



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PEDRO PAULO MARCELINO NETO

**AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA DE USO E DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE,
ANTIMICROBIANO E ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO AQUOSO DAS
FOLHAS DE *Sideroxylon obtusifolium* (ROEM. & SCHULT.) T.D. PENN**

Recife
2019

PEDRO PAULO MARCELINO NETO

**AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA DE USO E DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE,
ANTIMICROBIANO E ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO AQUOSO DAS
FOLHAS DE *Sideroxylon obtusifolium* (ROEM. & SCHULT.) T.D. PENN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Biologia Química para Saúde

Orientadora: Profa. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva

Recife
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Marcelino Neto, Pedro Paulo

Avaliação da segurança de uso e do potencial antioxidante, antimicrobiano e anti-inflamatório do extrato aquoso das folhas de *Sideroxylon obtusifolium* (ROEM. & SCHULT.) T.D. Penn / Pedro Paulo Marcelino Neto - 2019.

82 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Teresinha Gonçalves da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Recife, 2019.

Inclui referências

1. Plantas medicinais 2. Lesão pulmonar aguda 3. Polissacarídeo I. Silva, Teresinha Gonçalves da (orient.) II. Título

615.321

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2020-045

Elaborado pela Bibliotecária Elaine C. Barroso (CRB4/1728)

PEDRO PAULO MARCELINO NETO

**AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA DE USO E DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE,
ANTIMICROBIANO E ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO AQUOSO DAS
FOLHAS DE *Sideroxylon obtusifolium* (ROEM. & SCHULT.) T.D. PENN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração Biologia Química para Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 26/02/2019

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Cynthia Layse Ferreira de Almeida (Examinador externo)
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Profa. Dra. Natalie Emanuelle Ribeiro Rodrigues (Examinador externo)
Universidade de Pernambuco

*Dedico meu esforço e
gratidão ao meu Deus,
O Qual tornou o meu
sonho possível.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, que me guia e rege meus passos. Obrigado por me mostrar o caminho a ser seguido, por me dar o dom da ciência, e por me fazer crer a cada dia que Tu sabes o que é melhor para mim.

Agradeço aos meus pais, Solange e Fernando, por serem a minha base, por me darem apoio para que eu siga meus passos e caminhe até onde seus olhos brilhem. Só de olhar para os dois, eu sei que a minha vida tem um sentido.

Agradeço à minha noiva, Michelly Rodrigues, por me mostrar todos os dias o verdadeiro significado do amor e companheirismo. Por ser a minha melhor parceira na realização desse trabalho. Obrigado por ser a confirmação do melhor que Deus quer para minha vida.

Agradeço à minha orientadora, Profa. Teresinha, que acreditou em mim e me deu a oportunidade de aprender a cada dia. Obrigado por toda a paciência e por ser um exemplo de profissional a ser seguida.

Agradeço à minha irmã, Thayana, que mesmo distante, nunca saiu do meu pensamento e que me acolheu num momento crucial desse trabalho, assim como o meu cunhado Sudarsam.

Agradeço à minha avó, Graciete, e a minha tia avó, Geny, que me criaram e me deram todo o amor que eu precisei. Mesmo não estando mais aqui, sempre estarão comigo.

Agradeço à minha família por ser minha recarga de energia, por todos os encontros e sorrisos trocados.

Agradeço às minhas grandes amigas, Larissa e Gabriela, por serem as irmãs que a vida me deu, e me ensinou a amar e a cuidar.

Agradeço às minhas sogras, Odete e Cláudia, que sempre me deram palavras de apoio e se tornaram mães tão amáveis.

Agradeço à Nino, que é um companheiro de todas as horas, e por tornar verdade o título de “melhor amigo do homem”.

Agradeço pela minha parceira de trabalho, Carol, que se tornou uma grande amiga nos caminhos que Deus trilhou para nós, e o seu marido Caio que me ajudou nos rumos da minha pesquisa.

Agradeço à minha IC, Alicia, por me deixar ajudar na sua jornada, e por sempre me fazer dar um sorriso para Cristo.

Agradeço à Pedro Silvino, pelas conversas e incentivos. Obrigado por tornar possível uma boa parte desse trabalho.

Agradeço à todos os companheiros de laboratório, que cada dia se esforçam e dão o máximo de si. Obrigado pela ajuda em todas as fases desse trabalho, sem vocês não chegaria tão longe.

Agradeço aos meus mentores de laboratório, Marllon e Fernanda, com os quais comecei a minha caminhada. Sem eles não teria seguido tão firme os caminhos da pesquisa.

Agradeço aos meus amigos da graduação, por firmarem laços tão fortes na amizade e por trocarmos forças para seguir nossos destinos profissionais. Em especial, Genésis e Rafael por serem tão companheiros e me fazerem dar diversas risadas.

Agradeço à todos os profissionais e professores que ajudaram de alguma maneira na realização desse trabalho, pois sem eles não chegaria onde cheguei.

Agradeço ao Sr. Marcos por ter se tornado um amigo de trabalho, pelas histórias e sorrisos.

Agradeço à banca examinadora, Cynthia e Natalie, que além de me ajudaram bastante no meu crescimento na área da pesquisa, são um exemplo para todos que fazem parte da família Biofarmatox.

RESUMO

Sideroxylon obtusifolium (Roem. & Schult.) é uma planta da família Sapotaceae, conhecida popularmente como "quixabeira" ou "rompe-gibão", amplamente distribuída no bioma Caatinga e usada na medicina popular para o tratamento de úlcera, gastrite, azia, inflamação crônica, inflamação ovariana, infecções e cicatrização. Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial antioxidante, antibacteriano, anti-inflamatório e a segurança de uso do extrato aquoso das folhas de *S. obtusifolium* na lesão pulmonar aguda induzida por LPS (LPA) em camundongos. A atividade antioxidante *in vitro* da *S. obtusifolium* foi avaliada pelos métodos de sequestro dos radicais livres DPPH e ABTS. A atividade antimicrobiana foi testada frente às cepas normais (03) e multirresistentes (ATCC 15 442) de *Pseudomonas aeruginosa* e o efeito modulador da atividade antibiótica, apenas em nas multirresistentes. A toxicidade *in vitro* do extrato aquoso foi avaliada frente a linhagens de fibroblastos L929 e mastocitoma P815. Na avaliação *in vivo*, foram realizados o ensaio toxicológico não clínico agudo (2.000 mg/kg) e o teste de toxicidade de doses repetidas (125, 250 e 500 mg/kg). Na atividade antioxidante, o extrato aquoso apresentou uma concentração necessária para inibir 50% do radical DPPH (CE₅₀) de 160,38 ± 7,87 µg/mL, enquanto que o percentual de inibição do radial ABTS foi de 59,64 ± 1,47 %. O extrato não apresentou atividade antimicrobiana significativa, apresentando concentração inibitória mínima (CIM) > 1024 µg/mL frente à cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, entretanto, quando associado à amicacina, o extrato apresentou atividade sinérgica, diminuindo sua CIM em 50% (32 µg/mL) frente à estirpe ATCC 15 442. Na atividade citotóxica, o extrato aumentou a proliferação de fibroblastos, enquanto que reduziu a proliferação dos mastocitomas. No teste toxicológico não clínico agudo, os animais tratados com o extrato não apresentaram sinais de toxicidade durante a monitoração diária. A DL₅₀ do extrato foi superior a 2000 mg/kg de massa corporal. Na toxicidade de doses repetidas, apenas uma morte foi registrada, no grupo de fêmeas que recebeu o extrato na dose de 500 mg/kg, e alterações na massa dos fígados do animais tratados com as maiores doses do extrato em relação aos animais do controle. O pré-tratamento com o extrato nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg diminuiu significativamente o percentual de leucócitos totais no lavado broncoalveolar (LBA) dos animais com LPA em relação ao controle lesionado, em especial, de neutrófilos, monócitos linfócitos e eosinófilos. O pré-tratamento também foi capaz de diminuir a atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), do pulmão dos animais tratados, e os níveis de óxido nítrico (NO) no LBA desses animais, entretanto, não interferiu na quantidade de TNF-α do tecido pulmonar. A partir dos resultados obtidos nesse trabalho, pode-se concluir que o extrato aquoso de *S. obtusifolium* apresentou atividades antioxidante, moduladora de antibióticos e anti-inflamatória, provavelmente associadas à redução de radicais livres e inibição da migração leucocitária no local da inflamação. Além disso, o extrato apresentou baixa toxicidade *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chave: Quixabeira. Lesão pulmonar aguda. Lipopolissacarídeo. *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

Sideroxylon obtusifolium (Roem. & Schult.) Is a plant of the Sapotaceae family, popularly known as "quixabeira" or "rompe-gibão", widely distributed in the Caatinga biome and used in folk medicine to treat ulcers, gastritis, heartburn, inflammation chronic, ovarian inflammation, infections and scarring. In this context, the objective of this work was to evaluate the antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory potential and the safety of using the aqueous extract of *S. obtusifolium* leaves in acute lung injury induced by LPS (LPA) in mice. The antioxidant activity in vitro of *S. obtusifolium* was evaluated by the methods of scavenging free radicals DPPH and ABTS. Antimicrobial activity was tested against the normal (03) and multiresistant (ATCC 15 442) strains of *Pseudomonas aeruginosa* and the modulating effect of antibiotic activity, only in multiresistant strains. The in vitro toxicity of the aqueous extract was evaluated against L929 fibroblast and P815 mast cell lines. In the in vivo evaluation, the acute non-clinical toxicological test (2000 mg/kg) and the repeated dose toxicity test (125, 250 and 500 mg/kg) were performed. In antioxidant activity, the aqueous extract showed a concentration necessary to inhibit 50% of the DPPH radical (EC_{50}) of $160.38 \pm 7.87 \mu\text{g/mL}$, while the percentage of inhibition of the ABTS radial was $59.64 \pm 1,47\%$. The extract did not show significant antimicrobial activity, presenting a minimum inhibitory concentration (MIC) $> 1024 \mu\text{g/mL}$ against strains of *Pseudomonas aeruginosa*, however, when associated with amikacin, the extract showed synergistic activity, reducing its MIC by 50% ($32 \mu\text{g/mL}$) against strain ATCC 15 442. In cytotoxic activity, the extract increased the proliferation of fibroblasts, while reducing the proliferation of mast cells. In the acute non-clinical toxicological test, animals treated with the extract showed no signs of toxicity during daily monitoring. The LD_{50} of the extract was greater than 2000 mg/kg of body weight. In the toxicity of repeated doses, only one death was registered, in the group of females that received the extract in the dose of 500 mg/kg, and changes in the mass of the livers of the animals treated with the highest doses of the extract in relation to the control animals. Pretreatment with the extract at doses of 25, 50 and 100 mg/kg significantly decreased the percentage of total leukocytes in the bronchoalveolar lavage (BAL) of animals with APL compared to the injured control, in particular, of neutrophils, lymphocyte monocytes and eosinophils. The pretreatment was also able to decrease the activity of the

myeloperoxidase enzyme (MPO), from the lungs of the treated animals, and the levels of nitric oxide (NO) in the BAL of these animals, however, did not interfere with the amount of TNF- α in the tissue pulmonary. From the results obtained in this work, it can be concluded that the aqueous extract of *S. obtusifolium* showed antioxidant, antibiotic modulating and anti-inflammatory activities, probably associated with the reduction of free radicals and inhibition of leukocyte migration at the inflammation site. In addition, the extract showed low toxicity in vitro and in vivo.

Keywords: Quixabeira. Acute lung injury. Lipopolysaccharide. *Pseudomonas aeruginosa*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVO GERAL	14
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 INFLAMAÇÃO AGUDA E OS PRINCIPAIS MEDIADORES ENVOLVIDOS	15
2.2 INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS E O PAPEL DAS BACTÉRIAS GRAM- NEGATIVAS.....	17
2.3 LESÃO PULMONAR AGUDA	19
2.4 ESTRESSE OXIDATIVO E OS SISTEMAS ANTIOXIDANTES	23
2.5 PLANTAS MEDICINAIS E O SEU POTENCIAL TOXICOLÓGICO.....	25
2.6 O BIOMA CAATINGA	26
2.7 <i>Sideroxylon obtusifolium</i>	27
3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....	29
3.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL E OBTENÇÃO DO EXTRATO DAS FOLHAS.....	29
3.2 ESTUDO <i>IN VITRO</i>	30
3.2.1 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO EXTRATO AQUOSO DE <i>S. obtusifolium</i>	30
3.2.2 CEPAS BACTERIANAS	30
3.2.3 ENSAIO ANTIMICROBIANO E MODULADOR DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA	31
3.2.4 CULTURA DE CÉLULAS.....	31
3.2.5 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR.....	32
3.3 ESTUDO <i>IN VIVO</i>	32
3.3.1 ANIMAIS	32
3.3.2 ENSAIO TOXICOLÓGICO NÃO CLÍNICO AGUDO	32
3.3.3 DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE DE DOSE REPETIDA	33
3.3.4 DETERMINAÇÃO DE EFEITOS MOTORES.....	33
3.3.5 EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO SOBRE LESÃO PULMONAR AGUDA	34
3.3.5.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE TNF- α	34
3.3.5.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO (NO).....	34
3.3.5.3 DETERMINAÇÃO DO ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE (MPO).....	35
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35

4 ANÁLISE DOS RESULTADOS	36
4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE <i>Sideroxylon</i> <i>obtusifolium</i> (ROEM. & SCHULT.) T.D. PENN.....	36
4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE <i>S. obtusifolium</i>	37
4.3 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (MIC) E DO EFEITO MODULADOR DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA.....	38
4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DO EXTRATO AQUOSO DE <i>S.</i> <i>obtusifolium</i>	41
4.5 ENSAIO TOXICOLÓGICO NÃO CLÍNICO AGUDO E DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE DE DOSE REPETIDA	43
4.6 EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO AQUOSO DE <i>S. obtusifolium</i> SOBRE LESÃO PULMONAR AGUDA.....	50
5 CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

As plantas vêm sendo empregadas na medicina popular desde os primórdios da humanidade na busca pela cura das enfermidades. Utilizadas no tratamento de inúmeras patologias, elas são consideradas fonte de compostos biologicamente ativos, podendo servir como alternativa para a síntese de novos fármacos (SANTOS et al., 2011). O Brasil é o país detentor da maior biodiversidade botânica existente no planeta, chegando a cerca de 20% da flora mundial. Essa característica singular faz com que ele se torne um importante patrimônio genético para o desenvolvimento de medicamentos a base dos produtos naturais (FRANCISCO, 2010).

As propriedades dos produtos naturais foram observadas durante muitos períodos históricos, com o uso de milhares de substâncias derivadas de plantas, até os dias de hoje, em diversos distúrbios patológicos (BERNARDIN et al., 2018). A maior parte do potencial das plantas se deve aos metabólitos secundários, que são substâncias produzidas por elas para seu desenvolvimento e crescimento, dotadas de uma ampla gama de características terapêuticas (GOUVEA et al., 2012).

Ao contrário dos produtos sintéticos, as plantas possuem combinações complexas de produtos bioativos, e o uso sem o conhecimento do seu potencial toxicológico, pode acarretar efeitos adversos. Estes efeitos podem acontecer em decorrência de interações dos componentes da planta e as condições fisiológicas do utilizador (MENDES; MORAES; GOMES, 2014). O elevado custo dos fármacos sintéticos e os seus próprios efeitos colaterais, fazem com que a utilização dos produtos naturais dissemine cada vez mais pela população, apesar dos riscos de toxicidade (DIAS et al., 2017).

As plantas da Caatinga demonstram grande importância no uso medicinal como recurso terapêutico na descoberta de compostos bioativos devido aos fatores abióticos e condições ambientais severas que impõem pressão adaptativa, requerendo mudanças morfológicas e metabólicas. Muitas espécies deste bioma são utilizadas pela medicina popular no tratamento de inflamações (ALBUQUERQUE; OLIVEIRA, 2007). No Nordeste, mais especificamente, existe uma grande variedade de plantas medicinais presentes na vegetação de Caatinga que representam um valioso conhecimento a ser explorado. Este bioma caracteriza-se por ser exclusivamente brasileiro e com grande porte de fitodiversidade, mas, apesar desse

potencial biológico único em território brasileiro, é pouco valorizado e reconhecido (JÚNIOR et al., 2014).

Sideroxylon obtusifolium (Roem. & Schult.) é uma planta medicinal da família Sapotaceae, conhecida popularmente como "quixabeira", amplamente distribuída no bioma Caatinga. Estudos etnobotânicos apontam que sua casca é usada na medicina popular principalmente por suas propriedades anti-inflamatórias, além do seu potencial antimicrobiano e antioxidante (DESMARCHELIER et al., 1999; ALBUQUERQUE; OLIVEIRA, 2007).

A lesão pulmonar aguda (LPA) é uma doença inflamatória caracterizada pelo acúmulo de neutrófilos nos pulmões, levando a um aumento das agentes oxidantes no local da inflamação e a indução de lesões teciduais no epitélio alveolar. Macrófagos contribuem para a patogênese da doença, liberando mediadores inflamatórios prejudiciais aos pulmões, como as quimiocinas e citocinas (MITTAL et al., 2014; HEROLD et al., 2011). Pesquisadores tem relatado que o maior índice de fatores causadores, diretos e indiretos, da LPA são provenientes de infecções causadas por bactérias gram-negativas, em especial por um componente da membrana externa desses micro-organismos, o lipolissacarídeo (LPS), sendo conhecido como importante ativador da resposta imunológica e apontado como o principal indutor da inflamação nesse tipo de patologia (AUJLA et al., 2008; PENG et al., 2004). Até os dias atuais, ainda não foi possível encontrar um tratamento que seja completamente eficaz para a LPA, o que torna essa doença um grave problema para o sistema de saúde. Apesar da grande representatividade da família Sapotaceae no Brasil, são escassos os registros na literatura a cerca das suas atividades farmacológicas no tratamento de doenças inflamatórias. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial farmacológico e toxicológico das folhas de *Sideroxylon obtusifolium*.

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a segurança de uso e o potencial antioxidante, antimicrobiano e anti-inflamatório do extrato aquoso de *Sideroxylon obtusifolium* sobre lesão pulmonar aguda induzida por LPS.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

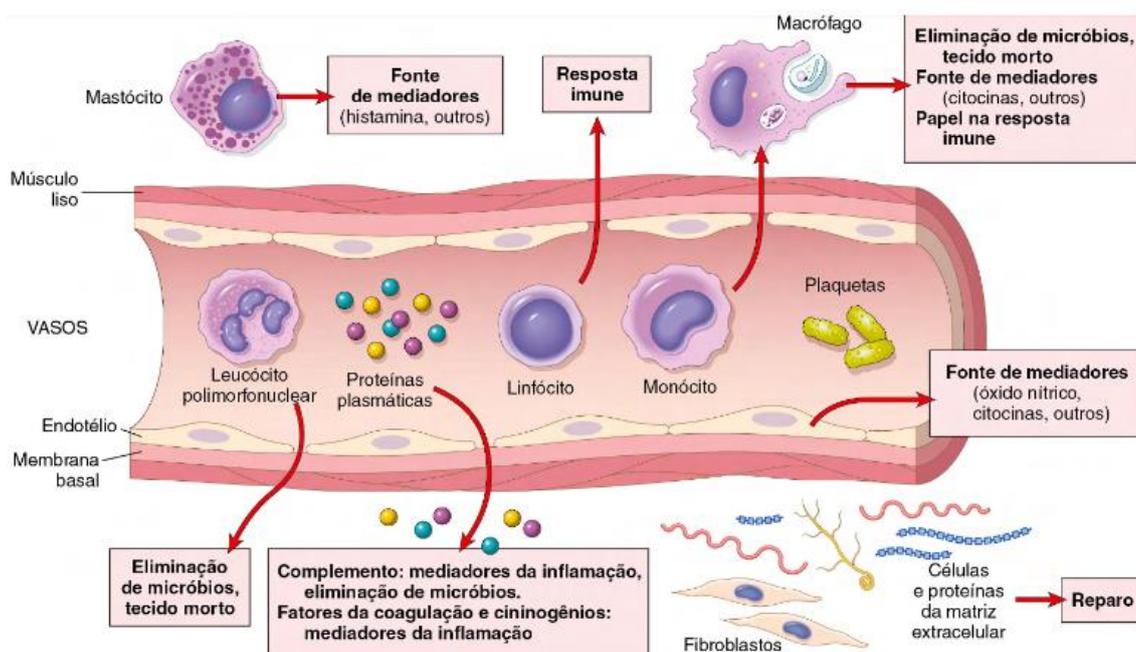
- Obter o extrato aquoso das folhas de *Sideroxylon obtusifolium*;
- Avaliar o potencial antioxidante, antibacteriano e modulador de antibióticos do extrato aquoso das folhas de *S. obtusifolium*;
- Avaliar a citotoxicidade do extrato aquoso das folhas de *S. obtusifolium* frente a células L929 e P815;
- Investigar o efeito toxicológico não clínico agudo e de doses repetidas do extrato aquoso das folhas de *S. obtusifolium* em camundongos;
- Avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais submetidos à toxicidade não clínica aguda e de doses repetidas;
- Determinar o potencial anti-inflamatório do extrato aquoso das folhas de *S. obtusifolium* sobre a lesão pulmonar aguda induzida por LPS em animais;
- Quantificar os níveis de óxido nítrico, TNF- α e atividade da enzima mieloperoxidase.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 INFLAMAÇÃO AGUDA E OS PRINCIPAIS MEDIADORES ENVOLVIDOS

A inflamação é um processo fisiológico gerado por uma resposta do organismo ao combate do agente causador, podendo este ser um micro-organismo, um corpo estranho, reações imunológicas ou traumas (GRANGER; KVIETYS, 2015). Esta resposta se dá principalmente através da ação do sistema imunológico no tecido afetado, que envolve a migração leucocitária de células mononucleares e granulócitos, além de mediadores inflamatórios (Figura 1), diretamente relacionados com o aumento da permeabilidade vascular causada pela vasodilatação (WELF; HAUGH, 2011)

Figura 1: Visão geral das células e mediadores envolvidos na inflamação aguda.



Fonte: Modificado de Amorim, 2014, p.47.

Após a lesão, tem início a fase vascular com o aumento da permeabilidade dos vasos, intensificando o fluxo sanguíneo. Esse episódio é mediado por aminas vasoativas, como serotonina e histamina, liberadas por células do sistema imune, como mastócitos e monócitos (TRACEY et al., 2008; GALLI; BORREGAARD; WYNN, 2011). Consideradas como moléculas grandes, a albumina e o fibrinogênio

saem do local lesionado e formam o exsudato. Proteínas passam para o espaço extravascular, causando a adesão de leucócitos no endotélio e a sua migração para os tecidos (DREESEN; VERMEIRE, 2018). Os macrófagos que se encontram no tecido lesionado passam a liberar quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina 1 β (IL-1 β) e o fator de necrose tumoral (TNF- α). No tecido, a fagocitose é a arma das células para tentar remover o patógeno e promover o reparo. Os neutrófilos e os macrófagos são as principais células envolvidas na inflamação aguda, diferentemente dos quadros crônicos onde as células mononucleares, como os monócitos e linfócitos estão mais presentes, além da formação de processos fibróticos (KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013; CLEYNEN et al.; 2016).

Os tratamentos atuais para quadros inflamatórios têm como finalidade a inibição dos mediadores inflamatórios relacionados ao processo, como as citocinas, as aminas vasoativas, a bradicinina e o óxido nítrico (NO). Tais mediadores têm papel fundamental na resposta de diferentes tecidos (SERHAN et al., 2015). Este último, é um radical livre que pode ser sintetizado por células endoteliais e macrófagos, a partir da NG-hidroxi-L-arginina em uma reação catalisada pela enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (SOUZA JUNIOR et al, 2016).

As citocinas são proteínas responsáveis pela modulação da função das células envolvidas no processo inflamatório, podendo ser produzidas também por células mononucleares e células do tecido epitelial. Essas têm ação em sítios que regulam processos biológicos como o reparo tecidual, crescimento e ativação celular, além da inflamação e fibrose (HARRISON et al., 2011; ABBAS et al., 2014). Dentre as principais citocinas pró-inflamatórias, o fator de necrose tumoral α (TNF- α) assume um papel importante no desenvolvimento da inflamação. Ele é liberado principalmente pelas células mononucleares assim que a lesão ocorre, em resposta aos estímulos recebidos, promovendo o recrutamento de neutrófilos e monócitos para o tecido inflamado (ATHWAL et al., 2011; ROSENBLAT et al., 2014).

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) têm lugar de destaque dentre terapias existentes no mercado, por serem fármacos inibidores não seletivos das ciclo-oxigenases (COXs) (MOULIS et al., 2012). Estas enzimas são responsáveis por gerar os prostanoídes como as prostaglandinas, a prostaciclina e o tromboxano, sendo uma rota oxidativa do ácido araquidônico (GABBS et al., 2015). As COXs existem em duas isoformas principais, a COX-1 que é uma enzima constitutiva atuante na função celular, e a COX-2 é produzida principalmente na resposta a

vários estímulos inflamatórios, em diversos tecidos. Apesar dessa capacidade inerente desses fármacos, eles estão associados a vários efeitos adversos, como úlceras gástricas e danos renais e hepáticos (ABBAS et al, 2014; DA SILVA; MENDONÇA; PARTATA, 2014).

2.2 INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS E O PAPEL DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são aquelas que acometem o indivíduo no ambiente hospitalar, estando associadas a diversos micro-organismos não controlados nesses locais (DE CARVALHO et al., 2015). A maioria dessas infecções acontecem nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI), que são locais com um maior índice de doenças infecciosas graves e proporcionalmente, com maior dificuldade no controle sanitário (DE CARVALHO et al., 2015; MOURA et al., 2017). Esse fato representa um problema grave à saúde, que cresce com o passar dos anos e se torna cada vez mais complexo, sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade no sistema de saúde (ALLEGIANZI et al., 2011).

Dentre os micro-organismos que mais infectam pacientes hospitalares, as bactérias têm lugar de destaque, porque elas são de fácil propagação, seja pelo ar ou por objetos e equipamentos, favorecendo o processo de infecção, e quase sempre dificultando o prognóstico. Na maioria das vezes, os indivíduos acometidos estão com imunidade baixa, se tornando propícios aos agentes oportunistas (OPHELIE; MOLIN QUESTE, 2014; SALES et al., 2014).

As bactérias Gram-negativas são responsáveis pela maior parcela das IRAS, em comparação com as Gram-positivas, por possuírem um sistema complexo de produção de enzimas capazes de fazer frente aos principais antibióticos empregados no sistema de saúde (WEISS et al., 2015; RAWSON et al., 2017). Algumas espécies se destacam nesse contexto, como as *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter spp*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, podendo ser classificadas como patógenos que levam a quadros como pneumonias, peritonites, meningites e infecções urinárias, além de septicemias e infecções associadas ao uso de dispositivos médicos, o que aumenta o grau de agressão desses micro-

organismos quando associados a resistência à antibióticos (GERHARDTS et al., 2012; LYNCH; ZHANEL; CLARK, 2017).

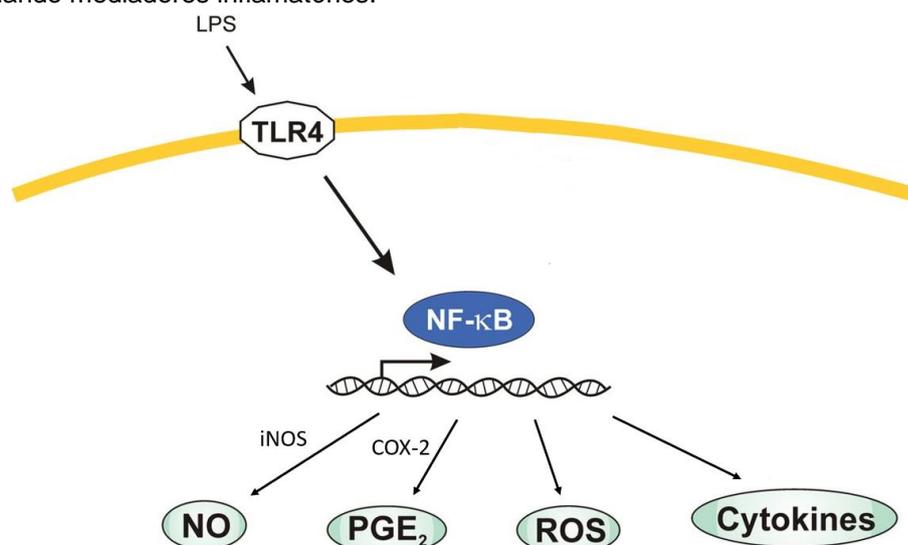
As bactérias possuem inúmeros mecanismos de defesa associados a resistência antimicrobiana, sendo o principal deles a expressão de bombas de efluxo. Esse mecanismo tem como finalidade impedir a ligação das moléculas do antibiótico ao sítio-alvo, por meio da expulsão destas para o espaço extracelular e acarretando na diminuição da sensibilidade ao fármaco (BECEIRO et al., 2014). Outro mecanismo, também associado ao bloqueio na ligação do antibiótico ao sítio-alvo, é a produção de proteínas capazes de inativar diretamente o fármaco. A presença de mutações podem ser uma alternativa de vários desses organismos, podendo ocorrer em um ou mais genes codificadores de regiões alvo dos antibióticos (ARDEBILI et al., 2015).

Os aminoglicosídeos são uma família de antimicrobianos utilizados para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas, tendo em sua constituição um núcleo de aminociclitol ligado à moléculas de monossacarídeos através de ligação glicosídica (ZHANEL et al., 2012) Estes antibióticos têm como mecanismo de ação a inibição da síntese proteica bacteriana, entretanto existem diversas formas de resistência encontradas por micro-organismos para fugir desse ataque, como a modificação do sítio-alvo, redução da permeabilidade de proteínas de membrana externas, expressão de bombas de efluxo ou pela inativação do antimicrobiano por ação de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (AME), sendo este último o mecanismo mais prevalente (ZHANEL et al., 2012; GARNEAU-TSODIKOVA; LABBY, 2016).

Outra classe de antimicrobianos com ação contra bactérias gram-negativas são a fluoroquinolonas, derivados da quinolona. Esses, por sua vez, são prioritariamente inibidores da topoisomerase do tipo II (DNA girase) quando o alvo são as Gram-negativas (ARDEBILI et al., 2015). A resistência frente a essa classe de compostos pode ocorrer por meio de bomba de efluxo, bloqueio da ligação do antibiótico ao sítio-alvo, mas, sobretudo, pela alteração do sítio de ligação do antibiótico, podendo ser ocasionada por mutações genéticas (CORREIA et al., 2017).

O lipopolissacarídeo (LPS) é o principal componente da membrana externa de bactérias Gram-negativas, sendo apontado como um importante ativador da resposta imune em infecções. Ele é uma macromolécula glicolipídica que tem em sua composição o “lipídio A”, uma região lipídica bifosforilada ligada a uma cadeia de sacarídeo (DI LORENZO et al., 2018). Para o LPS ser reconhecido pelo sistema imune, é essencial a ativação de um receptor do tipo *Toll* encontrado em diversas células imunes, como os neutrófilos e macrófagos, que é o receptor TLR4. No meio intracelular, a sinalização leva a translocação do fator nuclear κ B (NF- κ B) para o núcleo, e lá ele é responsável por conduzir a transcrição de genes reguladores das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α (Figura 2) (NIJLAND, HOFLAND et al., 2014).

Figura 2: O LPS ativando o receptor TLR4, presente na membrana de neutrófilos e macrófagos, e o NF- κ B regulando mediadores inflamatórios.



Fonte: Modificado de SAAVEDRA, 2012.

2.3 LESÃO PULMONAR AGUDA

A lesão pulmonar aguda (LPA) ou Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), é uma doença clínica inflamatória caracterizada pela migração de células imunes para o pulmão, ocasionando lesões na membrana do alvéolo-capilar e acarretando insuficiência respiratória ao portador. Apesar dos estudos desenvolvidos ao longo dos anos, o número de pacientes afetados ainda é

expressivo, bem como a taxa de mortalidade. (LEE et al., 2016). Pacientes com LPA geralmente apresentam dispneia grave, taquipneia e hipoxemia resistente, além das características clínicas da lesão inicial, como perfuração do intestino e sepse (FORCE et al., 2012).

Ashbaugh e colaboradores foram os primeiros a relatar sobre a LPA em 1967, através de um estudo com 12 pacientes hospitalares que apresentavam desconforto respiratório agudo. Por meios de análises clínicas e fisiopatológicas, foi possível avaliar que os doentes também tinham diminuição da complacência pulmonar e testes radiográficos do tórax apontaram a presença de infiltrados pulmonares (ASHBAUGH et al., 1967).

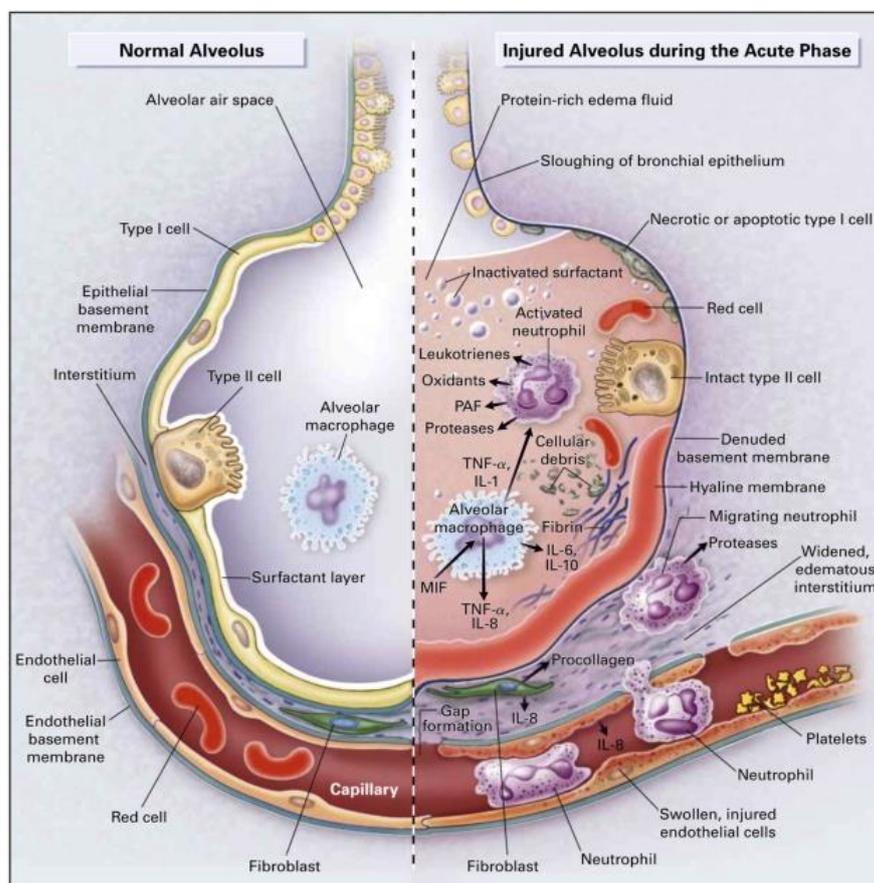
A LPA pode se originar de diversas causas, podendo ser diretas e indiretas. A aspiração do conteúdo gástrico, inalação de fumaça, contusão pulmonar e pneumonia são consideradas causas diretas; enquanto que as indiretas são a sepse grave, bacteremia, múltiplas fraturas ósseas, pancreatite, trauma não pulmonar, overdose de drogas e transfusão de sangue (CARLUCCI et al., 2012).

Os fatores de risco provocam o extravasamento, para o espaço alveolar, de fluido rico em proteínas, causando a inativação do surfactante, sendo este responsável pela a tensão superficial alveolar. Em seguida, há um aumento da tensão superficial alveolar e a redução da complacência pulmonar. Há também formação da membrana hialina na membrana basal do alvéolo com o aumento de proteínas e fibrina (PAREKH et al., 2011; KRÜGER; LUDMAN, 2014).

Esse quadro clínico pode ser dividido em três fases, sendo elas: exsudativa, proliferativa e fibrótica. A fase exsudativa, é relacionada à formação da membrana hialina ocasionada pelo dano alveolar que leva ao edema intersticial. Os alvéolos são preenchidos com fluido protéico, formando uma membrana que prejudica as trocas gasosas. A inativação do surfactante pelo fluido também é um ponto importante dessa fase, o que leva a perda da complacência pulmonar e o colapso dos alvéolos (BHARGAVA; WENDT, 2012; KRÜGER; LUDMAN, 2014). A segunda fase se inicia com a diminuição do fluido proteico e o aumento de fibroblastos, causando o comprometimento da integridade da barreira alvéolo-capilar. Acentua-se a formação da fibrose intersticial com o crescimento epitelial abaixo ou através da membrana hialina (BHARGAVA e WENDT, 2012; AGGARWAL et al., 2014).

A lesão na barreira alvéolo-capilar provoca o influxo de leucócitos para o espaço alveolar (Figura 3). Inúmeros estudos têm comprovado a importância dos macrófagos como iniciadores da resposta inflamatória na LPA (GAO et al., 2012). Normalmente, essas células são ativadas via famílias de receptores TLRs, que estão presentes em células imunocompetentes capazes de reconhecer padrões moleculares presentes em patógenos microbianos e ativar o sistema imune para a formação da resposta inata (KAWAI; AKIRA, 2011). Os macrófagos alveolares colaboram no estímulo e ativação de neutrófilos por meio da liberação de quimiocinas (MURRAY; WYNN et al., 2011). Esses neutrófilos, ao penetrarem no espaço alveolar, liberam moléculas que potencializam a inflamação, como proteases, fator ativador de plaqueta (PAF) e leucotrienos. Eles também são responsáveis por liberar espécies reativas de oxigênio (EROs) e enzimas proteolíticas com capacidade oxidativas, como é o caso da mieloperoxidase (MPO) (KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013).

Figura 3: Transição da estrutura e função alveolar normal (lado esquerdo) em relação as múltiplas respostas e mediadores celulares após a lesão da membrana alvéolo-capilar (lado direito) na fase aguda da LPA.



Fonte: MATTHAY; ZIMMERMAN, 2005.

Apesar de essenciais, os polimorfonucleares (PMN) potencializam a LPA quando sua função se torna desregulada e o seu excesso prejudica o tecido, uma vez que eles regulam positivamente moléculas citotóxicas (GAO et al., 2012; KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013). Os macrófagos também secretam mediadores-chaves no desenvolvimento da doença, como o TNF- α e as interleucinas, que podem ser pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, IL-8 e o) ou anti-inflamatórias (IL-10). Estudos relataram que a elevação dos níveis de interleucina 6 está associada ao aumento da mortalidade nos pacientes com LPA. Após a lesão do endotélio, inicia-se o processo de reparação tecidual com a produção da rede fibrosante. O recrutamento de neutrófilos, bem como a formação de radicais livres e a produção de pró-colágeno estão associados à lesão endotelial capilar (MARSHALL et al., 2002; MURRAY; WYNN et al., 2011; SILVERSIDES; FERGUSON, 2013).

Atualmente, o tratamento para LPA tem como base terapias ventilatórias e não ventilatórias, entretanto nenhum dos tratamentos disponíveis mostrou resultados concretos na melhoria do quadro clínico dos pacientes. A terapia mais comum é a ventilação mecânica, em função da insuficiência respiratória hipoxêmica apresentada, mas já foi constatado que essa forma de tratamento pode contribuir ainda mais com a lesão no pulmão (SILVERSIDES; FERGUSON, 2013; DOS SANTOS SILVA et al., 2017). As terapias não ventilatórias incluem a utilização de fármacos vasodilatadores, antioxidantes, e principalmente, corticosteroides (CÁRDENES et al., 2013).

Por se tratar de uma doença inflamatória, a maioria dos fármacos tem como objetivo inibir as cascatas associadas em vários níveis (CÁRDENES et al., 2013). Apesar do crescente número de medicamentos que agem no tratamento de doenças respiratórias controlarem os sintomas da doença, como é o caso dos agonistas beta 2-adrenérgicos, antagonistas dos receptores de leucotrienos, inibidores da fosfodiesterase e os próprios corticosteroides, eles também são responsáveis por induzirem os efeitos colaterais a longo prazo (SWEENEY; GRIFFITHS; MCAULEY, 2013; STRINGER et al., 2016). Sendo assim, embora a LPA seja uma síndrome comum e de fácil identificação, o seu índice de mortalidade ainda é elevado por seus tratamentos não surtirem efeitos (WANG et al., 2018).

2.4 ESTRESSE OXIDATIVO E OS SISTEMAS ANTIOXIDANTES

As espécies reativas (ERs), como os radicais livres, são moléculas atômicas capazes de estabilizar moléculas biológicas estáveis, capturando os seus elétrons. Devido a sua configuração eletrônica, esses compostos possuem como característica principal a alta instabilidade, tornando-os desencadeadores de danos oxidativos por meio da interrupção de reações químicas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Em sua grande maioria, são responsáveis por muitas funções fisiológicas, entretanto, sua presença nos sistemas biológicos pode afetar diretamente a estrutura de várias substâncias orgânicas, levando a quadros inflamatórios, doenças cardiovasculares e até mesmo cânceres (BOROSKI et al., 2015).

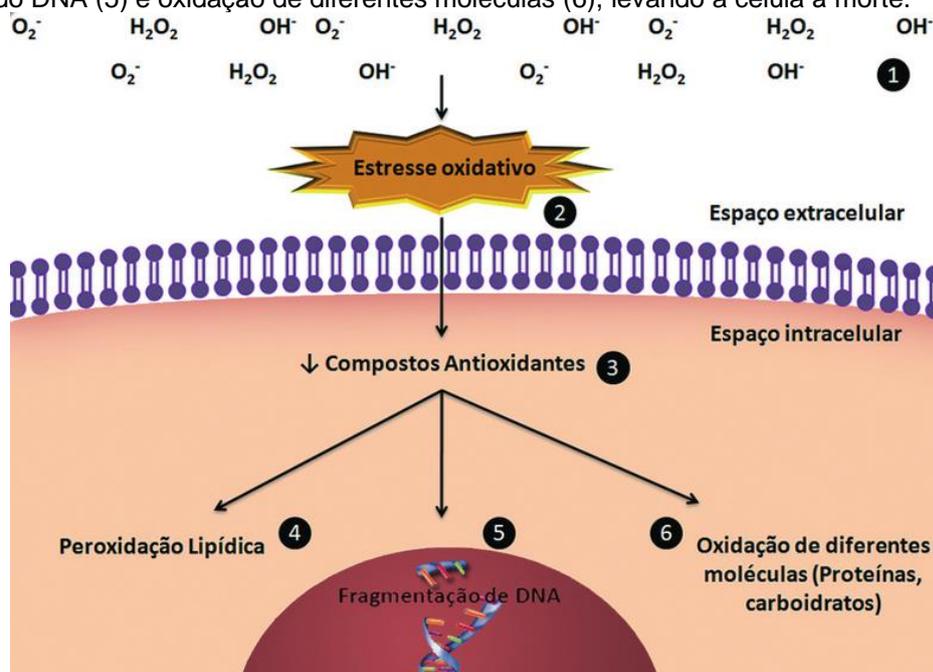
As ERs podem ser divididas em espécies reativas de oxigênio (EROs), como o radical hidroxila (HO) e o ânion superóxido (O_2^-); e as espécies reativas de nitrogênio (ERNs), como o óxido nítrico (NO). O NO reage facilmente com moléculas de O_2^- , se tornando extremamente nocivo às biomoléculas devido a alta reatividade (FERREIRA et al., 2018).

Em contrapartida, os compostos antioxidantes têm o poder de doar um elétron de sua estrutura para estabilizar os radicais livres, servindo como grandes aliados na prevenção e redução do dano oxidativo no organismo (MITTLER et al., 2011). Esses compostos são classificados quanto a sua forma de origem, podendo ser sintéticos ou encontrados na natureza como produto do desenvolvimento das plantas. Assim, os antioxidantes vegetais têm despertado grande interesse do meio científico, levando em consideração a grande diversidade de recursos botânicos e por seus inúmeros benefícios a saúde humana (BOROSKI et al., 2015).

Os sistemas antioxidantes podem se comportar de forma enzimática quando bloqueiam o início do processo oxidativo com auxílio de enzimas, como por exemplo a catalase (CAT) e o superóxido dismutase (SOD); ou podem agir de forma não-enzimática quando há a interação com os radicais livres, levando ao consumo dos mesmos ao longo do processo. A glutathiona reduzida (GSH) e os compostos fenólicos, encontrados nas plantas, são exemplos de sistemas não enzimáticos (BRIEGER et al., 2012; RAMALINGAM; KIM, 2012).

Nos processos inflamatórios são produzidas várias ERs pelas células envolvidas, este é o caso leucócitos que liberam diversos indutores como as citocinas, prostaglandinas e os leucotrienos, fazendo com haja um agravamento e progressão da doença (COBB; COLE, 2015). Os neutrófilos são capazes de gerar grandes quantidades de ERs para destruição de agentes infecciosos, como bactérias e vírus (PYNE, 1994). Os sistemas antioxidantes têm um papel importante nas infecções, pois esses quadros clínicos podem ser entendidos como um estresse oxidativo responsável por desencadear inúmeras patologias (YANG et al., 2015). Dessa forma, o estresse oxidativo é um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, ocorrendo quando há uma superprodução de radicais livres e a deficiência dos sistemas antioxidantes, o que influencia diretamente as respostas celulares (Figura 4) (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Figura 4: Superprodução de ERs (1) ocasionando estresse oxidativo (2) devido à redução dos compostos antioxidantes intracelulares (3) promovendo diversas alterações: peroxidação lipídica (4), fragmentação do DNA (5) e oxidação de diferentes moléculas (6), levando a célula à morte.



Fonte: LUZ et al., 2011.

Estudos recentes levantaram uma relação ainda mais intensa entre a capacidade de sequestro de espécies reativas através dos antioxidantes naturais, com o potencial anti-inflamatório desses compostos, servindo como uma grande alternativa para o tratamento de doenças inflamatórias induzidas por radicais livres (SILVA et al., 2014).

2.5 PLANTAS MEDICINAIS E O SEU POTENCIAL TOXICOLÓGICO

O uso das plantas medicinais é uma prática extremamente difundida pelas comunidades tradicionais. Levando em consideração a deficiência do sistema público de saúde em alcançar diversas áreas do Brasil, ainda nos dias atuais, essas pessoas veem como alternativa para o tratamento de suas enfermidades a vasta quantidade de recursos naturais encontrados ao redor de suas moradias, bem como a facilidade de acesso (CEOLIN et al., 2011; PIRES et al., 2014). É interessante afirmar que muitos dos seus hábitos terapêuticos estão embasados nas suas crenças espirituais, que englobam não só cuidados com o corpo, mas com a mente e o próprio meio ambiente, exigindo uma necessidade ainda maior na preservação desses recursos, que servem também como fonte de renda e alimentação (ZANK et al., 2015). Além de ajudar na cura das enfermidades, a manutenção dessas plantas é uma ferramenta no resgate desses saberes populares, quebrando paradigmas e diminuindo o preconceito, pois valoriza o indivíduo e a sua fonte de sobrevivência (SALES; SARTOR; GENTILLI, 2015).

Desde os tempos antigos, as plantas não foram somente fonte de alimentação, mas também fonte de compostos bioativos. As propriedades terapêuticas das plantas medicinais são bem reconhecidas mundialmente e representam a descoberta de novos produtos farmacêuticos (RODRIGUES et al., 2016; MALEKI; AKHANI, 2017). Há um crescente interesse por produtos derivados da biodiversidade e, nesse aspecto, o Brasil é privilegiado, pois possui a maior biodiversidade de espécies de plantas conhecidas do mundo (DUTRA et al., 2016).

Entretanto, o uso indiscriminado dessas plantas pode trazer prejuízos à saúde, visto que pesquisas apontam que diversas espécies possuem substâncias nocivas, e por este motivo devem ser utilizadas de forma ponderada e conhecendo os seus efeitos toxicológicos (MARTINS et al., 2016). De uma maneira geral, a maioria das plantas produzem substâncias agressivas para qualquer indivíduo que as utilizem, e uma série de fatores está relacionada a esses possíveis efeitos como a frequência de administração, a dose e o modo como é utilizada a planta. Com a dificuldade na realização de testes em humanos, visto que as normas éticas nesses casos são mais restritas, se torna necessário o uso de animais experimentais para a realização de testes não clínicos essenciais para a investigação da segurança desses produtos naturais (RUPPENTHAL, 2013).

Dentre os animais comumente empregados nesse tipo de pesquisa, estão os roedores que tem como principais representantes os ratos e camundongos. Os métodos clássicos utilizando animais ainda são os que melhor mostram reprodutibilidade quando comparados com as respostas humanas, apesar de todo aparato tecnológico que vem crescente no cenário científico atual (SAGANUWAN et al., 2017).

Estudos de toxicidade são de extrema importância para comprovar avaliar a segurança de uso de uma planta, ao passo que afirmam os seus benefícios para saúde do indivíduo que está usufruindo. Ao aprofundar estes, também é possível analisar qual a melhor dose a ser utilizada e o nível de frequência das administrações (RUPPENTHAL, 2013). Essas informações são a base na condução do tratamento adequado para o paciente, que vise sempre a diminuição dos efeitos nocivos do produto e a potencialização dos seus efeitos benéficos para o organismo (BUCK; ZUR NIEDEN, 2018).

2.6 O BIOMA CAATINGA

A flora da Caatinga é considerada um dos mais importantes tipos de vegetação brasileira por se tratar de um bioma exclusivo do país. Ela representa cerca de 11% do território nacional está localizada nos Estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia e Minas Gerais (QUEIROZ, 2009). Outro aspecto importante diz respeito ao alto grau de endemismos das espécies encontradas nesse bioma, sendo a maioria delas obrigada a desenvolver características necessárias para a sobrevivência em motivo das mudanças climáticas extremas desse ambiente, passando por um processo de hiperaridez, além da ação antrópica que se torna imprescindível para a população que depende dessas espécies como fonte de subsistência (SIQUEIRA FILHO, 2012). Por ser um bioma predominantemente quente e seco, com uma alta incidência luminosa, sua vegetação é prioritariamente xerófila, arborescente e caducifólia, com espécies de porte médio ou baixo (ALVES, 2009).

Estudos etnobotânicos sobre as plantas da Caatinga mantêm como foco a utilização destas, pelas populações, com finalidades medicinais. Uma grande parcela desses estudos aponta que a inflamação se destaca como principal alvo no uso das espécies nativas da região, o que torna de grande importância as

pesquisas com objetivo de fundamentar esse potencial (ARAÚJO et al., 2008; AGRA et al., 2008; ALENCAR et al., 2010). Entretanto, apesar de ser um bioma único, a Caatinga ainda é pouco estudada cientificamente no Brasil, mas muito explorado, principalmente por madeiras que depositam seus esforços na extração de lenha (SANTOS et al., 2013).

Uma das famílias botânicas que possuem representantes na Caatinga é a família Sapotaceae, composta de 53 gêneros com, aproximadamente, 600 espécies. É consideravelmente uma família pouco estudada, entretanto os gêneros *Pouteria*, *Gambeya*, *Argania*, *Sideroxylon*, *Calocarpum*, *Butyrospermum*, *Madhuka*, e *Chrysophyllum* são os mais investigados tendo em vista sua presença em grande parte dos estudos etnobotânicos (NIGAM et al., 1992; NICOLAS et al., 1995; OULAD-ALI et al., 1996). As espécies dessa família possuem capacidades terapêuticas relevantes devido à presença de compostos bioativos resultantes do seu metabolismo secundário, como triterpenos, esteroides, taninos e polifenóis (SÁNCHEZ-MEDINA et al., 2009; SANTOS et al., 2015; DE SALES et al., 2017).

2.7 *Sideroxylon obtusifolium*

A *Sideroxylon obtusifolium* (Humb. ex Roem. & Schult.) T.D. Penn., antigamente catalogada como *Bumelia sartorum*, pertence à família Sapotaceae, sendo popularmente conhecida como Quixabeira, Rompe-gibão, Maçaranduba-da-praia, Sacutiaba, Guaraniná, Ibirá-niná (LORENZI; MATOS, 2008). É uma planta que apresenta grande da sua população no bioma Caatinga, mas também ocorre no Cerrado, na Mata Atlântica e no Pantanal. Além disso, possui ampla distribuição geográfica no Brasil, nas regiões Norte, Nordeste, Centro-oeste, Sudeste e Sul (CARNEIRO et al., 2015). Seu porte é arbóreo e sua casca áspera superficialmente fissurada, com o ápice possuindo galhos espinhosos. Possui folhas coriáceas, com disposição oposta ou em espiral, e suas flores em aglomerados, bissexuadas, com coloração verde-armarelas (PENNINGTON, 1990; LORENZI, 2002). Seu fruto do tipo drupa com sementes normalmente globosas, alimenta a fauna local o que culmina em uma forma de dispersão zoocórica (DA SILVA; DANTAS, 2018).

Figura 5: *Sideroxylon obtusifolium* (Quixabeira).



Fonte: SILVA; DANTAS, 2017.

Considerada uma planta medicinal, a *S. obtusifolium* possui um potencial farmacêutico elevado, e é utilizada no tratamento de várias enfermidades, como gastrites, infecções bacterianas, cicatrização (ALBUQUERQUE et al., 2007). Mas devido a extração exacerbada e a falta de cuidados no seu cultivo, essa planta entra na lista de espécies ameaçadas de extinção (SANTOS et al. 2018).

É comprovado por meio de estudos bibliográficos que a parte mais utilizada, tanto pelos populares quanto por pesquisadores, é a sua casca (GOMES et al., 2010; SILVA et al., 2012). A coleta da casca significa um dano grave para a planta, muitas vezes irreparável, constituindo, assim, uma situação preocupante para a espécie (BRITES; MORSELLO, 2016). Sabe-se que a folha é, provavelmente, o órgão vegetal mais visado em situações de herbivoria, obrigando as plantas a produzirem adaptações fisiológicas protetivas (OBATA et al., 2015). Sendo assim, é na folha que encontramos, com maior frequência, o metabolismo mais ativo em relação aos demais órgãos, além do fato de que é a parte mais suscetível ao crescimento rápido quando retirada, na maioria das situações (AGRA et al., 2008; SANTOS et al., 2018,).

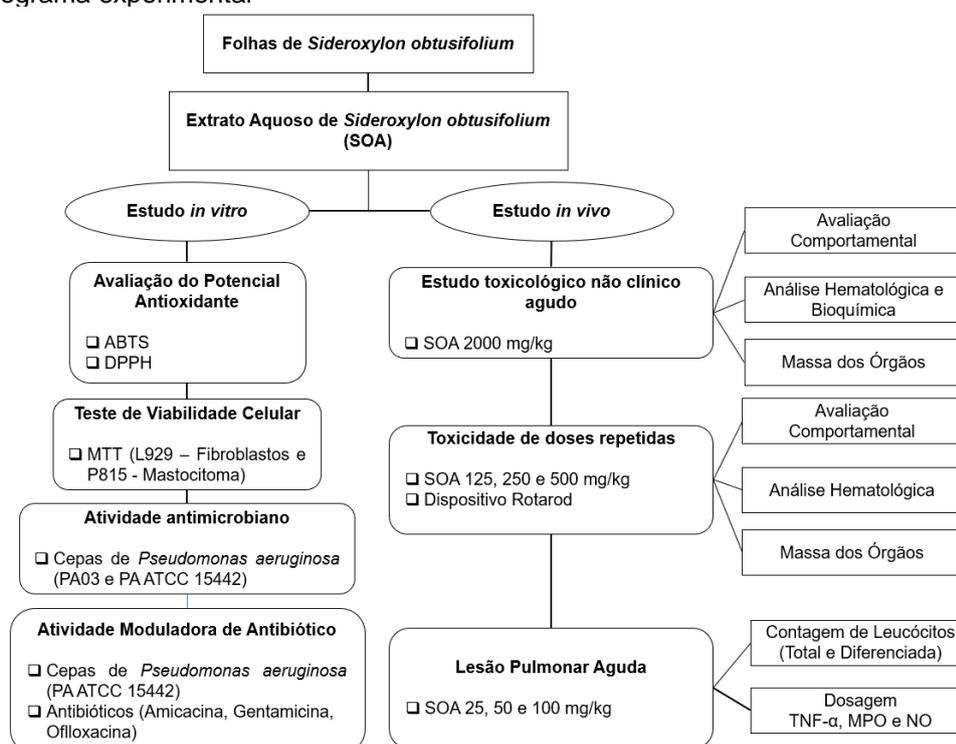
Nesse contexto, o mérito do presente trabalho é utilizar as folhas da quixabeira, coletadas no estado da Paraíba, visando o seu potencial metabólico como alternativa medicinal segura, e causando o menor dano possível à espécie.

3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

3.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL E OBTENÇÃO DO EXTRATO DAS FOLHAS

As folhas da *S. obtusifolium* foram coletadas no município de Ingá (7° 14' 17" Sul, 35° 36' 57" Oeste – 247 m), zona metropolitana de Itabaiana-PB, identificada e depositada no Herbário UFP- Geraldo Mariz, localizado no centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, sob o número de tombamento 84.225. O material foi submetido à secagem em estufa à 40 °C por um período de 14 dias e, em seguida, triturado com o auxílio de um moinho de facas. Para obtenção do extrato aquoso (SOA) foi utilizado 240 g do material vegetal para 1 L de água destilada, no qual foi submetido a um processo de infusão à 90 °C durante 30 minutos e o seu filtrado foi logo depois liofilizado. O desenho experimental do trabalho está expresso na Figura 6. Calculou-se o rendimento total dos extratos, de acordo com a fórmula: $Re = (P_{extrato} / P_{folhas}) \times 100$. Sendo Re = Rendimento total do extrato (%); Mext = Massa do extrato liofilizado (g); PMolhas = Massa do pó utilizado na preparação do extrato

Figura 6: Fluxograma experimental



Fonte: Dados da pesquisa

3.2 ESTUDO *IN VITRO*

3.2.1 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO EXTRATO AQUOSO DE *S. obtusifolium*

Os testes de atividade antioxidante foram feitos através do método de sequestro de radicais livres DPPH e ABTS. A redução do radical DPPH (2,2 difenil – 1- picrilhidrazil) foi determinada pela mudança colorimétrica medida em 517 nm. Foram adicionados 2,5 µL do extrato a uma solução de 1,0 mL de acetato de sódio 100 mM, 500 µL de DPPH 0,5 mM e 1 mL de etanol 96%. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo (BLOIS, 1958).

O segundo ensaio foi realizado de acordo com Re et al (1999), o radical ABTS⁺ (2,2-azobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) foi formado a partir da reação de 7 mM de ABTS com 140 mM de persulfato de potássio, os quais foram incubados à temperatura ambiente e na ausência de luz, por 12-16 horas (tempo necessário para a formação do radical). Transcorrido esse período, a solução foi diluída em etanol até a obtenção de uma solução com absorvância de 0,70 (± 0,05) a 734 nm. Foram misturados 30 µL do extrato aquoso de *S. obtusifolium* (1 mg/mL) com 3 mL da solução de trabalho e deixados em repouso durante 6 min antes de se medir a absorvância a 734 nm. As absorvâncias das amostras foram interpoladas na curva de padrão construída com Trolox (100 a 2000 µM). Os resultados foram expressos em µM equivalentes de Trolox / mg de extrato. Para calcular o percentual de atividade antioxidante, o Trolox foi utilizado como controle positivo e a solução de trabalho como controle negativo. A atividade sequestradora do radical ABTS foi expressa em percentagem de inibição de ABTS⁺ de acordo com a equação:

$$\text{Inibição do ABTS (\%)} = [(\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}) / \text{Abs controle}] \times 100$$

3.2.2 CEPAS BACTERIANAS

As cepas utilizadas foram os isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*, normais (PA03) e multirresistentes (PA ATCC 15442). As estirpes bacterianas foram mantidas a 37°C em Ágar Nutriente (Difco Laboratories) no Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da Universidade Regional do Cariri (URCA).

3.2.3 ENSAIO ANTIMICROBIANO E MODULADOR DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA

Tubos de poliestireno foram preparados com 100 µL do inóculo bacteriano e 900 µL do meio de cultura BHI a 20% em placas de 96 poços preenchidas em sentido numérico pela adição de 100 µL desta solução em cada poço. Posteriormente, foi realizada uma microdiluição em série com 100 µL do extrato aquoso de *S. obtusifolium*, partindo da concentração de 1024 µg/mL. O controle de esterilidade foi preparado com apenas 100 µL de BHI (20%). As placas foram incubadas durante 24 horas a 37 °C. Para a leitura da concentração inibitória mínima bacteriana (CIM), 20 µL de resazurina foram adicionados a cada poço e após 1 h foi observada a mudança de coloração, onde a modificação da coloração azul para vermelha corresponde ao crescimento microbiano e a permanência em azul a ausência de crescimento, conforme estabelecido pelo CLSI (2008).

Para cada eppendorf foram utilizados 1162 µL de BHI a 20% com 150 µL do inóculo bacteriano de *Pseudomonas aeruginosa* e 188 µL do extrato aquoso de *S. obtusifolium* partindo da concentração de 1024 µg/mL. As placas foram preenchidas em ordem numérica e cada poço recebeu 100 µL de solução. O controle de esterilidade foi preparado com apenas 100 µL de BHI (20%). A microdiluição foi realizada com 100 µL de cada antibiótico (amicacina, ofloxacina e gentamicina) até o penúltimo poço e os volumes finais foram descartados. As placas foram então incubadas a 37 °C durante 24 horas e lidas 1h após a adição de resazurina. Os testes foram realizados em triplicata (COUTINHO et al., 2009).

3.2.4 CULTURA DE CÉLULAS

Células L929 (fibroblastos de camundongos) e P815 (mastocitomas de camundongos) foram mantidas na secção de Cultura de Células do BIOFARMATOX do Departamento de Antibióticos/UFPE, em meio DMEM suplementado com 10% soro fetal bovino e 1% antibióticos (penicilina 1000 UI/mL contendo estreptomicina 250 mg/mL e 1% L-glutamina 200 mM), em uma atmosfera úmida de 5% de CO₂ a 37°C.

3.2.5 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR

Foi realizado pelo ensaio colorimétrico de MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio), conforme ALLEY e colaboradores (1988). As linhagens celulares estudadas na concentração de 10^5 células/mL foram distribuídas em uma placa de 96 poços e incubadas por 24 horas a 37 °C, em estufa enriquecida com CO₂. Em seguida as amostras, dissolvidas em DMSO (0,1%), foram adicionadas aos poços nas concentrações de 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 µg/mL. Após 72 horas de reincubação, foi adicionado 25 µL de MTT (5 mg/mL) e após mais 3 horas de incubação, o meio de cultura com o MTT foi aspirado e 100 µL de DMSO adicionado a cada poço. A absorbância foi medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 560 nm. Os experimentos foram realizados em triplicata.

3.3 ESTUDO *IN VIVO*

3.3.1 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos albinos Swiss de ambos os sexos (massa = 30-35g) e camundongos Balb/c fêmeas (massa = 30-35g), provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno à temperatura de 22 ± 2 °C, com ciclo claro/escuro de 12 horas, recebendo ração balanceada e água *ad libitum*. O projeto foi devidamente aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPE (Processo nº 0047/2018).

3.3.2 ENSAIO TOXICOLÓGICO NÃO CLÍNICO AGUDO

Grupos de três camundongos albinos Swiss fêmeas receberam por via oral o extrato aquoso de *S. obtusifolium* na dose de 2000 mg/kg e o grupo controle recebeu o veículo (NaCl 0,9%). Os animais foram observados na primeira hora, após a administração, pelo método de *screening* hipocrático (MALONE, ROBICHAUD, 1962). Durante os 14 dias seguintes foram avaliados o consumo de água, ração, massa corporal e mortalidade. No 14º dia, os animais foram eutanasiados recebendo uma dose anestésica de cetamina (300 mg/kg) e xilazina (30 mg/kg) por via intraperitoneal e foi realizada a coleta de sangue, por punção cardíaca, para os

exames hematológicos e bioquímicos. Após a eutanásia, foram coletados fígado, rim e baço para observação macroscópica. O experimento foi repetido, sendo o *n* final igual a 6 animais por grupo (OECD, 2001). A massa relativa dos órgãos foi mensurada pela fórmula:

Massa Relativa: (massa do órgão/massa do animal) x 100 (YAM et al., 2009).

3.3.3 DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE DE DOSE REPETIDA

Foi utilizada a metodologia recomendada pela *Organisation for Economic Cooperation and Development* (OECD, 2008). Inicialmente, os camundongos foram divididos em quatro grupos com 5 machos e 5 fêmeas. O extrato nas doses de 125, 250 e 500 mg/kg para os grupos tratados e o veículo (NaCl 0,9%) para o grupo controle foram administrados diariamente por gavagem durante 28 dias. Os camundongos foram observados durante todo o estudo. A mortalidade foi registrada e a presença, ausência, aumento ou diminuição dos sinais de toxicidade foram comparados com o estado basal (grupo controle). No 28º dia, os animais foram submetidos ao desempenho no dispositivo Rotarod, e após isso todos os animais foram eutanasiados recebendo uma dose anestésica de cetamina (300mg/kg) e xilazina (30mg/kg) por via intraperitoneal e o sangue foi coletado através do sinus retro orbital para realização dos exames hematológicos. Todos os animais foram submetidos a necropsia no final do estudo de toxicidade, ou antes, em caso de morte. Para análise macroscópica, foram obtidas amostras do fígado, rim, baço, coração, cérebro, glândula adrenal e testículos ou ovários. A massa relativa dos órgãos foi mensurada pela fórmula:

Massa Relativa: (massa do órgão/massa do animal) x 100 (YAM et al., 2009).

3.3.4 DETERMINAÇÃO DE EFEITOS MOTORES

Ao final do 28º dia do teste de toxicidade de dose repetida, o dispositivo rotarod foi utilizado para medir a coordenação motora nos animais. Nesse experimento, após a familiarização inicial, os animais foram colocados numa haste rotativa que acelerou suavemente de 4 a 40 rpm durante 5 min e a latência de queda foi pontuada automaticamente por um computador. As experiências foram repetidas 3 vezes para cada animal e a média foi calculada (VAFEE et al., 2014).

3.3.5 EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO SOBRE LESÃO PULMONAR AGUDA

Quarenta e oito camundongos Balb/c fêmeas foram divididos em seis grupos de 8 animais: grupo controle (NaCl 0,9%); grupo LPS; grupo LPS + dexametasona (0,5 mg/kg); grupos LPS + extrato aquoso de *S. obtusifolium* (25, 50 e 100 mg/kg). Os animais receberam solução de cloreto de sódio, dexametasona ou o extrato, por gavagem, e após 1 hora foram desafiados com 25 µL de lipopolissacarídeo (25 mg/µL de NaCl 0,9%) por instilação intranasal. Vinte e quatro horas após receberem o LPS, os animais foram eutanasiados por sobredosagem de anestésico (cetamina 300 mg/kg + xilazina 30 mg/kg) e o lavado broncoalveolar (LBA) foi coletado para análise de migração leucocitária e níveis de óxido nítrico. A porção do tecido pulmonar foi coletada para a determinação da atividade da enzima mieloperoxidase e dosagem da citocina TNF- α (DOS SANTOS et al., 2018).

3.3.5.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE TNF- α

Neste experimento, foi realizada a quantificação dos níveis de TNF- α , do sobrenadante do homogenato dos pulmões, por meio de kit BD Cytometric Bead Array (CBA) Mouse Th1/Th2/Th17 Cytokine, utilizando um sistema reagente específico para camundongos, de acordo com as instruções do fabricante (*eBioscience*, San Diego, Califórnia, EUA). Os resultados foram expressos em pg/mL.

3.3.5.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO (NO)

Para avaliar a produção de NO, a concentração de nitrito (metabólito estável do NO) foi medida pelo LBA dos animais. Uma alíquota de 50 µL de amostra foi transferida para uma microplaca e incubada com 50 µL de reagente de Griess modificado (sulfanilamida 1%, N-(1-naftil) etilenodiamina dicloridrato 0,1%, H₃PO₄ 5%) por 10 minutos em temperatura ambiente e protegido da luz. A absorbância foi medida em 540 nm em leitor de microplacas e a concentração de nitrato foi calculada usando uma curva padrão de nitrito de sódio (GIUSTARINI et al., 2008).

3.3.5.3 DETERMINAÇÃO DO ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE (MPO)

O experimento foi realizado em triplicata, utilizando microplacas de 96 poços. O ensaio consistiu na utilização de 20 μL de sobrenadante do homogenato dos pulmões em 80 μL de H_2O_2 (concentração final 0,147 mM) diluída em tampão fosfato 50 mM pH 6,0 contendo dicloridrato de dianisidina (concentração final de 0,526 mM). As amostras foram lidas em leitor de microplacas no comprimento de onda de 460 nm e os resultados foram expressos em densidade ótica/tecido (Do/tecido) (BRADLEY et al., 1982)

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão da média. Para comparação múltipla de resultados paramétricos foi utilizado ANOVA, seguido de pós-teste Tukey. Para o ensaio de citotoxicidade, foi utilizado o pós-teste Bonferroni. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$ e os dados foram analisados através do software *GraphPad Prism 7.0*.

4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE *Sideroxylon obtusifolium* (ROEM. & SCHULT.) T.D. PENN

A partir das folhas de *Sideroxylon obtusifolium* coletadas no Estado da Paraíba, calculou-se que o rendimento do extrato aquoso, obtido pelo método de infusão, foi de 3,17%.

Os extratos vegetais são misturas altamente complexas por possuírem em sua composição diversas classes de produtos naturais com atividades medicinais variadas. O processo de preparação se inicia com a retirada da matéria-prima, seguida da extração de seus componentes por solventes, podendo ser orgânicos ou água (GURJAR et al., 2012). Oliveira et al. (2016) afirma que o método de extração, bem como o solvente utilizado e a temperatura têm influência direta no rendimento final do extrato.

A escolha do solvente varia de acordo com a polaridade dos compostos alvo. Os solventes polares se mostram mais eficientes na captura de componentes polares, enquanto os apolares também atraem os de mesma natureza (STANBURY et al., 2016). A extração por infusão ocorre através da permanência do material vegetal em água fervente, durante um certo período de tempo. Em geral, são utilizadas as partes moles do plantas, como as folhas, que podem ser cortadas ou contundidas para facilitar o processo de extração (SIMÕES et al., 2001).

Segundo Pavarini et al. (2012), a síntese dos compostos naturais das plantas podem ser influenciada por diversos fatores abióticos, como temperatura; disponibilidade de água; composição do solo; radiação ultravioleta, entre outros; e os fatores bióticos, como o ataque de patógenos, poluição e estímulos mecânicos. Logo, o local onde a planta foi coletada e o período do ano são os pontos de maior importância no estudo das espécies vegetais e seus componentes, uma vez que a produção destes seja sensível a esses fatores (NCUBE; FINNIE; VAN STADEN, 2012). Sendo assim, a utilização do extrato bruto de *Sideroxylon obtusifolium* para a exploração das atividades biológicas de seus componentes pode elucidar seus efeitos possíveis farmacológicos e constituir um alternativa terapêutica para o tratamento de diversas doenças.

4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE *S. obtusifolium*

É possível avaliar e validar o potencial antioxidante das plantas ou componentes isolados por diversas metodologias laboratoriais. Dentre elas, as mais comuns são os métodos de captura dos radicais livres DPPH e ABTS (CRAFT et al., 2012). Outras metodologias, têm como objetivo a captura dos radicais hidroxila e peroxila (TRAP), na redução do metal (FRAP) e na análise dos produtos formados pela peroxidação lipídica (TBARS).

O método ABTS (2,2'azinobis(3-ethylbenzothiaziline-6sulfonate) consiste no monitoramento da oxidação do radical pela adição de um antioxidante. É um método bastante utilizado por ser estável e ser aplicável tanto em antioxidantes lipofílicos, quanto hidrofílicos (CHRISTODOULEAS et al., 2015). Já o DPPH (2,2 difenil – 1-picrilhidrazil) é um radical livre de coloração violeta que ao ser reduzido por uma amostra antioxidante se torna amarelo claro. É considerado um método rápido, eficiente e de baixo custo, sendo frequentemente utilizado para análise de amostras vegetais. Seus resultados são obtidos através através do cálculo da concentração inibitória de 50% do radical (CE₅₀) (RUFINO et al., 2010).

A capacidade antioxidante do extrato aquoso das folhas de *S. obtusifolium*, avaliada pelos métodos DPPH e ABTS, está representada na Tabela 1. A CE₅₀, estimada pela atividade sequestradora de radicais livres DPPH, foi estimada de 160,38 ± 7,87 µg/mL em relação ao padrão ácido ascórbico. Quanto ao radical ABTS, o extrato apresentou uma capacidade de sequestro de 59,64 ± 1,47 %.

Tabela 1: Atividade antioxidante do extrato de *S. obtusifolium* pelos métodos DPPH e ABTS.

Extratos	CE ₅₀ (µg/mL)	TEAC (µM Trolox/mg de extrato)	ABTS ⁺ (%)
SOA	160,38 ± 7,87	1864 ± 54,85	59,64 ± 1,47
Ácido ascórbico	16,734 ± 0,32	-	-

Valores em média ± desvio padrão. CE₅₀: capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico; TEAC: capacidade antioxidante equivalente ao Trolox.

O gênero *Sideroxylon* possui uma atividade antioxidante importante, como confirmou Momtaz (2008) ao avaliar alguns componentes puros do extrato metanólico da casca de *Sideroxylon inerme* L. pelo ensaio de DPPH. Schmeda-Hirschmann et al. (2005) relatou em um estudo com amostras de vinte e cinco plantas coletadas na Argentina, utilizando extratos solúveis em metanol e avaliando o seu efeito sequestrador de radicais livres DPPH, que o fruto da *S. obtusifolium* apresentou um desempenho mediano quando comparado com as espécies que obtiveram o melhor resultado na pesquisa.

Desmarchelier et al. (1999), por sua vez, utilizou os extratos metanólico e aquoso da casca de *S. obtusifolium* em um estudo sobre quatro espécies anti-inflamatórias do estado da Bahia, com diferentes metodologias antioxidantes *in vitro*. O potencial antioxidante reativo total (TRAP), determinado por monitorização da intensidade da quimiluminescência, foi considerado significante de ambos extratos, em especial o extrato aquoso que se comportou de forma dose-dependente. Os extratos também se mostraram ativos na peroxidação lipídica avaliada por meio da produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

O potencial antioxidante das plantas está frequentemente relacionado à presença dos compostos fenólicos em seu metabolismo, devido à capacidade de doar elétrons para radicais livres vegetais, se tornam ótimos sequestradores dessas moléculas (AMAROWICZ et. al., 2010).

O resultado aponta que a seleção etnofarmacológica de plantas com essa capacidade pode ser útil, principalmente para aquelas utilizadas no tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, em especial para a espécie *S. obtusifolium*.

4.3 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (MIC) E DO EFEITO MODULADOR DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA

As infecções por micro-organismos crescem a cada ano, principalmente por bactérias que desenvolvem mutações genéticas responsáveis pela resistência à uma variedade de antimicrobianos (TANWAR et al., 2014).

Os micro-organismos oportunistas são os principais causadores de doenças infecciosas, afetando indivíduos imunologicamente debilitados, sendo os pacientes das UTIs os que mais se enquadram nessa categoria (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012; ABHISHIKTHA et al., 2015).

As bactérias Gram-negativas são consideradas as mais difíceis de serem controladas, pois, em relação às Gram-positivas, elas possuem uma membrana externa, formada principalmente por LPS, que constitui mais uma barreira a ser transpassada pelos antibióticos (SILHAVY; KAHNE; WALKER, 2010; ZIEMSKA; RAJNISZ; SOLECKA, 2013).

Esses agravantes fazem com que a procura por novos agentes antimicrobianos seja intensificada e é nos produtos naturais que podem ser encontrados compostos bioativos farmacologicamente promissores (KASHYAP; TULI; SHARMA, 2016).

Coutinho et al. (2010) avaliaram que os produtos naturais possuem um grande potencial para combater micro-organismos, como as bactérias, em virtude da sua capacidade de reverter a resistência à antimicrobianos ou inibir mecanismos antibióticos complexos, como a bomba de efluxo. Esse potencial pode ser devido à presença de compostos com reconhecida atividade antibacteriana no mundo vegetal, que são os metabólitos secundários. Os compostos fenólicos são uma das classes mais numerosas de metabólitos secundários e uma das suas principais funções é a proteção contra herbivoria, fazendo com que haja o desenvolvimento de mecanismos de defesa da planta contra predadores, patógenos e micro-organismos (LI et al., 2014; ABREU; MCBAIN; SIMÕES, 2012).

Os inibidores de resistência bacteriana são compostos modificadores de atividades antibióticas frente à cepas resistentes, diminuindo a concentração inibitória mínima do antimicrobiano (CIM). A CIM serve como um parâmetro para avaliar a capacidade da amostra testada, ao buscar a menor concentração capaz de impedir o crescimento do micro-organismo (MAIA et al., 2011; ELSHIKH et al., 2016).

Os resultados referentes à atividade antibacteriana do extrato aquoso de *S. obtusifolium* estão expressos na Tabela 2. O teste mostrou que o extrato aquoso de *S. obtusifolium* apresentou uma CIM ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$ frente a duas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (03 e ATCC 15 442).

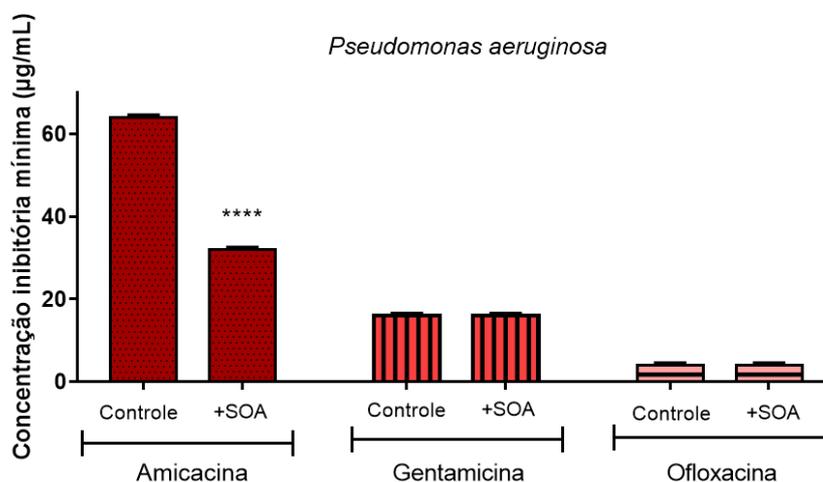
Tabela 2: Concentração inibitória mínima (CIM) ($\mu\text{g/mL}$) do extrato aquoso das folhas de *S. obtusifolium* frente a duas linhagens de *Pseudomonas aeruginosa*.

Cepa Bacteriana	SOA ($\mu\text{g/mL}$)
PA03	≥ 1024
PA ATCC 15 442	≥ 1024

Valores em média \pm desvio padrão.

Quando associado com o antibiótico aminoglicosídeo amicacina, o extrato apresentou atividade sinérgica ($p < 0,0001$) frente às cepas multirresistentes de *Pseudomonas aeruginosa*. O sinergismo do extrato representou uma inibição de 50%, quando comparado com controle amicacina (Figura 7). Não houve modulação dos antibióticos gentamicina e ofloxacina quando associados ao extrato.

Figura 7: Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) de antibióticos na ausência e presença do extrato aquoso das folhas de *S. obtusifolium* frente a cepas multirresistentes de *Pseudomonas aeruginosa*.



Valores em média \pm desvio padrão. Análise de variância ANOVA seguido de pós-teste Tukey. Diferença estatisticamente significativa dos valores de controle **** $p < 0,0001$).

Os resultados observados corroboram com os achados de Leandro et al. (2013), ao avaliar os extratos metanólico e hexânico da casca de *S. obtusifolium*. A CIM dos extratos foi de $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ frente as cepas normais e multirresistentes de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Entretanto, o extrato metanólico mostrou atividade sinérgica quando combinado com amicacina frente à cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, confirmando o efeito potencializador desse antibiótico, tanto pela casca, quanto pelas folhas da espécie.

No estudo realizado por Salgado et al. (2017) as frações acetato de etila e n-butanol da casca da raiz de *S. obtusifolium* alcançaram um bom desempenho ao inibir o crescimento dos micro-organismos *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, em modelo antimicrobiano de difusão em disco ágar. Entretanto, não foi verificado o mesmo efeito contra a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli*. O ensaio antibacteriano realizado por Ruela et al. (2011) contra 28 isolados de *S. aureus* mostraram que a fração etanólica da casca *S. obtusifolium* inibiu todas as bactérias testadas na concentração de $512 \mu\text{g/mL}$, incluindo os isolados hospitalares resistentes e sensíveis.

Sendo assim, ao conseguir uma ação potencializadora do antibiótico amicacina, o extrato aquoso das folhas de *S. obtusifolium* se mostra um agente farmacológico promissor no combate de doenças infecciosas.

4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DO EXTRATO AQUOSO DE *S. obtusifolium*

A triagem *in vitro* é realizada para avaliar a biocompatibilidade do composto frente às células, normalmente, envolvidas no quadro clínico estudado e visando a menor citotoxicidade. Esta, por sua vez, se trata do efeito tóxico a nível celular, podendo ser causado por alterações enzimáticas ou de permeabilidade membranar, e levar à morte da célula (HANKS; WATAHA; SUN, 1996; LI et al., 2015).

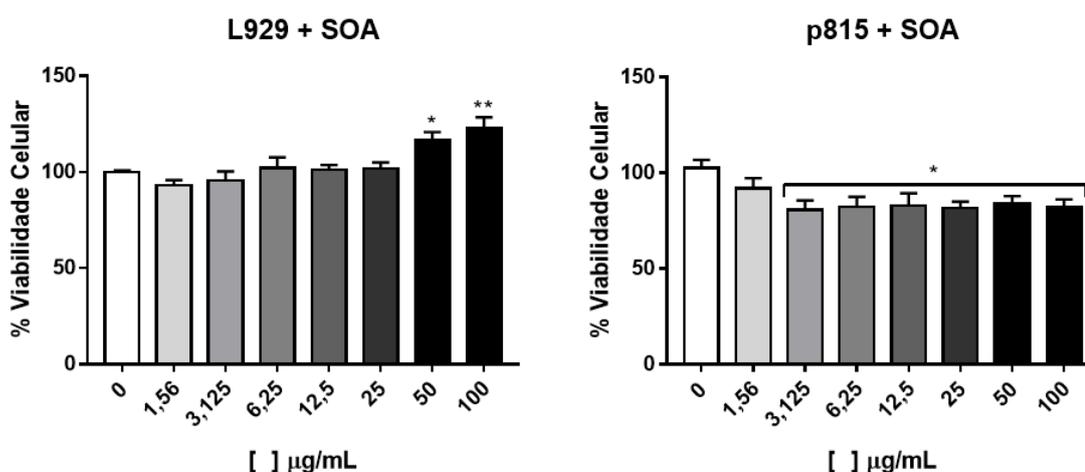
A citotoxicidade do composto é frequentemente estudada através do ensaio de MTT (brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazólico), que tem como base o estudo da atividade mitocondrial de células vivas e pode ser feito utilizando diferentes tipos de células (TANG et al., 2007). O MTT é um sal de coloração amarela que sofre a redução pela ação da enzima succinato desidrogenase, formando os cristais de formazan com coloração púrpura. A formação desses cristais

mostra o estado metabólico das células viáveis, sendo diretamente proporcional ao seu número (BHATIA; YETTER, 2008; PORTO et al., 2011).

Os fibroblastos são importantes agentes no processo de reparo da lesão na LPA ao produzirem diversas proteínas de matriz, estimulados pelo fator de crescimento TGF- β (CASSETA; CASSOL; POLI, 2011).

Os resultados do teste de citotoxicidade sobre as linhagens de células murinas apontam que o extrato aquoso de *S. obtusifolium* induziu a proliferação dos fibroblastos L929 nas concentrações mais altas testadas (50 e 100 $\mu\text{g/mL}$), enquanto que frente aos mastocitomas P815 causou uma redução da proliferação nas concentrações de 3,125 à 100 $\mu\text{g/mL}$. Os resultados obtidos pelo ensaio colorimétrico de MTT estão representados na Figura 8.

Figura 8: Potencial citotóxico do extrato aquoso de *S. obtusifolium* sobre o percentual de viabilidade celular (%) da linhagem murina de fibroblastos L929 e mastocitomas P815.



Valores em média \pm desvio padrão. Análise de variância ANOVA seguido de pós-teste Bonferroni. ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$.

Os resultados do ensaio citotóxico do extrato das folhas de *S. obtusifolium* se aproximam dos descritos por Pitz et al. (2016) que, utilizando o extrato hidroalcoólico da casca de *Plinia cauliflora*, promoveu a proliferação celular dos fibroblastos L929 na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ após 24 horas e a concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ após 48 horas. Souza et al. (2012), fazendo uso do extrato aquoso de folhas de *Pouteria torta*, uma espécie pertencente a família Sapotaceae, mostrou que a concentração de 30,01 mg/mL induziu a proliferação leve dos fibroblastos em comparação ao controle, após 24 horas de tratamento.

A P815 é uma linhagem de mastocitoma derivada de camundongos, comumente utilizada como modelo experimental *in vitro* para estudo de reações anafilactoides, por serem capazes de produzir serotonina e histamina (SCHINDLER; DAY, 1959; HU et al, 2015;). De acordo com Tracey et al. (2008), a progressão da resposta inflamatória da LPA pode ser mediada por mastócitos ao liberarem aminas vasoativas, aumentando a permeabilidade capilar. Estas células também são responsáveis por possuir receptores TLR, ativadores da resposta imune após o reconhecimento do LPS.

A redução na proliferação das células P815 pode significar uma possível alternativa terapêutica na diminuição na resposta inflamatória aguda gerada por mastócitos. Kim et al. (2002) comprovou que a resposta inflamatória é reduzida ao utilizar um análogo do salsolinol, a tetrahidropapaverolina. O composto diminuiu em 44,9% o conteúdo de serotonina, de forma dependente da concentração sobre a linhagem P815 em uma concentração de 5,0 mM por 24 h. Efeito semelhante sobre outra amina foi investigado por Noriaki et al. (1989), ao avaliar a ação do ácido glicirretínico sobre a síntese de histamina por mastocitoma P815 induzida por dexametasona. Foi constatado que o ácido inibiu os efeitos da dexametasona no conteúdo de histamina produzida nas concentrações de 20 a 35 µM.

Os resultados do presente estudo associados aos achados da literatura podem ser um indício de que a *S. obtusifolium* pode atuar na degranulação de mastócitos, inibindo a liberação de aminas vasoativas, além de levar a reparação tecidual, em tecidos lesados, através do aumento proliferativo de fibroblastos. Entretanto, mais estudos precisam ser realizados para elucidar sua ação.

4.5 ENSAIO TOXICOLÓGICO NÃO CLÍNICO AGUDO E DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE DE DOSE REPETIDA

Sabe-se que utilização de plantas como fitoterápicos pela população é um hábito antigo, seja no tratamento de enfermidades ou por costumes religiosos. Elas são usadas na forma de chá ou garrafadas por suas propriedades terapêuticas. Entretanto, o uso sem o devido controle e conhecimento pode gerar graves prejuízos à saúde, pois muitas dessas plantas possuem constituintes que podem ser tóxicos (CRUZ et al., 2015; CAMPOS et al., 2016).

Para Simões et al. (2003), uma grande parcela das pessoas acredita que as plantas medicinais não acarretam efeitos adversos em relação aos fármacos sintéticos disponíveis no mercado, o que se tornou um problema de saúde pública. As substâncias presentes nas plantas podem ser menos tóxicas do que as isoladas em laboratório por sua concentração mais baixa ou em interação com outras substâncias que inibam ou diminuam o seu efeito, mas isso vai depender da dosagem absorvida pelo indivíduo, podendo ser até mais prejudicial que muitos medicamentos com efeitos colaterais conhecidos (LIU et al., 2015). A avaliação da toxicidade dos produtos naturais em laboratórios por meios de experimentos *in vitro* e *in vivo*, é a maneira mais adequada de testar os possíveis efeitos da substância e confirmar o seu potencial farmacêutico sem riscos a saúde (NASRI; HEDAYATOLLAH et al., 2013; KHARCHOUFA et al., 2018).

Uma das principais formas de avaliar o potencial toxicológico de um composto é através da sua administração em animais, ao se realizar os testes de toxicidade aguda ou em doses repetidas (PARASURAMAN, 2015). Esses estudos toxicológicos não-clínicos geralmente têm como foco essencial a avaliação comportamental do animal, além dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e histopatológicos na avaliação *post mortem* (BRANNEN et al., 2017).

Os animais que receberam do extrato aquoso de *S. obtusifolium* por via oral na dose de 2000 mg/kg não apresentaram sinais de toxicidade durante a monitoração diária e não foi registrada mortalidade. A massa corporal dos animais do grupo tratado não apresentou diferença significativa com relação ao controle, assim como a massa dos órgãos (Tabela 3).

O resultado do teste indicou que a DL_{50} do extrato aquoso das folhas de *S. obtusifolium* é superior a 2000 mg/kg de massa corporal, sendo classificado na categoria 5 de toxicidade segundo a *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals* (GHS) (OECD, 2001).

Tabela 3: Efeitos da administração aguda do extrato aquoso de *S. obtusifolium* na dose de 2000 mg/kg sobre a massa corporal, o consumo de ração, a ingestão hídrica e a massa relativa dos órgãos de camundongos.

Parâmetros	Tratamentos	
	Controle	SOA 2000 mg/kg
Consumo de ração (g)	32 ± 3,2	36,3 ± 3,7
Consumo de água (mL)	40,5 ± 5,9	36,4 ± 5,8
Massa inicial (1 ^o dia)	32,83 ± 1,72	33,33 ± 2,06
Massa final (14 ^o dia)	36,33 ± 2,73	35 ± 2,89
Índice de órgãos (mg/g)		
Fígado	6,30 ± 0,84	6,49 ± 0,95
Rim esquerdo	0,52 ± 0,24	0,53 ± 0,68
Rim direito	0,63 ± 0,09	0,68 ± 0,06
Baço	0,62 ± 0,01	0,73 ± 0,06

Valores em média ± desvio padrão (n=6). Análise de variância ANOVA seguido de pós-teste Tukey.

Os parâmetros hematológicos e bioquímicos não apresentaram diferença estatística entre o grupo tratado em relação ao grupo controle. Os dados estão expressos na Tabela 4.

Tabela 4: Efeitos da administração aguda do extrato aquoso de *S. obtusifolium* na dose de 2000 mg/kg sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos de camundongos.

Parâmetro	Controle	SOA 2000 mg/kg
Análise Hematológica		
Leucócitos ($10^3/mm^3$)	5,43±2,40	5,75±3,16
Hemácias ($10^6/mm^3$)	11,66 ± 1,01	12,24±0,39
Hemoglobina (g/dL)	17,75±2,07	17,93±1,05
Hematócrito (%)	59,13±6,53	62,41±3,09
VCM (fm3)	50,5±1,37	51±2,7
HCM (pg)	15,21±0,51	14,65±0,96
CHCM (g/dl)	30±0,58	28,71±0,43
Análise Bioquímica		
Uréia (mg/dL)	44,16±4,57	51±12,88
Creatinina (mg/dL)	0,14±0,01	0,12±0,02
TGO/AST (U/L)	81,66±37,22	91,66±36,07
TGP/ALT (U/L)	40,16±12,54	39,83±27,66
Proteínas totais (mg/dL)	5,51±1,56	5,06±0,36
Fosfatase alcalina (mg/dL)	93,83±21,75	104,16±29,65

Valores expressos em média ± desvio padrão (n=6). Análise de variância ANOVA seguido de pós-teste Tukey. Diferença estatisticamente significativa dos valores de controle. ****p <0,0001.

Tendo como base os dados toxicológicos do estudo de toxicidade aguda, foram empregadas as doses de 125, 250 e 500 mg/kg do extrato aquoso de *S. obtusifolium*, na avaliação da toxicidade de dose repetidas (28 dias). Apenas uma morte foi constatada ao longo do experimento, ocorrendo no grupo de fêmeas tratadas com SOA 500 mg/kg fêmeas. Entretanto, não há indícios suficientes que comprovem ter sido causada por efeito do extrato, já que exceto o animal que veio a óbito, os demais animais não exibiram quaisquer sinais de toxicidade, tais como salivação, diarreia, tremores, convulsões e perturbações na respiração (Tabela 5). Não houve aumento nas massas corporais do dia 1 ao dia 28 estatisticamente significativo em relação ao controle.

Tabela 5: Efeito da administração oral de doses repetidas do extrato aquoso de *S. obtusifolium* (125,250 e 500 mg/kg) durante 28 dias sobre a massa corporal, o consumo de ração e ingestão hídrica de camundongos

Sexo/Grupos	Massa inicial (1º dia)	Massa final (28º dia)	Consumo de ração (g/dia)	Ingestão hídrica (mL/dia)
Machos				
Controle	38,4 ± 2,5	44,4± 2,07	92,66 ± 49,14	245 ± 28,5
SOA 125 mg/kg	37,8 ± 1,48	45 ± 1,82	89,83 ± 3,7	278,33 ± 56,8
SOA 250 MG/KG	35,2 ± 1,3	40,2 ± 4,54	103,16 ± 23,29	246,66 ± 68,23
SOA 500 MG/KG	32,6 ± 2,19	37,4 ± 1,67	106,83 ± 30,1	305 ± 79,24
Fêmeas				
Controle	35 ± 2	41,2± 3,70	86,5 ± 42,09	302,5 ± 87,6
SOA 125 mg/kg	29,2 ± 1,64	33,2 ± 2,28	82,83 ± 58,8	282,5 ± 74,41
SOA 250 MG/KG	31,6 ± 1,81	35 ± 3	93,75 ± 38,48	295 ± 34,88
SOA 500 MG/KG	28,4 ± 1,34	32,2 ± 0,95	107 ± 36,65	303 ± 117,62

Valores expressos em média ± desvio padrão. Machos (n=5), Fêmeas (n=5). Análise de variância ANOVA seguido de pós-teste Tukey.

Foi constatada diminuição na massa relativa dos fígados dos machos que receberam a dose de 500 mg/kg ($p < 0,001$) e das fêmeas que receberam a dose de 250 e 500 mg/kg ($p < 0,0001$). A massa dos demais órgãos não diferiram estatisticamente do grupo controle (Tabela 6).

Tabela 6: : Efeito da administração oral de doses repetidas do extrato aquoso de *S.obtusifolium* (125,250 e 500 mg/kg) durante 28 dias sobre massa relativa dos órgãos de camundongos.

Sexo/Grupos	Controle	SOA 125 mg/kg	SOA 250 mg/kg	SOA 500 mg/kg
Machos				
Cérebro	1,068 ± 0,11	1,105 ± 0,06	1,13 ± 0,14	1,167 ± 0,08
Pulmão	1,162 ± 0,6	1,175 ± 0,31	0,97 ± 0,2	0,924 ± 0,25
Coração	0,804 ± 0,3	0,639 ± 0,18	0,433 ± 0,03	0,485 ± 0,05
Fígado	5,198 ± 0,29	5,415 ± 0,41	5,01 ± 0,81	4,604 ± 0,61***
Rim direito	0,716 ± 0,07	0,622 ± 0,08	0,608 ± 0,07	0,57 ± 0,03
Rim esquerdo	0,723 ± 0,08	0,623 ± 0,06	0,561 ± 0,11	0,574 ± 0,02
Baço	0,490 ± 0,15	0,603 ± 0,12	0,391 ± 0,04	0,424 ± 0,07
Adrenal direita	0,039 ± 0,04	0,045 ± 0,48	0,018 ± 0,003	0,023 ± 0,005
Adrenal esquerda	0,039 ± 0,04	0,034 ± 0,05	0,019 ± 0,009	0,022 ± 0,006
Testículo direito	0,313 ± 0,01	0,362 ± 0,06	0,342 ± 0,05	0,33 ± 0,03
Testículo esquerdo	0,326 ± 0,026	0,34 ± 0,08	0,312 ± 0,02	0,326 ± 0,05
Fêmeas				
Cérebro	1,314 ± 0,09	1,443 ± 0,06	1,325 ± 0,13	1,445 ± 0,07
Pulmão	1,165 ± 0,21	1,228 ± 0,34	0,89 ± 0,17	0,99 ± 0,16
Coração	0,564 ± 0,05	0,426 ± 0,06	0,403 ± 0,05	0,47 ± 0,02
Fígado	5,741 ± 0,53	5,514 ± 0,47	4,876 ± 0,43****	5,038 ± 0,29****
Rim direito	0,559 ± 0,009	0,508 ± 0,1	0,58 ± 0,05	0,582 ± 0,02
Rim esquerdo	0,576 ± 0,02	0,593 ± 0,05	0,581 ± 0,05	0,575 ± 0,01
Baço	0,763 ± 0,14	0,575 ± 0,12	0,562 ± 0,02	0,686 ± 0,16
Adrenal direita	0,248 ± 0,31	0,031 ± 0,01	0,038 ± 0,014	0,125 ± 0,185
Adrenal esquerda	0,025 ± 0,01	0,0976 ± 0,14	0,099 ± 0,14	0,089 ± 0,004
Ovário direito	0,036 ± 0,02	0,045 ± 0,01	0,056 ± 0,003	0,042 ± 0,01
Ovário esquerdo	0,04 ± 0,02	0,039 ± 0,006	0,12 ± 0,14	0,0416 ± 0,01

Valores expressos em média ± desvio padrão. Machos (n=5), Fêmeas (n=5). Análise de variância ANOVA seguido de pós-teste Tukey. **** $p < 0,0001$, *** $p < 0,001$.

Segundo Papineni et al. (2018), se roedores forem submetidos à substâncias possivelmente tóxicas, essas substâncias causarão certo grau de dano ao órgão alvo, diminuindo ou aumentando a sua massa, tanto quanto a razão massa órgão/corpo. Com relação aos parâmetros hematológicos, não foi observada diferença significativa do grupo tratado em relação aos animais do grupo controle (Tabela 7).

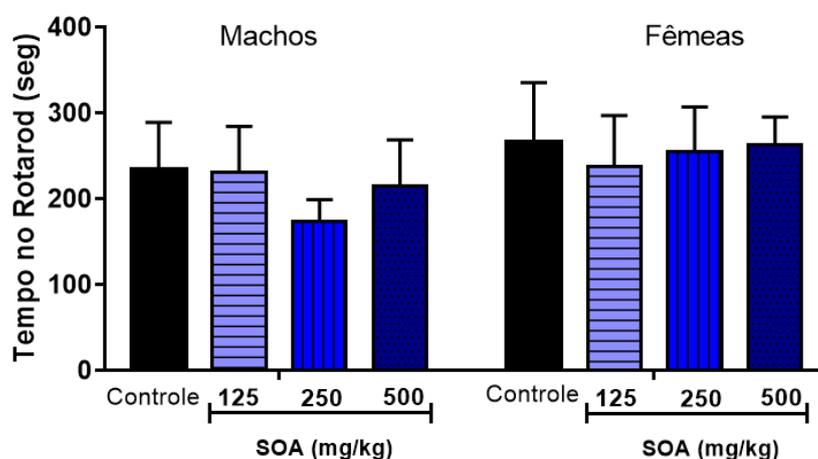
Tabela 7: Efeito da administração oral de doses repetidas do extrato aquoso de *S.obtusifolium* (125,250 e 500 mg/kg) durante 28 dias sobre os parâmetros hematológicos de camundongos.

Sexo/Grupos	Controle	SOA 125 mg/kg	SOA 250 mg/kg	SOA 500 mg/kg
Machos				
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	5,76 ± 3,15	10,46 ± 6,8	8,04 ± 4,42	8,23 ± 2,23
Hemácias ($10^6/\text{mm}^3$)	8,51 ± 0,90	9,03 ± 0,65	8,53 ± 2,33	9,66 ± 0,67
Hemoglobina (g/dL)	13,18 ± 1,36	14,14 ± 1,15	13,44 ± 3,66	15,04 ± 0,93
Hematócrito(%)	44,64 ± 3,27	47,74 ± 2,62	47,58 ± 13,52	53,76 ± 5,62
VCM (fm^3)	52,56 ± 1,87	52,9 ± 1,27	55,68 ± 2,30	55,58 ± 3,06
HCM (pg)	18,5 ± 6,70	15,64 ± 0,25	15,74 ± 0,39	15,58 ± 0,19
CHCM (g/dL)	29,48 ± 1,07	29,58 ± 0,89	28,32 ± 0,89	28,08 ± 1,68
Fêmeas				
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	26,8 ± 46,07	8,58 ± 3,76	8,84 ± 3,51	5,65 ± 1,87
Hemácias ($10^6/\text{mm}^3$)	8,79 ± 0,77	9,60 ± 0,73	9,49 ± 0,85	7,60 ± 2,39
Hemoglobina(g/dL)	13,38 ± 1,32	14,64 ± 1,07	14,82 ± 1,23	11,58 ± 3,80
Hematócrito (%)	45,72 ± 3,45	51,64 ± 3,65	52,22 ± 6,09	41,12 ± 13,10
VCM (fm^3)	52,04 ± 0,86	53,46 ± 1,51	54,96 ± 2,18	54,0 ± 0,53
HCM (pg)	15,22 ± 0,60	22,78 ± 16,78	15,64 ± 0,24	15,4 ± 0,34
CHCM (g/dL)	29,22 ± 1,11	25,62 ± 5,83	28,48 ± 1,28	28,5 ± 0,52

Valores em média ± desvio padrão. Machos (n=5), Fêmeas (n=5). Análise de variância ANOVA seguido de pós-teste Tukey.

O dispositivo rotarod é utilizado para medir a latência de queda do animal, observando possíveis efeitos tóxicos no sistema nervoso central, causados pela administração de drogas (KAUSHIK et al., 2016). A análise estatística revelou que não houve diferença significativa no tempo em que os animais dos grupos tratados se mantiveram na haste rotatória em relação ao grupo controle durante o teste do rotarod para avaliar a coordenação motora (Figura 9).

Figura : Efeito da administração oral de doses repetidas do extrato aquoso de *S.obtusifolium* (125,250 e 500 mg/kg) durante 28 dias sobre a coordenação motora de camundongos.



Valores em média \pm desvio padrão. Machos (n=4-5), fêmeas (n=4-5). Análise de variância ANOVA seguido de pós-teste Tukey.

Um estudo realizado por Almeida et al. (1985) apontou que a toxicidade aguda com extrato etanólico da casca de *Bumelia sartorum* sugere que o extrato é mais tóxico intraperitonealmente do que oralmente em roedores. Além disso, o extrato nas doses mais baixas (250-1000 mg/kg via oral) provocou leve sedação sem evidência de neurotoxicidade evidente, e em doses superiores (2000-4000 mg/kg via oral) produziram hipotonia seguida de dificuldade respiratória e alguns animais morreram devido a insuficiência respiratória. Ruela et al. (2011) observou que a administração, por via intraperitoneal, da fração acetato de etila da casca de *Bumelia sartorum* nas doses de 50, 100 ou 150 mg/kg não apresentou alterações físicas nos animais. Entretanto, as doses mais elevadas de 1500, 1000 e 5000 mg/kg apresentaram sedação após a administração levaram a 100, 80 e 20% de mortalidade, respectivamente.

As alterações descritas na literatura, em relação ao potencial sedativo da espécie, não foram observadas tanto a avaliação comportamental quanto no dispositivo Rotarod. O que sugere uma menor toxicidade do extrato aquoso das folhas em relação aos resultados da literatura.

4.6 EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO AQUOSO DE *S. obtusifolium* SOBRE LESÃO PULMONAR AGUDA

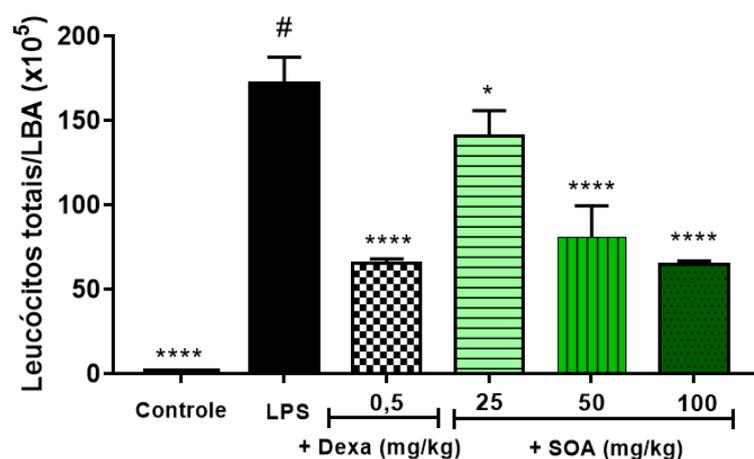
A lesão pulmonar aguda (LPA) é um quadro inflamatório acarretado por uma agressão à barreira alvéolo-capilar, causada pela interferência de diversos fatores clínicos envolvidos no processo, podendo levar ao quadro de insuficiência respiratória grave (BHATTACHARYA; MATTHAY, 2013).

Apesar dos esforços do sistema de saúde, nenhum tratamento farmacológico para a patologia demonstrou ser eficaz e a forma que continua sendo favorável para amenizar o quadro é a ventilação mecânica (FAN; BRODIE; SLUTSKY, 2018). Sendo assim, é necessária a busca contínua por agentes farmacológicos capazes de se tornar uma alternativa terapêutica para doença.

O modelo de LPA utilizando animais tem suas vantagens no estudo anti-inflamatório por se tratar de um experimento barato e de fácil reprodutibilidade. Além disso, a quantidade de mediadores envolvidos no processo elucida bem a resposta inflamatória (MATUTE-BELLO; FREVERT; MARTIN, 2008). O fator chave que caracteriza essa doença é a migração das células inflamatórias do sistema imune para o local da lesão. Esse evento acaba por prejudicar a barreira alveolar, e consequentemente, a permeabilidade vascular (BARNETT; WARE, 2011).

A análise do lavado broncoalveolar mostrou que o pré-tratamento com o extrato aquoso de *S. obtusifolium* diminuiu significativamente de forma dose-dependente, nas doses de 25 ($p < 0,5$), 50 e 100 mg/kg ($p < 0,0001$), o influxo de leucócitos totais para o pulmão dos animais com lesão pulmonar aguda induzida por lipossacarídeo, em relação ao grupo LPS (Figura 10).

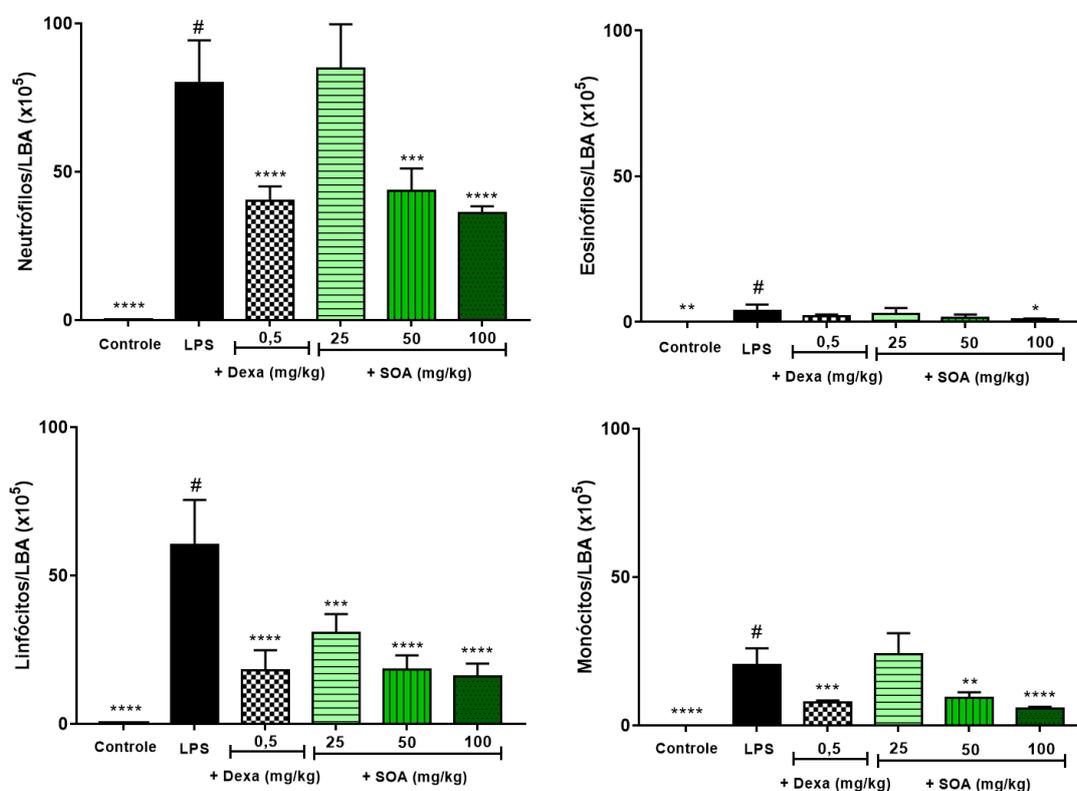
Figura 9: Efeito do pré-tratamento com extrato aquoso de *S. obtusifolium* sobre a migração de leucócitos para o pulmão dos animais com lesão pulmonar aguda induzida por LPS.



Valores em média \pm desvio padrão (n=4-5). ANOVA seguido de pós-teste Tukey. * $p < 0,05$, **** $p < 0,0001$, comparando ao grupo LPS (#). Dexa: dexametasona.

Os resultados da contagem diferencial de células presentes no LBA, mostraram que houve uma diminuição significativa no recrutamento de neutrófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos para o pulmão dos animais pré-tratados com SOA, quando comparados ao grupo LPS. Foi observada uma redução na migração de neutrófilos dos animais tratados nas doses de 50 mg/kg ($p < 0,001$) e 100 mg/kg ($p < 0,0001$), de eosinófilos na dose de 100 mg/kg ($p < 0,05$), de linfócitos nas doses de 25 mg/kg ($p < 0,001$), 50 e 100 mg/kg ($p < 0,0001$) e de monócitos nas doses de 50 mg/kg ($p < 0,01$) e 100 mg/kg ($p < 0,0001$).

Figura 10: Efeito do pré-tratamento com extrato aquoso de *S. obtusifolium* sobre o recrutamento de neutrófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos para o pulmão dos animais com lesão pulmonar aguda induzida por LPS.



Valores em média \pm desvio padrão ($n=4-5$). ANOVA seguido de pós-teste Tukey * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$, comparando ao grupo LPS (#). Dexa: dexametasona.

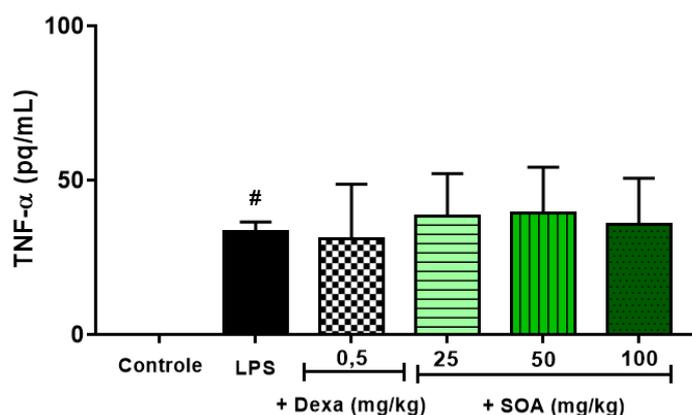
Mesmo tendo a sua migração para o pulmão atenuada pelo extrato de *S. obtusifolium*, os linfócitos aparentemente não tem uma atividade migratória relevante nas primeiras fases da LPA, pois o seu aumento é observado dias após o início da doença (XU et al., 2016). Entretanto, Nakajima et al. (2010) observou que camundongos com deficiência de linfócitos foram incapazes de aumentar o número neutrófilos, células-chave desse processo inflamatório, em resposta ao LPS. Já os eosinófilos, apesar de não serem considerados marcadores importantes da LPA, são células que se encontram em quantidade e níveis de degranulação aumentados em pacientes que sofrem desse quadro clínico (WILLETT et al., 2011).

Uma das células mais importantes na caracterização inflamatória da LPA, são os macrófagos (JOHNSTON et al., 2012). Na região do pulmão, existem macrófagos alveolares capazes de liberar mediadores pró-inflamatórios, como as interleucinas (IL-1 β e IL-12) e o TNF- α , em resposta ao reconhecimento de patógenos por meio de receptores *Toll*, como é o caso do LPS (GALLI; BORREGAARD; WYNN, 2011; AGGARWAL; KING; D'ALESSIO, 2014).

Foi visto que o extrato de *S. obtusifolium* reduziu a migração de monócitos para o pulmão (Figura 11), podendo vir a causar efeitos diretos na população de macrófagos. Segundo Brieland et al. (1992) um dos fatores que influenciam o aumento do número de macrófagos alveolares é o influxo de monócitos periféricos do sangue. A atividade dos monócitos presentes no LBA se mostra aumentada em pulmões com inflamação aguda e produção de citocinas durante infecções graves. Munoz et al. (1991) sugere que ativação de monócitos circulantes durante a sepse pode regular negativamente a produção de citocinas durante infecções graves.

Os resultados mostraram que os níveis de TNF- α , no sobrenadante do homogenato do tecido pulmonar do grupo tratado não apresentaram alteração significativa em relação ao grupo LPS (Figura 10).

Figura 11: Efeito do pré-tratamento com extrato aquoso de *S. obtusifolium* sobre os níveis de TNF- α presentes no tecido pulmonar dos animais com LPA.



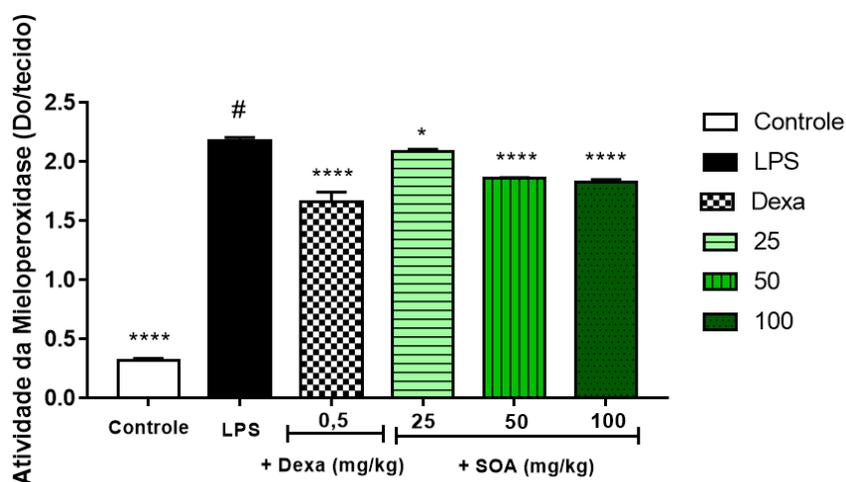
Valores em média \pm desvio padrão (n=4-5). ANOVA seguido de pós-teste *Tukey*, comparando ao grupo LPS (#). Dexa: dexametasona.

A produção de citocinas pró-inflamatórias tem influência direta no desenvolvimento da LPA, através do recrutamento de neutrófilos para o pulmão. O TNF- α é um dos principais mediadores envolvidos nessa ação, através do aumento de seus níveis, sendo reconhecido com um marcador de progressão da doença (STRIETER; KUNKEL; BONE, 1993; BHARGAVA et al., 2013).

Dentre todas as células envolvidas na LPA, os neutrófilos possuem o papel principal na doença. Ao serem ativados, afetam diretamente a membrana alvéolo-capilar, causando a sua ruptura. Essas células também são responsáveis por liberar moléculas oxidantes, como as ERs, além de proteases, agravando a lesão e aumentando a permeabilidade (GROMMES; SOEHNLEIN, 2011). A mieloperoxidase (MPO) é uma das principais enzimas liberadas pelos neutrófilos, com a função de catalisar a formação de oxidantes secundários (EL KEBIR et al., 2009).

A atividade da mieloperoxidase (MPO) foi medida para refletir os efeitos do extrato aquoso de *S. obtusifolium* sobre o acúmulo de neutrófilos. Como mostrado na Figura 12, em relação ao grupo LPS, o pré-tratamento com extrato aquoso de *S. obtusifolium* diferiu significativamente, de forma dose dependente, na atividade da MPO no tecido pulmonar, nas doses de 25 mg/kg ($p<0,05$), 50 e 100 mg/kg ($p<0,0001$).

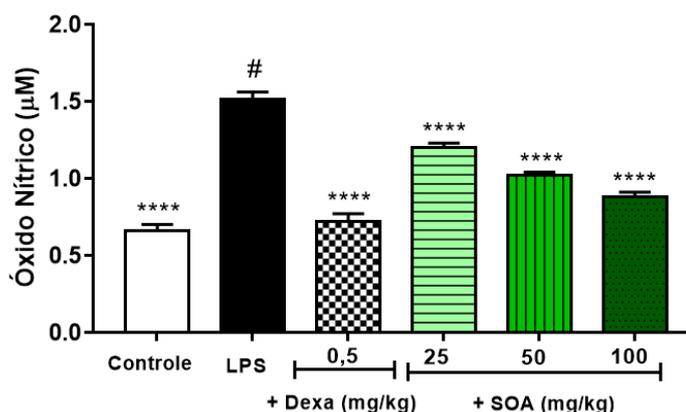
Figura 12: Efeito do pré-tratamento com extrato aquoso de *S. obtusifolium* sobre a atividade da enzima mieloperoxidase no tecido pulmonar dos animais com LPA.



Valores em média \pm desvio padrão ($n=5$). ANOVA seguido de pós-teste Tukey. * $p<0,05$, **** $p<0,0001$, comparando ao grupo LPS (#). Dexa: dexametasona.

A liberação de óxido nítrico no lavado broncoalveolar foi quantificada para analisar o estresse oxidativo imposto ao pulmão (Figura 13). O pré-tratamento com o extrato aquoso de *S. obtusifolium* reduziu os níveis de NO em relação ao grupo LPS, em todas as doses testadas ($p < 0,0001$).

Figura 13: Efeito do pré-tratamento com extrato aquoso de *S. obtusifolium* sobre a liberação de óxido nítrico no pulmão dos animais com LPA.



Valores em média \pm desvio padrão ($n=4-5$). ANOVA seguido de pós-teste *Tukey*. **** $p < 0,0001$, comparando ao grupo LPS (#). DEXA: dexametasona.

Zhang et al. (2016) avaliou que o óxido nítrico (NO) é um agente oxidante que está possivelmente ligado com as causas da LPA, influenciando o estresse oxidativo. Durante a sepse, óxido nítrico sintase (iNOS) produz NO e este reage com moléculas de O_2 criando oxidantes potentes, como o peroxinitrito ($ONOO^-$), que levam ao agravamento da lesão pulmonar (MALAVIYA et al., 2012).

Esses resultados sugerem que o extrato aquoso de *S. obtusifolium* possui efeito inibitório no influxo de neutrófilos para o pulmão dos animais com LPA, interferindo na produção de óxido nítrico e na atividade da mieloperoxidase, tendo em vista a redução da quantidade dessas células e agentes no LBA dos grupos tratados. Aquino et al. (2016) e Araujo-Neto et al. (2010) comprovaram esse efeito utilizando um composto isolado das folhas de *S. obtusifolium*, o N-metil- (2S, 4R) - trans-4-hidroxi-L-prolina e o extrato etanólico da casca de *S. obtusifolium*, respectivamente. Eles constataram que a espécie possui atividade anti-inflamatória principalmente na segunda fase (inflamatória) dos testes de formalina, a qual é caracterizada por uma liberação intensa de NO e prostaglandinas.

O extrato aquoso de *S. obtusifolium* se mostra promissor no tratamento de doenças inflamatórias, ao suprimir a migração leucocitária e a liberação de mediadores inflamatórios. Entretanto, mais estudos precisam ser realizados para comprovar esse potencial.

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesse trabalho, pode-se concluir que o extrato aquoso das folhas de *Sideroxylon obtusifolium* apresentou atividade antioxidante através da capacidade de sequestrar radicais livres DPPH e ABTS, além de atividade sinérgica associada à amicacina, potencializando o seu efeito antimicrobiano. No estudo toxicológico *in vitro*, o extrato aumentou a proliferação de fibroblastos L929, enquanto que reduziu a proliferação dos mastocitomas P815. Nos modelos *in vivo*, a DL₅₀ do extrato foi superior a 2000 mg/kg de massa corporal, e observou-se alterações na massa dos fígados dos animais que receberam doses repetidas do extrato. Em relação ao potencial anti-inflamatório, o pré-tratamento com o extrato diminuiu significativamente o percentual de leucócitos totais, principalmente de neutrófilos, monócitos, linfócitos e eosinófilos, além dos níveis de óxido nítrico presentes no lavado broncoalveolar e a atividade da mieloperoxidase no tecido pulmonar dos animais com lesão pulmonar aguda. Sendo assim, é possível afirmar que além da espécie apresentar baixa toxicidade, o seu uso popular por suas capacidades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória é fundamentado, tornando-a um alvo terapêutico promissor que deve ser mais profundamente investigado.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. HH.; PILLAI, S. **Cellular and molecular immunology**. Elsevier Health Sciences, 1994.

ABHISHIKTHA, S. N. et al. Antimicrobial and Radical Scavenging Efficacy of Leaf and Flower of *Aristolochia indica* Linn. **Science, Technology and Arts Research Journal**, v. 4, n. 1, p. 103-108, 2015.

AGGARWAL, N. R.; KING, L. S.; D'ALESSIO, F. R. Diverse macrophage populations mediate acute lung inflammation and resolution. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 306, n. 8, p. L709-L725, 2014.

AGGARWAL, N. R.; KING, L. S.; D'ALESSIO, F. R. Diverse macrophage populations mediate acute lung inflammation and resolution. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 306, n. 8, p. L709-L725, 2014.

AGRA, M. F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008..

ALENCAR, N. L. et al. The inclusion and selection of medicinal plants in traditional pharmacopoeias—evidence in support of the diversification hypothesis. **Economic Botany**, v. 64, n. 1, p. 68-79, 2010.

ALLEGIANZI, B. et al. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. **The Lancet**, v. 377, n. 9761, p. 228-241, 2011.

ALMEIDA, R. N.; BARBOSA FILHO, J. M.; NAIK, S. R. Chemistry and pharmacology of an ethanol extract of *Bumelia sartorum*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 14, n. 2-3, p. 173-185, 1985.

ALVES, H. K. D. R.; CAES, A. L. CONHECIMENTOS E PRÁTICAS DO USO DE PLANTAS MEDICINAIS COM ABORDAGEM ETNOBOTÂNICA, NO MUNICÍPIO DE MORRINHOS-GOIÁS: ESTUDO DE CASO. **XXVIII Simpósio Nacional de História, Florianópolis**, 2015.

ALVES, J. J. A.; DE ARAÚJO, M. A.; DO NASCIMENTO, S. S. Degradação da Caatinga: uma investigação ecogeográfica. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, 2009

AMAROWICZ, R. et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). **Food chemistry**, v. 121, n. 3, p. 705-711, 2010.

AMORIM, J. N. C. Patologia Humana. **Unidade de Educação a Distância-Newton**. 2014. 91p

ARAUJO-NETO, V. et al. Therapeutic benefits of *Sideroxylon obtusifolium* (Humb. ex Roem. & Schult.) TD Penn., Sapotaceae, in experimental models of pain and inflammation. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 933-938, 2010.

ARDEBILI, A. et al. Association between mutations in *gyrA* and *parC* genes of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates and ciprofloxacin resistance. **Iranian journal of basic medical sciences**, v. 18, n. 6, p. 623, 2015..

ASHBAUGH, D. G. et al. Acute respiratory distress in adults. **The Lancet**, v. 290, n. 7511, p. 319-323, 1967.

ATHWAL, D. S. et al. Antibody molecules specific to human tumour necrosis factor alpha. **U.S. Patent** n. 7,977,464, 12 jul. 2011.

AUJLA, S. J. et al. IL-22 mediates mucosal host defense against Gram-negative bacterial pneumonia. **Nature medicine**, v. 14, n. 3, p. 275, 2008.

BARNETT, N.; WARE, L. B. Biomarkers in acute lung injury—marking forward progress. **Critical care clinics**, v. 27, n. 3, p. 661-683, 2011.

BECEIRO, A. et al. Biological cost of different mechanisms of colistin resistance and their impact on virulence in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 1, p. 518-526, 2014.

BERNARDINI, S. et al. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. **Natural product research**, v. 32, n. 16, p. 1926-1950, 2018.

BHARGAVA, M.; WENDT, C. H. Biomarkers in acute lung injury. **Translational Research**, v. 159, n. 4, p. 205-217, 2012.

BHARGAVA, R. et al. Intratracheal IL-6 protects against lung inflammation in direct, but not indirect, causes of acute lung injury in mice. **PLoS One**, v. 8, n. 5, p. e61405, 2013.

BHATIA, S. K.; YETTER, A. B. Correlation of visual in vitro cytotoxicity ratings of biomaterials with quantitative in vitro cell viability measurements. **Cell biology and toxicology**, v. 24, n. 4, p. 315-319, 2008.

BHATTACHARYA, J.; MATTHAY, M. A. Regulation and repair of the alveolar-capillary barrier in acute lung injury. **Annual review of physiology**, v. 75, p. 593-615, 2013.

BLOIS, M. S. Determinações antioxidantes pelo uso de um radical livre estável. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199, 1958.

BOROSKI, M. et al. Antioxidantes - Princípios e Métodos Analíticos. 1o ed. Curitiba: Appris, 2015.

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

BRANNEN, K. C. et al. Alternative models of developmental and reproductive toxicity in pharmaceutical risk assessment and the 3Rs. **ILAR journal**, v. 57, n. 2, p. 144-156, 2017.

BRIEGER, Katharine et al. Reactive oxygen species: from health to disease. **Swiss medical weekly**, v. 142, p. w13659, 2012.

BRIELAND, J. K. et al. Effect of acute inflammatory lung injury on the expression of monocyte chemoattractant protein-i(MCP-i) in rat pulmonary alveolar macrophages. *Am.] Respir. Cell Mol. Biol*, v. 7, p. 134-139, 1992.

BRITES, A. D.; MORSELLO, C.. Efeitos ecológicos da exploração de produtos florestais não madeireiros: uma revisão sistemática. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 36, 2016.

BUCK, K.; ZUR N.; Nicole I. Risk Assessment Using Human Pluripotent Stem Cells: Recent Advances in Developmental Toxicity Screens. **Stem Cells in Birth Defects Research and Developmental Toxicology**, p. 91-117, 2018.

CAMPOS, S. C. et al. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1 supl I, p. 373-382, 2016.

CÁRDENES, N. et al. Mesenchymal stem cells: a promising therapy for the acute respiratory distress syndrome. **Respiration**, v. 85, n. 4, p. 267-278, 2013.

CARLUCCI, M. et al. Effective management of ARDS. **The Nurse Practitioner**, v. 39, n. 12, p. 35-40, 2014.

CARNEIRO, C. E. et al. Sapotaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2014.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. CFR. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and chemical toxicology**, v. 51, p. 15-25, 2013.

CASSETTA, L.; CASSOL, E.; POLI, G. Macrophage polarization in health and disease. **The Scientific World Journal**, v. 11, p. 2391-2402, 2011.

CEOLIN, T. et al. Plantas medicinais: transmissão do conhecimento nas famílias de agricultores de base ecológica no Sul do RS. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 45, n. 1, p. 47-54, 2011.

CHRISTODOULEAS, D. C. et al. Modified DPPH and ABTS assays to assess the antioxidant profile of untreated oils. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 5, p. 1294-1302, 2015.

CLEYNEN, I. et al. Characteristics of Skin Lesions Associated With Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Cohort Study. **Annals of internal medicine**, v. 164, n. 1, p. 10-22, 2016.

COBB, C. A.; COLE, M. P. Oxidative and nitrative stress in neurodegeneration. **Neurobiology of disease**, v. 84, p. 4-21, 2015.

CORREIA, S. et al. Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand?. **Journal of medical microbiology**, v. 66, n. 5, p. 551-559, 2017.

COSTA, T. R. D. et al. Secretion systems in Gram-negative bacteria: structural and mechanistic insights. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 6, p. 343, 2015.

COUTINHO, H. D. M. et al. Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia* L. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 9, n. 1, p. 13, 2009.

COUTINHO, H. D. M. et al. Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 33, n. 6, p. 467-471, 2010.

CROSS, LJ Mark; MATTHAY, M. A. Biomarkers in acute lung injury: insights into the pathogenesis of acute lung injury. **Critical care clinics**, v. 27, n. 2, p. 355-377, 2011.

CRUZ, M. J. B.; DOURADO, L. F. N.; BODEVAN, E. C. Uso de plantas medicinais por famílias do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. **Infarma: Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n. 1, p. 38-48, 2015.

DA SILVA, F. F. S.; DANTAS, B. F. *Sideroxylon obtusifolium* (Humb. ex Roem. & Schult.) TD Penn. quixabeira. **Embrapa Semiárido-Nota Técnica/Nota Científica (ALICE)**.

DA SILVA, J. M.; MENDONÇA, P. P.; PARTATA, A. K. Anti-inflamatórios não-esteróides e suas propriedades gerais. 2014.

DE ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 110, n. 1, p. 76-91, 2007.

DE ALBUQUERQUE, U. P.; DE HOLANDA, C. A. L. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciencia**, v. 27, n. 7, p. 336-346, 2002.

DE ALBUQUERQUE, U. P.; DE OLIVEIRA, R. F. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants?. **Journal of ethnopharmacology**, v. 113, n. 1, p. 156-170, 2007.

DE AQUINO, P. E. A. et al. The anti-inflammatory effects of N-methyl-(2S, 4R)-trans-4-hydroxy-l-proline from *Syderoxylon obtusifolium* are related to its inhibition of TNF-alpha and inflammatory enzymes. **Phytomedicine**, v. 24, p. 14-23, 2017.

DE CARVALHO, M. R. et al. Incidência de bactérias multirresistentes em uma unidade de terapia intensiva. **Revista Interdisciplinar**, v. 8, n. 2, p. 75-85, 2015.

DE SALES, P. M. et al. Pouteria torta epicarp as a useful source of α -amylase inhibitor in the control of type 2 diabetes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 962-969, 2017.

DE SOUSA ARAÚJO, T. A. et al. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 1, p. 72-80, 2008.

DESMARCHELIER, C. et al. Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the 'Caatinga' region in northeastern Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 67, n. 1, p. 69-77, 1999.

DESMARCHELIER, C.; ROMÃO, RL; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres em extratos de plantas medicinais utilizadas na região da Caatinga no nordeste do Brasil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 67, n. 1, p. 69-77, 1999.

DI LORENZO, F. et al. Lipid A structure and immunoinhibitory effect of the marine bacterium *Cobetia pacifica* KMM 3879T. **European Journal of Organic Chemistry**, 2018.

DIAS, G. T. et al. Toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides*. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 1, p. 8-12, 2017.

DOS SANTOS SILVA, L. Ventilação protetora na síndrome do desconforto respiratório agudo: revisão de literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde/Electronic Journal Collection Health ISSN**, v. 2178, p. 2091. 2017.

DOS SANTOS, L. A. M.; RODRIGUES, G. B.; MOTA, F. V. B.; DE FRANÇA, M. E. R.; DE SOUZA BARBOSA, K. P.; DE OLIVEIRA, W. H.; PEIXOTO, C. A. A new thiazolidinedione LPSF/GQ-2 inhibits nfkb and mapk activation in LPS-induced acute lung inflammation. *Internacional Immunopharmacology*, v. 57, P. 91-101, 2018.

DREESEN, E.; GILS, A.; VERMEIRE, S. Pharmacokinetic modeling and simulation of biologicals in inflammatory bowel disease: the dawning of a new era for personalized treatment. **Current drug targets**, v. 19, n. 7, p. 757-776, 2018.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological research**, v. 112, p. 4-29, 2016.

EL KABBAOUI, M. et al. Acute and sub-chronic toxicity studies of the aqueous extract from leaves of *Cistus ladaniferus* L. in mice and rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 209, p. 147-156, 2017.

EL KEBIR, D. et al. 15-epi-lipoxin A4 inhibits myeloperoxidase signaling and enhances resolution of acute lung injury. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 180, n. 4, p. 311-319, 2009.

ELSHIKH, M. et al. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. **Biotechnology letters**, v. 38, n. 6, p. 1015-1019, 2016.

FAN, E.; BRODIE, D.; SLUTSKY, A. S. Acute respiratory distress syndrome: advances in diagnosis and treatment. **Jama**, v. 319, n. 7, p. 698-710, 2018.

FERREIRA, C. A. et al. Scavenging of reactive oxygen and nitrogen species with nanomaterials. **Nano research**, p. 1-30, 2018.

FORCE, ARDS Definition Task et al. Acute respiratory distress syndrome. **Jama**, v. 307, n. 23, p. 2526-2533, 2012.

FRANCISCO, K. S. F. et al. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. **Revista Saúde**, v. 4, n. 1, p. 18-24, 2010.

FRANCISCO, KSF. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. **Revista Saúde**, v. 4, n.1, 2010.

GABBS, M. et al. Advances in our understanding of oxylipins derived from dietary PUFAs. **Advances in nutrition**, v. 6, n. 5, p. 513-540, 2015.

GALLI, S. J.; BORREGAARD, N.; WYNN, T. A. Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils. **Nature immunology**, v. 12, n. 11, p. 1035, 2011.

GAO, M. et al. Diosgenin down-regulates NF- κ B p65/p50 and p38MAPK pathways and attenuates acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice. **International immunopharmacology**, v. 15, n. 2, p. 240-245, 2013.

GARNEAU-TSODIKOVA, S.; LABBY, K. J. Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives. **MedChemComm**, v. 7, n. 1, p. 11-27, 2016.

GERHARDTS, A. et al. A model of the transmission of micro-organisms in a public setting and its correlation to pathogen infection risks. **Journal of applied microbiology**, v. 112, n. 3, p. 614-621, 2012.

GHORBANI, A. et al. Toxicity evaluation of hydroalcoholic extract of *Ferula gummosa* root. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 77, p. 35-41, 2016.

GIUSTARINI, D. et al. Nitrite and nitrate measurement by Griess reagent in human plasma: evaluation of interferences and standardization. **Methods in enzymology**, v. 440, p. 361-380, 2008.

GOMES, R. et al. Floral biology of *Manilkara subsericea* and *Sideroxylon obtusifolium* (Sapotaceae) in restinga. **Brazilian Journal of Botany**, v. 33, n. 2, p. 271-283, 2010.

GOUVEA, D. R.; GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. The influence of biotic and abiotic factors on the production of secondary metabolites in medicinal plants. **Plant bioactives and drug discovery: principles, practice, and perspectives**. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, p. 419-452, 2012.

GROMMES, J.; SOEHNLEIN, O. Contribution of neutrophils to acute lung injury. **Molecular medicine**, v. 17, n. 3-4, p. 293, 2011.

GURJAR, M. S. et al. Efficacy of plant extracts in plant disease management. **Agricultural Sciences**, v. 3, n. 3, p. 425, 2012.

HAN, H. et al. Assessing the safety of an *Ephedrae herba* aqueous extract in rats: A repeat dose toxicity study. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 94, p. 144-151, 2018.

HANKS, C. T.; WATAHA, J. C.; SUN, Z. In vitro models of biocompatibility: a review. **Dental Materials**, v. 12, n. 3, p. 186-193, 1996.

HARRISON, D. G. et al. Inflammation, immunity, and hypertension. **Hypertension**, v. 57, n. 2, p. 132-140, 2011.

HEROLD, S.; MAYER, K.; LOHMEYER, J. Acute lung injury: how macrophages orchestrate resolution of inflammation and tissue repair. **Frontiers in immunology**, v. 2, p. 65, 2011.

HU, X. et al. Evaluation of the anaphylactoid potential of *Andrographis paniculata* extracts using the popliteal lymph node assay and P815 cell degranulation in vitro. **Journal of translational medicine**, v. 13, n. 1, p. 121, 2015.

JOHNSTON, L. K. et al. Pulmonary macrophage subpopulations in the induction and resolution of acute lung injury. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, v. 47, n. 4, p. 417-426, 2012.

JÚNIOR, P. et al. Caatinga species as an alternative to the development of new phytochemicals. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 4, p. 509-520, 2014.

KASHYAP, Dharambir; TULI, Hardeep Singh; SHARMA, Anil K. Ursolic acid (UA): A metabolite with promising therapeutic potential. **Life sciences**, v. 146, p. 201-213, 2016.

KAUSHIK, A. et al. Magnetically guided central nervous system delivery and toxicity evaluation of magneto-electric nanocarriers. **Scientific reports**, v. 6, p. 25309, 2016.

KAWAI, T; AKIRA, S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. **Immunity**, v. 34, n. 5, p. 637-650, 2011.

KHARCHOUFA, L. et al. Profile on medicinal plants used by the people of North Eastern Morocco: Toxicity concerns. **Toxicon**, 2018.

KIM, E. II et al. Reduction of serotonin content by tetrahydropapaveroline in murine mastocytoma P815 cells. **Neuroscience letters**, v. 339, n. 2, p. 131-134, 2003.

KOLACZKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 13, n. 3, p. 159, 2013.

KOTHARI, N. et al. Increased myeloperoxidase enzyme activity in plasma is an indicator of inflammation and onset of sepsis. **Journal of critical care**, v. 26, n. 4, p. 435. e1-435. e7, 2011.

KRUGER, P. et al. Neutrophils: between host defence, immune modulation, and tissue injury. **PLoS pathogens**, v. 11, n. 3, p. e1004651, 2015.

KRÜGER, W.; LUDMAN, A. J. Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). In: **Core Knowledge in Critical Care Medicine**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2014. p. 99-158.

KVIETYS, P. R.; GRANGER, D. N. Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, n. 3, p. 556-592, 2012.

LAHLOU, M.. The success of natural products in drug discovery. **Pharmacol Pharm**, v. 4, n. 3A, p. 17-31, 2013.

LEANDRO, L. M. G. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória de extratos metanólico e hexânico da casca de *Sideroxylon obtusifolium*. **Rev. e-Ciênc**, v. 1, n. 1, 2013.

LEE, J. et al. *Picrosma quassioides* (D. Don) Benn. attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury. **International journal of molecular medicine**, v. 38, n. 3, p. 834-844, 2016.

LEVITT, J. E. et al. Analytic review: the pathogenetic and prognostic value of biologic markers in acute lung injury. **Journal of intensive care medicine**, v. 24, n. 3, p. 151-167, 2009.

LI, W.; ZHOU, J.; XU, Y. Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. **Biomedical reports**, v. 3, n. 5, p. 617-620, 2015.

LIU, S. et al. Safety surveillance of Traditional Chinese Medicine: current and future. **Drug safety**, v. 38, n. 2, p. 117-128, 2015.

LORENZI, H. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil: árvores brasileiras. **Nova Odessa: Plantarum**, 1992.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais do Brasil: nativas e exóticas. 2. ed. **Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum**, 2008.

LUZ, H. K. M. et al. Role of antioxidants agents in germ cells and embryos cryopreservation. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 2, 2011.

LYNCH III, Joseph P.; ZHANEL, G. G.; CLARK, N. M. Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU: treatment options. In: **Seminars in respiratory and critical care medicine**. Thieme Medical Publishers, 2017. p. 311-325.

MAC SWEENEY, R.; GRIFFITHS, M.; MCAULEY, D. Treatment of acute lung injury: current and emerging pharmacological therapies. In: **Seminars in respiratory and critical care medicine**. Thieme Medical Publishers, 2013. p. 487-498.

MAIA, G. L. A. et al. Flavonoids from *Praxelis clematidea* RM King and Robinson modulate bacterial drug resistance. **Molecules**, v. 16, n. 6, p. 4828-4835, 2011.

MALAVIYA, R. et al. Attenuation of acute nitrogen mustard-induced lung injury, inflammation and fibrogenesis by a nitric oxide synthase inhibitor. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 265, n. 3, p. 279-291, 2012.

MALEKI, T.; AKHANI, H. Ethnobotanical and ethnomedicinal studies in Baluchi tribes: A case study in Mt. Taftan, southeastern Iran. **Journal of ethnopharmacology**, v. 217, p. 163-177, 2018.

MALONE, M. H.; ROBICHAUD. R. C. A hippocratic screening for pure or drug materials. **Lloydia**, v.25, p.23-53, 1962.

MARIA DO SOCORRO, M. R. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

MARSHALL, R. P. et al. Genetic polymorphisms associated with susceptibility and outcome in ARDS. **Chest**, v. 121, n. 3, p. 68S-69S, 2002.

MARTINS, F. J. et al. Antioxidant activity and potential photoprotective from amazon native flora extracts. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 161, p. 34-39, 2016.

MATTHAY, M. A.; ZIMMERMAN, G. A. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: four decades of inquiry into pathogenesis and rational management. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, v. 33, n. 4, p. 319-327, 2005.

MATUTE-BELLO, G.; FREVERT, C. W.; MARTIN, T. R. Animal models of acute lung injury. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 295, n. 3, p. L379-L399, 2008.

MENDES, G. S.; MORAES, C. F.; GOMES, L. Prevalência de hipertensão arterial sistêmica em idosos no Brasil entre 2006 e 2010. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 9, n. 32, p. 273-278, 2014.

MITTAL, M. et al. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. **Antioxidants & redox signaling**, v. 20, n. 7, p. 1126-1167, 2014.

MITTLER, R. et al. ROS signaling: the new wave?. **Trends in plant science**, v. 16, n. 6, p. 300-309, 2011.

MOHAMED, Elsnoussi Ali Hussin et al. Toxicity evaluation of a standardised 50% ethanol extract of *Orthosiphon stamineus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 358-363, 2011.

MOMTAZ, S. et al. Tyrosinase inhibition by extracts and constituents of *Sideroxylon inerme* L. stem bark, used in South Africa for skin lightening. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 3, p. 507-512, 2008.

MOULIS, G. et al. Cancer risk of anti-TNF- α at recommended doses in adult rheumatoid arthritis: a meta-analysis with intention to treat and per protocol analyses. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e48991, 2012.

MOURA, J. M. et al. Diagnóstico de sepse em pacientes após internação em unidade de terapia intensiva. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v. 24, n. 3, p. 55-60, 2017.

MUNOZ, C. et al. Dysregulation of in vitro cytokine production by monocytes during sepsis. **The Journal of clinical investigation**, v. 88, n. 5, p. 1747-1754, 1991.

MURRAY, P. J.; WYNN, T. A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. **Nature reviews immunology**, v. 11, n. 11, p. 723, 2011.

NAKAJIMA, T. et al. T cell pathways involving CTLA4 contribute to a model of acute lung injury. **The Journal of Immunology**, p. ji_0903238, 2010.

Nasri, H; Hedayatollah, S. Toxicidade e segurança de plantas medicinais. **Journal of HerbMed Pharmacology**, v. 2, 2013.

NCUBE, B.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN, J. Quality from the field: the impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. **South African Journal of Botany**, v. 82, p. 11-20, 2012.

NICOLAS, G. et al. Triterpenoid saponins from the root of *Sideroxylon foetidissimum*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 1, p. 225-228, 1995.

NIGAM, S. K. et al. Triterpenoidal saponins from *Madhuca butyracea*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 9, p. 3169-3172, 1992.

NIJLAND, R.; HOFLAND, T.; VAN STRIJP, J. Recognition of LPS by TLR4: potential for anti-inflammatory therapies. **Marine drugs**, v. 12, n. 7, p. 4260-4273, 2014.

NORIAKI, I. et al. Effects of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on dexamethasone-induced changes in histamine synthesis of mouse mastocytoma P-815 cells and in histamine release from rat peritoneal mast cells. **Biochemical pharmacology**, v. 38, n. 15, p. 2521-2526, 1989.

NYIRIMIGABO, E. et al. A review on phytochemistry, pharmacology and toxicology studies of *A conitum*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 67, n. 1, p. 1-19, 2015.

OBATA, T. et al. Metabolite profiles of maize leaves in drought, heat and combined stress field trials reveal the relationship between metabolism and grain yield. **Plant Physiology**, p. pp. 01164.2015, 2015.

OECD 2001. Guideline 423: Acute Oral Toxicity -Acute Toxic Class Method. Acessado em 18 de dezembro 2008 em <http://www.oecd.org/publications>. Paris: Head of Publications Service.

OECD, Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. 535 Organisation for Economic Co-operation and Development Publishing, 2008.

OLIVEIRA, V. B. et al. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por CLAE-DAD de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Rev Bras Plantas Med**, v. 18, n. 1, p. 230-239, 2016.

OPHELIE, C.; MOLIN Q., M. Phenotypic detection of Carbapenemases in *P. aeruginosa* in patients attending the Hospital de Clinicas in San Lorenzo, from February to July 2013. **Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud**, v. 14, n. 1, p. 25-31, 2016.

OULAD-ALI, A. et al. Structure elucidation of three triterpene glycosides from the trunk of *Argania spinosa*. **Journal of natural products**, v. 59, n. 2, p. 193-195, 1996.

PAPINENI, S. et al. No treatment-related effects with aryloxyalkanoate dioxygenase-12 in three 28-day mouse toxicity studies. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 92, p. 220-225, 2018.

PARASURAMAN, S. Toxicological screening. **Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics**, v. 2, n. 2, p. 74, 2011.

PAREKH, D., DANCER, R. C., THICKETT, D. R. Acute lung injury. **Clinical Medicine**. v. 11, n. 6, p- 615-8, 2011.

PAVARINI, Daniel Petinatti et al. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, n. 1-4, p. 5-16, 2012.

PENG, X. et al. Protective effects of sphingosine 1-phosphate in murine endotoxin-induced inflammatory lung injury. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 169, n. 11, p. 1245-1251, 2004.

PENNINGTON, T. D. Sapotaceae. In: Flowering Plants· Dicotyledons. **Springer Berlin Heidelberg**, 2004. p. 390-421.

PIRES, I. F. B. et al. Plantas medicinais como opção terapêutica em comunidade de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. a00101s1, p. 426-433, 2014.

PITZ, H. S. et al. In vitro evaluation of the antioxidant activity and wound healing properties of Jaboticaba (*Plinia peruviana*) fruit peel Hydroalcoholic extract. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016.

PORTO, I. CCM et al. Cytotoxicity of current adhesive systems: in vitro testing on cell cultures of primary murine macrophages. **dental materials**, v. 27, n. 3, p. 221-228, 2011.

PYNE, D. B. Regulation of neutrophil function during exercise. **Sports Medicine**, v. 17, n. 4, p. 245-258, 1994.

RAMALINGAM, M.; KIM, S. Reactive oxygen/nitrogen species and their functional correlations in neurodegenerative diseases. **Journal of neural transmission**, v. 119, n. 8, p. 891-910, 2012.

RAWSON, T. M. et al. Vancomycin therapy in secondary care; investigating factors that impact therapeutic target attainment. **Journal of Infection**, v. 74, n. 3, p. 320-324, 2017.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

RODRIGUES, T. et al. Counting on natural products for drug design. **Nature chemistry**, v. 8, n. 6, p. 531, 2016.

ROSENBLAT, J. D. et al. Inflamed moods: a review of the interactions between inflammation and mood disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 53, p. 23-34, 2014.

RUELA, H. S. et al. Antibacterial and antioxidant activities and acute toxicity of *Bumelia sartorum* Mart., Sapotaceae, a Brazilian medicinal plant. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 1, p. 86-91, 2011.

RUPPENTHAL, J. E. Toxicologia. – Santa Maria. Universidade Federal de Santa Maria, **Colégio Técnico Industrial de Santa Maria: Rede e-Tec Brasil**, 2013.

SAAVEDRA, J. M. Angiotensin II AT1 receptor blockers as treatments for inflammatory brain disorders. **Clinical science**, v. 123, n. 10, p. 567-590, 2012.

SAGANUWAN, S. A. Toxicity studies of drugs and chemicals in animals: an overview. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 20, n. 4, 2017.

SALES, M. D. C.; SARTOR, E. B. e GENTILLI, R. M. L. Etnobotânica e etnofarmacologia: medicina tradicional e bioprospecção de fitoterápicos. *Revista Salus Journal Health Sciences*, Santa Luzia, Vitória, Espírito Santo, v. 1, n. 1, p. 17 - 26, 2015.

SALES, V. M. et al. Análise microbiológica de superfícies inanimadas de uma Unidade de Terapia Intensiva e a segurança do paciente. **Revista de Enfermagem Referência**, n. 3, p. 45-53, 2014.

SALGADO, H. R. N. et al. Antimicrobial Activity of *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. and Schult) TD Penn.(Sapo-taceae). **EC Microbiology**, v. 11, p. 250-256, 2017.

SÁNCHEZ-MEDINA, A. et al. Triterpenoid saponins from a cytotoxic root extract of *Sideroxylon foetidissimum* subsp. *gaumeri*. **Phytochemistry**, v. 70, n. 6, p. 765-772, 2009.

SANTOS, J. M. F. F. et al. Natural regeneration of the herbaceous community in a semiarid region in Northeastern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 10, p. 8287-8302, 2013.

SANTOS, M. O. et al. Medicinal Plants: versatility and concordance of use in the caatinga area, Northeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 3, p. 2767-2779, 2018.

SANTOS, R. F. E. P. et al. Study of antimicrobial and cytotoxic potential of *Pouteria venosa* species (Sapotaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 367-373, 2015.

SANTOS, R. L. et al. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Rev bras plantas med**, v. 13, n. 4, p. 486-91, 2011.

SCHEFFER, M.C.; MING, L.C.; ARAUJO, A.J. Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais. In: QUEIROZ, M.A.; GOEDERT, C.O.; RAMOS, S.R.R. (Eds.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido, Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2009.

SCHINDLER, R; DAY, Margaret; F., G. Culture of neoplastic mast cells and their synthesis of 5-hydroxytryptamine and histamine in vitro. **Cancer res**, v. 19, n. 1, p. 47-51, 1959.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G., FERESIN, G., TAPIA, A., HILGERT, N., & THEODULOZ, C. Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentinian Yungas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 8, p. 1357-1364, 2005.

SERHAN, C. N. et al. Lipid mediators in the resolution of inflammation. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 7, n. 2, p. a016311, 2015.

SILHAVY, T. J.; KAHNE, D.; WALKER, S. The Bacterial Cell Envelope. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2(5), p. 1-16, 2010.

SILVA, F. F. S.; DANTAS, B. F. Efeito da temperatura na germinação de sementes de *Sideroxylon obtusifolium* (SAPOTACEAE) de diferentes procedências. *Revista Sodebras*, v. 8, n. 90, p. 40-43, 2013.

SILVA, K. B. et al. Caracterização morfológica de frutos, sementes e germinação de *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. e Schult.) Penn.(Sapotaceae). **Revista arvore**, v. 36, n. 1, 2012.

SILVA, M. P. N. et al. Antischistosomal activity of the terpene nerolidol. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 3793-3803, 2014.

SILVERSIDES, J. A.; FERGUSON, Niall D. Clinical review: Acute respiratory distress syndrome-clinical ventilator management and adjunct therapy. **Critical Care**, v. 17, n. 2, p. 225, 2013.

SIMÕES, C. M. O. et. al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/ Editora da UFSC, 2001.

SIMÕES, C.M.O.; SANTOS, S.C.; MELO, J.C.P. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª Ed. Porto Alegre/Florianópolis. Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2003.

SIQUEIRA FILHO, J. A. Flora das caatingas do Rio São Francisco: história natural e conservação. Andrea jakobsson Estúdio Editorial, Rio de Janeiro, 552 p, 2012.

SOUZA JUNIOR, T. P. et al. Nitric oxide and exercise: a short review. **Revista da Educação Física/UEM**, v. 23, n. 3, p. 469-481, 2012.

Souza, P. M. et al. Plants from Brazilian Cerrado with potent tyrosinase inhibitory activity. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e48589, 2012.

STANBURY, P. F.; WHITAKER, A.; HALL, S. J. Principles of Fermentation Technology. 3ª. ed. Cambridge: Butterworth-Heinemann, 2016.

STRIETER, R. M.; KUNKEL, S. L.; BONE, R. C. Role of tumor necrosis factor-alpha in disease states and inflammation. **Critical care medicine**, v. 21, n. 10 Suppl, p. S447-63, 1993.

STRINGER, K. A. et al. Metabolomics and its application to acute lung diseases. **Frontiers in immunology**, v. 7, p. 44, 2016.

SUMMERS, C. et al. Pulmonary retention of primed neutrophils: a novel protective host response, which is impaired in the acute respiratory distress syndrome. **Thorax**, p. thoraxjnl-2013-204742, 2014.

TANG, L.L.; LIU, H.; WANG YL, et al. Evaluation of biocompatibility of acellular porcine dermis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 2007; 57:215-218.

TANWAR, J. et al. Multidrug resistance: an emerging crisis. **Interdisciplinary perspectives on infectious diseases**, v. 2014, 2014.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10ª edição. Ed. Artmed, 2012.

TRACEY, D. et al. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. **Pharmacology & therapeutics**, v. 117, n. 2, p. 244-279, 2008.

VAFAGE, F. et al. The effects of soy extract on spatial learning and memory damage induced by global ischemia in ovariectomised rats. *Malays. J. Med. Sci.* 21, 19e30, 2014.

WANG, C. et al. Ouabain Protects Mice Against Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury. **Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research**, v. 24, p. 4455, 2018.

WEISS, J. et al. Evaluation of the NanoCHIP® infection control panel test for direct detection and screening of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) producing bacteria and vancomycin resistant *Enterococcus*(VRE). *Infection*, Munich, v. 43, p. 331-338, June 2015.

WELF, E. S.; HAUGH, J. M. Signaling pathways that control cell migration: models and analysis. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine**, v. 3, n. 2, p. 231-240, 2011.

WHERRY, J. C.; PENNINGTON, J. E.; WENZEL, R. P. Tumor necrosis factor and the therapeutic potential of anti-tumor necrosis factor antibodies. **Critical care medicine**, v. 21, n. 10 Suppl, p. S436-40, 1993.

WILLETTS, L. et al. A imunodeteccão de eosinófilos ocultos nas biópsias de tecido pulmonar pode ajudar a prever a sobrevida na lesão pulmonar aguda. **Pesquisa respiratória** , v. 12, n. 1, p. 116, 2011

XU, S. et al. Early recruitment of IL-10-producing B cells into alveoli improved the resolution of acute lung injury. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 5, p. 1752-1760, 2016.

YAM, M. F. et al. Toxicology evaluation of standardized methanol extract of *Gynura procumbens*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 123, n. 2, p. 244-249, 2009.

YANG, M. et al. The in vitro immune modulatory effect of bisphenol A on fish macrophages via estrogen receptor α and nuclear factor- κ B signaling. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 3, p. 1888-1895, 2015.

ZANK, S. et al. Local health practices and the knowledge of medicinal plants in a Brazilian semi-arid region: environmental benefits to human health. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 11, n. 11, p. 1-13, 2015.

ZHANEL, G. G. et al Comparison of the next-generation aminoglycoside plazomicin to gentamicin, tobramycin and amikacin. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 10, n. 4, p. 459-473, 2012.

ZHANG, H. et al. H₂S attenuates LPS-induced acute lung injury by reducing oxidative/nitrative stress and inflammation. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 6, p. 1603-1612, 2016.

ZHOU, X; DAI, Q; HUANG, X. Neutrophils in acute lung injury. **Front Biosci (Landmark Ed)**, v. 17, n. 2, p. 2278-2283, 2012.

ZIEMSKA, J.; RAJNISZ, A.; SOLECKA, J. New Perspectives on Antibacterial Drug Research. **Central European Journal of Biology**, v. 8(10), p. 943-957, 2013.

Anexo A – Ficha de aprovação CEUA



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Moraes Cabral, 1270
 50670-910 / Recife - PE - Brasil
 Fone: 3225 8844
 e-mail: ufpe.br

Recife, 30 de agosto de 2018

Ofício nº 72/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.ª Teresinha Gonçalves da Silva**

Centro de Biociências

Departamento de Antibióticos

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº **0047/2018**

Certificamos que a proposta intitulada: **"Avaliação do potencial farmacológico do extrato aquoso de Sideroxylon obtusifolium (Roem. & Schult) sobre lesão pulmonar aguda induzida por lipopolissacarídeo"**. Registrada com o nº0047/2018 sob a responsabilidade de **Prof.ª Teresinha Gonçalves da Silva** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 29/08/2018.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	08/2018 a 11/2018
Espécie/linhagem/raça	Mus musculus (Camundongos albinos swiss e Camundongos albinos balb/c)
Nº de animais	106
Peso/Idade	25-30g/ 60 dias
Sexo	(20 machos) e (38 fêmeas heterogêneas) e (48 fêmeas isogênicas).
Origem	Biotério do Departamento de Antibióticos

Atenciosamente,

Prof. Sebastião R. F. Silva



Vice-Presidente CEUA/UFPE

SIAPE 2345691