

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM SAÚDE DA MULHER

CLÁUDIA CARDINALLE LIMA TEIXEIRA

A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA: O ALHO BRAVO (MANSOA SP) E SEUS CONSTITUINTES QUÍMICOS.

TERESINA-PI 2018

CLÁUDIA CARDINALLE LIMA TEIXEIRA

A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA: O ALHO BRAVO (MANSOA SP) E SEUS CONSTITUINTES QUÍMICOS.

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Mestrado Profissional em Saúde da Mulher da Universidade Federal do Piauí como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde da Mulher.

Orientadora: Profa. Dra. Lis Cardoso Marinho Medeiros

TERESINA-PI

2018

FICHA CATALOGRÁFICA Universidade Federal do Piauí Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco Serviço de Processamento Técnico

T266f Teixeira, Cláudia Cardinalle Lima.

A Fitoterapia com alternativa terapêutica: o alho bravo (Mansoa sp) e seus constituintes químicos. / Cláudia Cardinalle Lima Teixeira. - 2018.

76 f.: il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Mestrado Profissional em Saúde da Mulher, Teresina, 2018.

"Orientação: Profa. Dra. Lis Cardoso Marinho Medeiros".

1. Fitoterapia. 2. Extrato. 3. Anti-inflamatório. I. Título.

CDD: 581.634

CLÁUDIA CARDINALLE LIMA TEIXEIRA

A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA: O ALHO BRAVO (MANSOA SP) E SEUS CONSTITUINTES QUÍMICOS.

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Mestrado Profissional em Saúde da Mulher da Universidade Federal do Piauí como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde da Mulher.

Teresina-PI, 29 de outubro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a Lydia Masako Ferreira UNIVERSIDADE FEDERAL SÃO PAULO - UNIFESP

Prof^o Dr^a Antônia Maria das Graças Lopes Citó UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUI - UFPI Teresina - PI

Orientadora: Profa. Dra. Lis Cardoso Marinho Medeiros UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - UFPI

Teresina - PI



MINISINSTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDEDERAL DO PLAUÍ PRÓ-HEITORIA DE ENSINO DE PÓS-BRADUAÇÃO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DORAMA DE PÓS-DRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHI



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER
Campus Universitário Ministro Petrônio Perteia, Bairo Inings, Tevesias, Pinal
Telefonol (80) 3218-8888
E-mail exepusibiliplicats.br

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos vinte e nove de outubro do ano de dois mil a dezoito, às dez horas e trinta minutos, reuniu-se a banca examinadora de defesa de Dissertação de Mestrado composta pelos professores; Profa.Dra. Lis Cardoso Marinho Medeiros - Universidade Federal do Plaul (Orientador/Presidente), Profa. Dra. Lydia Masako Ferreira-Universidade Federal de São Paulo (Membro Externo) e Profa.Dra. Antônia Maria das Graças Lopes Citó - Universidade Federal do Piaui (Membro Titular Externo), perante a qual Cláudia Cardinalle Lima Teixeira mestranda regularmente matriculada no curso de Mestrado Profissional em Saúde da Mulher da Universidade Federal do Piaul, defendeu em sessão pública, para preenchimento do requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Saúde da Mulher com sua Dissertação intitulada *A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPEUTICA: O ALHO BRAVO (MANSOA SP) E SEUS CONSTITUINTES QUÍMICOS". A defesa da referida Dissertação de Mestrado ocorreu, das dez horas e trinta minutos às doze horas, tendo a mestranda sido submetido à arguição, dispondo cada membro da banca do tempo determinado pera tal. Finalmente, a Banca reuniu-se em separado e concluiu por considerar a mestranda ATROVA D.A. (Aprovada/Reprovada) por unanimidade.

Eu. Lis Cardoso Marinho Medelros, que presidi a Banca de Dissertação, assino a presenta Ata, juntamente com os demais membros e dou fé, em Teresina vinte e nove de outubro do ano de dois mil e dezolto.

ASSINATURAS DOS PRESENTES

Profa.Dra. Antónia Mária das Graças Lopes Citó

> Universidade Federal do Piaul (Membro Titular Externo)

Profa.Dra. Lydia Masako Ferreira Universidade Federal de São Paulo (Membro Titular Externo)

Profa.Dra.Lis Cardoso Marinho Medelros Universidade Federal do Piaui (Orientadora/Presidente)

Dedico esse trabalho as pessoas mais especiais e presentes em minha vida:
Meu esposo e amor eterno, Pedro Ferreira da Silva Neto, pelo companheirismo, respeito e dedicação; por me dar asas, permitindo que eu voasse em busca de meus sonhos; por ter sido sempre o meu "porto seguro", me dando abrigo e segurança nos momentos mais difíceis; por estar sempre presente, pela paciência e colaboração; por me presentear com o que há de melhor em nossas vidas, nossos filhos Pedro Felipe e Heitor. Sem o seu apoio eu jamais teria conseguido. Minha gratidão!!!
Meus filhos, Pedro Felipe Ferreira Lima e Heitor Ferreira Lima, por serem tão especais, por me ensinarem o verdadeiro sentido da vida, por me manterem firme e me transformarem em uma pessoa cada dia melhor.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A DEUS, minha fonte inesgotável de força e resignação, por me permitir momentos e oportunidades de grande e eterno aprendizado, por me segurar nos momentos difíceis e não permitir que eu caia e por me proporcionar a realização de sonhos, antes inatingíveis.

Aos meus pais, Araci Lima Teixeira e Eugênio Rodrigues Teixeira, pelo amor incondicional, por me guiarem sempre no caminho do bem e por acreditarem em mim e em meus ideais.

Aos meus irmãos, João Mázzer, Cláudio Mázero e Carlos Eugênio Lima Teixeira pelo carinho, confiança e apoio sempre.

Minha gratidão especial a Professora Drª. Lis Cardoso Marinho Medeiros e a Professora Drª Antônia Maria das Graças Lopes Citó, por acreditarem em mim, pelos valiosos ensinamentos e aprendizagem constante e, principalmente por me acolherem de braços abertos, vocês foram muito mais que professoras. O que fizeram por mim somente uma mãe é capaz de fazer por seu filho. Obrigada por mudarem minha vida e meus pensamentos, e hoje já não sou mais a mesma.

Aprendi a admirar a Professora Lis por ser essa mulher forte e batalhadora, que faz história dentro e fora da Universidade Federal do Piauí, sempre correndo atrás de melhorias para o Programa de Mestrado Profissional em Saúde da Mulher, meu respeito e consideração, seus ensinamentos levarei para a vida.

À Professora Dr^a. Lydia Masako Ferreira, por abrir as portas da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), pela parceria e por me oportunizar experiências únicas.

Às amigas especiais que o Mestrado Profissional me deu e que levarei por toda minha vida, Andreia Alves, Anaide Rosa, Dillyane Carvalho, Luciana Maia e Sara Siqueira. Vocês fazem parte de tudo isso, pois tornaram o fardo leve, dividindo comigo as preocupações, angústias e desafios, e me fazendo acreditar que ao final tudo daria certo. E deu!

Às amigas irmãs, Amanda Beckman, Bruna Martins e Tuyra Castro, pela amizade sincera e incentivo em todos os momentos.

Aos demais alunos, professores e funcionários do Mestrado Profissional pela convivência e troca de experiências. Muito bom conhecer vocês!!!

Às Secretarias de Saúde e de Administração do Município de Uruçuí-Pi por minha liberação, permitindo que eu realizasse e concluísse esse projeto.

Aos funcionários e colegas de trabalho da Maternidade Municipal Professor Wall Ferraz, pelo carinho e torcida sempre, em especial Alcynéa

Mendes pela flexibilidade e compreensão nas trocas dos plantões! Vocês são minha segunda família!!!!

Agradecer aos alunos e colaboradores do Laboratório de Geoquímica Orgânica (LAGO): Danilo de Oliveira Ribeiro, Francisca Maria Macêdo Pereira, Fernanda Sousa Reinaldo, Iolanda Souza do Carmo, Lorenna Fonseca, Alek André Costa de Sousa, Arkellau Kenned Silva Moura e aos demais professores, alunos e colaboradores, pelo apoio e auxílio. Vocês foram fundamentais, não medindo esforços para que tudo desse certo.

Meu agradecimento especial a Professora Dr^a. Chistiane Mendes Feitosa e Juliana de Sousa Figuerêdo, do Laboratório de Produtos Naturais e Neuroquímica Experimental (LAPNEX), pela contribuição relevante na realização dos testes químicos.

Aos Senhores Deocleciano Miranda e Diego Miranda, do município de São Raimundo Nonato-Piauí, por me guiarem na coleta do material vegetal, e pela disposição em ajudar, sempre.

Aos Professores Francisco Rodrigues Leal e Gardene Maria de Sousa pela relevante contribuição.

A querida Elizabeth P. Biruel do Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde-BIREME, por ter contribuído de forma bastante expressiva para a realização deste estudo. Muito grata.

Aos meus cunhados (as), sogra (o), tios (as), sobrinhos (as), afilhado, vizinhos e demais familiares e amigos pelo incentivo e confiança depositada durante toda a caminhada.

"Transformar o medo em respeito, o respeito em confiança. Descobrir como é bom chegar quando se tem paciência. E pra se chegar onde quer que seja, não é preciso dominar a força, mas a razão. É preciso, antes de mais nada: QUERER." (Amyr Klink) LIMA TEIXEIRA, CLÁUDIA CARDINALLE; MEDEIROS, LIS CARDOSO MARINHO; FERREIRA, LYDIA MASAKO; LOPES CITÓ, ANTÔNIA MARIA DAS GRAÇAS. A fitoterapia com alternativa terapêutica: o alho bravo (*Mansoa sp*) e seus constituintes químicos. Dissertação de Mestrado Profissional em Saúde da Mulher. Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, 2018.

RESUMO

A fitoterapia é uma terapêutica tradicional que se baseia na utilização de plantas medicinais para prevenir, atenuar ou curar um estado patológico. O uso dos recursos vegetais está presente na cultura popular que é transmitida de geração a geração no decorrer da existência humana. O objetivo desse estudo foi avaliar o potencial terapêutico do "Alho Bravo" (Mansoa sp). Estudo de análise de produto bioativo de uma planta conhecida popularmente como "Alho Bravo", realizou-se em Teresina-Pi, no período de junho a agosto 2018. Consistiu em várias etapas, iniciou-se pela aquisição da planta "Alho Bravo" (Mansoa sp), preparo da exsicata, obteve-se o extrato etanólico bruto (EEB) e suas frações (hexânica, acetato de etila, diclorometano e hidroalcoólica), screening fitoquímico, extraiu-se o óleo essencial, realizou-se testes de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) e testes biológicos. Com a exsicata foi possível identificar a família e o gênero da planta em estudo. No teste de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) as amostras de EEB e óleo essencial apresentaram atividade inibitória da mesma, pois observou-se a presença de mancha branca na placa de Cromatografia em Camada Delgada-CCD. A abordagem fitoquímica de "Alho Bravo" (Mansoa sp) presença de alcalóides, taninos, flavonóides, saponinas e cumarinas. O extrato etanólico bruto (EEB) de "Alho Bravo" (Mansoa sp) foi fracionado pela técnica de dissolução fracionada com solventes de polaridade crescentes (hexano, diclorometano, acetato de etila). O óleo essencial de Mansoa sp apresentou coloração amarelo pálido e com odor característico de alho, foram identificados compostos organosulfurados. Considerando os objetivos propostos e com base nos resultados, concluiu-se que o conhecimento fitoquímico da espécie trará grande contribuição científica e proporcionará a criação de novos produtos naturais, tendo em vista o número restrito de pesquisas sobre a planta estudada.

Descritores: fitoterapia, extrato, anti-inflamatório.

LIMA TEIXEIRA, CLÁUDIA CARDINALLE; MEDEIROS, LIS CARDOSO MARINHO. FERREIRA, LYDIA MASAKO; LOPES CITÓ, ANTÔNIA MARIA DAS GRAÇAS. A fitoterapia com alternativa terapêutica: o alho bravo (*Mansoa sp*) e seus constituintes químicos. Dissertação de Mestrado Profissional em Saúde da Mulher. Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, 2018.

ABSTRACT

Phytotherapy is a traditional therapy that is based on the use of medicinal plants to prevent, mitigate or cure a disease state. The use of plant resources is present in popular culture that is transmitted from generation to generation in the course of human existence. The aim of this study was to evaluate the therapeutic potential of "Garlic Bravo" (Mansoa sp). bioactive product analysis study of a plant popularly known as "Garlic Bravo", held in Teresina-Pi, in the period from June to August 2018. It consisted of several stages, began the acquisition of the plant "Garlic Bravo" (Mansoa sp), the voucher specimen preparation, there was obtained the crude ethanolic extract (BSE) and its fractions (hexane, ethyl acetate, dichloromethane and hydroalcoholic), phytochemical screening, extracted essential oil, held inhibition assays the enzyme acetylcholinesterase (AChE) and biological tests. With the voucher specimen was identified family and the plant genus under study. In the inhibition assay of the enzyme acetylcholinesterase (AChE) and the BSE samples essential oil showed the same inhibitory activity, it was observed the presence of white spot on the chromatography plate-CCD Ponta layer. The phytochemical approach "Garlic Bravo" (Mansoa sp) revealed the presence of alkaloids, tannins, flavonoids, saponins and coumarins. The crude ethanolic extract (BSE) from "Garlic Bravo" (Mansoa sp) was fractionated by fractional dissolution technique of increasing polarity solvents (hexane, dichloromethane, ethyl acetate). The essential oil Mansoa sp showed pale yellow in color and characteristic odor of garlic, organosulfur compounds were identified. Considering the proposed objectives and based on the results, it was concluded that the phytochemical knowledge of the species will bring great scientific contribution and provide the creation of new natural products with a viewthe limited number of researches on the study plan.

Keywords: phytotherapy, extract, anti-inflammatory.

LISTA DE TABELAS

Screening fitoquímico	"Alho Bravo"	(Mansoa sp): id	lentificação de
alcaloides, taninos,	flavonoides,	triterpenos e/o	u esteroides,
saponinas, cumarinas,	quinonas. Tei	resina, Pi, Brasil,	201846
			` ' '
	alcaloides, taninos, saponinas, cumarinas, Constituintes voláteis	alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas, cumarinas, quinonas. Tel Constituintes voláteis do hidrolato	Screening fitoquímico "Alho Bravo" (<i>Mansoa sp</i>): id alcaloides, taninos, flavonoides, triterpenos e/o saponinas, cumarinas, quinonas. Teresina, Pi, Brasil, Constituintes voláteis do hidrolato do "Alho Bravo" Teresina, Pi, Brasil, 2018

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Município de São Raimundo Nonato-Piauí, Brasil	27
Figura 2- Material vegetal (Mansoa sp) coletado no Sítio do Mocó	28
Figura 3- Material vegetal (folhas e galhos) para a realização da exsicata	29
Figura 4- Folhas de "Alho Bravo" (<i>Mansoa sp</i>) moídas	30
Figuras 5 e 6- Extrato após filtração e evaporador rotativo	30
Figura 7 - Fluxograma procedimento para a obtenção do extrato e frações o folhas de "Alho Bravo" (<i>Mansoa sp</i>)	
Figura 8- Frações do extrato etanolico bruto	32
Figura 9- Folhas de "Alho Bravo" utilizadas para hidrodestilação	36
Figuras 10 e 11- Aparelho do tipo Clevenger para extração por hidrodestila com balão 5L contendo as folhas	-
Figura 12- Extração do hidrolato com diclorometano	37
Figura 13- Cromatógrafo a gás (SHIMADZU GC-17A)	38
Figura 14- Exsicata fixada em cartolina, junto com etiqueta informativa	40
Figura 15- Extrato etanólico bruto (EEB) seco	40
Figura 16- Síntese e hidrólise da AChE	42
Figura 17- Transmissão nervosa nas sinapses	42
Figura 18- Sinapse colinérgica diante de IAChE	43
Figura 19- Inibição qualitativa da AChE para o EEB	44
Figura 20- Inibição qualitativa da AChE para o hidrolato	45
Figura 21- Identificação de alcaloides EEB	46
Figura 22- Identificação de taninos EEB	48
Figura 23- Identificação de flavonoides EEB	49
Figura 24- Identificação de triterpenos/esteroides EEB	50
Figura 25- Identificação de saponinas EEB	51
Figura 26- Identificação de cumarinas EEB	52
Figura 27- Identificação de quinonas EEB	53
Figura 28- Cromatografia de íons totais (TIC)	56
Figura 29- Frações hexânica, diclorometano e acetato de etila do EEB	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AChE - Enzima Acetilcolinesterase

AlCl₃- Cloreto de Alumínio

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCI - lodeto de Acetilcolina

°C - grau Celsius

C₄H₆O₃ – Anidrido Acético

CAAE - Certificado de Apresentação de Apreciação Ética

CCD - Cromatografia em Camada Delgada

CG-EM – Cromatografia Gasosa Aplicada a Espectrometria de Massas

CH₂Cl₂ – Diclorometano

DeCs - Descritores

DTNB - Ácido Dithiobis Nitrobenzóico

EEB - Extrato Etanólico Bruto

EtOH - Etanol

FeCl₂ - Cloreto Férrico

g – gramas

HCI – Ácido Clorídrico

HNO₃ – Ácido Nítrico

H₂SO₄ – Ácido Sulfúrico

IAChE – Inibidores da Enzima Acetilcolinesterase

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICM - Instituto Chico Mendes

KI - lodeto de Potássio

KCI - Cloreto de Potássio

LAGO – Laboratório de Geoquímica Orgânica

LAPNEX – Laboratório de Produtos Naturais e Neuroquímica Experimental

mL - Mililitros

mg - Miligramas

MS - Ministério da Saúde

NaOH - Hidróxido de Sódio

NPM - Núcleo de Plantas Medicinais

OMS - Organização Mundial da Saúde

PICs – Práticas Integrativas e Complementares

PNPMF – Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

PNPIC – Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

RDC – Resolução Diretoria Colegiada

SNC - Sistema Nervoso Central

SUS - Sistema Único de Saúde

UNASUS - Universidade Aberta do SUS

UFPI - Universidade Federal do Piauí

UNESCO – Organização para as Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura

UV - Radiação Ultravioleta

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	16
2.OBJETIVOS	19
3.REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1.0 EMPREGO DAS PLANTAS MEDICINAIS E OS PRODUTOS BIOATIVOS	20
3.2.APRESENTAÇÃO DA FAMÍLIA BIGNONIACEAE	22
3.3.GÊNERO MANSOA	24
4.METODOLOGIA	26
4.1.LOCAL DE COLETA DA PLANTA	27
4.2.PREPARO DA EXSICATA E IDENTIFICAÇÃO CIENTÍFICA DA AMOSTRA	28
4.3.PREPARO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO	29
4.4.OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO	31
4.5.PROTOCOLO DO TESTE DE INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE (AChE)-EEB E HIDROLATO/VOLÁTEIS DE MANSOA SP	32
4.6.PROTOCOLO SCREENING FITOQUÍMICO	33
4.6.1.IDENTIFICAÇÃO ALCALÓIDE	33
4.6.2.IDENTIFICAÇÃO TANINOS	34
4.6.3.IDENTIFICAÇÃO FLAVONOIDES	34
4.6.4.IDENTIFICAÇÃO TRITERPENOS E/OU ESTEROIDES	34
4.6.5.IDENTIFICAÇÃO SAPONINAS	35
4.6.6.IDENTIFICAÇÃO CUMARINAS	35
4.6.7.IDENTIFICAÇÃO QUINONAS	35
4.7.EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTOMETRIA DE MASSAS (CG-EM)	35
4.7.1.OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	35
4.7.2.ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL POR CG-EM	37
4.8.ASPECTOS ÉTICOS E LEGAIS	38
5.RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1.EXSICATA DE "ALHO BRAVO" (Mansoa sp)	.39
5.2.EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (EEB)	40
5.3.TESTE INIBIÇÃO AChE- EEB E HIDROLATO/VOLÁTEIS	41
5.3.1.MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ACHE	44
5.4.PROTOCOLO SCREENING FITOQUÍMICO	45

5.4.1.IDENTIFICAÇÃO ALCALÓIDES	46
5.4.2.IDENTIFICAÇÃO TANINOS	47
5.4.3.IDENTIFICAÇÃO FLAVONOIDES	45
4.4.IDENTIFICAÇÃO TRITERPENOS	49
5.4.5.IDENTIFICAÇÃO SAPONINAS	50
5.4.6.IDENTIFICAÇÃO CUMRINAS	51
5.4.7.IDENTIFICAÇÃO QUINONAS	52
5.5.EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E CCD	53
5.6.FRAÇÕES DO EEB	56
6. PERSPECTIVAS DO ESTUDO	57
7.CONCLUSÃO	58
8.REFERÊNCIAS	59
ANEXOS	68
ANEXO A – COMPROVANTE DE ENVIO AO CEP	68
ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	69
ANEXO C – AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL UFPI	72
ANEXO D – AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL UNIFESP	73
ANEXO E – AUTORIZAÇÃO ICMBio/SISBIO	74
APÊNDICE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	76

1. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2000) define as plantas medicinais como aquelas que têm uma história de uso tradicional como agente terapêutico. O uso dos recursos vegetais está presente na cultura popular que é transmitida de geração a geração no decorrer da existência humana. Este conhecimento é encontrado, principalmente, junto às populações tradicionais. No Brasil, os povos indígenas, antes mesmo do descobrimento, utilizavam espécies medicinais na cura de variadas doenças. Os registros da utilização de plantas como remédios datam da era paleolítica, pela identificação do pólen de plantas medicinais em sítios arqueológicos (SAAD, et al., 2016).

Antes de serem utilizadas pela população é necessário que as plantas medicinais passem por vários processos que no final vão chegar a formulações com indicações de uso seguro e adequado para assim fornecer resultados desejados a quem for utilizá-la. Esses processos englobam a química orgânica, fitoquímica (onde ocorre o isolamento, purificação e caracterização de princípio ativo), a farmacologia (investigando farmacologicamente os extratos e os constituintes químicos isolados), a química orgânica sintética (fazendo as transformações químicas de princípios ativos) a química medicinal (estudando a relação estrutura/atividade e os mecanismos de ação dos princípios ativos) e por fim a preparação de formulações para a produção do fitoterápico (MACIEL et al., 2002)

O uso de plantas medicinais no cuidado à saúde das pessoas, para fins terapêuticos, tem sido amplamente divulgado em vários estudos como uma alternativa complementar, de baixo custo e alta eficácia para diversas patologias.

Estudos sobre a medicina popular vêm merecendo atenção cada vez maior devido ao contingente de informações e esclarecimentos que vem sendo oferecido à Ciência. Atualmente percebe-se o interesse governamental e profissional em associar o avanço tecnológico ao conhecimento popular e ao desenvolvimento sustentável visando a uma política de assistência em saúde eficaz, abrangente, humanizada e independente da tecnologia farmacêutica.

Nesse sentido, o Estado brasileiro instituiu a Portaria nº 22/1967 da ANVISA e a Resolução Diretoria Colegiada-RDC nº 17/2000 que classifica os fitoterápicos como medicamentos (BRASIL, 2006; BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R., 2015).

A fitoterapia é uma terapêutica tradicional que se baseia na utilização de plantas medicinais, tem sido revelada em diversos estudos com finalidades terapêuticas. Trata-se de uma forma eficaz de atendimento primário a saúde, podendo complementar o tratamento usualmente empregado (AGUIAR, L. C. G. & BARROS, R. F. M., 2012).

Santos e colaboradores (2018) relatam que com a criação do Sistema Único de Saúde (SUS) e a participação da sociedade na construção das políticas de saúde houve a elaboração de políticas específicas para atender à incorporação da fitoterapia no SUS, como a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) estimulando e possibilitando o diálogo entre os saberes populares e científicos.

De acordo com Macedo e Gemal (2009), o uso de fitoterápicos é impulsionado pela Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) que entendendo a necessidade de reconhecer as terapias utilizadas na medicina tradicional, estabeleceu diretrizes para a promoção e o desenvolvimento de pesquisas, tecnologias e inovações em plantas medicinais e fitoterápicos. Esta política visa garantir a segurança, a eficácia e a qualidade dos fitoterápicos para que possam ser produzidos em escala industrial.

Na região agreste do Piauí, município de São Raimundo Nonato, no Sítio do Mocó, foi identificada uma planta que para população tem elevado poder de tratar infecções respiratórias e que os animais, ao ingeri-la, o gado, por exemplo, ficam com a carne e o leite impróprios para o consumo devido ao forte odor e sabor de alho, porém pertencente a família diferente da família do alho (*Allium sativum* L.), que é Amarylidaceae (Liliaceae) justificando, portanto, o interesse das pesquisadoras em estudar esta planta tão consumida e relatada pela população.

Com o intuito de ampliar os conhecimentos, foram realizados estudos necessários para esclarecer alguns aspectos da espécie, portanto, o presente estudo tem o objetivo de avaliar o potencial terapêutico do "Alho Bravo" (*Mansoa sp*).

2. OBJETIVOS

GERAL:

> Avaliar o potencial terapêutico do "Alho Bravo" (*Mansoa sp*).

ESPECÍFICOS:

- Apresentar a exsicata da espécie chamada popularmente de "Alho Bravo";
- Preparar o extrato etanólico bruto (EEB) e as frações do extrato etanólico bruto (EEB);
- Extrair e identificar os constituintes químicos do óleo essencial de Mansoa sp;
- Realizar o teste e avaliar a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE).

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. O EMPREGO DAS PLANTAS MEDICINAIS E OS PRODUTOS BIOATIVOS

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2002) fitoterapia é a utilização das plantas com atividade medicinal para prevenir, aliviar e/ou tratar doenças sendo bastante difundida em todo o mundo. Fontenele (2013) afirma que o Sistema Único de Saúde (SUS), através de seus princípios e diretrizes norteadores, abraça a fitoterapia como recurso terapêutico integrativo e complementar à saúde e dispõe de políticas públicas e normatizações específicas que buscam institucionalizar esta prática.

Para a ANVISA (RDC nº 14/2010) medicamento fitoterápico é aquele obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais, cuja eficácia e segurança são validadas por levantamentos etnofarmacológicos, documentações técnico-científicas ou evidências clínicas. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade.

O interesse populacional pelas várias terapias naturais tem aumentado significativamente nos países industrializados e está em expansão o uso de plantas medicinais e fitoterápicos, pois estão inseridos nas Práticas Integrativas e Complementares (PICs) que objetiva a prática profissional mais humanizada com visão holística/integral do paciente, ações de promoção e prevenção da saúde, bem como do tratamento de doenças por meio de tecnologias eficazes e seguras, com ênfase na escuta acolhedora, contribuindo para o aumento da resolubilidade do sistema e ampliação do acesso à essas práticas (ZANELLA et al., 2018).

A Portaria do Ministério da Saúde nº 971 de maio de 2006, visa o provimento do acesso a medicamentos homeopáticos e fitoterápicos na perspectiva da ampliação da produção pública, assegurando as especificidades da assistência farmacêutica nesses âmbitos, na regulamentação sanitária. Há uma Relação Nacional de Plantas Medicinais e a Relação Nacional de Fitoterápicos elaboradas em decorrência da portaria supracitada, com o objetivo de promover o uso racional de plantas medicinais e dos fitoterápicos

no Sistema Único de Saúde (SUS) e o cumprimento dos critérios de qualidade, eficácia, eficiência e segurança no uso dos mesmos (MACEDO E GEMAL, 2009).

Posteriormente foi publicada a Portaria Interministerial nº 2960, de 09 de dezembro de 2008, que aprova o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que, em conformidade com as diretrizes e linhas prioritárias da Política Nacional, estabelece ações pelos diversos parceiros, em torno de objetivos comuns promovendo o desenvolvimento de tecnologias e inovações, assim como o fortalecimento das cadeias e dos arranjos produtivos, o uso sustentável da biodiversidade brasileira e o desenvolvimento do Complexo Produtivo da Saúde. O Programa propõe inserir plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à Fitoterapia no SUS; promover e reconhecer as práticas populares e tradicionais de uso de plantas medicinais e remédios caseiros; promover a inclusão da agricultura familiar (BRASIL, 2008).

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos busca não apenas estimular o uso de plantas medicinais e fitoterápicos, bem como a sua prescrição por parte dos profissionais da área da saúde. Com a fundamentação política estruturada pelas Portarias ministeriais é possível este uso nos municípios brasileiros e no Piauí existe uma realidade deste processo. (SILVA, 2018).

Estudo sobre as comunidades rurais no município de Demerval Lobão (Piauí) levantaram o potencial medicinal de 21 quintais de nove comunidades, ratificando que o uso de plantas medicinais é em geral transmitido de pais para filhos, fazendo parte da cultura popular, e que nas sociedades tradicionais a transmissão oral é o principal modo pelo qual esse conhecimento se perpetua (AGUIAR E BARROS, 2012).

De acordo com estudo realizado em Teresina (Piauí) sobre a percepção de gestores e profissionais da estratégia saúde da família em relação à prática da fitoterapia, foi possível observar que estava sempre relacionada ao conhecimento popular e ao costume adquirido em família, ou seja, passado de geração a geração corroborando com os registros da literatura, porém há uma

deficiência na formação técnica em fitoterapia dos profissionais de saúde da Estratégia de Saúde Familiar, bem como do conhecimento das políticas que envolvem o tema e o pouco interesse pela prescrição dos fitoterápicos, por parte de alguns profissionais (FONTENELE, et al, 2013; SILVA E FEITOSA 2018).

Silva e colaboradores (2018) realizaram uma pesquisa sobre ausência de estudos observacionais, objetivando a determinação do conhecimento de gestores e/ou usuários e/ou profissionais da saúde a respeito da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), revelando que essa ausência sinaliza para a necessidade de abordagens investigativas envolvendo, principalmente, gestores e profissionais do SUS.

Para Saad e colaboradores (2016) as plantas desenvolveram um sistema biossintético que gera uma mistura complexa de moléculas bioativas provenientes do metabolismo secundário e o ser humano percebeu a importância desses constituintes na terapêutica há milhares de anos com a utilização das plantas medicinais. Neste sentido, com o intuito de investigar e controlar o processo biossintético das espécies vegetais a ciência desenvolveu técnicas de extração e isolamento que culmina na identificação de importantes substâncias ativas.

3.2. APRESENTAÇÃO DA FAMÍLIA BIGNONIACEAE

De acordo com Fischer, et al. (2004) Bignoniaceae está representada por cerca de 100 gêneros e 860 espécies, distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, subdividida em oito tribos, ocorrendo três delas no Brasil: Bignonieae, Crescentieae e Tecomeae. Pode apresentar hábito arbóreo, arbustivo e lianescente, geralmente apresentam folhas 2-3 folioladas com um dos folíolos frequentemente modificados em gavinha.

De modo geral, as Bignoniaceae são plantas lenhosas, predominantemente lianas, apresentando também espécies arbóreas e semi-arbustivas. Seus ramos são cilíndricos ou angulosos com gemas axilares

dispostas em séries, sendo as mais externas pseudoestípulas freqüentemente foliáceas. As folhas das Bignoniaceae são opostas e só raramente alternas. Cipriani (2006) relata que as plantas são reconhecidas pela sua capacidade em produzir uma grande quantidade de metabólitos secundários e o homem usou, durante séculos, muitas espécies para tratar uma variedade de doenças. Estudos etnomédicos e farmacológicos citam o potencial medicinal e/ou farmacológico de imúmeras espécies da família Bignoniaceae.

Dentre as principais características para a adaptação e o sucesso reprodutivo destacam-se as defesas antiherbivoria, exemplificadas pelas estruturas secretoras (nectários e tricomas glandulares), peculiares às espécies de Bignoniaceae, que foram relatadas tanto para órgãos vegetativos, quanto reprodutivos. As diferenças anatômicas de distribuição e desenvolvimento das estruturas secretoras podem constituir caracteres de importância taxonômica. (POTIGUARIA, et al., 2012).

A exuberância durante o florescimento faz com que muitas espécies de Bignoniaceae sejam utilizadas na arborização de ruas, praças, parques e avenidas (LORENZI, 2008). Bignoniaceae é considerada uma família com alto potencial econômico, com diversas espécies relatadas para usos principalmente na horticultura, culinária, artesanato, corantes em rituais religiosos, com recurso madeireiro e medicinal (GENTRY, 1992).

Espécies de alho são consumidas frescas ou em pratos em todo o mundo, utilizadas como alimentos comuns e como agentes para o tratamento de muitas doenças por conterem compostos voláteis com enxofre e atividade antioxidante (GITIN, et al., 2014).

Upadhyay (2016) relata que quando cortado ou esmagado, o alho libera uma enzima chamada alinase, que catalisa a formação de alicina e seus derivados, principais componentes ativos, que tem potente ação antioxidante, cardio e neuroprotetores.

3.3. GÊNERO MANSOA

A planta conhecida popularmente por "alho bravo" é do gênero Mansoa. Este gênero é pertencente à família Bignoniaceae e inclui onze espécies que ocorrem principalmente nas florestas secas e úmidas do Brasil e da Argentina (Zoghbi, 2009). Ainda de acordo com Zoghbi, essas espécies na Amazônia brasileira são conhecidas como "cipó-de-alho", em referência ao cheiro forte de alho das folhas quando esmagadas. O "cipó-de-alho" tem vários usos na medicina tradicional entre eles, os mais citados são para tratamento de gripe, febre, dor e inflamação, artrite e reumatismo. As substâncias responsáveis pelo odor característico de alho pertencem à classe dos sulfetos de alila (e de alquila) que são bastante voláteis.

O cheiro de alho da espécie estudada pode comprovar a presença de substância que estão no alho (*Allium sativum* L.). A literatura relata que os Sumérios utilizavam o alho há pelo menos 3.000 anos. O alho (*Allium sativum* L.) é uma planta herbácea que contém principalmente aliina (precursora da alicina, formada pela ação da enzima alinase), possui ação antiviral, antifúngica, antibiótica e com considerável teor de selênio, que age como antioxidante e alguns compostos organosulfurados presentes no alho possuem atividade hipotensora, hipoglicemiante, hipocosleterolêmica e anti-agregante plaquetária, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares. (SAAD, et al. 2016).

No entanto, o alho (*Allium sativum*) pertence à família Amarylidaceae (Liliaceae) e a família do "alho bravo" é Bignoniaceae, gênero *Mansoa*. De acordo com Silva e colaboradores (2016) o Brasil é o centro de diversidade para o grupo das Bignoniaceae, com cerca de 406 espécies em 33 gêneros, dos quais 22 gêneros e 90 espécies ocorrem na Caatinga, bioma composto por formação campestre de vegetação aberta e típica de regiões com baixos índices de chuva, predominância de arbustos com galhos retorcidos, que perdem suas folhas durante a seca para evitar a perda de água por evaporação.

Mansoa é um gênero Neotropical. Em todas as classificações de Bignoniaceae, o gênero tem se mantido

na tribo Bignonieae, caracteriza-se pelo hábito lianescente, folhas 2-3-folioladas, folíolo terminal modificado em uma gavinha trifurcada no ápice, inflorescências racemosas ou tirsóides, corola rósea a roxa, raramente amareloesbranquiçada, estaminódio reduzido, disco nectarífero conspícuo, cápsulalinear a linear-oblonga, grãos de pólen dispersos em mônades, pericolpados, perissincolpado com exina areolada e reticulada. Muitas destas características também são encontradas em outros gêneros de Bignonieae, portanto, os principais caracteres usados para diagnosticar *Mansoa* são as flores com corola lilás, gavinhas trifurcadas no ápice e o odor de alho. (LOHMANN, 2006).

Para Castro (2010) o reconhecimento das espécies dentro de *Mansoa* também é um problema relevante e, ainda assim, a dificuldade taxonômica e a imprecisão nas delimitações existentes em torno de *Mansoa* e grupos relacionados, não existe um trabalho de revisão taxonômica para o gênero. A maioria das espécies ocorre na floresta tropical úmida (Mesoamericana, Amazônica e Atlântica), mas também são encontradas na floresta tropical seca do Brasil, Caatinga, foram reconhecidas quatro espécies.

4. METODOLOGIA

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí-UFPI, no dia 28 de março 2018, com o parecer Nº 2.567.137 e CAAE Nº 8349218.8.0000.5214 (ANEXO B), bem como autorização para coleta do material vegetal com finalidade científica, do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio)/Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) Nº 61773-1, em 06 de junho 2018 (ANEXO E).

Tratou-se de estudo de análise de produto bioativo de uma planta medicinal encontrada na região de São Raimundo Nonato. Foi realizado em Teresina-Piauí, nos Laboratórios de Geoquímica Orgânica (LAGO), de Síntese e Fitoquímica e Laboratório de Produtos Naturais e Neuroquímica Experimental (LAPNEX) da Universidade Federal do Piauí-UFPI, no período de junho a agosto 2018, consistiu em várias etapas, iniciou-se pela aquisição da planta, exsicata, conservação, armazenamento, preparo do extrato etanólico bruto (EEB) e de suas frações (hexânica, diclorometano, acetato de etila e hidroalcoólica), screening fitoquímico, extração do óleo essencial, testes de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) e testes biológicos.

Para o levantamento bibliográfico foram realizadas extensas buscas em bases de dados indexadas eletrônicas: SciELO, PubMed, Medline, LILACS e periódicos da CAPES, com pesquisa DeCS nos idiomas português, inglês e espanhol, respectivamente, utilizando os Descritores: fitoterapia, extrato, anti-inflamatório/phytotherapy, extract, anti-inflamatory/fitoterapia, extracto, anti-inflamatoria.

Os artigos estudados foram encontrados pelos descritores com a seguinte estratégia de busca: ("tissue culture" and micropropagat* and "medicinal plants" and (plantas and medicina*) and (biotechnolog* or biotecnolog*)) or (fitoter* and extrat* and (alcaloid* or mh:D03.132*)), realizada de acordo com o PICO (P=estudo químico do "alho bravo"; I=preparo do extrato etanólico bruto e das frações do extrato etanólico bruto, extração do óleo essencial das folhas de *Mansoa sp* e screening fitoquímico; C=comparação bibliográfica; O=constituintes químicos do "alho bravo")

4.1. LOCAL DE COLETA DA PLANTA

O material botânico em estudo foi coletado no município de São Raimundo Nonato situado no estado do Piauí (FIGURA 01), distando 576 km de Teresina, capital do Estado (IBGE, 2010). Este município é reconhecido nacionalmente por abrigar o Parque Nacional da Serra da Capivara, sítio arqueológico listado pela UNESCO (Organização para as Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura) como patrimônio da humanidade, unidade de conservação brasileira e preservação ambiental, subordinado ao Instituto Chico Mendes (ICM), que guarda vestígios da presença dos primeiros habitantes do continente americano (SIQUEIRA 2014).

FIGURA 01: Município de São Raimundo Nonato-Piauí, Brasil. Sítio do Mocó.



A planta em estudo é conhecida popularmente como "Alho Bravo" e foi identificada pelo senso comum, por moradores da região. É uma planta nativa, que foi encontrada no Sítio do Mocó, situado a 20 km de São Raimundo Nonato-Pi, próximo ao município de Coronel José Dias-Pi, localizado no semiárido nordestino onde se observa a predominância da vegetação do tipo caatinga. A vegetação é seca boa parte do ano, mudando a paisagem no período chuvoso ("inverno"), época em que ocorre a floração das plantas. Relato de moradores e funcionários do Parque Nacional da Serra da Capivara (São Raimundo Nonato-Pi, Brasil), essa planta foi muito utilizada pelos índios, através de chás e "lambedores", para tratamento de gripes e resfriados, bem como para tratamento de feridas e eles deixaram essa cultura, que hoje é muito difundida e seguida pelos moradores mais antigos da região.

A planta chama a atenção dos moradores pelo aroma e sabor característico e, mesmo estando envolvido por "cipós", o gado que é criado solto na região e que utiliza essa planta como alimento fica com o leite e a carne impróprios para o consumo pelo forte cheiro de alho, principalmente nas folhas (segundo informações colhidas com os moradores da região), que é exalado durante todo o dia. A problemática de falta de flor dificultou a identificação da espécie.

O material botânico foi coletado no dia 10 de junho 2018, na região do Sítio do Mocó (FIGURA 02), situado a 20 km do município de São Raimundo Nonato-Pi, próximo ao município de Coronel José Dias-Pi, latitude 09°00'55" S, longitude 42°41'58" W, consistiu de galhos e folhas, foi conservado para preparo da exsicata (FIGURA 02).

FIGURA 02: Material vegetal coletado no Sítio do Mocó.



4.2. PREPARO DA EXSICATA E IDENTIFICAÇÃO CIENTÍFICA DA AMOSTRA

A amostra coletada da planta foi encaminhada ao Herbário Graziela Barroso - UFPI para o preparo da exsicata (FIGURA 03), instrumento obrigatório para identificação da família e gênero da planta e obtenção de

diferentes informações sobre espécies que possuem diversas características e particularidades individuais.

FIGURA 03: Material vegetal (folhas e galhos) sendo preparado para realização da exsicata (HERBÁRIO GRAZIELA BARROSO/JUNHO 2018).



Galhos com folhas foram hidratados, prensados e desidratados, secos sob pressão entre folhas de jornais, em pranchas de madeira, tecnicamente chamadas de prensas e logo em seguida colocados em uma estufa da marca TECNAL, com circulação e renovação de ar, à temperatura de 60 °C (sessenta graus Celsius) durante 24 (vinte e quatro) horas, em seguida foi realizado o estudo botânico.

4.3. PREPARO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (EEB) DE ALHO BRAVO (Mansoa sp)

O extrato foi obtido a partir das folhas de "alho bravo" (*Mansoa sp*), após a coleta dos galhos, estes foram higienizados com água corrente, secos com papel toalha e postos para secar a temperatura ambiente. Para a elaboração do extrato etanólico bruto (EEB) foram utilizadas as folhas secas, separadas dos galhos e moídas em moinho de facas da marca MARCONI (FIGURA 04), no Núcleo de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí.

FIGURA 04: Folhas de "Alho Bravo" (*Mansoa sp*) sendo moídas no moinho de facas (MARCONI).

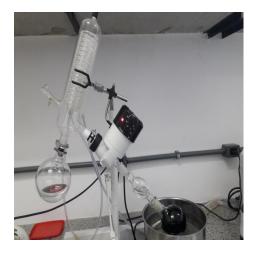


O material seco e moído foi submetido à maceração com álcool etílico 99,8% P.A. (NEON) – 2L, em frasco âmbar, à temperatura ambiente por 8 (oito) vezes consecutivas e tendo a duração de 3 (três) dias cada extração. Procedeu-se a agitação diária do mesmo durante todos os dias até a filtragem.

Após filtração (FIGURA 05), o solvente orgânico foi removido em evaporador rotativo da marca Fisatom 801 (FIGURA 06) – refrigerador acoplado ao rotaevaporador Banho Ultratermostático da marca Logen Scientífic 100% - com temperatura entre 40 °C e 60 °C, sob 60 rotações por minuto, controle de pressão manual negativa 600 mmhg e o solvente residual recolhido no balão foi reutilizado.

FIGURAS 05 e 06: Extrato após filtração e evaporador rotativo (FISATOM 801).





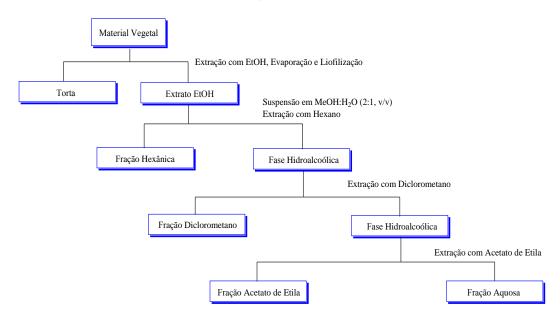
O extrato concentrado passou por um processo de liofilização por 96 horas, ficando em forma de pó, em seguida armazenado em dessecador até ser utilizado para os testes de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), protocolo de screening fitoquímico e testes biológicos. Em seguida foi pesado para o cálculo do rendimento.

A liofilização consiste em retirar o solvente do extrato, o qual é seco por sublimação de água à pressão inferior à do ponto triplo, sem sofrer desnaturação. As características essenciais da amostra são mantidas e, a simples adição de água, é suficiente para sua reconstituição.

4.4. OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (EEB) DAS FOLHAS DE "ALHO BRAVO" (Mansoa sp)

Parte do extrato EtOH foi reservado para testes biológicos e o restante foi suspenso em 200 ml de MeOH/H2O (2:1, v/v) e submetido a uma partição líquido-líquido com solventes de polaridade crescente, respectivamente, hexano, diclorometano e acetato de etila, de acordo com o fluxograma da FIGURA 07. A fase hidroalcoólica foi extraída exaustivamente com 2 x 100 ml de hexano, 5 x 100 ml de diclorometano e 5 x 100 ml de acetato de etila.

FIGURA 07: Fluxograma procedimento para a obtenção do extrato etanólico bruto de *Mansoa sp* e de suas frações.



As frações obtidas foram concentradas à baixa pressão em evaporador rotativo, até a evaporação completa do solvente, sendo posteriormente pesados, fornecendo as frações hexânica, diclorometano, acetato de etila e aquosa (FIGURA 08).

FIGURA 08 Frações acetato de etila, diclorometano, hexânica e hidroalcoólica, espectivamente, extraídas do EEB.



4.5. PROTOCOLO DO TESTE DE INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE (AChE) – EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (EEB) E HIDROLATO/VOLÁTEIS DAS FOLHAS DE "ALHO BRAVO" (*Mansoa sp*)

Para análise das amostras de extrato etanólico bruto (EEB) utilizou-se o método de Ellman, *et al.*, (1961) modificado por Rhee (2001) para determinar a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE).

Pesou-se 10 mg da amostra e cafeína (substância padrão); dissolveu-se a amostra e a substância padrão (cafeína) em 1 mL de metanol; amostras foram aplicadas em placa de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) 6 cm x 6 cm;

A placa foi eluída com clorofórmio e metanol na proporção de 9:1, esperou secar; pesou-se 2,9 mg de iodeto de acetilcolina (ATCI) e 4,0 mg de ácido 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzóico) – DTNB. Em seguida, dissolveu-se o iodeto de acetilcolina (ATCI) e o ácido 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzóico) – DTNB

em 10 mL da solução tampão pH 8 Tris-hidroxi-metilamina-metano e HCl (Tris-HCl) e borrifou-se a placa que estava contida a amostra;

Esperou-se o tempo de secagem e borrifou-se novamente a placa com a enzima AChE (*Electrophoruselectricus* tipo VI (Sigma[®])) na concentração de 10 U mL⁻¹.

4.6. PROTOCOLO SCREENING FITOQUÍMICO – "Alho Bravo" (Mansoa sp)

Seguiu a metodologia descrita por Barbosa et al (2004), onde o extrato etanólico bruto (EEB) foi utilizado para testes de identificação de alcaloides, taninos, flavonoides, triterpenos e/ou esteroides, saponinas, cumarinas e quinonas.

4.6.1. Identificação de Alcaloides

Foi utilizado o método do reagente de Dragendorff.

Dissolveu-se 8 g de nitrato de bismuto em 20 mL de HNO₃ (30%). Em seguida dissolveu-se, em separado, 22,8 g de KI num volume mínimo de água. Posteriormente, misturou-se a primeira solução pouco a pouco sobre a segunda. Deixou-se em repouso por 1 h e depois foi filtrada. O filtrado foi diluído com água destilada até 100 mL.

Para a identificação de alcaloides pesou-se 8 mg do extrato etanólico bruto (EEB) e diluiu-se em 2 mL com metanol, adicionou-se 2 mL de solução de HCl e em seguida aqueceu-se a mistura por 10 min. Após esfriamento, filtrou-se colocando em 2 tubos de ensaios, adicionou-se algumas gotas do reagente de Mayer.

Os alcaloides foram identificados a partir da aplicação do extrato etanólico bruto em placa de cromatografia em camada delgada (CCD), usou-se o etanol como eluente. Em seguida borrifou-se a placa com reagente de Dragendorf, onde se esperou o aparecimento de coloração laranja indicativo da presença de alcaloides.

4.6.2. Identificação de Taninos

Colocou-se aproximadamente 10 mg do extrato etanólico bruto (EEB) em um tubo de ensaio e diluiu-se com metanol até 2 mL. Logo após, adicionou-se 5 mL de água destilada a esta mistura. Em seguida filtrou-se a solução e adicionou-se 5 gotas de solução de cloreto férrico (FeCl₂) a 10% previamente preparada. Após um intervalo de tempo, observou-se a solução e a coloração do precipitado para verificar se houve a coloração azul é indicativa de taninos hidrossolúveis e/ou coloração esverdeada indicativo de taninos condensados.

4.6.3. Identificação de Flavonoides

Reação com cloreto de alumínio: áreas diferentes de uma tira de papel de filtro foram umedecidas com o extrato etanólico bruto (EEB) e colocada sobre uma das regiões umedecidas 1 gota de solução de AlCl₃ a 5% e realizada a comparação da fluorescência sob luz ultravioleta (ondas longas). Observou-se a intensificação de fluorescência com mudança de cor para verde amarelado, indicativo da presença de flavonoides na amostra.

4.6.4. Identificação de Triterpenos e/ou Esteróis

Transferiu-se 2 mL do extrato etanólico bruto (EEB) para um Becker de 100 mL após a evaporação do solvente em banho-maria até a secura, adicionou-se 3 mL de clorofórmio com agitação leve. Em seguida, transferiu-se a solução clorofórmica para um tubo de ensaio. Após a filtração, adicionou-se 1 mL de anidrido acético (C₄H₆O₃) com agitação leve. Posteriormente, adicionou-se 1 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) pelas paredes do tubo. A presença de esteroides será identificada pela mudança de coloração para vermelho-escuro e a coloração marrom é indicativa da presença de triterpenos.

4.6.5. Identificação de Saponinas

Colocou-se aproximadamente 10 mg do extrato etanólico bruto (EEB) em um tubo de ensaio e diluiu-se com etanol até 2 mL, em seguida adicionou-se 5 mL de água fervente. Após esfriamento, agitou-se vigorosamente e deixou-se em repouso por 20 minutos. A formação de espuma é indicativa da presença de saponinas.

4.6.6. Identificação de Cumarinas

Pesou-se aproximadamente 10 mg do extrato etanólico bruto (EEB) em um tubo de ensaio e diluiu-se com metanol até 4 mL. Posteriormente tampou-se o tubo com papel-filtro molhado com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 10% e levou-se ao banho-maria a 100 °C por 5 min. Em seguida, retirou-se o papel-filtro e examinou-se sob a luz ultravioleta –UV.

4.6.7. Identificação de Quinonas

Pesou-se aproximadamente 10 mg do extrato etanólico bruto (EEB) em um tubo de ensaio e adicionou-se 2 mL de metanol para dissolução. Em seguida, adicionou-se 5 mL de clorofórmio com agitação. Deixou-se em repouso por 15 minutos. Posteriormente recolheu-se em um tubo de ensaio a fase clorofórmica e adicionou-se 1 mL de solução de NaOH a 5%. O aparecimento de coloração roxa é indicativo de quinonas.

4.7. EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE "ALHO BRAVO" (Mansoa sp) E CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTOMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

4.7.1 Obtenção do Óleo Essencial

As folhas de Alho Bravo (Mansoa sp) 85,66 g (FIGURA 09) foram submetidas à extração por hidrodestilação por um período de 3 h, em aparelho de tipo Clevenger modificado acoplado a um balão de 5 L (FIGURAS 10 e 11).

FIGURA 09: Folhas de "Alho Bravo" (Mansoa sp) utilizadas para hidrodestilação.



FIGURAS 10 e 11: Aparelho do tipo Clevenger utilizado para extração por hidrodestilação com balão de 5 L contendo as folhas de *Mansoa sp.*





A FIGURA 12 apresenta a extração do hidrolato com 3 x 50 ml de diclorometano (CH_2Cl_2), em um funil de separação de 250 mL. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente em rotaevaporador, em seguida analisado em câmara ultravioleta, após placa de cromatografia delgada (CCD).

FIGURA 12: Extração do hidrolato com 3 x 50 mL de diclorometano utilizando funil de separação



4.7.2 Análise do óleo essencial por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG - EM)

Os constituintes voláteis foram analisados em um cromatógrafo a gás da marca SHIMADZU modelo GC-17A (FIGURA 13) acoplado a um espectrômetro de massas GCMS-QP5050A equipado com coluna capilar J&W Scientific DB-5 HT (95% metilpolisiloxano e 5% fenil, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,1 µm de espessura do filme da fase fixa). A programação de injeção e corrida das amostras foram: injetor a 220 °C, interface a 240 °C e coluna programada para operar a 60 °C, com elevação de temperatura de 3 °C min⁻¹ até 240 °C. Utilizou-se hélio como gás de arraste, mantido ao fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹.

Os constituintes voláteis foram, na sua maioria, identificados por comparação dos espectros de massas obtidos com os registros da biblioteca computacional Wiley229®, em comparação com os espectros disponíveis na literatura (ADAMS, 2007), aplicando-se uma série homóloga de n-alcanos de cadeia linear, alifática (C_9 - C_{20}), nas mesmas condições usadas para a injeção do óleo essencial.

FIGURA 13: Cromatógrafo a gás da marca SHIMADZU modelo GC-17A



4.8. ASPECTOS ÉTICOS E LEGAIS

O presente estudo seguiu os princípios éticos que constam na Resolução Nº 466 de 12 de dezembro 2012, do Conselho Nacional de Saúde.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí-UFPI, no dia 28 de março 2018, com o parecer Nº 2.567.137 e CAAE Nº 8349218.8.0000.5214 (ANEXO B), bem como autorização para coleta do material vegetal com finalidade científica, do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio)/Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) Nº 61773-1, em 06 de junho 2018 (ANEXO E).

Foram encontrados 3.162 artigos, desses foram excluídos 2.341 por serem publicações antigas e 784 artigos por tratarem de temas diversificados que distanciavam do objeto de estudo dessa pesquisa. Efetivamente foram incluídos 37 artigos, pois estavam diretamente relacionados com plantas medicinais, levantamento etnobotânico, lista de fitoquímicos e produtos naturais.

5.1. EXSICATA DE "ALHO BRAVO" (Mansoa sp)

A exsicata sem a flor foi estudada por vários biólogos da UFPI e especialistas em etnobotânica do Rio de Janeiro, tendo sido identificada a família e o gênero da planta. Como não se obteve o galho com a flor, não foi possível a identificação da espécie e não foi gerado número de registro para o depósito da exsicata no Herbário, logo em seguida foi fixada em folhas de cartolinas de tamanho padrão, juntamente com a etiqueta (FIGURA 14) contendo todas as informações pertinentes a respeito (dados da coleta, local de ocorrência, tipo de solo, temperatura, clima, nome do coletor).

FIGURA 14: Exsicata fixada em cartolina, junto com etiqueta contendo informações sobre a família e o gênero.



5.2. EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (EEB) DAS FOLHAS DE "ALHO BRAVO" (Mansoa sp)

O extrato etanólico bruto (EEB) seco 39,62 g foi obtido a partir de 471,65 g de folhas de *Mansoa sp*, com rendimento de aproximadamente 8,40%; teve coloração escura e com odor característico de alho (FIGURA 15), foi reservado para a realização de testes de inibição da enzima acetilcolinesterase e screening fitoqímico, tendo em vista a atividade medicinal do material em estudo, com o objetivo de isolar o(s) princípio(s) ativo(s).

FIGURA 15: Extrato etanólico bruto (EEB) seco após passar pelo rotaevaporador.



A determinação do percentual de rendimento (%) do extrato bruto seco foi realizada utilizando a equação 1:

$$\% R = \frac{M_{es}}{M_{pc}} \times 100$$

Onde,

% R = Percentual de rendimento

 M_{es} = Massa do extrato sólido

 M_{pc} = Massa das folhas moídas de "Alho Bravo" (*Mansoa sp*)

Portanto,

%
$$R = \frac{39,62}{471.65} \times 100$$

Obteve-se o rendimento extrato que foi de 8,40%.

5.3. TESTE DE INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE (AChE) – EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (EEB) E HIDROLATO/VOLÁTEIS DO "ALHO BRAVO" (*Mansoa sp*)

A acetilcolinesterase (AChE) é a enzima responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas sinapse colinérgicas, onde atua transmitindo a mensagem de um neurônio a outro. Os neurotransmissores são substâncias químicas que se ligam a macromoléculas das células e assim promovem os efeitos fisiológicos (ARAÚJO, et al., 2016)

Na fenda sináptica a AChE é responsável por degradar a ACh, uma molécula simples que possui um grupo éster e uma amina quaternária. No neurônio pré-sináptico, a ACh é sintetizada a partir da colina e acetilcoenzima

A (Acetil-CoA), sob catálise da colina acetiltransferase. Esse mecanismo está representado na FIGURA 16.

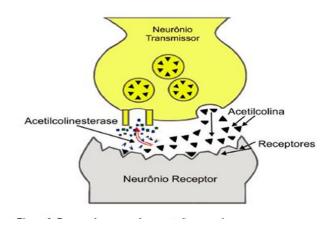
FIGURA 16: Síntese e hidrólise da enzima acetilcolinesterase AChE.

$$\begin{array}{c} O \\ CoA \end{array} + \begin{array}{c} \bigoplus \\ HO \end{array} \stackrel{\bigoplus}{N(CH_3)_3} \end{array} \xrightarrow{\begin{array}{c} Colina \\ Acetiltransferase \\ AChE \end{array}} \begin{array}{c} O \\ N(CH_3)_3 \end{array}$$
Acetilcoenzima A Colina

FONTE: Adaptado Araújo (2016).

Araújo e colaboradores (2016) relatam que após a formação da acetilcolina (ACh) ela é armazenada em vesículas, onde fica depositada até que haja um estímulo que resulte em sua liberação na fenda sináptica, ligandose ao receptor do neurônio pós-sinaptico, intensificando a transmissão colinérgica (FIGURA 17).

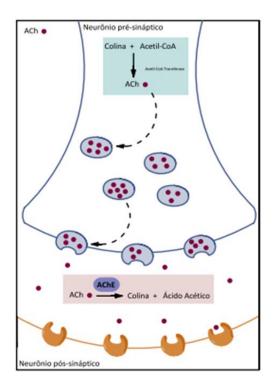
FIGURA 17: Transmissão nervosa nas sinapses

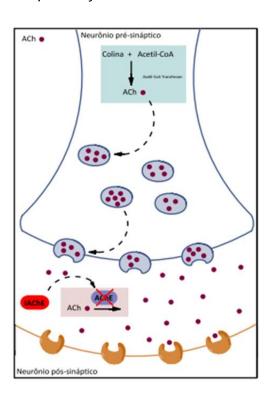


FONTE: Adaptado PETRONILHO (2009).

As substâncias ou fármacos que apresentam atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase são denominados anticolinesterásicos (IAChE) e são utilizados no tratamento de algumas patologias, como *miastenia gravis*, bem como no tratamento dos sintomas da Doença de Alzheimer, pois retardam a degradação da acetilcolina, que permanece mais tempo na fenda sináptica, conforme FIGURA 18. A Doença de Alzheimer é caracterizada por uma deficiência na neurotransmissão colinérgica central, principalmente pela diminuição da acetilcolina. Um dos tratamentos para esta doença é a utilização de inibidores da acetilcolinesterase, que é atribuído à capacidade que esta classe de fármacos possui de potencializar a função colinérgica, induzindo melhora no perfil cognitivo e também de alguns efeitos comportamentais oriundos da doença, aumentando a disponibilidade de acetilcolina através da inibição da acetilcolinesterase (ARAÚJO, et al., 2016).

FIGURA 18: Sinapse colinérgica na ausência e na presença de um IAChE.





FONTE: Adaptado ARAÚJO, et al., (2016).

5.3.1. Métodos de Avaliação da Atividade Enzimática da AChE

De acordo com AZEVEDO (2013), o teste com a enzima acetilcolinesterase (AChE) é simples e de fácil execução e já vem sendo utilizado na literatura, de acordo com a metodologia de Ellman, et al desde 1961 para diversos propósitos, tais como, biomarcador ambiental, testes de toxicidade e teste de novas drogas para o combate do mal de Alzheimer.

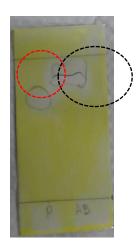
Para Araújo e colaboradores (2016), quando a substância apresenta atividade inibitória da AChE, forma-se um halo branco ao redor do local em que a substância foi aplicada após aproximadamente cinco minutos da aplicação do último reagente, enquanto que o resto da placa torna-se amarela, resultado encontrado nas FIGURAS 19 e 20, onde foi possível observar a presença de mancha branca na placa de Cromatografia em Camada Delgada-CCD na amostra, em comparação à mancha branca do padrão, dessa forma, concluiu-se que ocorreu inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), tanto para a amostra do extrato etanólico bruto (EEB) quanto para o hidrolato/voláteis do "Alho Bravo" (*Mansoa sp*), sendo que, para a amostra do hidrolato/voláteis a mancha branca ficou bem mais intensa.

FIGURA 19: Inibição da AChE em placa de CCD para amostra de EEB de *Mansoa sp*



LEGENDA: Concentração=10 mg/mL; P=cafeína (padrão positivo) e AB=alho bravo.

FIGURA 20: Inibição da AChE em placa de CCD para amostra de hidrolato/voáteis de *Mansoa sp*



LEGENDA: Concentração=10 mg/mL; P=cafeína (padrão positivo) e AB=alho bravo.

5.4. SCREENING FITOQUÍMICO – "ALHO BRAVO" (Mansoa sp)

O extrato etanólico bruto (EEB) foi submetido a uma investigação dos constituintes químicos por classe metabólica, tendo sido testados os seguintes metabólitos: alcalóides, taninos, flavonóides, triterpenos e/ou esteróides, saponinas, cumarinas e quinonas.

As análises fitoquímicas fornecem informações a respeito da presença de metabólitos secundários na planta, para que se possa chegar ao isolamento de princípios ativos importantes para o desenvolvimento de novos fitoterápicos (SILVA et al., 2010). As substâncias oriundas do metabolismo secundário podem ser classificadas em grupos químicos, existindo a possiblidade de associação entre características biológicas e fotoquímicas. A concentração dos compostos secundários pode variar nos tecidos vegetais, dependendo da idade e do tamanho da planta, da parte coletada, da época e ainda do local de coleta (SAAD, et al. 2016).

Dados da TABELA 01 mostram que, nesse estudo a abordagem fitoquímica de "Alho Bravo" (*Mansoa sp*) revelou a presença de alcalóides, taninos, flavonóides, saponinas e cumarinas, confirmando o papel das lianas

como uma fonte de bioprodutos farmacêuticos. Tendo sido negativo para quinonas e inconclusivo para triterpenos e/ou esteróides.

Tabela 01: Screening Fitoquimico de Mansoa sp; Teresina, Pi, Brasil, 2018.

SUBSTÂNCIA QUÍMICA	POSITIVO	NEGATIVO	INCONCLUSIVO
Alcaloides	+		
Taninos	+		
Flavonoides	+		
Triterpenos e/ou Esteroides			Х
Saponinas	+		
Cumarinas	+		
Quinonas		-	

LEGENDA: (+) Presença; (-) Ausência; (x) Inconclusivo

5.4.1.Identificação de Alcaloides

Após aplicação do reagente de Dragendorf na placa, houve o aparecimento de coloração laranja, indicativo da presença de alcaloides, conforme mostra a FIGURA 21.

FIGURA 21: Identificação de alcaloides EEB.



Foi Identificada a presença de alcaloides

LEGENDA: A=amostra do EEB.

Os alcaloides constituem um grupo heterogêneo de metabólitos com grande diversidade estrutural, representando cerca de 20% das substâncias naturais descritas, causando grande impacto, principalmente na economia e na medicina. Para Saad e colaboradores (2016), os alcaloides são alcalinos (básicos) apresentando anel heterocíclico com o átomo de nitrogênio, podendo ser classificados de acordo com o núcleo químico em: indólicos, quinolínicos, quinolizidínicos, isoquinolínicos, imidazólicos, tropânicos e pirrolizidínicos.

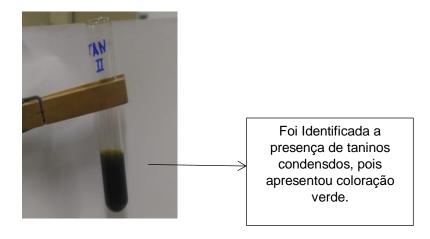
Na planta possuem várias funções, dentre as quais: proteção contra insetos e herbívoros, bloqueio metabólico de detoxificação, fator de regulação de crescimento, reserva de nitrogênio e outros elementos necessários ao crescimento da planta.

Foram as primeiras substâncias isoladas de uma planta, frequentemente apresentam importante atividade farmacológica, apresentando duas propriedades que são determinantes para isso, a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e exibir atividade depressora ou estimulante do Sistema Nervoso Central (SNC) ao interagir com os receptores neuronais. (SAAD, et al., 2016). Tem ações terapêuticas anestésicas e analgésicas, como por exemplo, a morfina, atropina e cafeína, além disso, são substâncias com grande potencial antiiflamatório.

5.4.2.Identificação de Taninos

Os taninos são classificados em dois grupos: hidrolisáveis e condensados, dependendo da constituição química de cada grupo e, como consequência a coloração apresentada após teste de identificação. Esse estudo mostrou a presença de taninos condensados na amostra de extrato etanólico bruto (EEB), por apresentar coloração verde, como mostra a FIGURA 22. (BARBOSA *et al*, 2004).

FIGURA 22: Identificação de taninos EEB.



São responsáveis pelo processo de adstringência, que ocorre quando ao entrarem em contato com a boca e reagirem, precipitam as proteínas, tornando a boca mais densa e menos permeável, aumentando a proteção das camadas subjacentes da mucosa contra microorganismos e substâncias irritantes, acarretando efeito antissecretório e antisséptico na mucosa.

De acordo com SAAD, et al. (2016) um dos principais efeitos dos taninos no trato gastrointestinal é no tratamento da diarreia, uma vez que produzem uma camada protetora sobre a mucosa, diminuindo as terminações nervosas e, consequentemente o estímulo que provoca a atividade peristáltica.

5.4.3. Identificação de Flavonoides

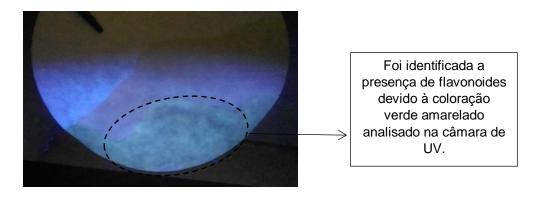
Os flavonoides conferem proteção contra os efeitos deletérios dos raios ultravioletas nos tecidos vegetais, tendo, portanto, importância na dieta humana por causa desse efeito antioxidante. A atividade protetora é provavelmente devido à sua capacidade de formar complexos com proteínas solúveis que se ligam à parede celular bacteriana e alguns flavonoides lipofílicos podendo também causar ruptura da membrana plasmática de microrganismos. (SILVA, et al., 2017).

Garcia e colaboradores (2002) relata que algumas plantas medicinais são utilizadas por conterem flavonoides e derivados pela atividade estrogênica,

antioxidante, antineoplásica e anti-inflamatória e para o tratamento de edema associado à inflamação e estase sanguínea.

O resultado foi considerado positivo através da intensificação de fluorescência com mudança de cor para verde amarelado (FIGURA 23). Os resultados desse estudo são consistentes com outros estudos fitoquímicos envolvendo folhas de *Mansoa* revelando a presença de flavonoides (RIBEIRO, et al., 2009; PATEL, et al., 2013)

FIGURA 23: Identificação de flavonoides EEB.

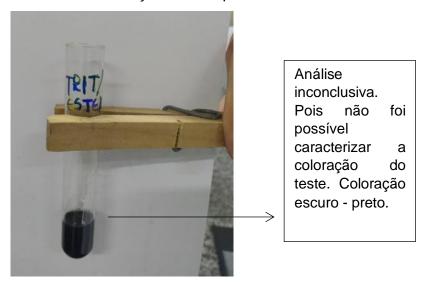


5.4.4.Identificação de Triterpenos e/ou Esteroides

Os triterpenos são um dos grupos de terpenos mais estruturalmente diversificados. Os terpenos constituem uma ampla classe de produtos naturais, que possuem muitas funções no reino vegetal e na saúde humana. Esta classe de substâncias defendem muitas espécies de plantas, animais e microorganismos contra predadores, patógenos e competidores, e estão envolvidas na transmissão de mensagens sobre a presença de alimento e organismos nocivos. Existem mais de 40 mil estruturas diferentes, com vários compostos que servem como importantes agentes farmacêuticos. Triterpenos são metabólitos secundários que apresentam numerosas atividades biológicas, entre elas, inibição da proteína tubulina que pode ser o modo de ação que justifica a atividade citotóxica e antitumoral (SILVA, et al., 2013)

Nesse estudo não foi possível observar a mudança de coloração para vermelho escuro e marrom na amostra de extrato etanólico bruto (EEB) testada para triterpenos e/ou esteroides, portanto, foi inconclusiva, por apresentar coloração escura, como mostra a FIGURA 24.

FIGURA 24: Identificação de triterpenos e/ou esteroides EEB.



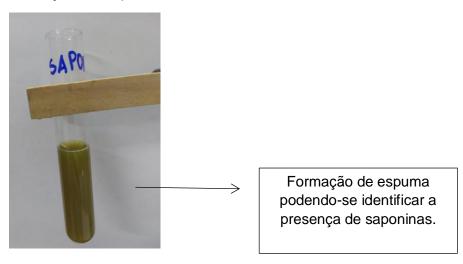
5.4.5. Identificação de Saponinas

As saponinas são classificadas em glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos, de acordo com o núcleo fundamental da aglicona ou, ainda, pelo seu caráter ácido, básico ou neutro. No grupo das saponinas esteroidais podem ser considerados também os glicosídeos nitrogenados esteroidais, que são tratados por alguns autores como um grupo à parte (alcalóides). O caráter ácido pode ser devido à presença de um grupamento carboxila na aglicona ou na cadeia de açúcares (por exemplo, ácidos glicurônico e galacturônico), ou ambos. O caráter básico decorre da presença de nitrogênio, em geral sob forma de uma amina secundária ou terciária, como nos glicosídeos nitrogenados esteroidais (SILVA, et al., 2013).

Esse estudo apresentou resultado positivo para a presença de saponinas, pois houve a formação de espuma, como é possível observar na

FIGURA 25, fato justificado porque as saponinas são moléculas grandes que apresentam uma parte hidrofílica e outra lipofílica (formação de espuma), determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificantes, por isso produzem espuma. A literatura cita que algumas saponinas tem importante atividade expectorante devido aos efeitos reflexos mediados pelo nervo vago, além das atividades anti-inflamatória, endócrina e cicatrizante (SAAD, et al., 2016).

FIGURA 25: Identificação de saponinas EEB.

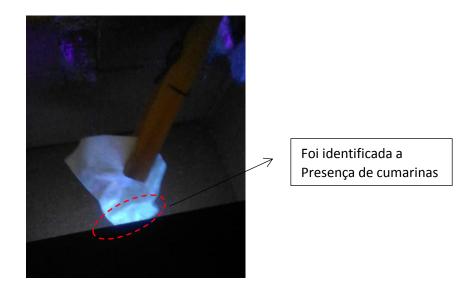


5.4.6. Identificação de Cumarinas

A FIGURA 26 evidenciou ponto flourescente, caracterizando a presença de cumarinas na amostra de "Alho Bravo" (Mansoa sp). Para Saraiva e colaboradores (2018) a função das cumarinas como metabólito secundário ainda não se encontra totalmente elucidada. No entanto, supõe-se que desempenham papéis básicos e centrais como reguladores do crescimento, agentes bacteriostáticos e fungistáticos nas plantas. A cumarina e seus derivados encontram-se abundantemente distribuídos no reino vegetal e tem sido amplamente utilizados pela indústria farmacêutica, alimentar e da cosmética. Estes compostos apresentam várias potenciais aplicações farmacoterapêuticas, devido poder antioxidante, atividade ao seu

antiinflamatória, antimicrobiana, anticoagulante e adjuvante na terapêutica do cancro, entre outras.

FIGURA 26: Identificação de cumarinas EEB.



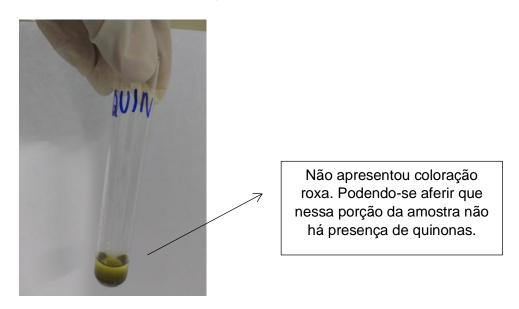
5.4.7.Identificação de Quinonas

São utilizadas desde a antiguidade por suas propriedades biológicas e como fontes de corantes naturais. As quinonas têm como núcleo o antraceno – três anéis benzênicos conjugados são compostos orgânicos que podem ser considerados como produtos da oxidação de fenóis.

Também são encontradas na natureza quinonas terpênicas e policíclicas de estrutura mais complexa, como as diterpeniquinonas e os pigmentos policíclicos. As antraquinonas estão em maior número na natureza e possuem maior importância farmacêutica. (SAAD, et al., 2016). Quinonas são agentes fortemente oxidantes e as ações de oxi-redução são responsáveis pelo papel importante das quinonas como carreadores de elétrons nos processos metabólicos das células. Nos vegetais possui a função de defesa contra insetos e outros patógenos. Extratos a base de antraquinonas são utilizados como laxantes. (SAAD, et al., 2016).

A amostra de extrato eatanólico brutot estada para quinonas, nesse estudo, foi negativa, não havendo a formação da coloração roxa indicativa da presença desse metabólito, conforma mostra a FIGURA 27.

FIGURA 27: Resultado da identificação de quinonas EEB.



5.5. EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE "ALHO BRAVO" (Mansoa sp) E CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTOMETRIA DE MASSAS (GC – EM)

O óleo essencial das folhas de *Mansoa sp* apresentou coloração amarela pálida com forte odor de alho, ou seja, um odor característico de compostos organosulfurados. Os óleos essenciais são misturas de compostos voláteis, obtidos a partir das plantas, sendo utilizados para diversos fins, desde aromatizantes a fármacos (ASBAHANI et al., 2015; NATAJAN et al., 2015).

Os constituintes químicos do óleo essencial obtidos das folhas de *Mansoa sp,* secas a temperatura ambiente estão apresentados na TABELA 2, em ordem decrescente de abundância relativa (%).

TABELA 02: Constituintes voláteis do hidrolato "Alho Bravo" (Mansoa sp).

Tempo de Retenção (min)	Constituinte	Estrutura	Abundância Relativa (%)
2,67	Oct-1-en-3-ol	OH	26,2
3,32	Álcool Benzílico	OH	13,9
3,48	Butil propenil sulfeto	∕	10,3
3,90	Dissulfeto de dialila	S_S_S	17,2
6,43	Salicilato de metila	OH O	13,9
9,13	Trissulfeto de dialila	SSSS	14,8
		Total Identificado	96,3

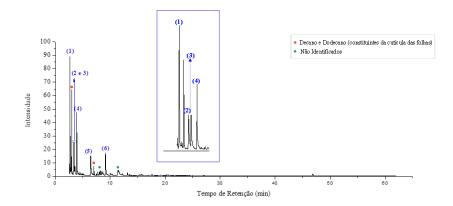
Dos compostos identificados três (03) são organossulfurados; oct-1-en-3-ol, dissulfeto de dialila e trissulfeto de dialila foram os principais constituintes identificados na amostra de óleo essencial analisada, sendo o oct-1-en-3-ol o de maior abundância relativa, corroborando com resultados encontrados por Figueiredo e colaboradores (2016) em estudo sobre composição química dos voláteis das folhas de cipó-de-alho (*Mansoa standleyi*).

Outro artigo de revisão sobre o potencial do alho relata que trissulfeto de dialila, um de seus principais compostos químicos, poderia inibir a proliferação celular, desencadeando, quer a parada do ciclo celular ou apoptose numa variedade de células cancerosas. Upadhyay, (2016) menciona que o aroma e sabor característico e seus potenciais benefícios para a saúde, são devido à presença de compostos organosulfurados, como dissulfeto e trissulfeto de dialila, bem como a composição química dos extratos, ratificando os resultados encontrados nesse estudo, onde foram identificados os constituintes químicos em voláteis/hidrolato do "Alho Bravo" (*Mansoa sp*), entre eles, dissulfeto de dialila e trissulfeto de dialila.

De acordo com Upadhyay (2016) alho selvagem (*Allium ursinum*) tem sido reconhecido por conter quantidades semelhantes de compostos contendo enxofre, assim como o alho (*Allium sativum*), e por exercer efeitos semelhantes sobre a ciclo-oxigenase, 5-lipoxigenase, enzima conversora da angiotensina, e agregação de plaquetas e aumento da fibrinólise.

A FIGURA 28 mostra a composição dos principais constituintes do óleo essencial analisado no CG – EM.

FIGURA 28: Cromatograma de íons totais (TIC) do extrato diclorometano do hidrolato de *Mansoa sp.*



5.6. FRAÇÕES DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (EEB) DAS FOLHAS DE "ALHO BRAVO" (Mansoa sp)

A obtenção das frações (FIGURA 29), o fracionamento, é uma estratégia que visa "descomplicar" o extrato bruto, possibilitando a identificação de manchas que estavam mascaradas por possíveis corantes naturais ou encobertas por substâncias majoritárias.

O extrato etanólico bruto (EEB) de "Alho Bravo" (*Mansoa sp*) foi fracionado pela técnica de dissolução fracionada com solventes de polaridade crescentes (hexano, diclorometano, acetato de etila), neste caso, os solventes retiram da mistura grupos de substâncias de solubilidade semelhante. Porém, não foram isoladas as substâncias das frações hexânica, diclorometano e acetato de etila.

FIGURA 29: Frações acetato de etila, hexânica diclorometano do EEB *Mansoa* sp



6. PERSPECTIVAS

O material obtido das folhas de *Mansoa sp* (extrato etanólico bruto-EEB, óleo essencial e as frações do extrato etanólico bruto - hexânica, diclorometano e acetato de etila) foi encaminhado a São Paulo para submissão a ensaios biológicos, entre eles: teste de toxicidade, estabilidade e ensaio clínico microbiológico.

De acordo com o Órgão Internacional de Padronização (International Standard Organization), ISO 10993, o ensaio de citotoxicidade in vitro é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para uso em dispositivos biomédicos, sendo uma prática comum na avaliação biológica de produtos para a saúde e fundamental para a análise inicial dos mesmos. Nesse caso, há exposição de uma cultura celular ao extrato etanólico bruto e suas frações e ao óleo essencial, sendo possível caracterizar reações adversas de citotoxicidade resultantes.

O teste de estabilidade tem o objetivo de assegurar a atividade durante toda sua vida útil, fornecendo indicações sobre o comportamento do produto, em determinado intervalo de tempo, frente a condições ambientais a que possa ser submetido, desde a fabricação até o término da validade. (Guideline on Stability Testing: Stability Testing of New Drug Substances And Products, 2008). As análises realizadas em tempos zero, 24 horas, 7 dias, 15 dias, 30 dias e 60 dias, bem como avaliações organolépticas: coloração, odor e aspectos e avaliações físico-químicas: pH, densidade e viscosidade.

A avaliação microbiológica identificará microorganismos, como por exemplo, coliformes totais, coliformes fecais (*Escherichia coli*, bolores e leveduras, *Staphylococus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*)

Aguardando os resultados para prosseguimento do estudo com a identificação dos constituintes químicos das frações do EEB e da espécie da planta.

7. CONCLUSÃO

Considerando os objetivos propostos nesse trabalho, foi possível identificar a presença de classes de metabólitos secundários no extrato etanólico bruto das folhas de *Mansoa sp* como alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas e cumarinas. Os constituintes químicos, a maioria compostos organosulfurados, do óleo essencial das folhas de "Alho bravo" (*Mansoa sp*) são responsáveis pelo aroma e sabor característico do alho, bem como pelas propriedades benéficas à saúde. O extrato etanólico bruto (EEB) e o óleo essencial das folhas de *Mansoa sp* inibiram a enzima acetilcolinesterase (AChE).

Com base nos resultados, o conhecimento fitoquímico da espécie trará grande contribuição científica e proporcionará a criação de novos produtos naturais, tendo em vista o número restrito de pesquisas sobre a planta estudada, contudo sugere-se a realização de estudos complementares para identificação da espécie estudada.

8. REFERÊNCIAS

AGUIAR, L.C.G.G. & BARROS, R.F.M. Plantas medicinais cultivadas em quintais de comunidades rurais no domínio do cerrado piauiense (Município de Demerval Lobão, Piauí, Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 2012. v. 14, n. 3, 419-434.

ARAÚJO, C.R. M; SANTOS, V.L.A.; GONSALVES, A.A. Acetilcolinesterase – AchE: Uma Enzima de Interesse Farmacológico. **Revista Virtual de Química**, 2016. v. 8, n. 6, 1818-1834.

AZEVEDO, D.S. Utilização do teste de inibição da enzima acetilcolinesterase aplicado no estudo da degradação abiótica dos agrotóxicos organofosforados. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes – Rio de Janeiro, 2013.

BARATTO, L.C. RESENHA SAAD, G.A., et al. Fitoterapia Contemporânea: Tradição e Ciência na Clínica Prática. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. **Vittalle – Revista de Ciências da Saúde,** 2018. v. 30, n. 1, 192-194.

CAMARINHA, C.; SOUZA, D.R. Levantamento de espécies da família Bignoniaceae ocorrentes na Universidade Castelo Branco, Campus Realengo-RJ. **Revista Eletrônica de Biologia**, 2015. v. 8, n. 3, 299-307.

CORSO-MARTINEZ, M. et al. Biological properties of onions and garlic. **Trends in Food Science e Technology**, 2015. v. 18, n. 12, 609-625.

BADKE, M.R., et al. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. Esc Anna Nery. **Revista Enfermagem.** 2011; v.15, n.1, 132-139.

BADKE, M.R., et al. Saber popular: o uso de plantas medicinais como forma terapêutica no cuidado à saúde. **Revista Enfermagem.** UFSM, 2016. Abr./Jun.; v. 6, n. 2, 225-234.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M. & CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 2005. 41, 27-51.

BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E.; TAVARES, E. C. C.; PINTO, L. N.; OLIVEIRA, R. M. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatografia de Extratos Vegetais. **Revista Científica da UFPA**, 2004. Belém-PA, v. 4.

BARRAGAT, P. **Uma antiga receita com novos ingredientes.** Remédio para o Brasil. Far-Manguinhos, 2002. 20p.

BORELLA, J.C.; TEIXEIRA, J.C.L. Avaliação da produção de drogas vegetais, derivados vegetais e fitoterápicos do Laboratório de Manipulação Farmacêutica para fornecimento ao Programa de Fitoterapia e Homeopatia da Secretaria Municipal da Saúde de Ribeirão Preto – SP. **Vittalle – Revista de Ciências da Saúde,** 2018. v.30, n. 1, 46 – 55.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência Geral de cosméticos. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, e seu anexo. **Instrução Normativa 2/14, dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos**, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17 de 24 de fevereiro de 2000. **Aprova o Regulamento técnico visando normatizar o registro de medicamentos fitoterápicos junto ao sistema de vigilância sanitária**. Diário Oficial da União 25 Fev 2000; Seção 1: 25.

BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto nº 5.090 de 20 de maio de 2004. **Institui** o **Programa Farmácia Popular do Brasil e dá outras providências**. Ministério da Saúde; 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto nº 5.813 de 2006. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Secretaria de Políticas Públicas, Brasília: Ministério da Saúde; 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria Interministerial nº 2.960.** Brasília: Ministério da Saúde; 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria GM nº 154, 24/01/2008**. Brasília: Ministério da Saúde; 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria MS nº 886, 22/04/2010. **Institui a Farmácia Viva no âmbito do Sistema Único de Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS: atitude de ampliação de acesso** – 2. ed. –

Brasília: Ministério da saúde, 2015. 96 p.: il.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 971 de 03 de maio de 2006. **Aprova a Política Nacional de Prática Integrativas no Sistema Único de Saúde**. D.O.U, 2006.

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 5813 de 22 de junho de 2006. **Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências.** D.O.U., Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. A fitoterapia no SUS e o programa de **Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Brasília (DF): MS; 2006.

CAVALAZZI, M.L. **Plantas medicinais na Atenção Primária em Saúde.** [dissertação]. Florianópolis (SC):Universidade Federal de Santa Catarina; 2006.

CASTRO, M. M. S. Estudos Taxonômicos, Filogenéticos e Biossistemáticos em *Mansoa* DC.(Bignonieae - Bignoniaceae). / Milene Maria da Silva Castro. /Feira de Santana, 2010. 293f. : il.Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Botânica, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, 2010.

CENSO DEMOGRÁFICO 2010. Características da população e dos domicílios: resultados do universo. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. Acompanha 1 CD-ROM. Disponível em:

http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/caracteristicas_da_populacao/ resultados_do_universo.pdf. Acesso em: set. 2018.

CIPRIANI, F. A. **Aspectos quimiotaxonômicos da família Bignoniaceae** – Rio de Janeiro: UFRJ/Museu Nacional, 2006. Dissertação (mestrado) – UFRJ/Museu Nacional/Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), 2006.

CROSA, O. (1988) Los cromosomas de nueve especies del género chileno LeucocoryneLindly, (Allieae-Alliaceae). **Boletín de investigación** n. 17. Montevideo.

DORIGONI, P.A. et al. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no Município de São João Polésine, RS, Brasil. I-relação entre enfermidades e espécies utilizadas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.4, n.1, p.69-79, 2001.

ELDIN, S; DUNFORD, A. **Fitoterapia na atenção primária a saúde.** São Paulo: Manole; 2001.

ELLMAN, G.L., COURTNEY, D.K., ANDRES, V.J.R. And Featherstone, RM., 1961. A new andrapidcolorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, vol. 7, p. 88-95. http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9.

FEITOSA, C.M., FREITAS, R.M.; LUZ, N.N.N. Acetylcholinesterase Inhibitionby some promising Brazilian Medicinal Plants, **Brazilian Journal of Biology**, 71: 108-110, 2011.

FETROW, C.W.; AVILA, J.R. **Manual de Medicina Alternativa para o profissional.** Ed. Guanabara Koogan S/A. Rio de Janeiro, 2000.

FIGUEREDO, C.A.; GURGEL, I.G.D.; JÚNIOR, G.D.G. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis Revista de Saúde Coletiva**, 2014. v. 24. n. 2: 381 – 400.

FIGUEIREDO, P.L.B., et al. 54° Congresso Brasileiro Química. Composição química dos voláteis das folhas de Mansoa standleyi (cipódealho) em função das técnicas de secagem e extração. http://www.abq.org.br/cbq/2014/trabalhos/7/4767 □ 15622.html. Acesso em 20/09/2018, às 09h27min.

FISCHER, E.; THEISEN, I. & LOHMANN, G.L. (2004) Bignoniaceae. In: Thefamilies and Genera of Vascular Plants. Vol VII. **J. W. Kadereit (ed.). Springer-Verlag Heidelberg,** Germany, 9-38pp.

FLORY, E.; REINHARDT, J. European Regulatory Tools for advanced therapy medicinal products. Transfusion Medicine and Hemotherapy [Internet]. 2013. Dec [cited 2015 May10]; 40:409-412. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3901598/pdf/tmh-0040 0409.pdf.

FRITSCH, R.M.; FRIESEN, N. Evolution, Domestication and Taxonomy In: H.D. Rabinowitch e L. Currah eds. Allium crop sciences: Recent advances. 2002. CAB International. Cap. 1.

FONTENELLE, J. C. R.; VIANA-SILVA, F. E. C.; MARTINS, R. P. 2012. **Use of Plant Resources by Merosargus (Diptera, Stratiomyidae, Sarginae) larvae.** Psyche 2012:1-10.

FONTENELE, R. P. Phytotherapy in Primary Health Care: perspectives of managers and professionals in the Family Health Program of Teresina, Piauí, Brazil. **Ciência saúde coletiva [online].** 2013, v.18, n.8, 2385-2394.

FONSECA, G.M., et al. Avaliação da atividade antimicrobiana do alho (Allium sativum Liliaceae) e de seu extrato aquoso. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**. Campinas, v. 16, n. 3, 679 – 684, 2014.

GADELHA, C.A.G. Desenvolvimento, complexo industrial da saúde e política industrial. **Revista Saúde Pública.** 40 (N Esp): 11-23, 2006.

GARCIA, F. Estudo fitoquímico da fração AcOEt do extrato etanólico das folhas de *Arrabidaea brachypoda* (DC) Bureau – Bignoniaceae e atividades antioxidante e inibitória da enzima mieloperoxidase das substâncias isoladas / Fernanda Garcia. - Araraquara: [s.n], 2008 100 f. : il. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química.

GARCIA, F.Z.; GONZÁLEZ, M.T.I.; SANTAMARIA, L.O. Flavonoides y fitoterapia. **Revista Fitoterapia**, v. 2, n. 1, 21 – 32; 2002.

GENTRY, A. H. Bignoniaceae: part II, tribe Tecomeae. Flora Neotropica, New York, v. 25, p. 370, 1992.

GUEDES, A.P. Alho (*Allium sativum* Linn) como fitoterápico para animais de produção. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer** – Goiânia, v.11 n.22; p.47, 2015.

International standard: Biological Evaluation of Medical Devices – Part 5: Tests for Cytotoxicity: in vitro methods. ISO 10993-5, 2002.

JÚNIOR, J.M.C., et al. **A família bignoniaceae juss. (ipês) no município de Lavras, Minas Gerais**. Cerne, Lavras, v.16, n.4, p.517-529, out./dez. 2010.

LOHMANN, L.G. 2006. Untangling the phylogeny of Neotropical lianas(Bignonieae-Bignoniaceae). **American Journal of Botany**. 93: 304-318.

KYUNG, K.H. Antimicrobial properties of allium species. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 142-147, 2012.

KULCHETSCKI, L; QUAQUARELLI, C.; LIMA, P.R. A Guaçatonga (Casearia sylvestris Sw.) e seu potencial como fitoterápico: um resultado prático de trabalho extensionista no distrito de Itaiacoca. **Revista Conexão** – UEPG. Ponta Grossa.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 5. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. v. 1.

MACEDO, E.V.; GEMAL, A.L. A produção de Fitomedicamentos e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Revista Brasileira Farmácia**, 90(4): 290 – 297, 2009.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA, V.E. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares.** Química Nova 23: 429-438, 2002.

MATOS, F.J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997, 141p.

MIRANDA, G.S. et al. Atividade antibacteriana in vitro de quatro espécies vegetais em diferentes graduações alcoólicas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.15, n.1, p.104-111, 2013.

NASCIMENTO, S.M.C. et al. **Extrato vegetal de cipód'alho no controle in vitro de** *Thielaviopsis sp*, 2017. Mestrado em Ciências Florestais. Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém – PA.

Organização Mundial da Saúde (OMS). Situação regulamentar dos medicamentos: uma análise mundial. 2000.

OLIVEIRA et al.: Plantas medicinais utilizadas na comunidade urbana de Muribeca, Nordeste do Brasil. **Acta Botânica Brasílica**. 24(2): 571-577. 2010.

PEREIRA, J.R. et al. Evaluation of cytogenotoxicity, antioxidant and hypoglycemiant activities of isolate compounds from Mansoa hirsuta D.C. (Bignoniaceae). **Anais Acadêmicos Brasileiros Ciências** (2017) 89 (1): 317-331.

PATEL, I. et al., 2013. Estudos fitoquímicos em *Mansoa alliacea*(Lam.). **Int. J. Adv. Pharm. Res**. 4, 1823-1828.

RHEE, I.K. MEENT, M.V; INGKANINAN, K. .**J.***Chromatogr*. A. 2001, v.915, p 217-223.

RIBEIRO, C.M., et al. 2009. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas na medicina popular da Amazônia. **Infarma** 21, 45-49.

ROBBINS, L.S; COTRAN, S.R. Patologia. 7 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

ROSA, C.; CÂMARA, S.G.; BÉRIA, J.U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência Saúde Coletiva** 2011; 16(1):311-318.

SAAD, G. A., et al. **Fitoterapia contemporânea**: tradição e ciência na Prática Clínica – 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

SANCHES, F. S.; MATOS, G. C.; AZEREDO, T. B. Oferta de Práticas Integrativas e Complementares nas unidades públicas de saúde do município do Rio de Janeiro (2006 – 2016). **Vittalle – Revista de Ciências da Saúde** v. 30, n. 1 (2018) 84 – 97.

SANTOS, S.S.; LÉDA, P. H. O.; OLIVEIRA, D. R. Plantas medicinais e fitoterapia em Oriximiná – Pará, Brasil: percepção e intenção de uso pelos profissionais do Sistema Único de Saúde (SUS). **Vittalle – Revista de Ciências da Saúde**. V.30, n. 1 (2018) 11-25.

SARAIVA, L. C. F., et al. Triagem fitoquímica das folhas de *Moringa oleifera*. **Boletim Informativo Geum**, v.9, n. 2, p.12-19, abr./jun., 2018.

SHRIVASTAVA, S.; GANESH, N. Tumor inibition and Cytotoxicity assay by aqueous extract of onion (*Allium cepa*) e Garlic (*Allium sativum*): na in – vitro analysis. **Phytomedicine**, v. 2, n. 1, p. 80-84, 2010.

SILVA, A.A.C.A. Constituintes químicos e potencial biológico dos galhos de *Oxandra sessiliflora* R. E. Fries (Annonaceae) / Armenio André de Carvalho Almeida da Silva – 2015. 212 fls.: il. Dissertação (Mestrado em Química) – UFPI, Teresina, 2015.

SILVA, A.S.P.S.; FEITOSA, S.T. Revisão sistemática evidencia ausência de estudos observacionais, objetivando o conhecimento da política nacional de

plantas medicinais e fitoterápicos. **Vittalle – Revista de Ciências da Saúde** v. 30, n.1 (2018) 98 – 104.

SILVA, J. A. G., et al. Screening Fitoquímico e Avaliação da Toxicidade de Croton heliotropiifolius Kunth (Euphorbiacea) frente à Artemia salina Leach. **Revista Virtual Química.** v. 9. n. 3., 934-941, 2017.

SILVA, R.S.; CASTRO, M.M.S.; CONCEIÇÃO, A.S. **The Family Bignoniaceae** in the Environmental Protection Area Serra Branca, Raso.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. Edição. Editora Universidade / UFSC. Porto Alegre/Florianópolis, 2004. 1102p.

SIQUEIRA, F.; MELO, N. **3º Colóquio Ibero-Americano Paisagem Cultural, Patrimônio e Projeto – Desafios e Perspectivas.** Belo Horizonte, 15 a 17 de setembro de 2014.

TOMAZZONI, I. M.; NEGRELLE, R.R.B; CENTA, M.L. Fitoterapia popular: a busca institucional enquanto prática terapêutica. **Revista Texto & Contexto – Enfermagem**. v. 15. n. 1. Florianópolis Jan./mar. 2006.

UPADHYAY, R. K. GARLIC: A potential source of pharmaceuticals and pesticides: a review. **International Journal of Green Pharmacy** • Jan-Mar 2016 (Suppl) • 10 (1) | S1.

VENDRUSCOLO, G.S.; MENTZ, L.A. 2006. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Iheringia, 61: 83-103.

ZANELLA, et al. Proposta de intervenção ensino-serviço de Práticas Integrativas e Complementares. **Vittalle – Revista de Ciências da Saúde**. v. 30, n. 1 (2018) 63 – 71.

ZOGHBI, M.G.B.; OLIVEIRA, J.; GUILHON, M.S.P. The genus Mansoa (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v. 19. n. 3. João Pessoa. July/Sept. 2009.

ANEXOS

ANEXO A: COMPROVANTE DE ENVIO



UFPI - UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS MINISTRO PETRÔNIO



COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa:

A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPEUTICA : O ALHO BRAVO E

SEUS EFEITOS PARA SAÚDE DA POPULAÇÃO

Pesquisador:

LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS

Versão:

CAAE: 83494218.8.0000.5214

Instituição Proponente:

Universidade Federal do Piauí - UFPI

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante:

013167/2018

Patrocionador Principal:

Financiamento Próprio

Informamos que o projeto A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPEUTICA : O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA SAÚDE DA POPULAÇÃO que tem como pesquisador responsável LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS, foi recebido para análise ética no CEP UFPI - Universidade Federal do Piauí - Campus Ministro Petrônio Portela em 22/02/2018 às 15:47.

Endereço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa CEP: 64.049-550

Bairro: Ininga

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (86)3237-2332

Fax: (86)3237-2332

E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br

ANEXO B: PARECER CONSUBSTANCIADO CEP



UFPI - UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS MINISTRO PETRÔNIO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPEUTICA : O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA SAÚDE DA POPULAÇÃO

Pesquisador: LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 83494218.8.0000.5214

Instituição Proponente: Universidade Federal do Piaui - UFPI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.567.137

Apresentação do Projeto:

O objetivo deste estudo propõe apresentar uma alternativa fitoterápica para regeneração celular com Extrato Etanólico Bruto (EEB) de "alho bravo". Será realizado um estudo quantitativo, longitudinal, prospectivo, do tipo ensaio clínico, intervencionista, em Teresina-Pi, nos laboratórios da Universidade Federal do Piaul (UFPI), no período de setembro 2017 a julho 2018 em parceria com a UNIFESP (Universidade Federai de São Paulo). O método fuzzy C-means será aplicado em três culturas de células, com o objetivo de verificar a eficácia clínica do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de "alho bravo" na regeneração celular, obtendo-se três classes de clusters para cada imagem. A coleta dos dados consistirá em várias etapas, iniciando pela acuisição da planta, exsicata, conservação, armazenamento, screening fitoquímico, isolamento de frações totais, preparo do extrato etanólico bruto de "alho bravo" e teste desse extrato em células para observar o seu efeito na regeneração das mesmas.

Objetivo da Pesquisa:

1. Objetivo Primário:

Apresentar uma alternativa terapêutica fitoterápica.

- 2. Objetivos Secundários:
- Identificar a espécie chamada popularmente de "alho bravo";

Endereço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa

Bairro: ninga

CEP: 64.049-550

Município: TERESINA

Telefone: (86)3237-2332

Fax: (86)3237-2332

E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br



UFPI - UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS MINISTRO PETRÔNIO



Continuação do Parecer. 2.567.137

- Realizar levantamento bibliográfico sobre a espécie "alho bravo";
- Realizar screening fitoquímico do Extrato Etanólico Bruto (EEB);
- Realizar isolamento de frações totais do Extrato Etanólico Bruto (EEB);
- Verficar a eficácia clínica do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de "alho bravo" na regeneração celular;
- Elaborar um produto terapêutico de uso clínico a base de Extrato Etanólico Bruto (EEB).

Avaliação dos Riscos e Beneficios:

Riscos:

A pesquisa proposta está isenta de riscos aos indivíduos participantes.

Beneficios

Apresentar uma alternativa terapêutica fitoterápica para regeneração celular com Extrato Etanólico Bruto (EEB) de 'alho bravo".

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram anexados na plataforma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto de pesquisa apto para ser desenvolvido.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO 753147 pdf	27/03/2018 08:34:31		Aceito
do Projeto Outros	autorizacaounifesp.pdf	27/03/2018 08:33:57	LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito
Outros	comite.pdf	27/03/2018 08:30:37	LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	projeto.pdf	20/03/2018 23:49:42	LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito

Endoreço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa

Bairro: Ininga UF: Pl CEP: 64.049-550

UF: PI Municí Telefone: (86)3237-2332

Município: TERESINA

Fax: (86)3237-2332

E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br

Página 02 de 03



UFPI - UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - CAMPUS MINISTRO PETRÔNIO



Continuação do Parecer. 2,567,137

Outros	parceria.pdf	20/03/2018 23:45:49	LIS CARDOSO MARINHO	Aceito
Outros	curriculo.pdf	06/03/2018 17:24:00	MEDEIROS LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito
Outros	TERMO.pdf	20/02/2018 20:24:57	LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito
Outros	autorizacao.pdf	11/02/2018 20:46:11	LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao.pdf	11/02/2018 20:45:21	LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito
Outros	carta.pdf	11/02/2018 20:04:05	LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito
Outros	ficha.pdf	11/02/2018 18:43:44	LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito
Folha de Rosto	folha.pdf	11/02/2018 18:38:24	LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausència	TCLE.docx	09/01/2018 00:40:23	LIS CARDOSO MARINHO MEDEIROS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

TERESINA, 27 de Março de 2018

Assinado por: Herbert de Sousa Barbosa (Coordenador)

Endoreço: Campus Universitário Ministro Petronio Portella - Pró-Reitoria de Pesquisa

CEP: 64.049-550

Bairro: Ininga UF: PI

Municipio: TERESINA

Telefone: (86)3237-2332

Fax: (86)3237-2332

E-mail: cep.ufpi@ufpi.edu.br

Página 03 de 03

ANEXO C: Autorização Institucional UFPI



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piaul, CEP 64049-550



AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL

A Universidade Federal do Piauí— UFPI autoriza a realização da pesquisa "A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA: O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS NA SAÚDE DA POPULAÇÃO", o mesmo será realizado no período de fevereiro a julho 2018 nos Laboratórios de Biofísica, Fisiologia, Química e de Produtos Naturais-LPN da Universidade Federal do Piauí-UFP, tendo como pesquisadora responsável Lis Cardoso Marinho Medeiros, com o objetivo apresentar uma alternativa terapêutica fitoterápica para a população.

Os dados serão coletados em várias etapas, iniciando pela aquisição da planta, exsicata, conservação, armazenamento, screening fitoquímico, isolamento de frações totais, preparo do extrato etanólico bruto (EEB) de "alho bravo".

Teresina, 01 fevereiros de 2018.

Professora Dra Lis Cardoso Marinho Medeiros

Departament de Biofisica da UFPI
Profa. de Biofisica da UFPI
Coordenadora do NUEPES

ANEXO D: Autorização Institucional UNIFESP (PARCERIA)



Universidade Federal de São Paulo Escola Paulista de Medicina Disciplina de Cirurgia Plástica Departamento de Cirurgia

Titular: Prof^a Dr^a Lydia Masako Ferreira

São Paulo,13 de Março de 2018.

Α

Profa. Dra. Lis Cardoso Marinho Monteiro Coordenadora MP Saúde da Mulher UFPI

Prezada Professora,

Ao cumprimentá-la confirmo parceria entre o MP que V.Sa. coordena, com o PPG Cirurgia Translacional (nota 6 Capes) por meio do projeto "A Fitoterapia como alternativa terapêutica: o Alho Bravo e seus efeitos para a Saúde da População" orientado por V. Sa e co orientado por mim.

Parte deste estudo (Cultura de células) será realizado no Laboratório da Cirurgia Translacional localizado no 11º andar do Edifício de Pesquisa I da Unifesp-EPM.

Cordialmente,

Profa. Dra. Lydia Masako Ferreira

apple hum

Titular da Disciplina de Cirurgia Plástica

Coordenadora do PPG Cirurgia Translacional Unifesp-EPM

ANEXO E: Autorização ICMBio/SISBio



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 61773-1	Data da Emissão: 06/06/2018 17:34	Data para Revalidação*: 06/07/2019
* De acordo com o art. 28 de mas deverá ser revalidada al	a IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade eq qualmente mediante a apresentação do relatório de ativid	uivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, ades a ser envíado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias
a contar da data do aniversás		

Dados do titular CPF: 892.711.303-91 Nome: CLÁUDIA CARDINALLE LIMA TEIXEIRA Título do Projeto: A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA: O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE DA POPULAÇÃO CNPJ: 06.517.387/0001-34 Nome da Instituição : FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

Cronograma de atividades Descrição da atividade

Ol	oservações e ressalvas
1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuencias previstas em outros reguan, certo como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação
3	federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso. Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para afins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades
4	científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior. O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
5	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inacequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença permanente, pos termos da legislação brasileira em vigor.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimonio genético existente no territorio nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, elegençativo de propositivo de
7	pioprospecção e uses involvimento est involver. Se a material de constitue de const

Locais onde as atividades de campo serão executadas

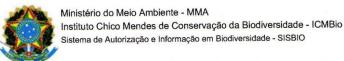
# Município	I UF	Descrição do local	Tipo
1 SAO RAIMUNDO NONATO	PI	SITIO DO MOCO	Fora de UC Federal
2	PI	PARQUE NACIONAL DA SERRA DA CAPIVARA	UC Federal

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 27924487



Pagina 1/2



come: CLÁUDIA CARDINALLE LIMA TEIXEIRA CPF: 892.711.303-91 Itulo do Projeto: A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA: O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE DA POPULAÇÃ DIME da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ CNPJ: 06.517.387/0001-3 Registro de coleta imprevista de material biológico e acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato entemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a deventação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até a contar da data do aniversário de sua emissão. Dados do titular Nome: CLÁUDIA CARDINALLE LIMA TEIXEIRA CPF: 892.711.303-91 Tritulo do Projeto: A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE DA POPUL Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ CNPJ: 06.517.387/00 Registro de coleta imprevista de material biológico De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substracontemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transpe material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deporpreferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB)				m finalidade cient		
Registro de coleta imprevista de material biológico e acordo com a Instrução ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte notação. O material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devendo esta coleta de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	Registro de coleta imprevista de material biológico De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substratorasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transportarial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deporterencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB)					District Commence Section 1	
contar da data do aniversário de sua emissão. ados do titular ome: CLÁUDIA CARDINALLE LIMA TEIXEIRA CPF: 892.711.303-91 tulo do Projeto: A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA: O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE DA POPULAÇÃ ome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUI Registro de coleta imprevista de material biológico e acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato entemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte laterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a deventação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	CPF: 892.711.303-91 Contar da data do aniversário de sua emissão. Como: CLÁUDIA CARDINALLE LIMA TEIXEIRA CPF: 892.711.303-91 CITUDO do Projeto: A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE DA POPUL Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ CNPJ: 06.517.387/00 Registro de coleta imprevista de material biológico De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substratoración de actividades. O transportação da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transportação ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deportarior de coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB)	De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta a	utorização te	m prazo de validad	le equivalente ao previsto no	o cronograma de ati	vidades do projet razo de até 30 di:
come: CLÁUDIA CARDINALLE LIMA TEIXEIRA CPF: 892.711.303-91 Itulo do Projeto: A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA: O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE DA POPULAÇÃ DIME da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ CNPJ: 06.517.387/0001-3 Registro de coleta imprevista de material biológico e acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato entemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a deventação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	Dados do titular Nome: CLÁUDIA CARDINALLE LIMA TEIXEIRA CPF: 892.711.303-91 CITUDO do Projeto: A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA: O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE DA POPUL Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ CNPJ: 06.517.387/00 Registro de coleta imprevista de material biológico De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrace contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transpermaterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depor preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB)		a apresentaç	ao do relatorio de a	dividades a sei eriviado por	meio do olabio no p	razo do aro oo ar
CPF: 892.711.303-91 Lulo do Projeto: A FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPEUTICA: O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE DA POPULAÇÃ ome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ Registro de coleta imprevista de material biológico e acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato entemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devendação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	Registro de coleta imprevista de material biológico Registro de coleta imprevista de material biológico Registro de coleta imprevista de material biológico De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transperatorial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a lanotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deporpreferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB)	Contai da data do aniversario do saa orinosae.					
Registro de coleta imprevista de material biológico e acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato entemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devendação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	Registro de coleta imprevista de material biológico De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substractiva de coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transperiate biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a lanotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deporpreferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB)	Dados do titular		XXX			
Registro de coleta imprevista de material biológico e acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato entemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devendação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	Registro de coleta imprevista de material biológico De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substra contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específicasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transpermaterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deporte perferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB)						
Registro de coleta imprevista de material biológico e acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato entemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devendação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	Registro de coleta imprevista de material biológico De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substra contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específicaciasão da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transportaterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deportante de coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB)		73/0		O BRAVO E SEUS EFEITO		
e acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato ontemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a deventação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substracontemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específicocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transpermaterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deporte preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB	Nome da Instituição : FUNDAÇÃO UNIVERSIDAI	DE FEDERAL	. DO PIAUÍ		CNPJ: 06.5	517.387/0001-34
e acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato ontemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a deventação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substracontemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específicocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transpermaterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deporte preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB						
e acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato ontemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a deventação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substra contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específicocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transpermaterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depor preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB		1-4-		de meterial bis	lágico	
contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a deventação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específicocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transpermaterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deporte preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB	Registro de	Coleta	imprevista	morovista de material	hiológico ou de	substrato n
casião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a deventação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transp material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depo preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB	De acordo com a instrução Normativ	a 11° 03/20	714, a coleta il	riprevista de materiar ser anotada na mes	ma em campo	específico n
naterial biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a deventa de los destros de los de los destros de los	material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depor preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB	contemplado na autorização ou na ile	imprevists	ser comunicac	la nor meio do relatório	de atividades.	O transporte
notação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, deposita referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depo preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB	material biológico ou do substrato dev	erá ser ac	ompanhado da	autorização ou da lice	enca permanent	e com a devi
referencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).	preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCB	anotação. O material biológico coletado	de forma	imprevista, dev	verá ser destinado à ins	stituição científic	a e, depositad
Coulo Data	Louis Date Date	preferencialmente, em coleção biológic	a científica	registrada no C	Cadastro Nacional de C	oleções Biológio	as (CCBIO).
Axon* Qtde. Tipo de amostra Qtde. Data	Táxon* Qtde. Tipo de amostra Qtde. Data	<u> </u>					
Accon* Qtde. Tipo de amostra Qtde. Data Qtde. Tipo de amostra Qtde. Data I I I I I I I I I I I I I I I I I I I	Táxon* Qtde. Tipo de amostra Qtde. Data Comparison Com						
		Táxon*		Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data
		40.		1			1100000

Identificar o espécime no nível taxonômico possível.							
			4000			a	
Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do c		de autenticação abáixo, qualquer cidadão pode	rá verificar a	autenticidade ou reg	gularidade deste documento,	por meio da página	do Sisbio/ICMB
		Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).					
Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do c de autenticação abáixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICME nternet (www.icmbio.gov.br/sisbio).	de autenticação abáixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).	Cádigo do autenticação: 2702	4407		# (# B)(# D)	Página 2	/2

APÊNDICE

Termo Consentimento Livre e Esclarecido

1/2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Resolução nº 466/12 – Conselho Nacional de Saúde

O Sr. está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar do estudo "A FITOTRERAPIA COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA: O ALHO BRAVO E SEUS EFEITOS PARA A SAÚDE DA POPULAÇÃO", desenvolvido pela pesquisadora Cláudia Cardinalle Lima Teixeira, fisioterapeuta e discente do Programa de Mestrado Profissional em Saúde da Mulher que tem como objetivo apresentar uma alternativa terapêutica fitoterápica para a saúde da população.

Os estudos com plantas medicinais podem não só contribuir para o melhor uso desses recursos pela população, mas também oferecer conhecimento do uso do Extrato Etanólico Bruto (EEB) dessa planta na regeneração celular, além disso, o número restrito de pesquisas sobre a planta estudada contribui para estudos complementares e criação de novos extratos medicinais.

Trata-se de um estudo descritivo, longitudinal, intervencionista, onde a coleta dos dados consistirá em várias etapas, iniciando pela aquisição da planta, exsicata, conservação, armazenamento, screening fitoquímico, isclamento de frações totais, preparo do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de "alho bravo" e testes terapêuticos preliminares em culturas de células para observar o seu efeito na regeneração das mesmas. O estudo da planta será realizado em Teresina-Pi, nos laboratórios da Universidade Federal do Piauí (UFPI), no período de janeiro a junho 2018; os testes terapêuticos preliminares serão realizados em parceria com um centro de pesquisas da UNIFESP (Universidade Federal de São Paulo), com destaque internacionalmente e que ajudará o programa de Mestrado Profissional em Saúde da Mulher a avançar nesta linha de pesquisa

A sua participação ocorrerá de forma anônima, confidencial e voluntária, isto é, em momento algum será divulgado seu nome em qualquer fase do estudo e em qualquer momento você pode recusar-se a participar da pesquisa e retirar seu termo de consentimento sem que haja nenhuma implicação. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição que forneceu os seus dados, como também na que trabalha.

Não haverá nenhum custo ou quaisquer compensações financeiras. A pesquisa proposta está isenta de riscos aos indivíduos participantes. Os resultados da pesquisa serão tornados públicos, pois podem contribuir para o emprego mais acessível da população a método que colaboram com a regeneração celular.

O Sr (a) receberá uma via deste termo onde consta o celular/e-mail do pesquisador responsável, bem como endereço e telefone do Comitê de Ética em Pesquisa, podendo tirar as suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Portanto, venho através deste termo de consentimento convidar você a participar deste estudo que será realizado sob a orientação da Prof^a Dr^a. Lis Cardoso Marinho Medeiros, enfermeira, odontóloga, professora da disciplina de Biofísica,

orientadora e Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Universidade Federal do Piauí.

Em caso de dúvidas, favor manter contato com a pesquisadora Cláudia Cardinalle Lima Teixeira através do telefone (86) 99450-0882 ou claudiaisio@hotmail.com ou ainda ao Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, localizado Campus Universitário Ministro Portela, S/N, Pró Reitoria de Pesquisa - PROPESQ. Bairro Ininga. CEP: 64.049-550. Teresina- Piauí, Telefone (86) 3237-2332.

Eu, após ter lido este termo ter sido devidamente esclarecida pelos pesquisadores, concordo em participar da presente pesquisa.

(Assinatura do sujeito da pesquisa
(Pesquisador responsável)
(Testemunhas)
(Testemunhas)