

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

ISABELLA CRISTINA DIAS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO DE EXTRATOS DE
Jacaranda decurrens DESENVOLVIDOS POR BIOTECNOLOGIA “SPRAY
DRYING”.**

DOURADOS

2013

ISABELLA CRISTINA DIAS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO DE EXTRATOS *Jacaranda decurrens* DESENVOLVIDOS POR BIOTECNOLOGIA “SPRAY DRYING”.

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado para a obtenção de título de bacharel em Biotecnologia.

Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais.

Orientador(a): Prof. Dra. Cândida Aparecida Leite Kassuya.

Co-orientador: Professor Dr. Marcelo Fossa Paz.

DOURADOS

2013.

ISABELLA CRISTINA DIAS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO DE EXTRATOS *Jacaranda decurrens* DESENVOLVIDOS POR BIOTECNOLOGIA “SPRAY DRYING”.

Trabalho de Conclusão de curso _____ como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia na Universidade Federal da Grande Dourados, pela comissão formada por:

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cândida Aparecida Leite Kassuya

FCS-UFGD

Mestre Joyce Alencar dos Santos.

FCS-UFGD

Especialista Diana Figueiredo de Santana Aquino.

FCS-UFGD

DOURADOS

20 de Agosto de 2013

RESUMO

Jacaranda decurrens subsp *symmetrifoliolata* (Farias e Proença, 2003) é uma planta endêmica do cerrado brasileiro, conhecida popularmente como carobinha, caroba, ou caroba do campo. No uso popular é utilizada no tratamento de doenças inflamatórias e infecções, na forma de chás e garrafadas (extrações alcoólicas). Devido sua eficácia como planta medicinal, e propriedades farmacológicas confirmadas na literatura, o presente estudo desenvolveu um extrato aquoso seco pelo processo biotecnológico de *spray drying* (secagem por aspersão), das raízes e folhas de *J. decurrens*, este processo permite a produção de extratos quimicamente mais estáveis. O efeito anti-inflamatório dos extratos foi testado mediante os modelos de edema de pata induzido por carragenina, nas doses de 30, 100 e 300 mg/kg e pleurisia induzida por carragenina na dose de 300mg/kg. As doses de 30 e 100 mg/kg foram mais eficientes na inibição do edema, no tempo de 4 horas após a aplicação da carragenina, a inibição do extratos obtido das folhas foi de $71\pm 7\%$ e o extrato obtido de raízes foi de $79\pm 9\%$ na dose de 30mg/kg, e de $68\pm 13\%$ para o extrato das raízes e $75\pm 9\%$ os obtidos das folhas na dose de 100 mg/kg. Constatou-se também redução na migração de leucócitos para a cavidade pleural significativa no modelo de pleurisia. Os resultados permitiram concluir que os extratos das raízes e folhas de *J. decurrens* obtidos através de *Spray Drying* possuem significativo potencial anti-inflamatório, preservando o composto bioativo no extrato.

Palavras-chave: *J. decurrens*, carobinha, *spray drying*, edema de pata, pleurisia.

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO.....	6
2-OBJETIVOS.....	8
2.1Objetivos gerais.....	8
2.2Objetivos específicos.....	8
3-REVISÃO DE LITERATURA.....	9
3.1 Plantas medicinais e fitoterapia.....	9
3.2 <i>Jacaranda decurrens</i>	10
3.3 Quantificação de ácido ursólico por CLAE.....	11
3.4 Secagem por aspersão(<i>Spray Drying</i>).....	12
3.5 Inflamação.....	14
3.6 Controle farmacológico da resposta inflamatória.....	14
3.6.1 Carragenina.....	14
3.6.2 Inflamação induzida pela carragenina.....	15
3.6.3 Pleurisia.....	15
4-METODOLOGIA.....	17
4.1 Produção dos extratos.....	17
4.2 Animais e administração dos extratos.....	17
4.3 Modelos experimentais para avaliação da atividade anti-inflamatória.....	18
4.3.1 Edema de pata induzido por carragenina.....	18
4.3.2 Pleurisia induzida por carragenina.....	18
4.4Quantificação de ácido ursólico nos extratos de <i>J. decurrens</i>	19
4.4.1 Reagentes e soluções.....	19
4.4.2Determinação do comprimento de onda de absorção máxima.....	19
4.4.3 Condições cromatográficas.....	19
4.4.4 Limites de detecção e quantificação.....	20
4.4.5 Linearidade.....	20
4.4.6 Determinação do teor de ácido ursólico nas amostras.....	20
5-RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
6- CONCLUSÃO.....	25
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

1-INTRODUÇÃO

Processos inflamatórios são respostas fisiopatológicas presentes com frequência na população. Muitos são os fármacos anti-inflamatórios disponíveis no mercado para tratamento de inflamações que, propiciam vários efeitos adversos indesejáveis quando usados no tratamento prolongando ou na predisposição individual. Dentre as drogas anti-inflamatórias, os glicocorticoides, são os mais eficazes já conhecidos, atuam inibindo a migração de leucócitos para sítios de inflamação, por provocar inibição da expressão gênica de alguns mediadores inflamatórios e também de fatores de transcrição (por exemplo o fator nuclear Kappa B).

Estudos de plantas utilizadas na medicina popular têm permitido a descoberta de princípios-ativos com potenciais anti-inflamatórios (ROGÉRIO, 2013). Segundo Calixto (2000) metabólitos secundários derivados de plantas, podem ter a capacidade de inibir ou modular o processo inflamatório, por provocar alterações nos segundos mensageiros, em processos transcricionais, e na expressão de moléculas chave pró- inflamatórias.

Jacaranda decurrens subsp. *symmetrifoliolata* (Farias e Proença, 2003) (Bignoniaceae), conhecida popularmente como caroba, carobinha ou caroba-do-campo, é uma planta endêmica do cerrado brasileiro, que apresenta propriedades anti-inflamatórias e antitumorais comprovadas (SUBBARAMAIH K, 2000) (SANTOS *et al.*, 2012). A biodiversidade do cerrado brasileiro esta sendo frequentemente ameaçada, pela exploração dos recursos naturais de maneira indevida. Pela notória importância das propriedades apresentadas por *J. decurrens*, Bertoni (2010) realizou estudos de diversidade genética de populações de *J. decurrens*, tais que podem ser úteis em estratégias de proteção de plantas com ricas propriedades medicinais.

O *Spray Drying* é uma técnica de secagem por aspersão, a qual permite a produção de extratos secos biotecnológicos, que apresentam maior concentração de princípio ativo e estabilidade destes, sendo assim considerados pelo fato de envolverem a transformação de material biológico em um produto. O processo de secagem tem como objetivo a retirada da água do material vegetal, uma vez que esta pode propiciar desenvolvimento microbológico e reações químicas e físicas (SANTOS e SHARAPIN, 2000; SOUZA, LIONZO e PETROVICK, 2006).

A secagem por aspersão acontece em três fases fundamentais, na primeira ocorre à dispersão do fluido como gotículas, gerando elevada área superficial. Na segunda fase essas gotículas entram em contato com uma corrente de ar aquecido, ocorrendo transferência de calor. Por fim, na terceira, o solvente é evaporado, e forma-se a partícula sólida (BROADHEAD, EDMOND ROUAN e RHODES, 1992; RANKELL *et al.*, 2001). Durante o processo pode-se ajustar variáveis de acordo com o teor de umidade, estabilidade química e rendimento desejado, e também a minimização da aderência de partículas na câmara de secagem.

Este processo é considerado de grande importância na produção de fitoterápicos e de pré-formulações na produção industrial (LIST e SCHMIDT, 1989). Ao realizar o processamento do extrato pode ocorrer a perda da eficiência, ou mesmota atividade a ele conferida, para tanto, testes foram realizados para a verificação da atividade anti-inflamatória nas raízes e folhas de *J. decurrens* (SANTOS e SHARAPIN, 2000).

Apresentando-se importância, o presente estudo avaliou a atividade anti-inflamatória de extratos secos por aspersão das folhas e raízes de *J. decurrens*. Uma vez já comprovada à atividade anti-inflamatória de extratos hidroalcoólicos de *J. decurrens* por nosso grupo (SANTOS *et al.*, 2012), deu-se procedência nos estudos, a fim de desenvolver um extrato com propriedades farmacológicas, físico-químicas e antimicrobianas mais estáveis e de cunho biotecnológico, a partir do procedimento de secagem por aspersão de extratos aquosos de *J. decurrens*.

2-OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

- Avaliação da atividade anti-inflamatória do extrato aquoso seco das folhas e raízes de *Jacaranda decurrens* obtido por secagem por aspersão (*Spray Drying*) em modelos experimentais de inflamação em camundongos.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito anti-inflamatório do extrato aquoso seco das folhas e raízes de *Jacaranda decurrens* obtido por secagem por aspersão (*Spray Drying*) em modelos de inflamação em camundongos por tratamento sistêmico.
- Avaliar a possível interferência do método de extração utilizado para a obtenção dos extratos (secagem por aspersão- *Spray Drying*) sobre a atividade anti-inflamatória dos extratos das raízes e folhas de *J. decurrens*.

3- REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Plantas medicinais e fitoterapia.

Desde as primeiras civilizações, acredita-se que o uso de plantas já se fazia presente no tratamento de enfermidades. Segundo Corrêa, *et al.*, (2001) até o início do século passado, 90% dos medicamentos eram obtidos de plantas medicinais. No entanto, devido às dificuldades na manutenção da estabilidade e produção, o mercado dá preferência aos produtos sintetizados quimicamente, mas de acordo com dados de Ferreira *et al.*, (1998) ainda no final do século passado, o mercado consumidor passou a ter maiores interesses em produtos derivados de plantas medicinais, proporcionando novas pesquisas no desenvolvimento de fitoterápicos.

Dados atribuídos por grandes indústrias farmacêuticas nos últimos 50 anos comprovam que, o uso de plantas medicinais é relevante para produção de novos fármacos (FERRIS, 2001; NEWMAN e CRAGG, 2007). Incentivos à prática da utilização de plantas medicinais são mediados pela OMS (Organização Mundial da Saúde), visando à manutenção do costume popular de se utilizar as plantas comoremedios e o uso sustentável da biodiversidade da flora brasileira (WHO, 2003).

O desenvolvimento de fitoterápicos está voltado para uma política expansionista em se tratando de opções terapêuticas no mercado farmacêutico, servindo como um tratamento auxiliar, e não objetivando substituir fármacos alopáticos presentes no mercado. Essa prática faz parte da política Nacional de fitoterápicos que visa complementar e integrar as terapias atuais (BRASIL, 2009).

Cerca de 80% da população mundial utiliza plantas medicinais no tratamento de enfermidades (CHECHINEL FILHO e YUNES, 1998; REIS e MARIOT, 2001), justificando a produção de fitoterápicos, a qual necessita de fiscalização da sua procedência, e de propriedades como estabilidade, confiabilidade, e reprodutibilidade. Fiscalizações e registros de fitoterápicos são feitas pela Agência de Vigilância Sanitária. No Brasil, fitoterápicos são reconhecidos como medicamentos de acordo com a portaria n.º 22/ 1967 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária e pela resolução – RDC nº 17/2000 (DESTRO *et al.*, 2006).

O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, ocupando 25% do território nacional, apresenta alto grau de endemismo e, é relevante com relação à preservação da biodiversidade. Sua extensão territorial e o contato com outros biomas explicam a sua diversidade biológica

(BORLAUG, 2002). Apesar disso, cerca de 60% do cerrado já foi desmatado (MACHADO *et al.*, 2004).

Plantas comumente apresentam compostos bioativos, os quais podem ser de grande interesse para a indústria farmacêutica, fazendo deste modo o uso sustentável da biodiversidade. Avanços na gestão ambiental tem dado mais atenção aos biomas brasileiros, a fim de explorá-los sustentavelmente e trazer benefícios para a população brasileira. A fitoterapia, como ciência, tem a função de explorar estes recursos naturais, a fim de se encontrar novas terapias e/ou princípios ativos de interesse comercial, auxiliando e facilitando o tratamento de algumas enfermidades (COSTA CAMPOS *et al.*, 2004).

3.2 *Jacaranda decurrens*.

O estado de Mato Grosso do Sul e região apresenta ampla variedade de espécies endêmicas do cerrado, dentre elas se encontra a *Jacaranda decurrens* subs. *symmetrifoliolata* (Figura 1), conhecida popularmente como carobinha, caroba ou caroba-do-campo.

Estudos na literatura confirmam o uso popular de extrações de *J. decurrens* em afecções cutâneas, úlceras externas, depurativa do sangue, (RODRIGUES & CARVALHO, 2001). As atividades biológicas podem estar associadas a presença de triterpenos, ácidos ursólico e oleanólico no seu extrato hidroalcoólico, que desencadeiam ações antimicrobianas, antivirais, heptaprotetora, imunorreguladora, e inibitória de células cancerígenas (CÁRDENAS *et al.*, 2004).



Figura 1- Folhas e flores e frutos de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata*.

Além dos compostos citados acima, pode-se encontrar na família da *J. decurrens* constituintes químicos da classe das naftoquinonas do tipo lapachol e também seus derivados

(alfa-lapachone e beta-lapachone), glicosídeos iridóides, alcaloides, flavonas, triterpenos, polifenóis, taninos e óleos de sementes (HEGNAUER, 1989).

Segundo Ogura *et al.*, (2003), a espécie *J. Caucana*, integrante da mesma família que *J. decurrens*, possui as seguintes propriedades farmacológicas, citotóxicas, antitumorais, anti-reumáticas, anti-hipertensivas, e anti-helmínticas. Estudos conduzidos por Carvalho *et al.*, (2009) apontam propriedades antioxidantes a espécie *J. decurrens*, Zatta (2009) demonstrou atividades antimicrobiana, antitumoral (OGURA *et al.*, 2003), antiviral, hepatoprotetora e imunorreguladora (SUBBARAMAIAH *et al.*, 2000). Estudos realizados por estes colaboradores consideram que estas propriedades advindas estão correlacionadas com a presença do ácido ursólico.

Estudos realizados por Zatta (2009) indicam a presença de flavonóides heterosídeos, saponinas e cumarinas nas folhas de *J. decurrens*, tais compostos podem ser os responsáveis pelas atividades anti-inflamatória, antifúngica, espermicida, expectorante, vasodilatadora e diurética (SUBBARAMAIAH *et al.*, 2000; CARVALHO *et al.*, 2009).

Testes de toxicidade aguda em roedores realizados por Santos *et al.*, (2012) comprovaram que a administração oral de extratos de *J. decurrens*, não provocou alterações comportamentais ou morte, demonstrando que a DL50 (dose letal) é superior a 2000 mg/kg. Além de comprovarem a atividade anti-inflamatória dos extratos hidroalcoólicos tradicionalmente preparados das raízes de *J. decurrens*.

3.3 Quantificação de ácido ursólico por CLAE (Cromatografia líquida de alta eficiência)

O ácido ursólico é um triterpeno que apresenta atividade antimicrobiana, antiviral, hepatoprotetora, imunorreguladora e inibitória de células cancerígenas humanas (MA *et al.*, 2005). Sua identificação e quantificação é passível de análise por CLAE (Cromatografia líquida de alta eficiência).

A CLAE iniciou-se nos anos 60, revelando um dos mais eficientes métodos de cromatografia, devido a sua automatização. Permitindo a otimização com relação a quantidade de amostra, melhor reprodutibilidade, e alta sensibilidade. Este sistema é composto por quatro principais componentes, um sistema de injeção, uma bomba, uma coluna de separação e um detector (SIMPSON, 1978).

Segundo Dean (2003) um cromatógrafo líquido de alta eficiência se resume em uma coluna de fase estacionária apropriada, por onde se passa uma fase móvel. As amostrassão injetadas por um circuito de volume fixo que é conectado a uma válvula de injeção de seis portas na coluna, e após a separação, a amostra é detectada. O detector gera um sinal proporcional à concentração de analito presente na amostra. Os detectores podem ser, por luz ultravioleta, arranjo de iodios, e espectroscopia de massa (NICHOLSON e BURCH, 2001).

3.4 Secagem por aspersão (*Spray Drying*)

Segundo Carvalho *et al.*, (2008), no Brasil pode-se encontrar mais de 512 medicamentos fitoterápicos, dentre os quais 70% são formas farmacêuticas sólidas. Estas formas farmacêuticas são produzidas a partir da secagem de extratos, e uma das técnicas mais utilizadas para a produção de extratos secos é a de secagem por aspersão (*spray drying*). O processo de secagem tem como objetivo a retirada da água do material vegetal, uma vez que esta pode propiciar desenvolvimento microbiológico e alterações químicas e físicas (De SOUZA *et al.*, 2006; RANKELL *et al.*, 2001; SANTOS, 2000).

Este processo é um passo mais avançado na obtenção de produtos secos, sendo de grande importância na indústria fitofarmacêutica. Deste modo, o presente estudo foi realizado com extratos secos pela técnica de *Spray Drying*.

A secagem por aspersão acontece em três fases fundamentais, na primeira ocorre à dispersão do fluido como gotículas, gerando elevada área superficial. Na segunda fase essas gotículas entram em contato com uma corrente de ar aquecido, ocorrendo transferência de calor. Por fim, na terceira, o solvente é evaporado, e forma-se a partícula sólida (NONHEBEL & MOSS, 1971; MASTERS, 1985; BROADHEAD *et al.*, 1992; SHAW, 1997; RANKELL *et al.*, 2001).

Devido à evaporação superficial da gotícula, ocorre a formação de uma camada de material seco externa, que permite ao líquido interno a gotícula propagar-se para o meio externo. A permeabilidade e a elasticidade da crosta influenciarão na formação de materiais secos diferentes com relação à superfície, solidez ou preenchimento (RANKELL *et al.*, 2001).

Durante o processo pode-se ajustar variáveis de acordo com o teor de umidade, estabilidade química e rendimento desejado, e também a minimização da aderência de

partículas na câmara de secagem. Fatores característicos do material de entrada e do processamento determinam as propriedades do produto.

Na técnica de aspersão, é comum o uso de adjuvantes, sendo de fundamental importância sua seleção e uso adequado. Este é responsável pela determinação da estabilidade e qualidade dos extratos secos. Um adjuvante utilizado com sucesso é o dióxido de silício coloidal (Aerosil 2000), tem elevada superfície específica e poder sorvente (De CAMPOS, 1996; De SOUZA, 1997).

Existem vários fatores que influenciam diretamente nas características do produto final, por exemplo, o conteúdo de sólidos presentes no material que está intimamente ligado ao tamanho da partícula e a densidade deste, é importante resaltar que quanto maior o conteúdo de sólidos, maior é a viscosidade do produto, aumentando a sua densidade. A viscosidade da formulação a ser seca no *spray dryer* (Figura 2), é proporcional ao gasto energético e a pressão utilizada neste, esta interfere na formação de gotículas esféricas, e se muito elevada pode impedir a formação adequada das gotas na aspersão resultando em partículas grandes (SOARES, 2002).



Figura 2: *Spray dryer* do laboratório de farmacologia da UNIVALE – Itajaí- S.C.

3.5 Inflamação

A inflamação constitui um processo estimulado por agente infeccioso, lesões celulares e teciduais, antígenos, etc. Ocorre inicialmente como um fenômeno de defesa do organismo fim de reparar os tecidos afetados, e eliminar os agentes agressores (SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004).

O processo inflamatório segundo Cornélio Celsius se apresenta em sinais cardinais, sendo eles, calor, rubor, edema, dor e perda de função. Estes sinais são decorrentes de alterações vasculares e celulares que ocorrem durante o processo inflamatório, que ocasionam vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e migração celular. Tais mudanças são reguladas por mediadores do processo inflamatório, que provêm de proteínas plasmáticas, ou podem ser produzidos por células do sistema imunológico (MEDZHITOV, 2008).

No decorrer da inflamação, os leucócitos são os principais responsáveis por realizar fagocitose e eliminar os agentes invasores e também restos celulares. Os leucócitos se localizam no lúmen de vasos sanguíneos, e durante a inflamação, essas células migram para o espaço extravascular e para o foco da inflamação. Sua funcionalidade, além da capacidade de realizar fagocitose, também consiste em liberar espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e enzimas proteolíticas. Ao transmigrar para o espaço extravascular, os leucócitos podem causar lesões nos vasos sanguíneos, originando o edema (LANGER e CHAVAKIS, 2009).

3.6 Controle farmacológico da resposta inflamatória

O controle do processo inflamatório pode ser realizado por vários tipos de anti-inflamatórios, sendo os principais e mais comumente utilizados, os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) e anti-inflamatórios esteroidais (AIES). A dexametasona se enquadra na classificação dos anti-inflamatórios esteroidais, apresentando também potente capacidade imunossupressora, é análoga ao cortisol, e receptores celulares de glicocorticoides são seus mediadores. Segundo dados apresentados por Santos *et al.*, (2012), a estrutura molecular da dexametasona apresenta similaridade a estrutura molecular do ácido ursólico presente nos extratos das raízes de *J. decurrens*. Este fato viabiliza os estudos do potencial anti-inflamatório desta espécie.

3.6.1 Carragenina

A carragenina (Cg) é um polissacarídeo cuja principal fonte advém da alga *Chondrus crispus*, pertencente a Carrageen na Irlanda. Pode ser encontrada em várias espécies de algas vermelhas da família Rhodophyceae (BUCKET al., 2006).

Winter *et al.*, (1962) introduziram o uso da Cg como agente irritante para indução de edema na pata de ratos. Ao ser administrada subcutaneamente na região plantar da pata do animal, a Cg é capaz de desenvolver os sinais cardinais da inflamação, no entanto não se trata de uma reação imune.

O modelo de edema de pata induzido por Cg foi de grande importância para a descoberta de anti-inflamatórios comerciais, atribuindo credibilidade aos estudos que empregam este modelo. (MORRIS, 2003; WILLOUGHBY, 2003).

3.6.2 Inflamação induzida pela carragenina

Pode-se dividir o edema de pata em três fases, uma hora após a indução do edema pela Cg tem-se a liberação de histamina, serotonina e bradicinina, já na segunda fase de 2 horas após a aplicação a liberação de cininas promove aumento da permeabilidade vascular, a última fase, de 3 a 4 horas está diretamente relacionada a liberação de prostaglandinas agindo na permeabilidade capilar (LEMOS, 2007).

A resposta inflamatória aguda induzida pelo edema de pata gera aumento da pressão hidrostática na microcirculação, e da permeabilidade de proteínas plasmáticas em pequenos vasos. Ao migrar dos vasos para o interstício, tem-se um aumento da pressão osmótica com liberação de mais fluídos para o interstício, causando o edema e estase sanguínea que consiste no aumento da viscosidade do sangue, esta permite a formação do exsudato inflamatório pela adesão de leucócitos, caracterizando a resposta inflamatória aguda (SANTOS *et al.*, 2012).

3.6.3 Pleurisia

O modelo de pleurisia induzida por carragenina é considerado um modelo de inflamação com resposta predominante neutrofílica. A partir do lavado pleural, pode-se analisar parâmetros inflamatórios, tais como; mediadores inflamatórios, celularidade e exsudação (De BRITO, 1989; SALEH *et al.*, 1999). Quatro horas após a administração do agente flogístico, ocorre um aumento na exsudação na cavidade pleural, e também um aumento da quantidade de leucócitos polimorfonucleares (SALEH *et al.*, 1996; DALMARCO

et al., 2002). O exsudado pleural é rico em proteínas plasmáticas, o que caracteriza o processo inflamatório induzido. O extravasamento de proteínas será avaliado pela reação de Bradford, que consiste em uma técnica para determinação de proteínas totais, a partir do corante Coomassiebrilliant blue – BG 250, este corante interage com macromoléculas de proteínas, o que promove o deslocamento do equilíbrio do corante para sua forma aniônica, a qual é capaz de absorver luminosidade a 595 nm (BRADFORD, 1978). Este é considerado um modelo altamente eficiente pela sua facilidade de reprodução, sendo considerado por alguns autores preferencial ao modelo de edema de pata (SPECTOR, 1956).

4- METODOLOGIA

4.1 Produção dos extratos

As raízes e folhas de *J. decurrens*, foram coletadas do Horto de Plantas Medicinais sob a responsabilidade da professora Dra. Maria do Carmo Vieira da Faculdade de Ciências Agrárias, na Universidade Federal da Grande Dourados. Após coletadas as folhas e raízes foram pesadas e colocadas em estufas ventiladas para ter-se a secagem do material. O material foi avaliado e pesado respectivamente todos os dias, no mesmo horário até que se constatasse um peso constante, indicando que toda a água foi perdida.

Depois de secos, as folhas e raízes foram trituradas separadamente em moinhos de faca. Este material foi levado para a Universidade do Vale do Itajaí- S. C. e com o auxílio da professora Dra. Angélica Couto deu-se procedência a confecção dos extratos. Foram feitos testes bromatológicos para a avaliação das partículas presentes nos extratos.

Para o processo de extração realizou-se a decocção das raízes, em que 300g das mesmas foram colocados em um béquer de vidro com 3 litros de água filtrada. O béquer foi levado a uma chapa aquecedora. O processo foi mediado por agitação, com duração de 20 minutos, a uma temperatura de 95 graus. Após a decocção o material foi filtrado em filtros de tecido, com a ajuda de um funil.

Para as folhas o processo foi feito por infusão, uma amostra de 100g de folhas secas e trituradas foi colocada em um béquer com 3 litros de água filtrada fervendo, este béquer foi abafado por 10 minutos, passando por posterior filtração.

A água dos filtrados foi evaporada em rota- evaporadores em até 50% para facilitar o processo de aspersão no *spray dryer*. O filtrado já concentrado foi colocado em um béquer, adicionando-se 30% de aerosil, e levado ao *spray-dryer*, onde uma mangueira de aspersão fica submersa ao líquido. O líquido sofre agitação por barras de imas atraídas por agitadores magnéticos. O secador foi alimentado por este líquido, seguidamente foi realizada a evaporação da umidade livre, evaporação da umidade ligada, e recuperação do produto.

O *spray dryer* foi ajustado a condições do processo, com temperatura de entrada de 150°C, temperatura de saída de 81-78°C, e fluxo de saída de 5 mililitros por minuto.

4.2 Animais e administração dos extratos

Os experimentos foram conduzidos de acordo com as orientações para os cuidados com animais de laboratório e considerações éticas com os protocolos experimentais aprovados pelo Comitê de Ética de Uso de Animal da Universidade Federal da Grande Dourados, gerando o protocolo de número 334/10.

Para a avaliação das atividades anti-inflamatória dos extratos das folhas e raízes de *J. decurrens*, foram utilizados camundongos *Swiss* machos adultos, pesando 25-35g. Para cada modelo foram utilizados os grupos: controle (veículo), controle positivo (medicamento de referência), EAFJD (extrato aquoso de folhas de *J. decurrens*)30, 100 e 300mg/kg, EARJD (extrato aquoso de raízes de *J. decurrens*)30, 100 e 300mg/kg, sendo todos compostos por n=5.

4.3 Modelos experimentais para avaliação da atividade anti-inflamatória

4.3.1 Edema de pata induzido por carragenina

Grupos distintos de camundongos machos com n=5 foram tratados por via oral (1 hora antes da carragenina) com o EAFJD (30, 100 e 300 mg/kg), EARJD (30, 100, e 300 mg/kg), ou com veículo (controle). No grupo controle positivo, foi administrado o anti-inflamatório esteroideal dexametasona na dose de 0,5 mg/kg por via subcutânea (30 minutos antes da carragenina). Após respectivos tratamentos, os animais receberam na pata direita 50 µL de solução de salina contendo carragenina (300 µg/pata traseira direita). A pata esquerda recebeu o mesmo volume de salina, sendo esta utilizada como controle. A medida do edema foi realizada em ambas patas através de um auxílio de um pletismômetro após 0,5, 1, 2, 4 hs da aplicação de carragenina (ASHOK *et al.*, 2010).

4.3.2 Pleurisia induzida por carragenina

Grupos distintos de camundongos fêmeas com n=5 foram tratados por via oral (1 hora antes da pleurisia) com o EAFJD (300mg/kg), EARJD (300 mg/kg), ou com veículo (controle). No grupo controle positivo, administra-se dexametasona na dose de 0,5 mg/kg por via subcutânea (30 minutos antes da pleurisia). Foi adicionado um grupo naïve (animais normais que, não receberam tratamento e nem indução da pleurisia, para a comparação de resultados). A pleurisia foi induzida por injeção de 0,25 mL de uma suspensão de carragenina (200 µg) na cavidade intrapleural. A carragenina é diluída em solução salina tamponada com fosfato (PBS, pH=7.4). Quatro horas após a indução de pleurisia, os animais foram eutanasiados, e o exsudato inflamatório foi coletado através de um lavado da cavidade pleural com Tampão PBS. Do lavado obtido, uma alíquota de 50 µL foi diluída em solução de Turk

(01:20) e usada para determinar o número total de leucócitos em câmara de Neubauer. O extravasamento de proteínas foi avaliado diretamente com o lavado pela reação de Bradford, utilizando o kit disponível comercialmente Bradford (Bioagency, São Paulo, Brasil).

4.4 Quantificação de ácido ursólico nos extratos de *J. decurrens*

4.4.1 Reagentes e soluções

A análise de quantificação de ácido ursólico nos extratos das folhas e raízes de *J. decurrens* foi realizada sob responsabilidade da professora Dra. Claudia Cardoso na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS). O ácido ursólico foi purificado em no próprio laboratório e sua estrutura determinada por RMN e sua pureza foi avaliada por CLAE. A acetonitrila e o metanol de grau cromatográfico foram adquiridos da TEDIA. A água foi obtida pelo Sistema Human UP 900/Scholar-UV.

As soluções-padrão foram preparadas a partir de diluições de uma solução estoque do ácido ursólico $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ em acetonitrila.

4.4.2 Determinação do comprimento de onda de absorção máxima

Foi realizada varredura em espectrofotômetro UV-vis Femto 700 (Brasil) na faixa de 190 a 400 nm a fim de determinar o comprimento de onda de absorção máxima do ácido ursólico (λ).

4.4.3 Condições cromatográficas

As análises por CLAE foram realizadas em cromatógrafo líquido (Varian) com detector de arranjo de diodos constituído por sistema ternário de bombeamento, comprimento empregado nas análises de 203 nm. A fase estacionária foi composta por uma coluna C18 Phenomenex Gemini (25cm x 4,6mm; 5 μm) e uma pré-coluna de mesma fase. A fase móvel foi constituída de acetonitrila:água (80:20, v/v). As análises foram realizadas em temperatura ambiente controlada ($24,0 \pm 1,0 \text{ }^\circ\text{C}$) utilizando uma vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ e volume de injeção de 10 μL . As amostras foram filtradas em membrana 0,22 μm antes da injeção.

4.4.4 Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção foi determinado por injeções de 10 μL ($n = 5$) de solução de concentração conhecida do ácido ursólico e, em seguida, diminuindo as concentrações até a

detecção de um pico com uma relação sinal/ruído de três. A concentração correspondente das amostras foi considerada como sendo a concentração mínima detectável. Os limites de quantificação foram determinados empregando a mesma metodologia, porém foi considerado o pico cromatográfico com uma relação sinal/ruído de dez.

4.4.5 Linearidade

A partir da solução estoque de ácido ursólico ($50,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram preparadas soluções em concentrações de 0,25; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e $25,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. A curva analítica foi construída relacionando-se os valores da concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$, no eixo das abscissas, com os valores das áreas obtidas, no eixo das ordenadas. O intervalo linear foi calculado através da verificação da proporcionalidade entre a concentração e a resposta a partir do cálculo do coeficiente linear (b), do coeficiente angular (a) e do coeficiente de determinação (r^2).

4.4.6 Determinação do teor de ácido ursólico nas amostras

Para determinação do teor, amostras dos extratos (5 mg) foram dispersas em 1 mL^{-1} de acetonitrila e o seu volume foi elevado para 5 mL em balão volumétrico. As amostras posteriormente filtradas em membrana $0,22 \mu\text{m}$ e então analisadas por CLAE.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

No tempo de 2 horas após a aplicação de Cg as inibições, foi possível verificar que o tratamento na dose de 30, 100 e 300 mg/kg reduziu significativamente o edema provocado pelo agente flogístico com reduções de para o extrato das raízes de $52\pm 16\%$, $80\pm 5\%$ e $58\pm 9\%$, respectivamente, e $35\pm 4\%$, $35\pm 8\%$ e $29\pm 6\%$ para o extrato obtido das folhas, respectivamente, conforme ilustrado na Figura 3. O mesmo foi observado no tempo de 4 horas, no qual os resultados ainda mantiveram-se significativos na inibição do edema em ambos extratos testados, apresentando inibição significativa do edema em $79\pm 9\%$, $68\pm 13\%$ e $59\pm 6\%$, respectivamente, para o extrato das raízes e $71\pm 7\%$, $75\pm 9\%$ e $49\pm 15\%$, respectivamente, para o extrato das folhas (Figura 4).

De maneira similar, o grupo tratado com dexametasona, anti-inflamatório de referência reduziu significativamente o edema, como esperado, uma vez que é um efetivo anti-inflamatório esteroideal. Pode-se verificar que em todos os tempos de avaliação, o grupo previamente tratado com aerosil 2000 ou silício coloidal, (adjuvante utilizado na fabricação do extrato seco por aspersão) não apresenta atividade anti-inflamatória, excluindo assim a possibilidade de este ser o princípio ativo do extrato, ou interferir na atividade anti-inflamatória esperada pelo extrato.

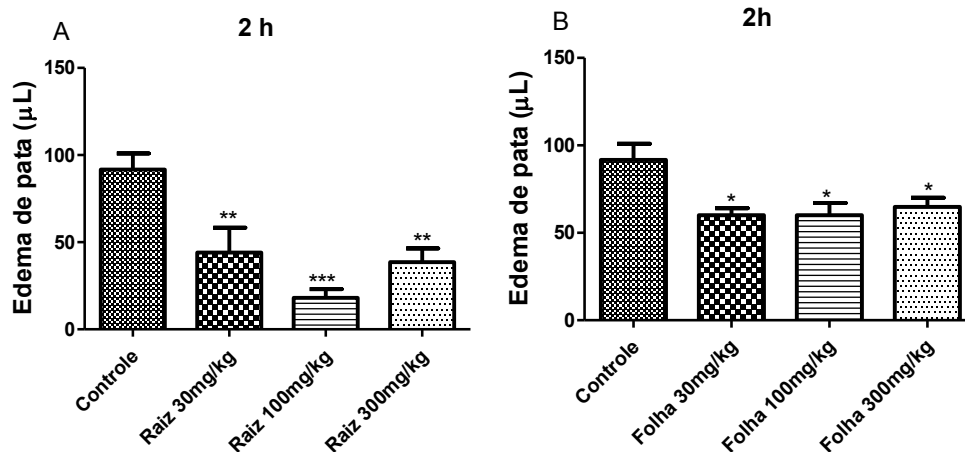


Figura 3: Efeito dos extratos secos por aspersão das raízes (A) e folhas (B) de *J. decurrens* na dose de 30, 100 e 300mg/kg. Cada barra representa a média \pm EPM da espessura (microlitros) da pata dos animais 2 horas após a injeção de Cg. As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. Valores de $P < 0.05$ foram considerados significativos. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, V, veículo.

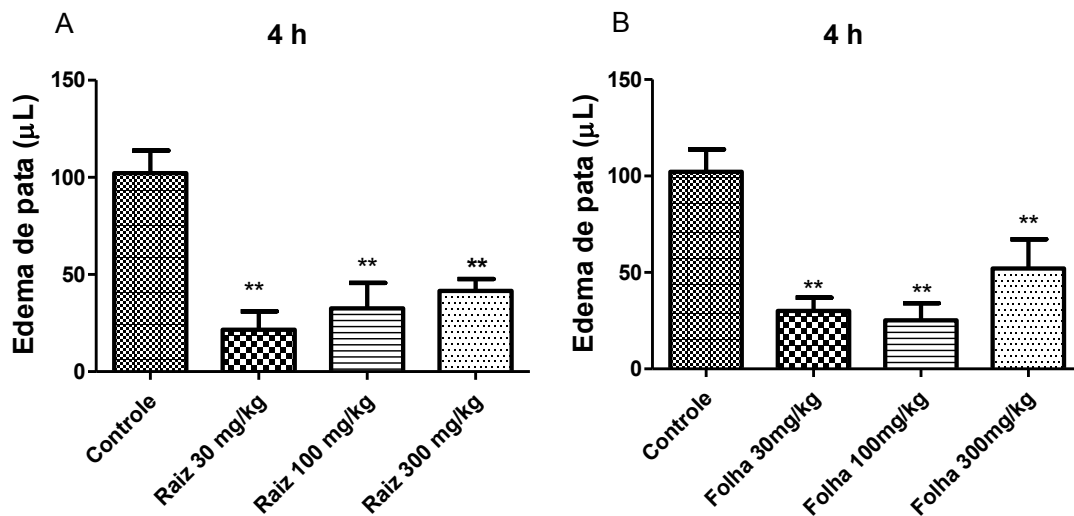


Figura 4: Efeito dos extratos secos por aspersão das raízes (A) e folhas (B) de *J. decurrens* na dose de 30, 100 e 300mg/kg. Cada barra representa a média \pm EPM da espessura (microlitros) da pata dos animais 4 horas após a injeção de Cg. As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. Valores de $P < 0.05$ foram considerados significativos. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, V, veículo.

Na pleurisia, a administração oral do extrato aquoso de folhas e raízes de *J. decurrens* na dose de 300mg/Kg inibiu de maneira significativa o processo inflamatório, evidenciado pela redução da migração de leucócitos para a cavidade pleural, com inibição de $76 \pm 4\%$ para as raízes e $76 \pm 13\%$ para as folhas, 4 horas após a administração do agente flogístico. Da mesma forma, inibiu de maneira significativa o extravasamento de proteínas para a cavidade pleural, com inibição de $35 \pm 6\%$ para as folhas e $55 \pm 4\%$ para as raízes conforme ilustrado na Figura 5.

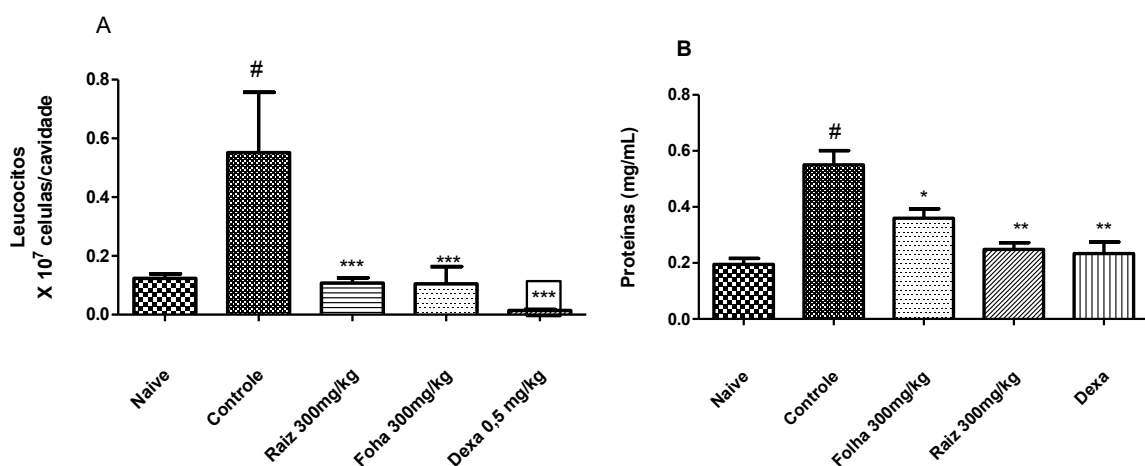


Figura 5: Efeito dos extratos secos por aspersão das folhas e raízes de *J. decurrens* administração por via oral na dose de 300mg/kg e seus respectivos controles sobre os leucócitos totais (A) e extravasamento de proteína (B) induzida por carragenina na cavidade pleural de camundongos. As barras expressam a média \pm EPM de 5 animais, em comparação com o grupo veículo (V) vs tratado onde, * $P < 0,05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ Por análise estatística ANOVA one-way seguido de Student-Newman-Keuls. # representa o grupo controle negativo.

O modelo experimental de pleurisia induzida por carragenina tem a capacidade de representar os principais eventos da inflamação aguda de maneira similar à que ocorre em humanos, assim este modelo pode ser considerado muito eficiente na investigação de efeitos anti-inflamatórios em substâncias potenciais (JANTZ e ANTONY, 2008; MOORE *et al.*, 2010).

Os testes realizados permitiram a avaliação da atividade anti-inflamatória nos extratos das raízes e das folhas de *J. decurrens*. No entanto mais testes estão sendo realizados para aprimoramento destes resultados.

Muitas são as doenças crônicas que apresentam em seus quadros processos inflamatórios, como por exemplo, a asma, artrite reumatóide, doenças auto-imunes, doenças degenerativas, e várias outras (PIORNEDO, 2010). Nestas doenças a inflamação é o principal alvo para o diagnóstico. Mediante a falta de medicamentos que supram a necessidade no tratamento de algumas doenças, o estudo de novas plantas que possuam princípios ativos com potenciais anti-inflamatórios se faz de grande importância. Segundo Newman *et al.*, (2007) um considerável número de drogas de origem natural foi identificado a partir de conhecimentos da medicina popular.

Para o sucesso dos estudos na área de fitoterapia, necessita-se de modelos de avaliação em animais altamente eficientes. Modelos de inflamação aguda permitem fácil reprodução e avaliações de qualidade para a triagem novas drogas. O modelo de edema de pata induzido por carragenina, é um modelo de indução de inflamação aguda que, foi de grande importância da descoberta de anti-inflamatórios comerciais, atribuindo credibilidade aos estudos que empregam este modelo. (MORRIS, 2003; WILLOUGHBY, 2003).

Os resultados demonstraram que o processo de secagem por aspersão confeccionando extratos de *J. decurrens* não interfere na atividade anti-inflamatória dessa planta, provavelmente os princípios ativos são conservados em ambas as técnicas de extração.

Na análise por CLAE, o limite de quantificação de ácido ursólico, equivalente ao menor nível determinado com precisão e exatidão aceitáveis, correspondeu a $0,83 \mu\text{g mL}^{-1}$ e o limite de detecção foi de $0,25 \mu\text{g mL}^{-1}$.

O método desenvolvido apresentou linearidade na faixa de $0,25$ a $25,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. Após a regressão linear utilizando o método dos mínimos quadrados, os valores das áreas nas amostras reais foram obtidos empregando a seguinte relação para o intervalo avaliado, [área =

$8.670 \times \text{concentração} (\mu\text{g mL}^{-1}) + 134,32]$, com $r^2 = 0,9998$. Os extratos das folhas e raízes analisados apresentaram $1,12 \text{ mg g}^{-1}$ e $8,97 \text{ mg g}^{-1}$, respectivamente.

A quantificação do ácido ursólico nos extratos de *J. decurrens* foi significativa, e a similaridade molecular do ácido ursólico (figura 7) com o glicocorticoide dexametasona (figura 6), utilizado neste estudo como controle positivo, pode justificar a ação anti-inflamatória dos mesmos em camundongos machos adultos, uma vez que, a dexametasona possui grupos funcionais essenciais para a atividade glicocorticoide como, o grupo metila na posição C16, alfa-fluor na posição C9, hidroxila na posição C11 e C17, e dupla ligação entre C1 e C2. No entanto, para confirmação desta hipótese, faz-se necessária a realização de estudos fitoquímicos aprofundados com os extratos de *J. decurrens*.

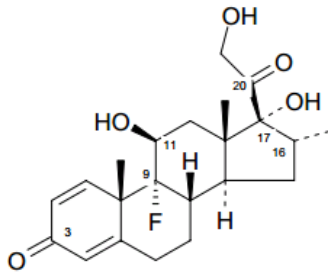


Figura 6: Fórmula molecular da dexametasona (Bergamini, 2008).

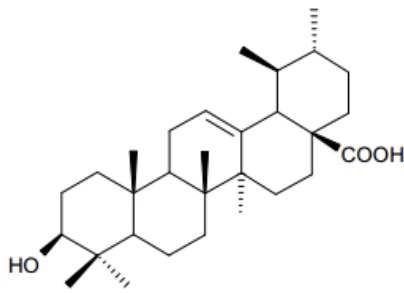


Figura 7: Fórmula molecular do ácido ursólico (Silva, 2007).

6- CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu a constatação da atividade anti-inflamatória nos extratos aquosos secos por aspersão das raízes e folhas de *J. decurrens*. Durante o processamento do extrato, este é exposto a condições de temperatura e pressão que podem ocasionar a perda da eficiência, ou mesmo a da atividade a ele conferida, para tanto, testes foram realizados para a verificação da manutenção da atividade anti-inflamatória nas raízes de *J. decurrens*, e também para avaliar se as folhas da planta apresentam efeito anti-inflamatório significativo (SANTOS e SHARAPIN, 2000). Pode-se verificar, que o processo de secagem por aspersão, utilizado na confecção dos extratos de *J. decurrens*, não interferiu na atividade anti-inflamatória dessa planta, por provavelmente preservar os princípios ativos em ambas as técnicas de extração.

A administração oral de solução contendo extrato aquoso das folhas e raízes da *J. decurrens* em camundongos, nas doses de 30, 100 e 300mg/kg inibiram significativamente o edema de pata, controlando os efeitos do processo inflamatório. Ocasionalmente também a inibição da migração dos leucócitos para a cavidade pleural, no modelo de pleurisia feito com a avaliação da dose de 300mg/kg. Esta inibição é necessária para a estabilização do processo inflamatório e recuperação do local lesionado, como também o extravasamento proteico.

Nos extratos de *J. decurrens* pode-se constatar significativa quantidade de ácido ursólico, considerado na literatura o responsável pelas propriedades farmacológicas características de *J. decurrens*, entretanto, estudos fito-químicos são necessários para evidenciar o possível composto responsável pelas atividades evidenciadas, bem como seu mecanismo de ação.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNHOLD J. Free radicals- friends or foes? Properties, functions, and secretion of human mieloperoxidase. **Biochemistry**, Moscow, v. 69, n. 1, p. 4-9, 2004.

ASHOK, P. et al. Evaluation of antiinflammatory activity of centratherum anthelminticum (L) kuntze seed. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 72, n. 6, p. 697, 2010.

BERGAMINE G, Dexametasona: interação com ácidos carboxílicos aromáticos no estado sólido. **Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas**, Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, UFRGS, Porto Alegre, 2008.

BERTONI *et al.*, Genetic diversity in natural populations of Jacaranda decurrens Cham. determined using RAPD and AFLP markers. **Unidade de Biotecnologia Vegetal, Universidade de Ribeirão Preto**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 3, p. 532-538, 2010.

BORLAUG, N.E. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. Global warming and other eco-myths. **Competitive Enterprise Institute**, p. 29-60, 2002.

BRADFORD, M. M.; Anal. **Biochem**, n.72, p. 248, 1978.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 60 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde, 1ª edição).

BROADHEAD, J.; EDMOND ROUAN, S.; RHODES, C. The spray drying of pharmaceuticals. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 18, n. 11-12, p. 1169-1206, 1992. ISSN 0363-9045.

BUCK, C. B.; THOMPSON C.D.; ROBERTS J. N. et al., Carrageenan is a Potent Inhibitor of Papillomavirus Infection. **Plos Pathogens**, v. 2, n. 7, p. 671-680, 2006.

CARDENAS, C. ; QUESADA, A. R.; MEDINA, A. Effects of ursolic acid on different steps of the angiogenic process, **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 320, n.2, p. 402–408, 2004.

CARVALHO, C. A.D. *et al.*, Atividade antioxidante de JacarandadecurrensCham., Bignoniaceae. **Revista brasileira de farmacognosia**, v.19, p.592-598, 2009.

CARVALHO, A. C. et al. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 314-9, 2008.

CALIXTO J. B. et al. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. **Phytother**, v. 6, n. 14, p. 401-418, 2000.

CHECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 99- 103, 1998.

COST-CAMPOS, L; DASSOLER, SC; RIGO, AP; IWU, M e ELISABETSKY, E. Pharmacology, **Biochemistry and Behavior**, v.77, n.3, p. 481-489, 2004.

CORRÊA, A. D.; BATISTA, R. S.;QUINTAS L.E.M. Plantas medicinais do cultivo à terapêutica. *Voices*, 4 ed., p. 164-165, 2001.

DALMARCO, E.M.; FRODE, T.S.; MEDEIROS, Y.S. Effects of methotrexate upon inflammatory parameters induced by carrageenan in the mouse model of pleurisy. **Mediators Inflammation**, v. 11, n. 5, p. 299-306, 2002.

DEAN, J. R. Methods for Environmental Trace Analysis. **Northumbria University**, England: John Wiley & Sons Ltd, 2003.

DE BRITO, F.D. Pleurisy and pouch models of acute inflammation. In: PHARMACOLOGICAL METHODS IN THE CONTROL OF INFLAMMATION. **Dagenham**, p. 173-228, 1989 .

DE CAMPOS, A. M. Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *llex paraguariensis* St. Hill. *Aquifoliaceae (erva-mate)*. 1996. 149 f. **Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas)**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.

DESTRO, M. W. B. *et al.* Estudo da utilização no pré-operatório de medicamentos ou drogas fitoterápicas que alteram a coagulação sanguínea. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 33, n. 2, p. 107-111, 2006.

DE SOUZA, K. *et al.* The adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P influence on the technological characteristics of spray-dried powders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 331-336, 2000. ISSN 0363-9045.

FERRIS, S. H. Switching previous therapies for Alzheimer's disease to galantamine. **Clinical Therapeutics**, v. 23 , p. 3-7, 2001.

FERREIRA, S. H. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. **Academia brasileira de ciências**, p.142, 1998.

HEGNAUER, R. Chemotaxonomie der Pflanzen. **Basel: Birkhäuser Verlag Basel**, 1989.

JANTZ, M. A.; ANTONY, V. B. **Pathophysiology of the pleura**. *Respiration*, v. 75, n. 2, p. 121-33, 2008.

LANGER, H. F.; CHAVAKIS, T. Leukocyte-endothelial interactions in inflammation. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 13, n. 7, p. 1211-20, 2009.

LEMOS V. A. A. Avaliação do Potencial Antiinflamatório do Extrato Etanólico e Aquoso de Própolis em Camundongos (*Mus musculus*). **Trabalho de Conclusão de Curso**. Universidade Guarulhos, Guarulhos, 2007.

LIST, P. H.; SCHMIDT, P. C. **Phytopharmaceutical technology**. CRC Press I Llc, 1989. ISBN 0849377099.

LIU, J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. **Journal of ethnopharmacology**, v. 49, n. 2, p. 57-68, 1995. ISSN 0378-8741.

- MA C. et al. The cytotoxic activity of ursolic acid derivatives. **EurJournal Medical Chemistry** v. 40, p. 582-589, 2005.
- MACHADO, R.B. *et al.*, Análise de lacunas de proteção da biodiversidade no Cerrado. In: Anais IV Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação. **Fundação O Boticário de Proteção à Natureza**, p. 29-38, 2004.
- MASTERS, K. **Spray Drying Handbook**. Londres: George Godwin, 4. ed. 1985.
- MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, v. 454, n. 7203, p. 428-35, 2008.
- MORRIS, C. J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. In: (Ed.). **Inflammation protocols**: Springer, 2003. p.115-121. ISBN 0896039706.
- NICHOLSOM, B. C.; BURCH, M. D. Evaluation of analytical methods for detection e quantification of cyanotoxins in relation to Australian drinking water guidelines. **Cooperative Research**. Australia: Commonwealth of Australia, 2001.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007.
- NONHEBEL, G.; MOSS, A. A. H. Drying of Solids in the Chemical Industry. **Butterworths**, Londres, p. 253-263, 1971.
- OGURA, M. et al., Potential anticancer agents. IV. Constituents of Jacaranda caucana. Pittier (Bignoniaceae). *Lloydia*, v. 5, p. 10, 2003.
- PIORNEDO, R. Dos R. Atividade Antiinflamatória de *Gochnatiapoly morphassp. floccosa* em camundongos. **Dissertação de pós- graduação em Farmacologia**, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- RANKELL, A. et al. Secagem. **Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL. Teoria e prática na indústria farmacêutica**, v. 1, p. 83-112, 2001.
- REIS, M. S.; MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, p. 41-62, 2001.
- RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Plantas medicinais no domínio dos cerrados, **Editora UFLA**, Universidade federal de Lavras, p. 180, 2001.
- ROGERIO, A. P. et al. Anti-Inflammatory Effects of Ellagic Acid on Acute Lung Injury Induced by Acid in Mice. **Mediators inflammation**, Uberaba, MG, Brasil, 2013.
- SALEH, T. S. *et al.* Anti-inflammatory effects of theophylline, cromolyn and salbutamol in a murine model of pleurisy. **Br J Pharmacol**, v. 118, n. 3, p. 811-9, 1996.
- SALEH, T.S.; CALIXTO, J.B.; MEDEIROS, Y.S. Effects of anti-inflammatory drugs upon nitrate and myeloperoxidase levels in the mouse pleurisy induced by carrageenan. *Peptides*, v.20, n.8, p.949-956, 1999.
- SANTOS, E.; SHARAPIN, N. **Extração de matérias-primas vegetais. Sharapin N. Fundamentos tecnológicos de produtos fitoterápicos**. Bogotá: Andrés Bello, p. 57-60, 2000.

SANTOS, J. A. et al. Anti-inflammatory effects and acute toxicity of hydroethanolic extract of *Jacaranda decurrens* roots in adult male rats. **Journal of ethnopharmacology**, 2012. ISSN 0378-8741.

SILVA, C.A. M. Contribuição ao estudo químico e biológico de *PouteriaGardnerii* (Mart. &Miq.) Baehni (Sapotaceae). **Dissertação de mestrado em Ciências da Saúde**, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SHAW, F. V. Spray drying as an alternative granulation technique. In: Parikj DM. **Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology**. Nova York: Marcel Dekker, p. 75-96, 1997.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 18, n. 3, p. 385-405, 2004.

SIMPSON, C. F. Practical High Performance Liquid Chromatography. Edited by Simpson CF. London: Heyden & Son; 1978.

SPECTOR, W.G. The mediation of altered capillary permeability in acute inflammation. **J PatholBact**, v.72, n.1, p.367-380, 1956.

SOARES, L.A.L. Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *MaytenusilicifoliaMart. exReissek - Celastraceae*. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final. **Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas**, UFRGS, Porto Alegre, 2002.

SOUZA, T. P. D.; LIONZO, M. I. Z.; PETROVICK, P. R. Avaliação da redução da carga microbiana de droga vegetal através do processamento tecnológico: decocção e secagem por aspersão. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 94-8, 2006.

SUBBARAMAIAH, K. et al. Ursolic acid inhibits cyclooxygenase-2 transcription in human mammary epithelial cells. **Cancer Res**, v.60,n.9,p. 2399-404, 1 de Maio de 2000.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines on good agricultural and collection practices (GACP)**. Geneva, 2003. 72 p.

WILLOUGHBY, D. A. In Vivo Models of Inflammation. In: (Ed.). **Inflammation Protocols**: Springer, 2003. p.109-113. ISBN 0896039706.

WINTER, C.A., RISLEY, E.A., NUSS, G.W. Carrageenan-induced oedema in the hind paw of rat as an assay for anti-inflammatory activity. **Proc Soc. Exp. Biol.**, p. 544-547, 1962.

ZATTA, D.T. et al., Estudo da Atividade Antibacteriana contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e da Toxicidade Aguda das folhas da *Jacaranda decurrens*. **Latin American Journal of Pharmacy [S.I.]**, v.28,p.9,2009.

