

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA
CURSO DE MEDICINA

RAQUEL CÂMARA DE OLIVEIRA

**PROPRIEDADES ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTIOXIDANTE DAS
FOLHAS DE *Stachytarpheta cayennensis* (RICH.) VAHL**

IMPERATRIZ
2019

RAQUEL CÂMARA DE OLIVEIRA

**PROPRIEDADES ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTIOXIDANTE DAS
FOLHAS DE *Stachytarpheta cayennensis* (RICH.) VAHL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Universidade Federal do Maranhão, Campus Imperatriz, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Aramys Silva dos Reis

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Câmara de Oliveira, Raquel.

Propriedades anti-inflamatória e antioxidante das
folhas de *Stachytarpheta cayennensis* Rich. Vahl / Raquel
Câmara de Oliveira. - 2019.

25 f.

Orientador(a): Aramys Silva dos Reis.

Curso de Medicina, Universidade Federal do Maranhão,
Imperatriz, 2019.

1. Anti-inflamatório. 2. Antioxidante. 3.
Stachytarpheta cayennensis. I. Silva dos Reis, Aramys.
II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA
CURSO DE MEDICINA

Candidato: Raquel Câmara de Oliveira

Título do TCC: Propriedades anti-inflamatória e antioxidante das folhas de *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl

Orientador: Aramys Silva dos Reis

A Banca Julgadora de trabalho de Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

Aprovado

Reprovado

Examinador (a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador (a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome:
Instituição:

*Este trabalho é dedicado a minha avó
Heleusa, sempre presente e companheira
em minha vida, pelos anos maravilhosos
de músicas, histórias e alegrias, e por
seus conselhos e ensinamentos,
fundamentais para minha formação.*

*Partilho este trabalho com meus pais –
Jayme e Mônica – avós Noralinda e Almir
– e irmãos – Isaque e João Pedro.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Aramys Silva dos Reis, pelos importantes conselhos e orientações, indispensáveis para a realização deste trabalho, pela paciência e zelo com que acompanhou cada etapa do processo.

Às equipes dos laboratórios da Universidade Federal do Maranhão: Laboratório de Imunofisiologia, Laboratório de Fisiopatologia e Análises Clínicas, Laboratório de Química. Ao Prof. Dr. Richard Pereira Dutra, pela disponibilidade de tempo e fundamental ajuda durante os experimentos.

Aos colegas e amigos, em especial Ana Karine, pela companhia durante os experimentos e pelas risadas que ajudaram a tornar o processo mais alegre. Também aos acadêmicos Marcos, Kélcio, Sara e Thaís pelos conselhos e pelo auxílio durante experimentos realizados no Laboratório de Química.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS

CCBS: Departamento de Biologia.

DPPH: 1,1-difeniol-2-picril-hidrazil.

EB: extrato bruto.

FAE: fração acetato de etila.

FC: fração clorofórmica.

FH: fração hexânica.

IFN- γ : interferon gama.

IS: índice de seletividade.

LPS: lipopolissacarídeo.

MAR: Herbário do Maranhão.

NO: óxido nítrico.

RESUMO

A *Stachytarpheta cayennensis* é uma espécie de planta herbácea pertencente à família Verbenaceae, amplamente utilizada na medicina popular. Este trabalho tem como objetivo, avaliar os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes do extrato hidroalcoólico da *S. cayennensis* e suas frações sobre macrófagos, *in vitro*. Para isso, avaliou-se seus efeitos sobre a produção de óxido nítrico (NO) após estimulação com lipopolissacarídeos (LPS) + interferon gama (IFN- γ), e realizou-se ensaios com 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH). Foi demonstrada a presença de propriedades anti-inflamatórias – destacando-se as fração hexânica (FH) e acetato de etila (FAE) – e antioxidantes – destacando-se a FAE. Ambas as frações apresentaram baixos níveis de citotoxicidade (IC50 acima de 5000 $\mu\text{g/mL}$), tendo-se obtido valores elevados de índice de seletividade (IS), diferentemente do extrato bruto (EB) e da fração clorofórmica (FC), que apresentaram IS mais baixos, atrelados a elevados níveis de citotoxicidade.

Palavras-chave: *Stachytarpheta cayennensis*. Anti-inflamatório. Antioxidante. Citotoxicidade.

Sumário

1. Introdução.....	11
2. Resultados e discussão.....	12
3. Seção experimental.....	15
3.1. Obtenção do extrato de <i>S. cayennensis</i>	15
3.2. Análise química.....	16
3.2.1. Determinação de fenois totais.....	16
3.2.2. Determinação de flavonoides.....	16
3.3. Avaliação biológica.....	16
3.3.1. Cultura da linhagem de RAW 264.7.....	16
3.3.2. Ensaio de citotoxicidade in vitro.....	17
3.3.3. Estimulação da linhagem RAW in vitro.....	17
3.4. Avaliação da produção de óxido nítrico.....	17
3.5. Avaliação da atividade antioxidante.....	18
3.6. Análise estatística.....	18
Referências.....	18
Tabelas.....	22
Figuras.....	23

Taylor & Francis Word Template for journal articles

Raquel Câmara de Oliveira^{a*} e Aramys da Silva Reis^b

*^aCurso de Medicina, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, Brasil;
Laboratório de Fisiopatologia e Investigação Terapêutica, Curso de Medicina,
Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, Brasil*

*raquelcamaraoliveira@gmail.com

Propriedades anti-inflamatória e antioxidante das folhas de *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl

A *Stachytarpheta cayennensis* é uma espécie de planta herbácea pertencente à família Verbenaceae, amplamente utilizada na medicina popular. Este trabalho tem como objetivo, avaliar os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes do extrato hidroalcoólico da *S. cayennensis* e suas frações sobre macrófagos, *in vitro*. Para isso, avaliou-se seus efeitos sobre a produção de óxido nítrico (NO) após estimulação com lipopolissacarídeos (LPS) + interferon gama (IFN- γ), e realizou-se ensaios com 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH). Foi demonstrada a presença de propriedades anti-inflamatórias – destacando-se as fração hexânica (FH) e acetato de etila (FAE) – e antioxidantes – destacando-se a FAE. Ambas as frações apresentaram baixos níveis de citotoxicidade (IC₅₀ acima de 5000 μ g/mL), tendo-se obtido valores elevados de índice de seletividade (IS), diferentemente do extrato bruto (EB) e da fração clorofórmica (FC), que apresentaram IS mais baixos, atrelados a elevados níveis de citotoxicidade.

Palavras-chave: *Stachytarpheta cayennensis*, anti-inflamatório, antioxidante, citotoxicidade.

1. Introdução

A espécie *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl é uma planta herbácea pertencente à família Verbenaceae, popularmente conhecida no Brasil como gervão-roxo, erva-gervão, origão, vassourinha-de-botão e oribão. (Caribe & Campos, 1991). Ela se desenvolve principalmente em florestas tropicais, e pode ser encontrada em países da América do Sul, México e Haiti (Okoye, et al., 2014). Seus caules, raízes, folhas e flores são utilizados na medicina popular para tratar sintomas da inflamação, como dor e febre (Caribe & Campos, 1991), e estudos científicos já demonstraram seu potencial para o manejo de disfunções gástricas e intestinais (Vela, et al. 1996), diabetes (Adebajo, et al., 2007) e ansiedade (Olayiowa, et al., 2013). Além disso, seus componentes químicos possuem efeitos antioxidantes e microbicidas (Souza, et al., 2010; Souza, et al., 2011), tendo apresentado propriedades que podem ser efetivas no tratamento da malária (Froelich, et al., 2008), leishmaniose (Maquiaveli, et al., 2016) e giardíase (Neiva, et al.,

2014).

Dentre os constituintes químicos isolados da *S. cayennensis*, destacam-se os glicosídeos feniletanoides (Penido, et al., 2006; Froelich, et al., 2008; Souza, et al., 2010; Souza, et al., 2011), triterpenos (Souza, et al., 2010; Souza, et al., 2011) e iridoídeos (Schapoval, et al., 1998; Mesia-Vela, et al. 2004, 2003; Penido, et al., 2008). O glicosídeo verbacosídeo (Penido, et al., 2006; Souza, et al., 2010; Souza, et al., 2011) e o iridoide ipolamiide (Schapoval, et al., 1998; Mesia-Vela, et al. 2004; Penido, et al., 2006) foram os mais relacionados às propriedades medicinais da planta, inclusive a seu potencial anti-inflamatório (Schapoval, et al., 1998; Penido, et al., 2006) e antioxidante (Souza, et al., 2010; Souza, et al., 2011). Em análises fitoquímicas, também foram identificados: carboidratos, açúcares redutores, glicosídeos, flavonoides, fenóis, saponinas, alcaloides, terpenos e esteroides (Okoye, et al., 2010; Okoye, et al., 2014).

Observou-se uma escassez de trabalhos científicos relacionados às propriedades medicinais da *S. cayennensis*, evidenciando a importância da realização de novos estudos. Além disso, ainda há controvérsias em relação a algumas de suas propriedades, como demonstrado por Mesia-Vela, et al. (2004), podendo esta ser uma consequência da utilização de espécies coletadas em diferentes locais ou épocas do ano. O objetivo deste trabalho é avaliar as propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, *in vitro*, da *S. cayennensis*.

2. Resultados e discussão

Este estudo mostrou que as partes aéreas da *S. cayennensis*, amplamente utilizadas na medicina popular para tratar sintomas da inflamação (Caribe & Campos, 1991), apresentam propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, destacando-se as frações FH e FAE, respectivamente.

As EC_{50} encontradas em relação à atividade anti-inflamatória foram: 148,49 $\mu\text{g/mL}$, 39,3 $\mu\text{g/mL}$, 78,85 $\mu\text{g/mL}$ e 63,23 $\mu\text{g/mL}$ para o EB e as frações FH, FC e FAE,

respectivamente. As frações FH e FAE inibiram de forma significativa a produção de NO inclusive nas menores concentrações testadas, evidenciando a possibilidade de se trabalhar com concentrações ainda mais baixas no futuro. Tais resultados corroboram com os achados de Penido, et al. (2006), que utilizando o extrato etanólico de *S. cayennensis*, reduziu o edema em patas e a exsudação de plasma na cavidade pleural de roedores. Entretanto, nos estudos de Mesia-Vela, et al. (2004), apesar de ter-se observado uma redução das dores da inflamação em experimentos *in vivo*, não houve indícios de redução da atividade inflamatória após exposição ao extrato. (Figura 1).

A atividade anti-inflamatória descrita neste estudo pode ser devida à presença de glicosídeos feniletanoides no extrato de *S. cayennensis* e suas frações, demonstrada em outros trabalhos (Froelich, et al., 2008; Souza, et al., 2011; Maquiaveli, et al., 2016). Estudos com a FAE demonstraram a presença de derivados do verbacósido, como o isoverbacósido e martinósideo nessa fração (Froelich, et al., 2008; Souza, et al., 2010). Esses glicosídeos feniletanoides demonstraram forte inibição da produção de NO (Rao, et al., 2009) além de citocinas e fatores de crescimento inflamatórios (Potapovich, et al., 2011).

Em adição, o extrato de frações de *S. cayennensis* apresentaram importante atividade antioxidante, de forma dose dependente (Figura 2), com EC₅₀ de 108,55, 1316,28, 211,51 e 54,5 µg/mL para o EB e as frações FH, FC e FAE, respectivamente. A maior atividade antioxidante apresentada pela FAE também foi observada em outros estudos (Souza, et al., 2010; Souza, et al., 2011). Para esta pesquisa optou-se pela avaliação utilizando o solvente DPPH, que se baseia na doação de íons H⁺ para os radicais livres (Thadhani, et al., 2011). Entretanto, a atividade antioxidante pode ser exercida através de diferentes mecanismos, podendo estar, em muitos aspectos, atrelada à atividade anti-inflamatória. Em seus estudos, Souza, et al. (2010) e Souza, et al. (2011), demonstraram a importância dos constituintes químicos verbacósido, martinósideo e ácido betulínico para o potencial antioxidante da *S. cayennensis*, uma

vez que esses componentes foram capazes de diminuir a peroxidação lipídica e prevenir contra lesões mitocondriais por estresse oxidativo. Além disso, o NO também pode reagir com um ânion superóxido, produzindo o peroxinitrito (Peluffo & Radi, 2007), que aumenta o estado de estresse oxidativo (Yuan, et al., 2009). (Figura 2).

Observa-se que a FH, que apresentou os menores teores de fenóis e flavonoides, foi também a que apresentou atividade antioxidante menos significativa, em contraste com a FAE, que apresentou o maior nível de atividade antioxidante e os teores de fenóis e flavonoides mais elevados (Tabela 1). Evidencia-se a importância dos compostos fenólicos para essa atividade, como já descrito em outros estudos (Souza, et al., 2010; Thadhani, et al., 2011; Belmokhtar & Harche, 2014).

Neste estudo, foi possível demonstrar as atividades anti-inflamatória e antioxidante do extrato hidroalcoólico de *S. cayennensis*. Entretanto, parte da utilidade de um fitoterápico é advinda de sua baixa citotoxicidade, que garante segurança durante a utilização. Interessantemente, observa-se que as frações FAE e FH demonstraram baixos índices de citotoxicidade, tendo apresentado IC_{50} superiores a 5000 $\mu\text{g/mL}$. Contudo, o EB apresentou uma IC_{50} inferior a 200 $\mu\text{g/mL}$, ficando atrás apenas da FC, em termos de citotoxicidade, o que difere dos achados de outros trabalhos (Penido, et al., 2006; Okoye, et al., 2010; Okoye, et al., 2014). Em seus estudos com a FC, Souza, et al. (2010) isolou ácido betulínico, um triterpeno que já demonstrou citotoxicidade importante contra células tumorais, embora tenha exercido efeitos poucos significativos sobre células normais (Martin, et al., 2016). (Figura 3).

O IS de cada fração foi obtido através da razão entre sua IC_{50} e sua EC_{50} para cada atividade avaliada. A FH apresentou o maior IS dentre as frações no que tange atividade anti-inflamatória, entretanto, observa-se uma diminuição significativa na atividade antioxidante, a despeito de sua baixa citotoxicidade. Em comparação com as demais frações, o EB e a FC apresentaram valores baixos de IS tanto em relação à atividade anti-inflamatória, quanto à antioxidante, em consequência, principalmente, de

sua elevada citotoxicidade. Evidencia-se, portanto, a superioridade das frações FH e FAE em relação à atividade anti-inflamatória, e da FAE em relação à atividade antioxidante, visto que nesses casos houve uma relação significativa entre atividade biológica e nível de citotoxicidade.

É importante salientar a necessidade de novos estudos, que visem compreender os mecanismos através dos quais os componentes da *S. cayennensis* atuam, e suas repercussões no organismo humano. Espera-se que a partir deste trabalho, seja possível desenvolver novas pesquisas com a espécie, com o objetivo de demonstrar suas propriedades e avaliar sua aplicabilidade.

3. Seção experimental

3.1. Obtenção do extrato de S. cayennensis

Partes aéreas da *S. cayennensis* foram coletadas no município de Caxias-MA, e identificadas no Herbário do Maranhão (MAR) do Departamento de Biologia (CCBS) da Universidade Federal do Maranhão, com exsicata número 10.538. O material passou por secagem em temperatura ambiente (aproximadamente 25° C) durante quinze dias, e posteriormente foi triturado em moinho elétrico (Tenal, modelo TE-340). A extração ocorreu através de maceração em etanol 70% na proporção 1:5, processo que foi repetido a cada 7 dias, durante 3 semanas. Posteriormente, o material foi concentrado utilizando rotaevaporador, tendo rendido 28,29% de EB. Utilizando uma solução hidroalcoólica preparada a partir do EB seco, realizou-se um processo de partição sequencial líquido-líquido, utilizando solventes de polaridade crescente – hexano, clorofórmio e acetato de etila – em balão de separação (Reis, et al., 2012). Seus rendimentos foram: 0,262% de FH, 0,094% de FC, e 0,082% de FAE.

3.2. Análise química

3.2.1. Determinação de fenois totais

Utilizou-se 1 ml de carbonato de sódio 20%, 100 µL de solução estoque (2000 µg/mL) e 100 µL de Folin, diluídos em 2,8 mL de água destilada. A leitura foi realizada em espectrofotômetro – comprimento de onda 760 nm – utilizando concentrações de ácido gálico como padrão (Zielinski, et al., 2000).

3.2.2. Determinação de flavonoides

Utilizou-se 1 ml de cloreto de alumínio e 100 µL da solução estoque, diluídos em 2,9 mL de água destilada. A leitura foi realizada em espectrofotômetro – comprimento de onda 450 nm – utilizando concentrações de quercetina (Merck) como padrão (Dutra, et al., 2008).

3.3. Avaliação biológica

3.3.1. Cultura da linhagem de RAW 264.7

Foram utilizadas células da linhagem de macrófagos murinos RAW 264.7, mantidas em meio RPMI 1640 (SIGMA-ALDRICH) suplementado com soro fetal bovino (SFB, SIGMA) a 10%, 2 mm de L-glutamina (SIGMA-ALDRICH), 1% de estreptomicina (100 µg/mL, MERCK) e penicilina G (100 U/mL, SIGMA-ALDRICH). As células ficaram mantidas em estufa de atmosfera úmida, com 5% de CO₂ e a 37° C. Após aproximadamente uma semana de cultura, quando estavam em estado de confluência, foram removidas mecanicamente, utilizando cell scraper. O material foi centrifugado (1200 RPM, por dez minutos, a 4 °C), e o sobrenadante foi descartado. As células foram mais uma vez suspensas em 50 ml do meio RPMI 1640 suplementado (2% de SFB), para serem contadas no microscópio óptico de luz comum, em câmara de Neubauer, através da técnica de exclusão por coloração com solução de azul de tripan 0,4%

(SIGMA-ALDRICH). O meio antigo foi descartado e substituído, em diluição 1:10.

3.3.2. Ensaio de citotoxicidade in vitro

As células da linhagem RAW 264.7 foram cultivadas em placas de 96 poços, com fundo chato e a uma concentração de 1×10^6 células/ml, e incubadas em meio RPMI 1640 a 37°C , em atmosfera com 5% de CO_2 , durante 12 horas. Posteriormente, as células aderentes foram tratadas com uma concentração inicial de $200 \mu\text{g/ml}$ do extrato de *S. cayennensis* ou frações, de forma seriada. Após 1 hora, $25 \mu\text{L}$ de LPS (200 ng/mL) e IFN- γ (10 ng/mL) foram adicionados em cada poço. 24 horas mais tarde, $50 \mu\text{L}$ do sobrenadante de cada poço foram retirados e transferidos para outra placa, e $10 \mu\text{L}$ de MTT (5 mg/mL) e meio RPMI foram adicionados. Após 3 horas, foram acrescentados $100 \mu\text{L}$ de SDS a 20%, diluído em HCl ($0,01 \text{ N}$). A DO foi medida a 540 nm em espectrofotômetro (Molecular Devices, SpectraMax® Plus 384), e os resultados foram expressos em porcentagem de viabilidade celular, calculada a partir da fórmula: $\% \text{Viabilidade} = (\text{Absorbância do tratamento} / \text{Absorbância do controle negativo}) \times 100$.

3.3.3. Estimulação da linhagem RAW in vitro

As células RAW 264.7 foram transferidas para placas de cultura de 96 poros de fundo chato, na concentração de 1×10^6 células/ml. Após plaqueamento e ajuste na concentração, o extrato e suas frações foram adicionados nas concentrações 200, 100 e $50 \mu\text{L/mL}$. Após 1 hora, as células foram estimuladas com $25 \mu\text{L}$ de LPS (200 ng/mL) e IFN- γ (10 ng/mL) durante 24 horas, em ambiente saturado, com 5% de CO_2 , a 37°C .

3.4. Avaliação da produção de óxido nítrico

$50 \mu\text{L}$ do sobrenadante das células estimuladas foram coletados e incubados com o mesmo volume de reagente de Griess (1% sulfanilamida/ 0.1% dihidroclorato de diamina naftaleno/ $2,5 \%$ H_3PO_4) durante 10 minutos, a 22°C . A absorbância foi

determinada a um comprimento de onda de 550 nm, através de espectrofotômetro de microplacas, e sua conversão para concentração em micromolar (μM) de NO foi realizada a partir da comparação entre as leituras obtidas em uma curva padrão, com concentrações estabelecidas (5-60 μM) de nitrito de sódio diluído em meio RPMI.

3.5. Avaliação da atividade antioxidante

Preparou-se uma solução estoque contendo 2000 μg de extrato ou fração para cada mL de metanol P.A. O experimento foi efetivado utilizando 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) em uma concentração de 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$, também diluído em metanol P.A. As soluções estoques foram misturadas com a solução de DPPH em concentrações de 25, 50, 100 e 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. O controle negativo para cada experimento foi preparado com a mesma concentração de metanol P.A. As amostras foram mantidas em ambiente escuro durante 30 minutos. Determinou-se a absorvância a um comprimento de onda de 517 nm, através de espectrofotômetro de UV-Vis. A atividade antioxidante está relacionada à percentagem de descoloração do radical DPPH, utilizando a fórmula: %Inibição = $[(\text{Absorvância do controle} - \text{Absorvância da amostra}) / \text{Absorvância do controle}] \times 100$.

3.6. Análise estatística

Os testes foram realizados em triplicatas e os resultados foram avaliados através da Análise de Variância (ANOVA - One-way Analysis of Variance) seguido do teste de comparações múltiplas (Tukey's Multiple Comparison Test) utilizando o software Graph Pad Prism. Para o cálculo das IC_{50} e EC_{50} , utilizou-se o método de regressão linear no software Windows Excel 2016.

Referências

Adebajo AC, Olawode EO, Omobuwajo OR, Adesanya SA, Begrow F, Elkhawad A, Akanmu MA, Edrada R, Prosksch P, Schmidt TJ. 2007. Hypoglycaemic constituents of *Stachytarpheta cayennensis* leaf. *Planta Med.* 73:241-250.

- Belmokhtar Z, Harche MK. 2014. *In vitro* antioxidant activity of *Retama monosperma* (L.) Boiss. Nat Prod Res. 28:2324-2329.
- Caribe J, Campos JM. 1999. Plantas que ajudam o homem: guia prático para a época atual. São Paulo (SP): Cutrix Pensamento.
- Dutra RP, Abreu BVB, Cunha MS, Batista MCA, Torres LMB, Nascimento FRF, Ribeiro MNS, Guerra RNM. 2014. Phenolic acids, hydrolyzable tannins, and antioxidant activity of geopropolis from the Stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. J Agric Food Chem. 62:2549-2557.
- Dutra RP, Nogueira AMC, Marques RRO, Costa MCP, Ribeiro MNS. 2008. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith da Baixada maranhense, Brasil. Rev Bras Farmacogn. 18:557-562.
- Froelich S, Gupta MP, Siems K, Jennet-Siems K. 2008. Phenylethanoid glycosides from *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, Verbenaceae, a traditional antimalarial medicinal plant. Rev Bras Farmacogn. 18:517-520.
- Maquiaveli CC, Sá AMO, Vieira PC, Silva ER. 2016. *Stachytarpheta cayennensis* extract inhibits promastigote and amastigote growth in *Leishmania amazonensis* via parasite arginase inhibition. J Ethnopharmacol. 192:108-113.
- Martin MM, Yamaguchi AA, Ribeiro PS, Figueiredo BC, Bonatto JR. 2016. Ação de derivados do ácido betulínico em células de câncer de córtex adrenal. Rev Med UFPR. 3:64-69.
- Mesia-Vela S, Souccar C, Lima-Landman MTR, Lapa AJ. 2004. Pharmacological study of *Stachytarpheta cayennensis* Vahl in rodents. Phytomedicine. 11:616-624.
- Neiva VA, Ribeiro MNS, Nascimento FRF, Cartágenes MSS, Coutinho-Moraes DF, Amaral FMM. 2014. Plant species used in giardiasis treatment: ethnopharmacology and *in vitro* of anti-Giardia activity. Rev Bras Farmacogn. 24:215-224.
- Okoye TC, Akah PA, Ezike AC, Uzor PH, Odoh UE, Igboeme SO, Onwuka UB, Okafor SN. 2014. Immunomodulatory effects of *Stachytarpheta cayennensis* leaf extract and its synergistic effect with artesunate. BMC Complement Altern Med. 14:376.
- Okoye TC, Akah PA, Okoli CO, Ezike AC, Mbaoji FN. 2010. Antimicrobial and antispasmodic activity of leaf extract and fractions of *Stachytarpheta cayennensis*. Asian Pac J Trop Med. 2010:189-192
- Olayiwola G, Ukponmwan O, Olawode, D. 2013. Sedative and anxiolytic effects of the extracts of the leaves of *Stachytarpheta cayennensis* in mice. Afr J Tradit Complement Altern Med. 10:568-579.

- Peluffo G, Radi R. 2007. Biochemistry of protein tyrosine nitration in cardiovascular pathology. *Cardiovasc Res.* 75:291-302.
- Penido C, Costa KA, Futuro DO, Paiva SR, Kaplan MAC, Figueiredo MR, Henriques MGMO. 2006. Anti-inflammatory and anti-ulcerogenic properties of *Stachytarpheta cayennensis* (L.C. Rich) Vahl. *J Ethnopharmacol.* 104:225-233.
- Potapovich AI, Lulli D, Fidanza P, Kostyuk VA, Luca C, Pastore S, Korkina LG. 2011. Plant polyphenols differentially modulate inflammatory responses of human keratinocytes by interfering with activation of transcription factors NF κ B and AhR and EGFR-ERK pathway. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2205:38-149
- Rao YK, Fang SH, Hsieh SC, Yeh TH, Tzeng YM. 2009. The constituents of *Anisomeles indica* and their anti-inflammatory activities. *J Ethnopharmacol.* 121:292-296.
- Reis AS, Rios CEP, Melo LP, Costa GC, Silva LA, Patrício FJB, Amaral FMM, Nascimento FRF. 2012. Atividade Leishmanicida *in vitro* de frações do extrato hidroalcoólico das folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. *Rev Cienc Saude.* 14:119-126.
- Schapoval EES, Vargas MRW, Chaves CG, Bridi R, Zuanazzi JA, Henriques AT. 1998. Antiinflammatory and antinociceptive activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis*. *J Ethnopharmacol.* 60: 53-59.
- Souza PA, Rodrigues C, Santiago APSA, Lucas NC, Leitao GG, Galina AF. 2011. Antioxidant activity of natural compounds of *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, Verbenaceae, by scavenger of mitochondrial reactive oxygen species. *Rev Bras Farmacogn.* 21:420-426.
- Souza PA, Silva CG, Machado BRP, Lucas NC, Leitao GG, Eleutherio ECA, Ortiz GMD, Benchetrit LC. 2010. Evaluation of antimicrobial, antioxidant and phototoxic activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, Verbenaceae. *Rev Bras Farmacogn.* 20:922-928.
- Thadhani VM, Choudhary MI, Sajjad A, Omar I, Siddique H, Karunaratne V. 2011. Antioxidant activity of some lichen metabolites. *Nat Prod Res.* 25:1827-1837.
- Vela SM, Souccar C, Lima-Landman MTR, Lapa AJ. 1996. Inhibition of gastric acid secretion by the aqueous extract and purified extracts os *Stachytarpheta cayennensis*. *Planta Med.* 63:36-39.
- Yuan Z, Feng W, Hong J, Zheng Q, Shuai J, Ge Y. 2009. p38MAPK and ERK promote nitric oxide production in cultured human retinal pigmented epithelial cells induced by high concentration glucose. *Nitric Oxide.* 20:9-15.

Zielinski H, Kozłowska H. 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J Agric Food Chem.* 48:2008-2016.

Tabelas

Tabela 1. IC₅₀, expressa em µg/mL, e índice de seletividade (IS) do extrato hidroalcoólico de *S. cayennensis* e suas frações.

	IC ₅₀ (µg/mL)	IS atividade anti-inflamatória	IS atividade antioxidante
EB	185,11	1,25	1,71
FH	5417,39	137,84	4,12
FC	51,95	0,66	0,25
FAE	7540,62	119,25	138,37

EB: extrato bruto; FH: fração hexânica; FC: fração clorofórmica; FAE: fração acetato de etila. Os valores do índice de seletividade (IS) representam a razão entre as IC₅₀, relacionadas à citotoxicidade e as EC₅₀ relacionadas às atividades anti-inflamatória e antioxidante.

Tabela 2. Teor de fenóis e flavonoides do extrato hidroalcoólico de *S. cayennensis* e suas frações.

	EB	FH	FC	FAE
Fenóis (mg/g)	156,90 ± 2,33 ^a	55,19 ± 5,35 ^a	231,75 ± 13,68 ^a	383,16 ± 12,63 ^a
Flavonoides (mg/g)	18,06 ± 1,21 ^a	9,34 ± 0,65 ^a	42,94 ± 1,94 ^a	32,57 ± 1,89 ^a

EB: extrato bruto; FH: fração hexânica; FC: fração clorofórmica; FAE: fração acetato de etila. Os experimentos foram feitos em triplicada e os dados apresentados com média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha representam diferenças estatísticas (***) p < 0,0001) entre os grupos.

Figuras

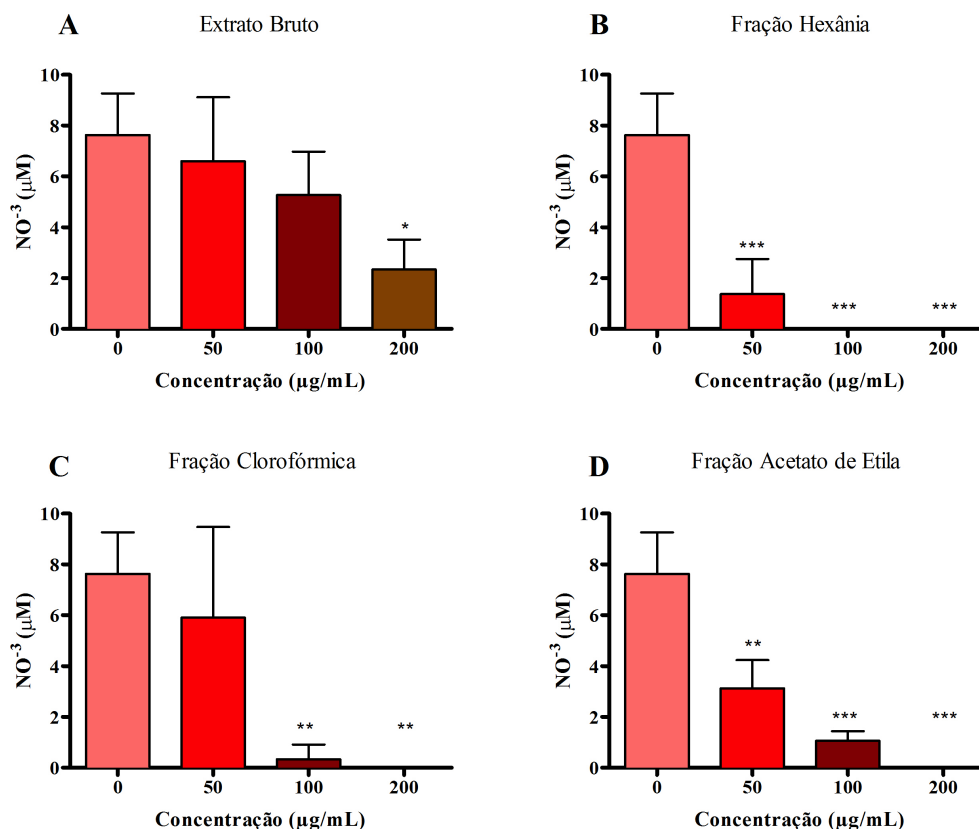


Figura 1. Efeito do extrato bruto e frações de *S. cayennensis* sobre a produção de óxido nítrico por macrófagos ativados. Macrófagos da linhagem RAW foram incubados por 24h, a 37°C, 5% de CO₂ na presença ou não de diferentes concentrações de extrato bruto (A), e das frações hexânica (B), clorofórmica (C) e acetato de etila (D) das folhas de *S. cayennensis*, após estimulação com lipopolissacarídeos (LPS) + interferon gama (IFN- γ). Os experimentos foram feitos em triplicada e os dados apresentados com média \pm desvio padrão. * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,0001$ quando comparado às células não tratadas (0 $\mu\text{g/mL}$).

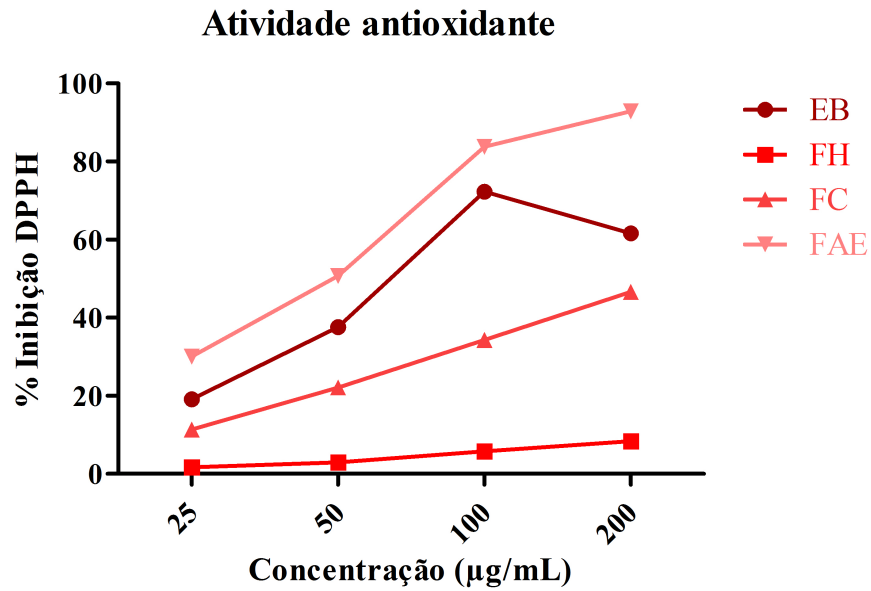


Figura 2. Efeito do extrato bruto e frações de *S. cayennensis* sobre a inibição de radicais livres presentes na solução 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH). Soluções estoques preparadas como o extrato bruto (EB) de *S. cayennensis* e frações hexânica (FH), clorofórmica (FC) e acetato de etila (FAE) foram misturadas com a solução de DPPH (40 µg/mL) em concentrações de 25, 50, 100 e 200 µg/mL, e após 30 minutos em ambiente escuro, realizou-se a leitura em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 517 nm. Os experimentos foram feitos em triplicada e os dados apresentados com média aritmética para cada grupo.

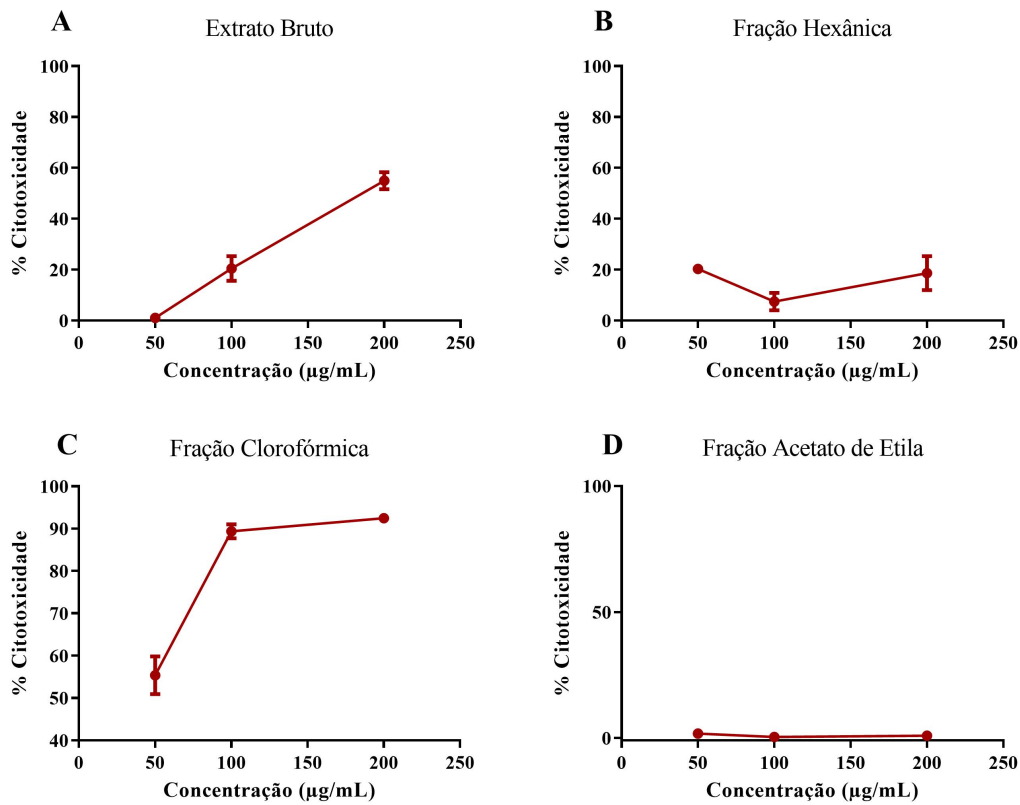


Figura 3. Efeito citotóxico do extrato bruto e frações de *S. cayennensis* sobre linhagem de células RAW. Macrófagos da linhagem RAW foram incubados por 24h, a 37°C, 5% de CO₂ a presença ou não de diferentes concentrações de extrato bruto (A), e das frações hexânica (B), clorofórmica (C) e acetato de etila (D) das folhas de *S. cayennensis*. Os experimentos foram feitos em triplicada e os dados apresentados com média ± desvio padrão.