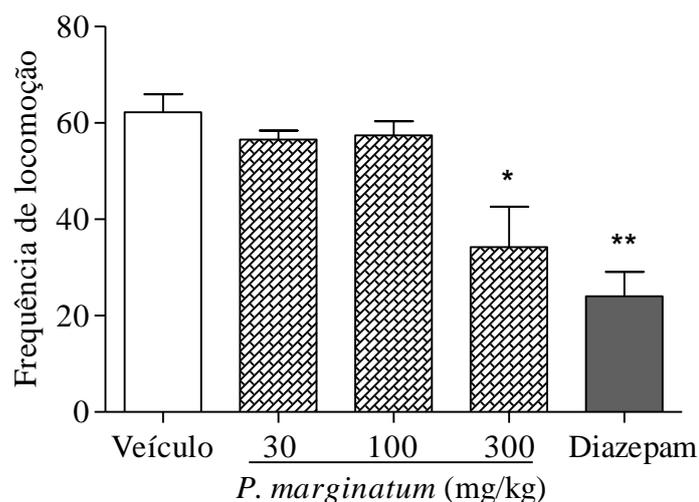
**Figura 10: Teste da formalina.** Tempo de lambidura/mordidura na 1ª fase (0-5 min) e na 2ª fase (15-30 min). Grupos pré-tratados com veículo (s. salina 0,9%), EHE *P. marginatum* (30, 100 ou 300 mg/kg), morfina (10 mg/kg) ou AAS (300 mg/kg). Valores de média e E.P.M. Valor estatisticamente diferente comparado ao veículo em cada fase com \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  no teste de Tukey com  $n=7-9$ .

(dos 15 a 30 minutos após aplicação da formalina), tanto os animais pré-tratados com as drogas padrões, morfina e ASS, quanto os animais pré-tratados com as doses de 30, 100 e 300 mg/kg do EHE *P. marginatum* se mostram estatisticamente diferentes do veículo. Estas doses apresentaram um efeito analgésico, visualizado nos animais com um menor tempo de lambida/mordida da pata nesta segunda fase do teste.

Quando a ação do extrato é comparada a ação apresentada pela morfina e ASS a dose de 300 mg/kg do EHE *P. marginatum* apresenta valores estatisticamente equivalente a morfina nas duas fases analisadas, e também exibe valores estatisticamente equivalente ao ASS na segunda fase.

#### 4.2.7 Campo aberto

Na figura 11, os animais pré-tratados com a dose de 300 mg/kg do EHE *P. marginatum* e com o tranquilizante diazepam, apresentaram um padrão de locomoção no campo aberto estatisticamente diferente dos animais pré-tratados com veículo. As doses de 30 mg/kg e de 100 mg/kg não influenciaram o comportamento dos animais sobre o campo aberto, os valores foram estatisticamente semelhantes ao apresentado pelo veículo.



**Figura 11: Locomoção no campo aberto.** Grupos pré-tratados com veículo (s. salina 0,9%), EHE *P. marginatum* (10, 30, 100 ou 300 mg/kg), ou diazepam (1,5 mg/kg). Valores de média e E.P.M. Valor estatisticamente diferente comparado ao veículo com \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$  no teste de Tukey com  $n=5$ .

## 5 DISCUSSÃO

O presente trabalho é o primeiro a investigar a atividade biológica do extrato da entrecasca da árvore da Caatinga conhecida por Embiratanha (*Pseudobombax marginatum*). Com este verificou-se que o pré-tratamento com o EHE *P. marginatum* foi capaz de minimizar de forma significativa, parâmetros inflamatórios como o edema, a migração de leucócitos e a dor de origem inflamatória. A Embiratanha é pouco conhecida na literatura científica, principalmente do ponto de vista medicinal. Os trabalhos de Amorim (2010), Leal et al (2003), e Lorenzi (2002), expostos na revisão desta pesquisa, expõem utilidades que não tem nenhuma aplicação clínica, incluindo a alimentação de ruminantes e a confecção de cordas rústicas. Contudo, alguns trabalhos na área de etnobotânica relatam a sua utilização medicinal aqui no nordeste, principalmente por comunidades do estado do Rio Grande do Norte. O mais recente destes trabalhos lista as plantas medicinais usadas por uma pequena aldeia no sítio Góis (Apodi/RN), no qual a *P. marginatum* fica entre uma das mais citadas da relação. Nesta comunidade a água da entrecasca da Embiratanha é indicada para cicatrização, como anti-inflamatória, contraceptiva, para úlceras e gastrites (PAULINO et al, 2012).

As misturas etanólicas, como a utilizada para a extração do extrato bruto da *P. marginatum*, apresentam grande eficácia quanto à solubilidade de constituintes fitoquímicos além de não apresentarem toxicidade significativa. O rendimento obtido com a extração esteve dentro do previsto, uma vez que se tratando de partes rígidas da planta, como a entrecasca, o produto final é menor que de outros órgãos como as folhas (SIMÕES, 2007). Tendo-se em vista a forma que a planta já é empregada no meio popular, na forma aquosa, como água ou chá, buscou-se também obter um extrato com o mesmo aspecto, para assim extrapolar as discussões ao uso do material vegetal pelas comunidades potiguares.

O conhecimento do perfil qualitativo dos constituintes do extrato é uma etapa essencial para o direcionamento das investigações, e também para o estabelecimento de possíveis relações entre a composição e o efeito biológico apresentado pelo extrato. Seguindo esta premissa, foi realizada uma prospecção qualitativa preliminar do extrato em estudo, os metabólitos secundários detectados dão suporte ao seu uso medicinal. Sabe-se que os taninos são usados tradicionalmente no tratamento de diversas doenças: diarreia, hipertensão,

processos inflamatórios em geral e outros; acredita-se que esta atividade se deve, principalmente, a sua capacidade de complexação com íons metálicos, à sua atividade antioxidante e também à habilidade de se complexar com outras moléculas (SIMÕES, 2007).

Os flavonóis, flavanonas e flavanóis são tipos de flavonoides, uma classe de metabólitos ampla e diversificada. Nas plantas, os flavonoides têm funções principalmente relacionadas à pigmentação e inibição de enzimas; já sobre a ingestão destes metabólitos pelos animais, não foram encontradas informações específicas para os constituintes descritos aqui. Entretanto, de modo geral, alguns estudos mostram que os flavonoides, entre outras atividades biológicas, tem uma boa ação anti-inflamatória, que foi relacionada, principalmente, a inibição de mediadores inflamatórios (DI CARLO, 1999). Adicionalmente, Corrêa (2009) discorre sobre as xantonas, uma classe de compostos heterocíclicos oxigenados com grande potencial antioxidante, atividade que se verifica durante sua aplicação como um agente anti-inflamatório, hepatoprotetor e/ou quimiopreventivo.

A literatura, não dispõe de trabalhos que apresentem dados com análise anti-inflamatória ou antinociceptiva de plantas que pertençam ao mesmo gênero ou subfamília que a Embiratanha e que possam ser confrontados diretamente. Mas, tem-se o registro de que a Barriguda (*Ceiba glaziovii*), planta que pertence a mesma subfamília Bombacoideae, é mencionada em trabalhos etnobotânicos como planta medicinal que combate reumatismo e edema, e possui constituintes como taninos, flavonoides, fenóis e outros; alguns também comuns a *P. marginatum* (AGRA et al, 2007; LEAL et al, 2011). Sendo espécies de mesma subfamília e que possuem alguns constituintes em comum em seus extratos, é possível que compartilhem de propriedades biológicas semelhantes. É pertinente citar que alguns dos metabólitos detectados pela prospecção fitoquímica da *P. marginatum*, como os taninos, flavonoides e esteróides, já foram encontrados também em outras plantas que apresentam ação anti-inflamatória e antinociceptiva comprovada por testes experimentais. Exemplo da presença destes constituintes em plantas com atividade similar são a *Caesalpinia pyramidalis*, popularmente conhecida por Catingueira, a qual possui constituintes como flavonoides, fenóis, saponinas, esteroides, taninos e triterpenos (SANTOS et al, 2011); ou ainda a *Anisopus mannii*, um arbusto chamado de Kashe zaki por populações do norte da Nigéria, que apresenta alcaloides,

flavonoides, saponinas, taninos e esteroides em sua composição (MUSA et al, 2009).

Para provocar a inflamação aguda nos modelos animais do estudo em pauta, foi utilizada a carragenina, um polissacarídeo derivado de algas que reproduz uma inflamação aguda com os cinco sinais cardinais (MORRIS, 2003). A resposta é resultado de uma rápida produção de mediadores inflamatórios, como histamina, serotonina e bradicinina numa primeira fase. Esta é seguida por uma segunda fase onde ocorre a libertação de prostaglandinas e NO (óxido nítrico), com um pico na terceira hora, produzido pela isoformas induzíveis da COX (COX-2) e óxido nítrico sintase (SEIBERT et al., 1994). Os dados obtidos demonstraram que o EHE *P. marginatum*, nas doses de 100 e 300 mg/Kg, foi capaz de modular a resposta inflamatória no tecido lesionado, impedindo o aumento do edema que se desenvolve após aplicação do agente flogístico, além de diminuir significativamente a migração de neutrófilos para o sítio da inflamação. No sangue periférico os neutrófilos são as células mais abundantes e estão entre as primeiras a migrarem para o foco inflamatório, onde sofrem degranulação e difundem no meio extracelular, mediadores importantes para sua ação bactericida, como a mieloperoxidase. Esta enzima (heme enzima) é capaz de reagir com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e gerar espécies reativas de oxigênio (radicais livres) tóxicas para o microrganismo, e nos permite inferir indiretamente a quantidade de neutrófilos presentes num tecido inflamado, por representar 5% do peso seco desta célula (CRUVINEL et al., 2010; DAVIES, 2011).

Além da mensuração da atividade da MPO, a migração leucocitária foi também avaliada através da contagem total e diferencial de leucócitos presentes no lavado peritoneal, sempre tendo em mente que, num processo inflamatório, os leucócitos polimorfonucleares compõem a primeira linha de defesa do organismo, e são, portanto os primeiros a migrarem (MESQUITA Jr et al, 2008). Em consonância com este princípio, observou-se que os polimorfonucleares apresentaram-se consideravelmente elevados nos animais tratados apenas com o veículo, enquanto os mononucleares não migraram de forma intensa em qualquer dos grupos, o que condiz com um modelo de inflamação aguda. Já nos animais tratados com o extrato houve inibição muito representativa da migração dos polimorfonucleares para a cavidade peritoneal (48% [100 mg/Kg] e 56% [300 mg/Kg]), dados que corroboram com as observações advindas da análise da atividade da MPO.

A ação do EHE *P. marginatum*, se assemelhou bastante à modulação obtida com a dexametasona nos testes de inflamação, e mesmo não proporcionando a mesma taxa de inibição que a droga padrão, os valores revelam o alto potencial farmacológico da árvore, além de sugerir uma possível semelhança entre o mecanismo de ação utilizado pela droga padrão e o usado pelo extrato. Sabe-se que a dexametasona é o glicocorticoide de maior potencial dentre os de via sistêmica, sendo um esteroide capaz inibir a fosfolipase A<sub>2</sub>, e impedir a formação de importantes mediadores da inflamação (KOROLKOVAS, 2001). Por terem apresentado perfis de atuação semelhantes, pode-se sugerir que o extrato atuaria na inibição da migração leucocitária por mecanismos também semelhantes, ou seja, pela inibição da formação de mediadores inflamatórios.

Modulações semelhantes à apresentada já foram detectadas em outras espécies que também são usadas pelas populações tradicionais como planta medicinal. Lima et al (2012) analisaram a ação do óleo essencial das raízes de *Chrysopogon zizanioides*, a grama-das-índias, e constataram que a dose de 100 mg/kg inibiu tanto o aumento do edema induzido por carragenina durante todo intervalo analisado, como também a migração de leucócitos para a cavidade peritoneal, numa resposta dose dependente. Ao pesquisarem a atividade do extrato hidroalcolólico das flores de *Pyrostegia venusta*, conhecida popularmente por dedo-de-moça, Veloso et al (2012) verificaram que a administração oral do extrato pode ser comparada à indometacina, de modo que o extrato suprimiu a resposta edematogênica induzida pela carragenina de maneira dose dependente e também causou uma redução significativa na migração dos leucócitos na peritonite induzida por lipopolissacárideo.

Ainda como parte do processo de avaliação do efeito do extrato sobre a resposta inflamatória, foram realizados testes capazes de observar mais um dos sinais cardinais deste fenômeno, a dor. Ela é definida como uma experiência sensorial associada à nocicepção, que consiste na transdução, transmissão e modulação de sinais gerados por estímulos mecânicos, térmicos e/ou químicos (KLAUMANN, WOUK e SILLAS, 2008). Um típico modelo de avaliação da dor inflamatória é obtido com o teste de contorções abdominais. O ácido acético injetado no peritônio promove a liberação de ácido araquidônico via ciclooxigenases, e consequente biossíntese de prostaglandina, efetor, principal, da dor inflamatória (FRANZOTTI et al, 2002). Nesta avaliação foi possível visualizar o padrão

apresentado pelos animais pré-tratados com a *P. marginatum*, uma resposta dose-dependente, onde a concentração crescente do EHE *P. marginatum* foi diretamente proporcional ao decréscimo no número de contorções observadas. Este efeito foi igualmente eficiente ao da aspirina, que é uma droga anti-inflamatória, analgésica e antipirética, capaz de inibir de forma não-seletiva a ciclooxigenase (componente da via de síntese dos bioativos originados do ácido araquidônico) (PORTA, 2011).

O calor é mais um agente estimulador dos nociceptores, que é capaz de produzir uma resposta rápida ao estímulo nocivo. Os receptores ativados conduzem o impulso ao corno dorsal da medula espinhal e na subsequência aos centros corticais, numa frequência proporcional a sensibilização dos nociceptores (BENEDITO, 2009). A tolerância à dor apresentada pelos animais que receberam o pré-tratamento com o EHE *P. marginatum* foi semelhante à exibida pelos que receberam o veículo, desta forma, o extrato não inibiu a nocicepção de estímulo central causada pela exposição à temperatura de  $55\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

A inibição da nocicepção central, não é um achado frequentemente detectado pelos testes experimentais de avaliação da ação antinociceptiva dos extratos medicinais, mas sim a inibição da dor através de um sistema independente do sistema opioide (dor periférica/dor inflamatória). Apesar disso, Santos et al (2011) verificaram a inibição da dor via sistema nervoso central em animais tratados com 400 mg/kg de extrato etanólico à base de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis*), tendo sido induzida uma latência significativa ao estímulo de  $55^{\circ}\text{C}$ . De forma semelhante, a dose de 300 mg/kg do extrato etanólico das folhas de graviola (*Annona muricata*) se comportou igualmente a morfina durante a aplicação dos estímulos térmicos (Hamid et al 2012). A morfina é um fármaco de ação central obtido da semente da papoula. É um opioide de referência, no que diz respeito a potencia analgésica, logo, é capaz de manter a latência ao estímulo térmico no teste da placa quente, e de inibir igualmente as duas fases do teste da formalina (GOZZANI, 1994).

No Teste da formalina, é possível analisar o estímulo doloroso em fase neurogênica e inflamatória. A formalina aplicada no início do teste induz a liberação de mediadores como  $\text{PGE}_2$ , NO, entre outros. A resposta a este estímulo é então observada em duas fases: a primeira fase avalia a nocicepção neurogênica, onde a irritação direta sobre os nociceptores resulta na liberação de neuropeptídeos como SP e CGRP em terminais periféricos e centrais, enquanto que na segunda fase é

avaliado o resultado da nocicepção inflamatória, em que a nocicepção é mediada por estímulos periféricos e pela sensibilização da medula espinhal (BAGGIO, 2010). O pré-tratamento com a *P. marginatum*, não se mostrou eficiente na inibição da dor neurogênica, enquanto que para a nocicepção inflamatória o extrato apresentou um bom efeito dose-resposta.

É imprescindível mencionar aqui que ao se analisar parâmetros que se manifestam de maneira comportamental, é importante investigar a possibilidade de o extrato testado apresentar efeito sedativo. No teste do campo aberto, a redução da locomoção é observada através da administração de benzodiazepínicos como o diazepam, que apresenta propriedades miorrelaxantes, ansiolíticas e sedativas (DIAZEPAM, s.d) em comparação com o extrato de efeito desconhecido. Tendo em vista que os animais tratados com as doses de 10, 30 e 100 mg/kg do EHE *P. marginatum* não apresentaram sinais de sedação ou de diminuição da capacidade motora, entende-se que os comportamentos analisados nos testes de nocicepção (teste de contorções abdominais, da placa quente e da formalina) foram validados para estas doses. O mesmo não aconteceu para a dose de 300 mg/kg que demonstrou um aparente efeito antinociceptivo de ação central e periférica. Os animais tratados com esta dose exibiram um comportamento semelhante aos tratados com diazepam, de modo que o efeito antinociceptivo observado pode ter sido consequência de um possível efeito sedativo e não por inibição dos mecanismos de estimulação dos nociceptores.

Por meio dos testes aplicados nesta experimentação não é possível determinar os mecanismos moleculares através dos quais o extrato desempenha sua ação anti-inflamatória ou antinociceptiva. Num extrato bruto uma infinidade de substâncias estão incorporadas e podem agir e interagir de maneiras diversas, de modo que atribuir a atividade observada por meio dos testes aplicados nesta pesquisa a uma classe de compostos determinadas de forma qualitativa foi a etapa inicial na proposição desta planta como uma alternativa para a obtenção de metabólitos a serem utilizados pela indústria farmacêutica. Entretanto, fica evidenciado que o pré-tratamento com o extrato é capaz de inibir o processo inflamatório de modo que o edema e principalmente a migração celular sejam significativamente menos expressivos, da mesma forma que a nocicepção periférica. Algumas plantas já tiveram seus mecanismos de ação elucidados, a *P. marginatum* revela aqui um potencial fitoterápico a ser explorado em testes mais específicos.

A proposta de prosseguir na pesquisa das propriedades do extrato da *Pseudobombax marginatum* é de fundamental importância para elucidação de seu potencial terapêutico, é de grande relevância, tanto para a proposta de um potencial uso farmacêutico, onde se busca medicamentos eficazes, seguros, reprodutíveis e estáveis; quanto para as populações que, eventualmente, já fazem uso medicinal desta planta.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com a pesquisa nos permitem demonstrar que o extrato obtido da entrecasca de *Pseudobombax marginatum*, por meio de extração hidroalcoólica, apresenta em sua constituição taninos, flavonóis, flavanonas, flavanonois e/ou xantonas além de esteroides livres.

Através da avaliação anti-inflamatória percebeu-se que o EHE *P. marginatum* na dose de 100 mg/kg foi capaz de inibir de forma eficiente, em 48%, a formação do edema induzido por carragenina 1% nas patas dos animais. Nos tecido onde houve estímulo inflamatório, a atividade da enzima MPO também foi reduzida pelas doses de 100 e 300 mg/kg, a um valor de  $21,7 \pm 5,62$  e  $20,5 \pm 8,3$  UMPO/mg de tecido, respectivamente. As mesmas doses do extrato também inibiram a migração de leucócitos para a cavidade peritoneal, numa porcentagem de 48 e 56%, respectivamente, exercida principalmente sobre as células polimorfonucleares.

Quanto à avaliação nociceptiva, observou-se que o EHE *P. marginatum*, apresentou um efeito dose-resposta na redução das contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,8%, sendo que a dose de 100 mg/kg apresentou uma inibição de 78% no número das mesmas. As doses de 30 e 100 mg/kg foram capazes de inibir o comportamento de lambadura dos animais na segunda fase do teste de formalina, no entanto, o extrato não inibiu a nocicepção de estímulo central observada pela exposição à temperatura de  $55 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (teste de placa quente). A dose de 300 mg/kg EHE *P. marginatum* influenciou o padrão de locomoção dos animais no campo aberto, sendo desta forma desconsiderada para os teste de nocicepção.

Assim, podemos concluir que o EHE *P. marginatum*, apresenta atividade biológica anti-inflamatória e também analgésica periférica, sendo a dose de 100 mg/kg a que apresentou melhor desempenho nos testes. Da mesma forma, o uso de água/chá da entrecasca de *Pseudobombax marginatum* pode apresentar eficácia no tratamento da inflamação. Contudo, ainda são necessárias maiores investigações para se elucidar os mecanismos e mediadores envolvidos nesta resposta.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHEFLAN *Cordia verbenácea* DC: medicamento fitoterápico. Wilson R. Farias. Guarulhos: Aché. Bula de remédio.

ABBAS, A. K. **Imunologia celular e molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

AGRA, M. de F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F. de; BARBOSA-FILHO, J. M. **Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil**. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.18, n.3, p. 472-508, 2008.

AGRA, M. de F.; BARACHO, G. S.; BASÍLIO, I. J. D.; NURIT, K.; COELHO, V. P.; BARBOSA, D. de A. **Sinopse da Flora do Cariri Paraibano**. Oecol. Bras. v.11, n.3, p. 323-330, 2007

ALBUQUERQUE, U. P. de; HANAZAKI, N. **As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas**. Revista Brasileira de Farmacognosia. supl.16, p. 678-689, 2006.

AMORIM, A. N. **Etnobiologia da comunidade de pescadores artesanais urbanos do bairro Poti Velho, Teresina/PI, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2010.

BAGGIO, Cristiane Hatsuko. **Mecanismos de ação envolvidos na atividade antinociceptiva e anti-inflamatória da (1→3), (1→6) β-glucana isolada do *Pleurotus plumonarius* (Fr.) Quel.** Curitiba, 2010. 120 p. Tese (Doutorado em Farmacologia). Universidade Federal do Paraná.

BENEDITO, R. B. **Efeito antinociceptivo do monoterpeneo (s)-(-)-álcool perílico em camundongos**. João Pessoa, 2009, 83 p. Dissertação (Mestrado em produtos naturais e sintéticos bioativos). Universidade Federal da Paraíba.

BORGES, K. N.; BRITTO, M. B.; BAUTISTA, H. P. **Políticas públicas e proteção dos saberes das comunidades tradicionais**. Revista de Desenvolvimento Econômico. Ano X, n.18, p. 87-92, 2008.

BOVINI, Massimo G. **Malvaceae s. str. na Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil**. Rodriguésia. V. 61, n. 2, p. 289-301. 2010

BRASIL, Portaria 245, de 18 de julho de 2001. Estabelece a Floresta Nacional de Açú. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, n. 139-E, 19 jul. 2001.

BRADLEY, P. P.; PRIEBAT, M. D.; CHRISTENSEN, M. D.; ROTHSTEIN, G. **Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker**. Journal of Investigative Dermatology. v. 78, p. 206-209, 1982.

CALIXTO, J. B.; BEIRITH, A.; FERREIRA, J.; SANTOS, A. R. S.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. **Naturally Occurring Antinociceptive Substances from Plants**. *Phytotherapy Research*, v.14, p.401-418, 2000.

CAMARGO, E. A.; FERREIRA, T.; RIBELA, M. T.; NUCCI, G.; LANDUCCI, E. C.; ANTUNES, E. **Role of substance P and bradykinin in acute pancreatitis induced by secretory phospholipases A2**. *Pancreas*. v. 37, n. 1, p. 50-55, 2008

CAPAZ, F. R. et al. **The open field: a simple method to show ethanol withdrawal symptoms**. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*. v. 251, n. 2, p. 228-236, 1981.

CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. A.; ALBUQUERQUE, U. P. **Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil**. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 131, p. 326–342, 2010

CLÉMENT, D. **The historical foundations of ethnobiology (1860-1899)**. *Journal of Ethnobiology*. v. 18, n. 2, p. 161-187, 1998

CORRÊA, R. de S. **Xantonas oxigendadas bioativas: cristalização, estrutura e suas interações intra e intermoleculares**. São Carlos, 2009. 182 p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. **Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório**. *Rev. Virtual Química*, v.1, n. 3, p.241-256 Jul/Set 2009

CRUVINEL, W. de M.; MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. de; SILVA, N. P. da; ANDRADE, L. E. C. **Sistema imunitário – parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória**. *Rer. Bras. Reumatologia*, v. 50, n. 4, p. 434-461, 2010.

DAVIES, M. J. **Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention**. *J. Clin. Biochem. Nutr.* v. 48, n. 1, p. 8-19, 2011.

DIAZEPAM: comprimido. Maria A. Rodrigues. Goiás: Iquego. Bula de remédio.

DI CARLO, G.; MASCOLA, N.; IZZO, A. A. e CAPASSO, F. **Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs**. *Life Sciences*, v.65, n.4, p. 337-353, 1999.

DIEGUES, A. C. & ARRUDA, R. S. V. (orgs.). **Saberes tradicionais e biodiversidade no Brasil**. – Brasília: Ministério do Meio Ambiente; São Paulo: USP, 2001.

DUARTE, M.C. 2010. *Pseudobombax in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB025762>>. Acesso em:20 de março de 2011.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. **The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats.** v.4, p.161-174, 1997.

FONSECA-KRUEL, V. S.; SILVA, I. M.; PINHEIRO, C. U. B. **O ensino acadêmico da etnobotânica no Brasil.** Rodriguésia. v. 56, n. 87, p. 97-106, 2005

FRANZOTTI, E. M.; SANTOS, C. V.; RODRIGUES, H. M.; MOURÃO, R. H.; ANDRADE, M. R.; ANTONIOLLI, A. R. **Anti-inflammatory, analgesic and acute toxicity of *Sida cordifolia* L.** Journal of Ethnopharmacology, Lausanne, v. 72, n. 1-2, p. 273-278, 2002.

GOZZANI, J. L. **Opióides e antagonistas.** Revista Brasileira de Anestesiologia. v.44, n. 1, p. 65-73 , 1994.

HAMID, R. A.; CHAN, P. F.; AHMAD, Z. A.; MOHD, K. H. **Antinociceptive and anti-ulcerogenic activities of the ethanolic extract of *Annona muricata* leaf.** Brazilian Journal of Pharmacognosy. v. 22, n. 3, p. 630-641, 2012.

HARRIS, J.M., SPENCER, P.S.J. **A modified plethysmographic apparatus for recording volume changes in rat paw.** J Pharmacy Pharmacol. v. 14, p. 464-466, 1962.

HILÁRIO, M. O. E.; TERRERI, M. T.; LEN, C. A. **Antiinflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxygenase 2.** Jornal de Pediatria. v. 82, n. 5 (supl), p. 206-212, 2006.

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

IBAMA. **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.** 2011. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/ecossistemas/caatinga.htm>>. Acesso em: 18 de abril de 2011.

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

KOROLKOVAS, A.; FE FRANÇA, F.F.A.C. **Dicionário Terapêutico Guanabara.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001-2002.

KOSTER, R.; ANDERSON, N.; DEBBER, E.J. **Acetic acid for analgesic screening.** Federation Proceedings, v. 18, p. 418-420, 1959.

LEAL, A. J. de B.; DANTAS, I. C.; CHAVES, T. P.; FELISMINO, D. de C.; VIEIRA, K. V. M. **Estudo fitoquímico antimicrobiano de *Ceiba glaziovii* Kuntze K. Schum.** Revista de Biologia e Farmácia, v.5, n.1, 2011.

LEAL, I. R.; VICENTE, A.; TABARELLI, M. **Herbivoria por caprinos na caatinga da região de xingó: uma análise preliminar.** In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA,

J. M. C. da. Ecologia e conservação da caatinga. Recife: Ed. Universitária da UFPE, p. 822, 2003.

LEAL, I. R.; SILVA, J. M. C. da; TABARELLI, M.; LACHER JR, T. **Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil**. *Mega diversidade*, v. 1, n. 1, Julho 2005

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C.(ed). **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: UFPE, 2003.

LIMA, G. M.; QUINTANS JÚNIOR, L. J.; THOMAZZI, S. M.; ALMEIDA, E. M. S. A.; MELO, M. S.; SERAFINI, M. R.; CAVALCANTI, S. C. H.; GELAIN, D. P.; SANTOS, J. P. A.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; OLIVEIRA NETA, P. M.; LIMA, J. T.; ROCHA, R. F.; MOREIRA, J. C. F.; ARAÚJO, A. A. S. **Phytochemical screening, antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Chrysopogon zizanioides* essential oil**. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. v. 22, n. 2, p. 443-450, 2012.

LONGUI, C. A. **Corticoterapia: minimizando efeitos colaterais**. *Jornal de Pediatria*. v. 83, n. 5 (supl.), p. 163-171, 2007.

LORENZI, Harrir. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. v.2, 2ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002

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

MARTINS, I. G. **Padrão de atividade do sagui *Callithrix jacchus* numa área de caatinga**. Natal, 2007, 56 p. Dissertação (Mestrado em Psicobiologia). Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: UFC, 1997.

MELO, I. F de. **A Floresta Nacional do Açu-RN e o desenvolvimento local sustentável das comunidades do entorno Lagoa do Piató**. Mossoró, 2005. 75p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente). Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

MENDES, S. S.; BOMFIM, R. R.; JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; ESTEVAM, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; THOMAZZI, S. M. **Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves**. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 129, p. 391-397, 2010.

MESQUITA JR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. de.; SILVA, N. P. da.; ANDRADE, L. E. C.; CRUVIEL, W de M. **Aspectos celulares e moleculares da inflamação**. *Sinopse de Reumatologia*, São Paulo, p. 66 - 81, 20 ago. 2008.

MMA. **Ministério do Meio Ambiente**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/>>  
Acesso em: 11 de Abril de 2012

MORRIS, C. J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. In: WIYARD P.G.; WILLOUGHBY D.A. (Org.). **Methods in molecular biology: Inflammation protocols**. Humana Press, v. 225, 2003.

MOSCA, V. P.; LOIOLA, M. I. B. **Uso popular de plantas medicinais no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil**. Revista Caatinga, v.22, n.4, p. 225-234, 2009

MURI, E. M. F.; SPOSITO, M. M. de M.; METSAVAHT, L. **Nonsteroidal antiinflammatory drugs and their local pharmacology**. Acta Fisiatr. v. 16, n.4, p. 186-190, 2009.

MUSA, A. M.; ALIYU, A. B.; YARO, A. H.; MAGAJI, M. G.; HASSAN, H. S.; ABDULLAHI, M. I. **Preliminary phytochemical, analgesic and anti-inflammatory studies of the methanol extract of *Anisopus manni* (N.E.Br) (Asclepiadaceae) in rodents**. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. v. 3, n. 8, p. 374-378, 2009.

NATEL, F.; DENIS, D.; GORDON, R.; NORTHEY, A.; CIRINO, M.; METTERS, K.M.; CHAN, C.C. **Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation**. British Journal of Pharmacology. n. 128, p. 853-859, 1999

NETO, O. A.; COSTA, C. M. de C.; SIQUEIRA, J. T. T. de. **Dor princípios e prática**. Porto Alegre: ArtMed, 2009.

OHTA, Y.; KONGO, M.; KISHIKAWA, T. **Melatonin exerts a therapeutic effect on cholestatic liver injury in rats with bile duct ligation**. Journal of Pineal Research. v. 34, p. 119-126, 2003.

OLIVEIRA, F. C. de; ALBUQUERQUE, U. P.; FONSECA-KRUEL, V. da; HANAZAKI, N. **Avanços nas pesquisas etnobotânicas no Brasil**. Acta botânica brasileira. v.23, n.2, p. 590-605, 2009

OLIVEIRA, G. L. de; OLIVEIRA, A. F. M. de; ANDRADE, L. de H. C. **Plantas medicinais utilizadas na comunidade urbana de Muribeca, Nordeste do Brasil**. Acta bot. bras. v.24, n. 2, p. 571-577, 2010.

OLIVEIRA, O. F. **Algumas árvores do município de Mossoró**. Caatinga. v. 1, p. 7-17, 1976

PAULINO, R da C.; HENRIQUES, G. P. de S. A.; MOURA, O. N. S.; COELHO, M. de F. B.; AZEVEDO, R. A. B. **Medicinal plants at the sítio do Gois, Apodi, Rio Grande do Norte state, Brazil**. Brazilian Journal of Pharmacognosy, n. 22, p. 29-30, 2012.

PAULINO, R da C.; HENRIQUES, G. P. de S. A.; COELHO, M. de F. B.; ARAÚJO, P. V. do N. **Riqueza e importância das plantas medicinais do Rio Grande do Norte**. Revista de Biologia e Ciências da Terra. v. 11, n. 1, p. 157-168, 2011

PONTES, M. M. de; MELO, J. I. M. de; CAMACHO, R. G. V. **Flora do Rio Grande do Norte: Bombacaceae Kunth**. In: 59º Congresso Nacional de Botânica, 2008, Natal. Anais.

PORTA, Gilda. **Hepatotoxicidade pelo AAS**. Gastroenterologia Endoscopia Digestiva. v.30, supl. 1, p. 17-18, 2011

RICHERSON, Peter J.; BOYD, Robert e BETTINGER, Robert L. **Cultural Innovations and Demographic Change**. Human Biology, v. 81, n. 2-3, p. 211-235, abr-jun 2009

ROCHA, A. P. C.; KRAYCHETE, D. C.; LEMONICA, L.; CARVALHO, L. R de; BARROS, G. A. M. de; GARCIA, J. B. dos S.; SAKATA, R. K. **Pain: Current Aspects on Peripheral and Central Sensitization**. Revista Brasileira de Anestesiologia. v. 57, n. 1, p. 94-105, 2007.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. **Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (Nordeste do Brasil)** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.12, n.1, p.31-42, 2010

SANTOS, C.A., PASSOS, A.M.P.R., ANDRADE, F.C., CAMARGO, E.A., ESTEVAM, C.S., SANTOS, M.R.V., THOMAZZI, S.M.,. **Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Caesalpinia pyramidalisin rodents**. Brazilian Journal of Pharmacognosy. v. 21, n. 3, p.1077-1083, 2011.

SEIBERT, K.; ZHANG, Y.; LEAHY, K.; HAUSER, S.; MASFERRER, J.; PERKINS, W.; LEE, L.; ISAKSON, P. **Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. v. 91, n. 25, p. 12013-12017, 1994.

SILVA, R. B. L. e. **A etnobotânica de plantas medicinais da comunidade quilombola de Curiaú, Macapá-AP, Brasil**. Belém, 2002, 172 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal Rural da Amazônia.

SIMÕES, C. M. O. (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008

THIERS, B. 2009. **Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff**. disponível em <<http://sciweb.nybg.org/science2/IndexHerbariorum.asp>> Acesso em 20 de julho de 2011.

TORNOS, M. P.; SAENZ, M. T.; GARCIA, M. D.; FERNANDEZ, M. A. **Antinociceptive effects of the tubercles of *Anredera leptostachy***. Journal of Ethnopharmacology, v. 68, p. 229–234, 1999.

VEIGA JR, V. F.; PINTO, A. C. **Plantas medicinais: cura segura?** Química Nova. v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VELOSO, C. C.; CABRAL, L. D. M.; BITENCOURT, A. D.; FRANQUI, L. S.; SANTA-CECÍLIA, F. V.; DIAS, D. F.; SONCINI, R.; VILELA, F. C.; GIUSTI-PAIVA, A. **Anti-inflammatory and antinociceptive effects of the hydroethanolic extract of the flowers of *Pyrostegia venusta* in mice.** Brazilian Journal of Pharmacognosy. v. 22, n. 1, p. 162-168, 2012.

VOLTARELLI, J. C. **Febre e inflamação.** Medicina, Ribeirão Preto. v. 27, n. 1/2, p. 7-48, 1994

WALKER, C. I. B. **Avaliação do potencial antinociceptivo da *Mirabilis jalapa* L. em camundongos.** Santa Maria, 2010. 104 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Santa Maria.

WINTER, C.A., RISLEY, E.A., NUSS, C.W. **Carrageenan-induced o edema in hind paw of rats-an assay for anti-inflammatory drugs.** Proc Soc Exp Biol Med, v.111, p.544-547, 1962.

WOOLFE, G.; MACDONALD, A. D. **The evaluation of the analgesic action of pentidine hydrochloride (Demerol).** Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 80, p. 300, 1944.

## ANEXO A – Autorização do SISBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

## Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 29549-1	Data da Emissão: 22/06/2011 16:34
Dados do titular	
Nome: Ramiro Gustavo Valera Camacho	CPF: 489.549.504-34
Título do Projeto: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DA ENTRECASCA DE <i>Pseudobombax marginatum</i> (St. Hil)	
Rob. PROVENIENTE DA CAATINGA POTIGUAR	
Nome da Instituição: Universidade do Estado do Rio Grande do Norte	CNPJ: 08.258.295/0001-02

## Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	COLETA E IDENTIFICAÇÃO	06/2011	03/2013
2	PROCESSAMENTO E EXTRAÇÃO	06/2011	06/2012
3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA	06/2011	03/2013
4	ELABORAÇÃO E DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO	06/2012	03/2013

De acordo com o art. 33 da IN 154/2007, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto.

## Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para as fins previstas na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifico esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviço on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte <a href="http://www.icmbio.gov.br/sisbio">www.icmbio.gov.br/sisbio</a> - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

## Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Luciana Alves Bezerra Dantas Ito	PESQUISADORA	022.618.544-39	1348956 esp-RN	Brasileira
2	Sílvia Catarina Salgado Orlor	PESQUISADORA	383.469.648-10	274783733 esp-SP	Brasileira
3	DAYANE CARLA COSTA PAIVA	ORIENTANDA	073.734.644-24	002453676 ITER-RN	Brasileira
4	DAYSEANNE ARAUJO FALCÃO	ORIENTADORA	853.766.643-04	944896 SSP/SE-SE	Brasileira
5	Lamarck do Nascimento Galvão da Rocha	PESQUISADOR	075.069.704-61	00782629 esp-RN	Brasileira

## Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	ACU	RN	FLORESTA NACIONAL DE ACU	UC Federal

## Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
---	-----------	--------

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 74761968



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 29549-1		Data da Emissão: 22/06/2011 16:34	
<b>Dados do titular</b>			
Nome: Ramiro Gustavo Valera Carneiro		CPF: 489.549.504-34	
Título do Projeto: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DA ENTRECASCA DE <i>Pseudobombax marginatum</i> (St. Hil) Rob. PROVENIENTE DA CAATINGA POTIGUAR			
Nome da Instituição : Universidade do Estado do Rio Grande do Norte			CNPJ: 08.258.295/0001-02
1	Coleta de material botânico, fúngico ou microbiológico	Bombacaceae	
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Bombacaceae	
<b>Material e métodos</b>			
1	Amostras biológicas (Plantas)	Caulis	
2	Método de captura/coleta (Plantas)	Coleta manual	
<b>Destino do material biológico coletado</b>			
#	Nome local destino	Tipo Destino	
1	UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO	coleção	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 74761968



Página 2/3



## ANEXO B – Declaração CEPA



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
COORDENAÇÃO DE PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)

### DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa intitulado “**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DA ENTRECASCA DE PSEUDOBOMBAX MARGINATUM (st. HIL) Rob. PROVINIENTE DA CAATINGA POTIGUAR**”, sob coordenação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sara Maria Thomazzi (protocolo **CEPA 98/2011**) foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Sergipe, em reunião realizada dia 25/04/2012.

São Cristóvão, 07 de maio de 2012.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flávia Teixeira Silva  
Presidente do CEPA/UFS

---

Cidade Universitária “Prof. Aloísio de Campos”  
Jardim Rosa Elze – São Cristóvão – SE  
49100-000  
Fones: 3212 6661/6606

## ANEXO C – Confirmação de submissão do artigo

\_ Submetido ao **Journal of Ethnopharmacology** (ISSN 0378-8741)

27/01/13 Gmail - Fwd: Submission Confirmation for your paper

 Dayane Paiva <[REDACTED]@gmail.com>

---

**Fwd: Submission Confirmation for your paper**

---

Dayseanne Falcão <[REDACTED]@gmail.com> 8 de janeiro de 2013 11:43  
Para: cienciasnaturais@mestrado.uem.br  
Cco: [REDACTED]@gmail.com

Querido Thiago,  
Estou enviando uma cópia da mensagem de confirmação de submissão do artigo de Dayane. Estamos nos últimos preparativos para a defesa dela.  
Muito obrigada por tudo.  
Um abraço.  
Dayseanne Falcão.

----- Forwarded message -----  
From: **Journal of Ethnopharmacology** <jethnoph@chem.leidenuniv.nl>  
Date: 2012/12/31  
Subject: Submission Confirmation for your paper  
To: [REDACTED]@hotmail.com, [REDACTED]@gmail.com

Dear Dr.Falcão,

Your submission entitled "Anti-inflammatory and antinociceptive effect of hydroalcoholic extract from *Pseudobombax marginatum* inner bark from caatinga potiguar." has been received by journal Journal of Ethnopharmacology

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Elsevier Editorial as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/jep/>.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Journal of Ethnopharmacology

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

<https://mail.google.com/mail/ca/?ui=2&ik=d304d022bb&view=pt&search=inbox&msg=13c1a655cead0bac> 1/1