

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Estudo etnofarmacológico de plantas utilizadas como cicatrizantes no Rio Grande  
do Sul**

GABRIELA CAVOL ALERICO

PORTO ALEGRE, 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Estudo etnofarmacológico de plantas utilizadas como cicatrizantes no Rio Grande do Sul**

Dissertação apresentada por Gabriela Cavol  
Alerico para obtenção do GRAU DE MESTRE  
em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Profa. Dra. Gilsane Lino von Poser

PORTO ALEGRE, 2015

### CIP - Catalogação na Publicação

Alerico, Gabriela

Estudo Etnofarmacológico de Plantas Utilizadas  
como Cicatrizantes no Rio Grande do Sul, Brasil. /  
Gabriela Alerico. -- 2015.

81 f.

Orientadora: Gilsane Lino von Poser.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa  
de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2015.

1. Etnofarmacologia. 2. Achyrocline satureioides.  
3. Cicatrização. I. Lino von Poser, Gilsane, orient.  
II. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer a todos que fizeram parte desse trabalho.

À minha família que sempre me apoiou incondicionalmente mesmo que longe, meu porto seguro; em especial ao meu Avô Vasmir cujo conhecimento estimulou a ideia que se concretiza hoje.

Ao Messalas, por acreditar no meu potencial e por me fornecer a segurança para sempre seguir em frente.

À Gil, querida orientadora e amiga, meu sincero obrigada.

Aos colegas de laboratório, Henrique, Gabi, Jéssica, Aline, Maria Helena, Bruna e Letícia pela companhia e pelas considerações.

À Aline Beckenkamp por ser uma parceira de laboratório incrível.



**“Uma ciência que hesita em esquecer os seus fundadores está perdida”**

**Alfred North Whitehead**



## RESUMO

A cicatrização de feridas cutâneas ainda é motivo de preocupação para os órgãos públicos de saúde, principalmente feridas crônicas associadas à comorbidades como diabetes, obesidade e complicações vasculares. Apesar do processo cicatricial normal ser fisiológico e ocorrer dentro de duas semanas, as feridas crônicas podem persistir por meses a anos e afetar consideravelmente a qualidade de vida dos portadores. Por mais que a indústria farmacêutica cresça e ocorra o desenvolvimento de curativos especiais, os produtos naturais, em especial as plantas medicinais ainda são amplamente utilizadas, pelo fácil acesso e baixo custo, e por muitas vezes ser a única terapia disponível. Nesse contexto a etnofarmacologia busca transpor o conhecimento popular para os laboratórios de pesquisa, sendo um método de seleção eficiente uma vez que o uso tradicional remete a espécies possivelmente ativas. O presente estudo propôs realizar um levantamento das plantas utilizadas para o tratamento de feridas no estado do Rio Grande do Sul, além de avaliar sua capacidade proliferativa através de ensaios *in vitro*. Estudos etnobotânicos foram avaliados e as espécies vegetais mais citadas foram selecionadas para estudo. O material vegetal foi coletado e identificado e extratos aquosos e etanólicos foram preparados. Um *screening* inicial foi realizado utilizando o ensaio *in vitro* MTT com células de queratinócitos (HaCaT), onde as células viáveis são quantificadas por uma leitura espectrofotométrica indireta. Cada extrato foi avaliado em cinco concentrações diferentes (1, 5, 10, 25, 50 µg/mL). Após a avaliação dos resultados, a espécie mais ativa foi selecionada para realização do ensaio de contagem celular com queratinócitos (HaCaT) e fibroblastos (MRC-5), bem como o ensaio de proliferação Ki-67, também com ambas linhagens celulares. Os dados foram analisados estatisticamente com auxílio da ferramenta estatística SPSS 11.0. Foram selecionadas 14 espécies para experimentação, de um total de 117 espécies levantadas. O extrato etanólico de *Achyrocline satureioides* foi o mais ativo, uma vez que a viabilidade celular da HaCaT foi  $120 \pm 7\%$  na concentração de 1 µg/mL. Dessa forma foi testado com os outros ensaios biológicos. Os resultados demonstram a capacidade proliferativa do extrato etanólico de *Achyrocline satureioides*, corroborando o uso tradicional da espécie como cicatrizante. Além disso, as espécies *Matricaria recutita*, *Melia azedarach*, *Mirabilis jalapa* também apresentaram ação proliferativas, porém em menor intensidade. *Achyrocline satureioides* se apresentou como uma espécie promissora no desenvolvimento de agentes cicatrizantes.





## ABSTRACT

Wound healing is still a motive of concern to public health agencies, especially chronic wounds associated with baseline diseases as diabetes, obesity and vascular complications. Despite the normal healing process be physiological and occur within two weeks, chronic wounds can persist for months to years and greatly affect the quality of life of patients. Even with the growth of pharmaceutical industry and the development of special dressings, natural products, especially medicinal plants are still widely used by the easy access and low cost, and often they are the only therapy available. In this context, ethnopharmacological research transpose the popular knowledge to laboratories, being an effective selection method, once the traditional use refers to possible active species. This study aimed to survey the plants used for wound treatment in Rio Grande do Sul state, as well as assess their proliferative capacity by *in vitro* assays. Ethnobotanical studies were evaluated and the most cited plant species were selected for study. The plant material was collected and identified and aqueous and ethanolic extracts were prepared. An initial screening was performed using the MTT assay with keratinocyte cells (HaCaT), where viable cells are quantified by an indirect spectrophotometric reading. Each extract was evaluated at five different concentrations (1, 5, 10, 25, 50  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ). After result analysis, the most active species was selected to perform the cell counting assay keratinocytes (HaCaT) and fibroblasts (MRC-5) and Ki-67 proliferation assay, also with both cell lines. Data were statistically analyzed with the help of statistical tool SPSS 11.0. Fourteen species were selected for experimentation, in a total of 117 species surveyed. The ethanolic extract of *Achyrocline satureioides* was the most active, since the cell viability of HaCaT was  $120 \pm 7\%$  at a concentration of 1  $\mu\text{g} / \text{ml}$ . Thus, it was tested with the other assays. The results demonstrated the proliferative capacity of the ethanolic extract of *Achyrocline satureioides*, corroborating the traditional use of the species as healing. In addition, the species *Matricaria recutita*, *Melia azedarach*, *Mirabilis jalapa* also showed proliferative activity, but at a lower intensity. *Achyrocline satureioides* introduced itself as a promising species in the development of healing agents.



## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>9</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>13</b>
<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
<b>MANUSCRITO.....</b>	<b>29</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>67</b>



## **INTRODUÇÃO GERAL**



O uso de produtos naturais para fins medicinais está incrustado na história do homem. Diversas espécies vegetais são empregadas como forma de tratamento para as mais diversas situações patológicas. No entanto, muitas ainda carecem de estudos científicos que comprovem sua eficácia e segurança (LORENZI e MATOS, 2008).

Produtos naturais são uma grande fonte de agentes terapêuticos, especialmente porque acredita-se que um grande número de espécies ainda não foi estudada, quiçá identificada (BUTLER, 2004; LI e VEDERAS, 2009). Dessa forma, muitas plantas podem ser alvo para pesquisa e isolamento de novas moléculas com potencial farmacêutico (NEWMAN e CRAGG, 2012). É importante ressaltar a diferença entre uma planta medicinal, um fitoterápico e um produto semi-sintético de origem natural. As plantas medicinais são os vegetais que possuem em sua composição substâncias que podem ser utilizadas para fins de tratamento ou prevenção; todo medicamento produzido exclusivamente a partir de extratos vegetais, sem substâncias ativas isoladas, é um fitoterápico – caso a substância ativa seja isolada a denominação é de fitofármaco. Já os medicamentos produzidos a partir de compostos ativos isolados de plantas medicinais, mas que passaram por modificações químicas são semi-sintéticos (JUNIOR et al., 2005).

No contexto brasileiro as plantas medicinais ainda desempenham um importante papel na saúde, não apenas pelo fato de serem facilmente acessadas, mas também pela carga cultural que representam no país. Os diversos estados do Brasil, incluindo o Rio Grande do Sul se moldaram a partir dos diversos povos que aqui se instalaram; as misturas culturais foram acontecendo e informações acerca de tratamentos tradicionais foram crescendo (MENTZ et al., 1997). Toda essa bagagem cultural, somada ao fato de que o país possui uma das floras mais ricas do mundo constitui a Sociobiodiversidade brasileira (BRASIL, 2009). Ademais, em algumas regiões, a exploração da natureza é a única opção terapêutica disponível (MAZZARI e PRIETO, 2011), sendo indispensável a utilização de terapias à base de plantas medicinais.



A utilização de produtos naturais para fins de tratamento é tão importante para o país e tão presente na vida cotidiana da população, que em 2006, a partir do Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006, foi instituído o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos, cuja proposta orientadora é a valorização e preservação do conhecimento tradicional de comunidades (FIGUEREDO et al., 2014). Além disso, busca-se com o programa garantir que o acesso às plantas medicinais e fitoterápicos seja seguro, uma vez que a ideia errônea de que “o que é natural não faz mal” ainda persiste. Após a implementação do programa, a diretriz que orienta o uso de plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Primária do Sistema Único de Saúde foi lançada, evidenciando a importância destes na saúde coletiva do Brasil (OLIVEIRA et al., 2012). Badke et al. (2011) evidenciaram a importância do cultivo e consumo de plantas medicinais para uma comunidade do Rio Grande do Sul. No estudo, a população fez declarações sobre formas de armazenamento, preparação e indicação das plantas medicinais. Este fato demonstra a necessidade de se conhecer a medicina tradicional que reside nas plantas medicinais para que seja possível incorporar de maneira mais efetiva e segura o uso das plantas na Atenção Primária; especialmente porque a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 80% da população dos países em desenvolvimento faça uso frequente de plantas medicinais para tratamento (WHO, 2011).

## **Medicina Tradicional**

Reconhecida pela OMS como fator vital do sistema de saúde mundial, a Medicina Tradicional está presente no cotidiano da maioria dos brasileiros. Em 2013, uma estratégia foi lançada pela OMS para auxiliar governos a gerenciar as prioridades e regulações da Medicina Tradicional (BURTON et al., 2015), evidenciando novamente a relevância do tema no contexto de saúde global. Na América Latina, as ações de promoção da Medicina Tradicional vêm sendo iniciativas nacionais, as quais buscam principalmente a preservação dos conhecimentos das comunidades. Muitos resultados interessantes são encontrados após a exploração da Medicina Tradicional por vias científicas. No entanto, muitos não são plenamente desenvolvidos e não chegam aos ensaios clínicos, principalmente por falta de recursos (GUIDO et al., 2015). Alguns autores, como Moreira et al. (2014) ainda discutem a segurança de plantas medicinais

utilizadas como parte da Medicina Tradicional. Possivelmente o uso histórico de determinada espécie para uma condição patológica, desde que dentro das indicações de preparo e utilização, confere certa segurança de uso, todavia, estudos pré-clínicos e clínicos devidamente desenhados são necessários. Além disso, plantas medicinais podem ser utilizadas erroneamente como verificaram Brandão et al. (2013); durante o estudo foram verificadas várias inconsistências com relação ao que era vendido como planta medicinal, o que justifica a preocupação com a segurança da Medicina Tradicional e mais uma vez justifica a necessidade de ações de promoção de conhecimento acerca de plantas medicinais, usos e contraindicações.

Nesse contexto, os estudos etnodirigidos podem ser uma maneira de coletar a informação tradicional e “desmembrá-la” para obter resultados científicos (GUIDO et al., 2015), uma vez que a partir de estudos bem feitos é possível determinar a ação biológica de uma planta medicinal, além de segurança, dose, indicações, etc.

Observando o cenário atual, o objetivo do presente trabalho é realizar um levantamento etnofarmacológico a partir de estudos etnobotânicos, a fim de obter as espécies vegetais utilizadas para tratamento de feridas no Rio Grande Sul, além de verificar a existência de atividade proliferativa das mesmas por ensaios *in vitro*. Ou seja, observar se a indicação da medicina popular pode ser transposta para o método científico.



## **REVISÃO DA LITERATURA**



## **Biologia da Cicatrização**

Feridas são lesões resultantes do rompimento da integridade tecidual. De maneira geral as feridas podem ser divididas em agudas e crônicas. Feridas agudas são causadas por fatores externos, como trauma e perfurações, exposição a substâncias químicas, temperaturas extremas, radiação ou ainda incisões cirúrgicas (LEE e HANSEN, 2009). Já as feridas crônicas são resultado de condições endógenas, tais como desordens vasculares, doenças metabólicas e inflamatórias, infecções, etc (ERFURT-BERGE e RENNER, 2015). O reparo tecidual ocorre fisiologicamente pelo processo cicatricial, com o objetivo de restaurar a estrutura e função do tecido lesado (TAZIMA et al., 2008). O modelo clássico de cicatrização é dividido em quatro fases sequenciais, no entanto sobrepostas: homeostase, inflamação, proliferação e remodelamento (GOLDBERG e DIEGELMANN, 2010). Alguns autores também consideram a existência de cinco fases na cicatrização, além das fases já descritas, dividindo a fase proliferativa em migração e proliferação celular; e síntese proteica e contração da ferida (DREIFKE et al., 2015). No entanto, considerando os *timepoints* em que ocorrem a migração celular, síntese de proteínas e contração da ferida – durante a inflamação, proliferação e remodelamento, essa divisão não será abordada aqui.

### *Homeostase*

No instante em que a ferida é formada inicia-se a atividade plaquetária e a cascata de coagulação é acionada. As plaquetas são responsáveis pela formação de um coágulo – sistema de tamponamento (OLIVEIRA e DIAS, 2012). Além disso, as plaquetas ativadas liberam diversos mediadores químicos essenciais para as fases

subsequentes do processo cicatricial, como fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ ) (WITTE e BARBUL, 1997).

O dano tecidual estimula imediata vasoconstrição para proteção contra grande perda sanguínea. A vasoconstrição causa hipóxia e acidose no ambiente da lesão, estimulando metabólitos vasoativos que geram vasodilatação como forma de compensação (HARPER et al., 2014); a histamina em particular, liberada na degranulação de mastócitos participa potencializando a dilatação e aumentando a permeabilidade vascular para chegada de agentes e células inflamatórias que darão início à segunda fase da cicatrização. O coágulo previamente estabelecido funciona como um arcabouço para adesão de neutrófilos, monócitos, fibroblastos e células endoteliais, servindo como uma matriz para a organização da ferida (BALBINO et al., 2005). Ao fim dessa fase, está estabelecida a hemostase.

### *Inflamação*

A fase inflamatória inicia quando células inflamatórias alcançam o local da lesão – o que ocorre ainda durante a hemostase, por isso as fases são ditas sequenciais, mas sobrepostas. Essa etapa apresenta os sinais clínicos clássicos da inflamação: rubor, calor, edema e dor. O objetivo aqui é impedir que agentes exógenos, como bactérias possam contaminar o tecido lesado e perturbar o processo (HAPER et al., 2014). As células mais abundantes são os neutrófilos polimorfonucleares e macrófagos derivados de monócitos circulantes, ambos com função fagocítica (OLIVEIRA e DIAS, 2012). Os neutrófilos secretam proteases, enzimas encarregadas de destruir o tecido lesado para formação do novo, além de interleucina IL-1 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), moléculas responsáveis pela ativação de fibroblastos e células epiteliais (GOLDBERG e DIEGELMANN, 2010). Já os macrófagos liberam uma grande quantidade de fatores de crescimento e atuam como elo entre o sistema imune inato e adaptativo, uma vez que são células apresentadoras de antígenos. Os mediadores químicos liberados pelos macrófagos são importantes na regulação da resposta inflamatória, na estimulação da angiogênese e na formação do tecido de granulação (WITTE e BARBUL, 1997).

O processo inflamatório que ocorre durante a cicatrização é crucial. Pois deve ser bem equilibrado a fim de evitar a cronificação das feridas. As proteases liberadas pelos neutrófilos, se em grande quantidade, podem destruir o novo tecido em formação, prolongando a inflamação e prejudicando a evolução cicatricial (EMING et al., 2014).

### *Proliferação*

Quando os fibroblastos começam a chegar ao local da ferida inicia-se a fase proliferativa (o que pode ocorrer antes do fim da fase inflamatória). Em conjunto com a migração e proliferação de fibroblastos ocorre o processo de angiogênese (WITTE e BARBUL, 1997). A formação de novos vasos sanguíneos inicia com a ativação das células endoteliais pelo TNF- $\alpha$ , bFGF (Fator de Crescimento de Fibroblastos Beta) e VEGF (Fator de Crescimento Endotelial Vascular) e é engatilhada pela hipóxia tecidual, uma vez que é essencial que as células recebam oxigênio e nutrientes. A hipóxia também contribui para a proliferação de fibroblastos, cuja principal função é a produção de colágeno, regulada por PDGF e TGF- $\beta$  (Fator de Transformação do Crescimento Beta) (CAMPOS et al., 2007; HARPER et al., 2014).

Um tecido rudimentar, chamado tecido de granulação é formado, constituído de novos vasos sanguíneos, fibroblastos, células inflamatórias, células endoteliais, miofibroblastos e componentes da matriz extracelular (fibronectina, colágeno, glicosaminoglicanos, elastina, glicoproteínas e proteoglicanas) (GOLDBERG e DIEGELMANN, 2010). A matriz extracelular possui alta taxa metabólica e funciona como um arcabouço para chegada de queratinócitos que migram das bordas da ferida e se responsabilizam pela epitelização (HARPER et al., 2014).

Um ponto crucial que inicia na fase proliferativa é a contração da ferida, que ocorre após aproximadamente sete dias do dano tecidual. Fibroblastos se diferenciam em miofibroblastos pela ação de fatores de crescimento, como TGF- $\beta$ , os quais adquirem características de músculo liso para função contrátil (BALBINO et al., 2005).



## *Remodelamento*

Durante o remodelamento a atividade celular diminui. A quarta e última fase caracteriza-se principalmente pela substituição do colágeno tipo III pelo colágeno tipo I, que confere maior força tênsil para o novo tecido (OLIVEIRA e DIAS, 2012). Os fibroblastos, regulam a deposição de colágeno e a digestão das fibras realizada pelas colagenases. Essa fase pode continuar por meses, até que o equilíbrio entre síntese e digestão seja estabelecido, e as fibras estejam organizadas de maneira adequada (BALBINO et al., 2005; HARPER et al., 2014).

Como dito anteriormente, a cicatrização é um processo fisiológico, ou seja, ocorre de maneira natural após a lesão do tecido. No entanto, se esse processo falhar há o estabelecimento das feridas crônicas, o que normalmente ocorre pela presença de doenças de base que afetam a cicatrização (OLIVEIRA e DIAS, 2012).

## **Plantas e Cicatrização**

A ocorrência de feridas crônicas ainda representa um fardo para a saúde pública (SEN et al., 2009), principalmente pela relação íntima da cronificação com diabetes mellitus e doenças vasculares, além da maior incidência em idosos e pessoas imunocomprometidas (MUDGE, 2015). Apesar dos esforços da indústria farmacêutica, o tratamento ainda é complexo, uma vez que o processo de cicatrização envolve diversas etapas e dezenas de moléculas que precisam agir em harmonia para o sucesso cicatricial. Atualmente o tratamento ocorre, de maneira geral, pelo uso de curativos especiais, os quais contêm compostos que auxiliam a cicatrização. Os curativos especiais contêm polímeros e hidrogéis, ou ainda são fabricados de biomateriais (FRANCO e GONÇALVES, 2008). Porém, o curativo ideal ainda não foi produzido, e as buscas por compostos ativos continuam, muito relacionadas com plantas medicinais, como são os exemplos de Brusotti et al. (2015); Ammar et al. (2015); Farahpour et al. (2015) e Muthukumar et al. (2014).

## Compostos naturais com atividade cicatrizante

Produtos naturais e especialmente plantas medicinais têm sido utilizados para o tratamento de feridas há séculos, inclusive existem relatos do uso de própolis e outras plantas no tratamento de feridas de guerra (BHATTACHARYA, 2012).

A ação cicatrizante já foi atribuída a algumas classes de compostos químicos, como saponinas, terpenos, quinonas, alcaloides, polissacarídeos e flavonoides (FÁTIMA et al., 2008; ANTUNES-RICARDO et al., 2015). Todos os compostos podem atuar no processo cicatricial em diferentes etapas, por exemplo, como pró ou anti inflamatório, auxiliando a ação plaquetária, estimulando a proliferação de leucócitos ou a liberação de citocinas. Alguns compostos com atividade cicatrizante são amplamente conhecidos por suas propriedades terapêuticas, como o triterpeno asiaticosídeo, isolado da *Centella asiatica* (L.) Urb., espécie utilizada tradicionalmente pela Medicina Chinesa (EMBODEM, 1985), e o polissacarídeo acemanana, extraído de *Aloe vera* (L.) Burm. f., outra espécie mundialmente conhecida, especialmente por sua utilização em cosméticos (SIERRA-GARCÍA et al., 2014).

### *Centella asiatica* (L.) Urb. e asiaticosídeo

Nativa do continente asiático, a *Centella asiatica* (Apiaceae) faz parte da Medicina Tradicional Chinesa (TCM) e da Ayurveda, além de ser tradicionalmente utilizada em diversos países asiáticos e alguns africanos (EMBODEM, 1985; SHUKLA et al., 1999), e atualmente em todo o mundo.

A fração triterpênica da espécie contém quatro moléculas principais, ácido asiático, ácido madecássico, madecassosídeo e asiaticosídeo, sendo o último mais potente, principal responsável pela ação cicatrizante da planta (IDRUS et al., 2012).

Estudos recentes demonstram a atividade cicatrizante do asiaticosídeo, o qual acelera a adesão celular e aumenta significativamente as taxas de proliferação e migração celular. Quando testado *in vitro* pelo ensaio MTT, as células tratadas com 250 µM de asiaticosídeo atingiram 250% de viabilidade celular após 5 dias de tratamento (LEE et al., 2012). Ademais, Kimura et al. (2008) demonstraram que a molécula é capaz

de estimular a secreção de IL-1, a qual estimula a produção de VEGF e o acúmulo de macrófagos, acelerando o reparo tecidual.

Considerando possibilidades de novas terapias, Jin et al. (2015) incorporaram o extrato de *C. asiatica* em curativo especial de hidrocoloide, o qual demonstrou ótimos resultados diminuindo o tempo de cicatrização em ensaios *in vivo*, além de reduzir a taxa de infecção. No entanto, os autores ressaltam a necessidade de ensaios clínicos para atestar a superioridade de curativos contendo *C. asiatica*. Ainda, o extrato triterpênico da planta é o princípio ativo de uma pomada utilizada mundialmente para tratamento de feridas e queimaduras – Madecassol®.

#### *Aloe vera* (L.) Burm. f. e *acemanana*

Isolado do gel da folha de *Aloe vera*, o polissacarídeo acemanana (manana  $\beta$ - (1,4) - acetilada) é um produto natural com atividade cicatrizante, entre outras (SIERRA-GARCÍA et al., 2014). No Brasil, a espécie *Aloe arborescens* Mill., conhecida como “babosa” é amplamente utilizada como cicatrizante e para diversas condições de pele (VENDRUSCOLO, 2004).

A acemanana estimula a proliferação de fibroblastos por aumentar a expressão da Ciclina D1, proteína responsável por induzir a transição da fase G1 do ciclo celular para a fase S, ou seja, a célula é estimulada a sair da fase de crescimento e produção de organelas para entrar na fase de divisão celular. O aumento da expressão de Ciclina D1 ocorre pela via de sinalização translacional AKT/mTOR – via que controla o crescimento celular (XING et al., 2015). Além disso, Zhang e Tizard (1996) demonstraram que a acemanana ativa direta e indiretamente os macrófagos, células importantes no processo cicatricial e afeta a produção de citocinas e óxido nítrico no leito da ferida.

Chokborital et al. (2015) evidenciaram em um estudo de relação estrutura-atividade, que os grupamentos acetil da molécula polissacarídica têm papel importante na atividade cicatrizante, pois uma vez que a molécula era desacetilada a proliferação celular era reduzida e ocorria diminuição na expressão de VEGF e colágeno tipo I.

## **Etnofarmacologia na busca por novos agentes cicatrizantes**

A etnofarmacologia, ciência que busca unir o conhecimento tradicional ao método científico, se tornou uma passagem para que ensaios clínicos fossem realizados com as plantas utilizadas pela população em geral (ETKIN, 2001). Periz et al. (2014), através de uma revisão da literatura, realizaram a descrição de 46 artigos abordando plantas medicinais avaliadas por ensaios metodológicos entre 1993 e 2013. A maioria dos artigos encontrados foi produzida no Brasil, e na sequência países orientais e outros da América Latina. Este fato demonstra a busca pela comprovação científica do conhecimento popular e o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, principalmente nos países em desenvolvimento, onde a planta medicinal pode ser o único tratamento disponível.

A etnofarmacologia, ramo da etnobiologia, tornou-se uma ferramenta de seleção de espécies vegetais e outros produtos naturais para estudo (ELIZABETSKY e SOUZA, 2010).



**MANUSCRITO**



## **Proliferative effect of plants used for wound healing in Rio Grande do Sul state, Brazil.**

Gabriela C. Alerico<sup>1</sup>; Aline Beckenkamp<sup>2</sup>; Márcia Vignoli-Silva<sup>3</sup>; Andréia Buffon<sup>2</sup>;  
Gilsane L. von Poser<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Farmacognosia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga 2752, Porto Alegre, RS 90610-000, Brazil.

<sup>2</sup>Laboratório de Análises Bioquímicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga 2752, Porto Alegre, RS 90610-000, Brazil.

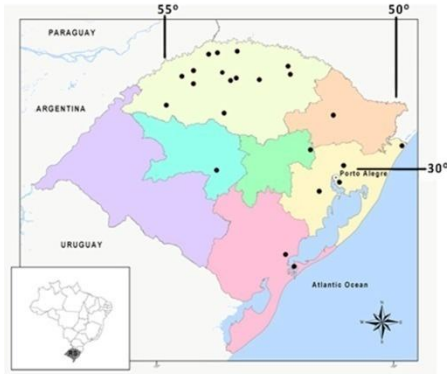
<sup>3</sup>Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Rua Sarmento Leite 245, Porto Alegre, RS 90050-170 Brazil.

\*Corresponding author at: Laboratório de Farmacognosia, Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, Brazil. Tel.: +55 51 3308.5529; fax: +55 51 33085437.

E-mail address: gilsane@farmacia.ufrgs.br (G.L. von Poser).



## Graphical Abstract



### Keratinocyte proliferation

*Achyrocline satureioides*

*Matricaria recutita*

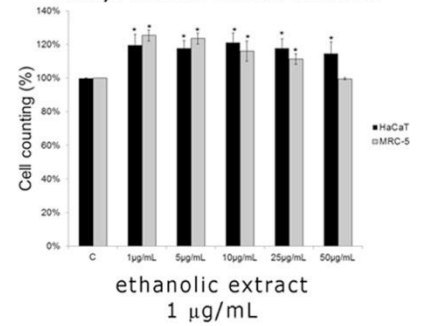
*Melia azedarach*

*Mirabilis jalapa*

aqueous extract  
25 µg/mL  
50 µg/mL

### Fibroblast proliferation

*Achyrocline satureioides*



## Abstract

*Ethnopharmacological relevance* Wounds are normally resolved in a few days, but chronic wounds represent a major burden because of economic and social factors. Thereby, the search for new agents is ongoing and natural products become a great target. Also, Brazil as a consumer of herbal medicines with rich social diversity is promising for ethnopharmacological studies.

*Aims of the study* The study aims to find the plants popularly used for wound healing purposes in Rio Grande do Sul state, and test the traditional knowledge through an *in vitro* screening.

*Materials and methods* Ethnobotanical studies from state of Rio Grande do Sul were analyzed to find the most used plants to treat wounds. The selected species were collected, identified and ethanolic and aqueous extracts were prepared. After, proliferative capacity was accessed by MTT assay in a keratinocyte cell line (HaCaT).

*Results* The survey comprehended almost all state regions and led to 117 plant species from 85 genera, from which 14 were selected for *in vitro* testing. Aqueous extracts from *Achyrocline satureioides* DC Lam., *Matricaria recutita* L., *Melia azedarach* L. and *Mirabilis jalapa* L. demonstrated the ability to stimulate keratinocyte growth up to 120% in concentrations of 25 µg/mL and 50 µg/mL. The ethanolic extract of *A. satureioides* was able to stimulate keratinocyte and fibroblast proliferation on the lower concentration tested, 1 µg/mL, being the most promising species.

*Conclusions* The traditional knowledge collected from the ethnobotanical studies was accessed by *in vitro* investigation and extracts from *Achyrocline satureioides*, *Matricaria recutita*, *Melia azedarach* and *Mirabilis jalapa* can influence positively cell proliferation.

**Keywords:** Wound healing; Brazil; Keratinocytes; Fibroblasts; *Achyrocline satureioides*; Proliferation.

## 1. Introduction

Brazil is a great consumer of herbal medicines (Oliveira et al., 2012). Medicinal plants and natural products have already been included in the Brazilian Public Health System (SUS), demonstrating the importance of the traditional medicine to the country. Also, the government implemented a national program to guarantee safe access to medicinal plants, the National Program on Medicinal Plants and Phytotherapy (Figueredo et al., 2014).

The Brazilian culture and biodiversity create a propitious environment to develop ethnopharmacological studies. The Rio Grande do Sul state, South Brazil, target area of this study, has a mixture of different cultures, once it was colonized by several countries that blended their knowledge with the native indigenous groups.

In popular medicine, plants are used to empirically treat a variety of diseases. Wounds and burns are examples of conditions commonly managed with medicinal plants. Although the wound healing process is normally completed in two weeks after the tissue damage, chronic wounds are still a public health problem (Sen et al., 2009). Many factors can influence wound healing, as diabetes mellitus, trauma, kidney and liver insufficiency, smoking, etc., thereby most treatment attempts are unsatisfactory (Tazima et al., 2008).

Wound healing is divided in four phases: hemostasis, inflammatory, proliferative and remodeling stages and the healing success depends on the synergic action of blood cells, platelets, cytokines, growth factors, fibroblasts and keratinocytes (Harper et al., 2014). The aims of this study are to find through an ethnobotanical survey, the plants popularly used for wound healing and evaluate their proliferative activity by *in vitro* testing.

## 2. Materials and Methods

### 2.1 Ethnobotanical Survey

Ethnobotanical studies conducted in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, were evaluated to obtain the plants popularly used for wound healing (Somavilla e Canto-

Dorow, 1996; Kubo, 1997; Magalhães, 1997; Possamai, 2000; Garlet, 2000; Marodin, 2000; Ritter *et al.*, 2002; Sebold, 2003; Vendruscolo, 2004; Barros *et al.*, 2007; Schwambach, 2007; Ceolin, 2009; Borges, 2010; Battisti *et al.*, 2013). The main descriptors were “wounds”, “wash wounds”, “wound healing” and “burns”, and the selection criteria were the number of citations for each species (minimum of three citations) and the related uses.

## 2.2 Plant Material

The aerial parts of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC, *Bidens pilosa* L., *Chaptalia nutans* (L.) Polak, *Malva parviflora* L., *Matricaria recutita* L., *Melia azedarach* L., *Mirabilis jalapa* L., *Piper regnelli* DC, *Plantago australis* Lam., *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, *Sambucus australis* Cham. & Schltl., *Sedum dendroideum* Moç. et Sessé ex DC, *Symphytum officinale* L. and *Tanacetum vulgare* L. were collected in the state of Rio Grande do Sul, in Passo Fundo, Carazinho, Porto Alegre and Rondonia cities between April 2014 and January 2015 and identified by a competent botanist. Voucher specimens were deposited in the ICN Herbarium of Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## 2.3 Plant Extracts

Plants were dried at room temperature and hide from sunlight. Dried and powdered samples (0.5 g) were extracted with ethanol by maceration (3x 24 h) and by decoction or infusion with distilled water (1:50), according to traditional use. The extracts were evaporated until dryness at 50 °C under reduced pressure and stocked for further analyses. The yields varied around 16% for the ethanolic extracts and 21% for the aqueous extracts.

## 2.4 Methods of Cell Biology

### 2.4.1 Cell Culture

Immortalized Human Keratinocytes (HaCaT) cell line was kindly provided by Luisa L. Villa PhD (ICESP, School of Medicine, University of São Paulo) and Silvy S.

Maria-Engler PhD (Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo). Human Lung Fibroblasts (MRC-5) cell line was kindly provided by Jennifer Saffi (Department of Basic Health Sciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre). The cells were cultured in DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) high glucose, with 10% FBS (Fetal Bovine Serum) and maintained at 37 °C, in 5% CO<sub>2</sub> humidified atmosphere.

#### 2.4.2 MTT assay

In order to evaluate cell proliferation, MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide) assay was performed, in which only viable cells are able to reduce MTT salt to purple formazan crystals. The intensity of purple color corresponds directly to the number of viable cells.

HaCaT keratinocytes were seeded at a density of  $1 \times 10^4$  cells per well in 96-well plates and incubated for 24 h before treatment. A stock solution was prepared by dissolving the plant extract in a mixture of 75% sterile distilled water and 25% DMSO (Dimethyl sulfoxide), and following test samples were obtained by dilution with DMEM (1, 5, 10, 25 and 50 µg/mL). The final DMSO concentration was lower than 0.5% (v/v). Culture medium was used as negative control. Cells were treated with test samples and incubated for 24 h, then the treatment was withdraw and the MTT solution (0.5 mg/mL) was added and incubated for 3 h at 37 °C. The formazan crystals formed were solubilized with DMSO and the absorbance was measured using a micro-plate reader at 570 nm with background subtraction at 630 nm. The assay was performed in three independent tests, with five replicates for each concentration. Cell viability was calculated as percentage in relation to control.

#### 2.4.3 Cell counting

Cell proliferation was confirmed by counting of viable cells. HaCaT keratinocytes and MRC-5 fibroblasts were seeded in 48-well plates ( $1 \times 10^4$  cells/well), and after 24 h treated with *Achyrocline satureioides* ethanolic extract at concentrations of 1, 5, 10, 25 and 50 µg/mL. After 24 h of incubation, the treatments were removed, cells were washed with phosphate-buffered saline (PBS) and 0.25% trypsin/EDTA

solution was added to detach the cells. Then, DMEM/10% FBS was added, and the cell suspension was analyzed by flow cytometry (FACSVerse, BD Biosciences, San Jose, CA, USA), where events were counted over a period of 30 seconds and the volume analyzed at this time was also determined, generating a value of events/ $\mu\text{L}$  of cell suspension. The results were expressed compared to control (cells treated with DMEM/10% FBS) that represents 100% of viability.

#### 2.4.4 *Ki-67 proliferation assay*

Ki-67 proliferation assay was performed, once is considered gold standard to evaluate cell proliferation. HaCaT keratinocytes and MRC-5 fibroblasts were seeded in 24-well plates ( $2 \times 10^4$  cells/well), and after 24 h the cells were treated with *Achyrocline satureioides* ethanolic extract at concentrations of 1, 5, and 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Control cells were treated with only DMEM/10% FBS. After 24 h of incubation, the treatment was withdrawn; the cells were trypsinized and centrifuged to obtain a pellet of cells. Then, cells were permeabilized with a 1% SFB and 0.09%  $\text{NaN}_3$  PBS solution, and 10  $\mu\text{L}$  of Ki-67 antibody (sc-23900 PE, Santa Cruz Biotechnology) was added to each tube. After 20 min of incubation at room temperature, protected from light, the cells were centrifuged and resuspended in PBS. In parallel, a sample was processed in the same way, except for the addition of the Ki-67 antibody (unlabelled control). The fluorescence intensity of the samples was analyzed using a FACSVerse flow cytometer (BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

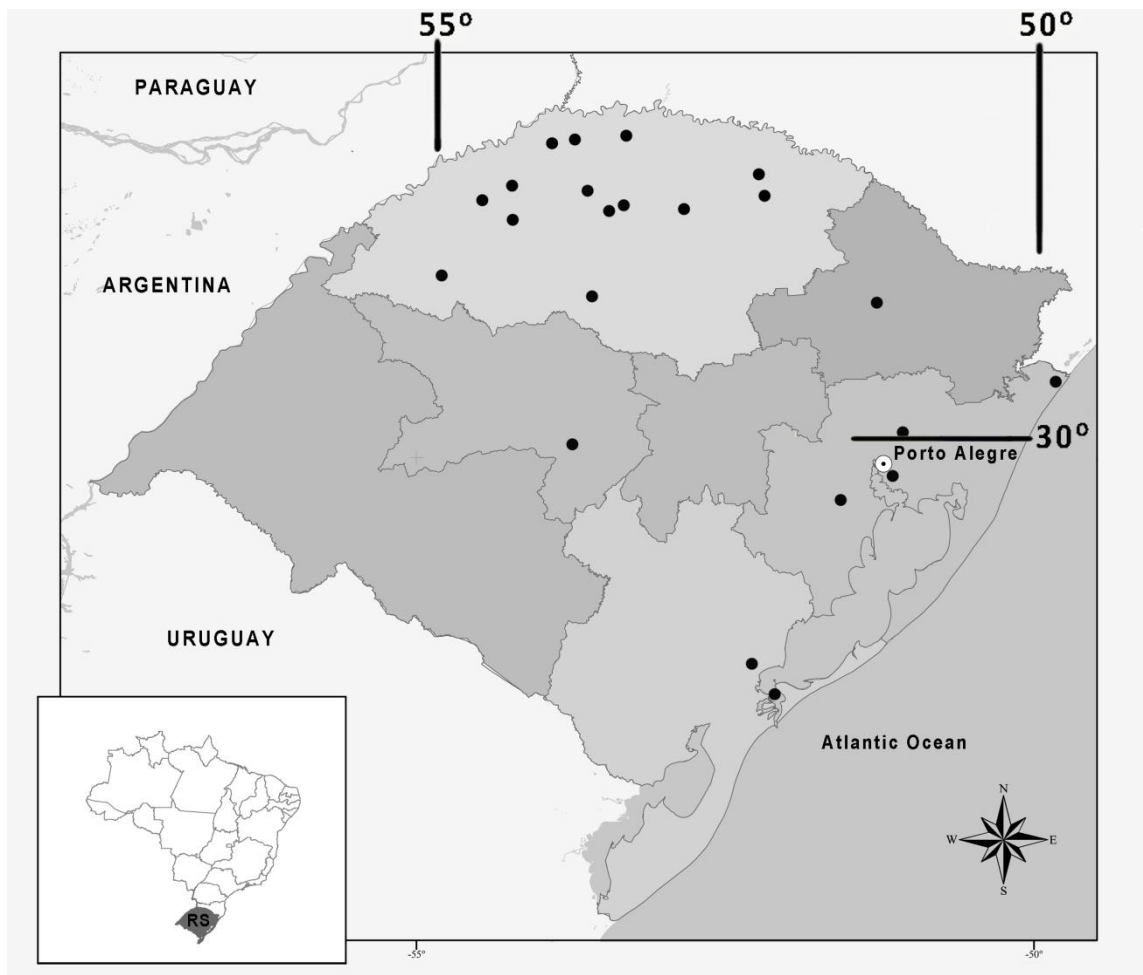
#### 2.5 *Statistical Analysis*

Data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation for each analysis. Statistical analysis for MTT assay results was performed by Generalized Estimating Equations (GEE) in a factorial model, where all the interactions were analyzed and multiple comparisons were performed by Bonferroni Test. Additionally, for the cell counting and Ki-67 proliferation assay, statistical analysis was done by One-way ANOVA followed by Tukey's Test. Data were analyzed with SPSS 18.0 Software. Differences were considered significant if  $p < 0.05$ .

### 3. Results and Discussion

#### 3.1 Ethnobotanical Survey

Fourteen ethnobotanical studies were selected to perform the survey. Geographically, the studies comprehend almost every state region (Mesquita, 1984); the only exception was the Southwest region (Figure 1), for which no botanical studies were found. This way, the survey is representative of nearly all state of Rio Grande do Sul and the species found are used in several parts of the state. The Northwest region of the state, known as Alto Uruguai, is the most studied area which may be due to the type of colonization, predominated indigenous and the high biodiversity (Magalhães, 1997).



**Figure 1:** Map of the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Dots indicate the cities where ethnobotanical studies were conducted.

**Table 1:** Ethnopharmacological data and pharmacological and chemical information relevant to wound healing of active plants.

<b>Plant Family/ Scientific name</b>	<b>Vernacular name</b>	<b>Part used/ Used as</b>	<b>Pharmacological Properties</b>	<b>Chemical Composition</b>	<b>Voucher number</b>
<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC	Macela	Inflorescences Decoction to wash wounds	Anti-inflammatory, antibacterial, analgesic, antioxidant and free radical-scavenging capacity, cytoprotective, immunostimulant and vasorelaxant (Retta et al., 2012).	Phenolic acids, flavonoids, chalcones, coumarins, polyssacharides, polyacetylenes, essential oils (Retta et al., 2012); Phloroglucinol derivatives (Casero et al., 2015).	ICN 184321
<i>Matricaria recutita</i> L.	Camomila Chamomile	Aerial parts Infusion to wash wounds or poultice	Antimicrobial, antioxidant, anti- inflammatory (Petronilho et al., 2012).	Terpenoids (Szöke et al., 2004); Sesquiterpenes, flavonoids, coumarins, phenolic acids (Petronilho et al., 2012).	ICN 184324
<i>Melia azedarach</i> L.	Cinamomo Chinaberry	Leaves Infusion to wash wounds	Antibacterial (Khan et al., 2001; 2011); Anti-inflammatory (Lee et al., 2000); Antioxidant (Orhan et al., 2012); Immunomodulatory (Courrèges et al., 1998).	Lignans, phenolic aldehydes, coumarins (Carpinella et al., 2005); Terpenes (Huang et al., 1996); Phenolic acids (Orhan et al., 2012).	ICN 184331
<i>Mirabilis jalapa</i> L.	Boa-noite Four-o'clock	Leaves Infusion to wash wounds or poultice	Antibacterial, Antioxidant, free radical-scavenging (Hajji et al., 2010); Anti-inflammatory, Antinociceptive (Chakraborty et al., 2012); Wound-healing (Gogoi et al., 2014)	Terpenoids, steroids (Siddiqui et al., 1994); Phenolic acids, flavonoids (Hajji et al., 2010).	ICN 184332



Analyzing the ethnobotanical studies, 190 citations were found according to the selected descriptors. The survey led to 117 different species of 85 genera, from those, sixteen species fit the selection criteria. Although *Aloe arborescens* Mill. appeared in the survey as the most cited plant, the species was excluded from the screening once its wound healing properties are very well described (Jia et al., 2008). Moreover, *Muehlenbeckia sagittifolia* (Ort.) Meissn was excluded because no previous studies were found in the literature and the screening would be too preliminary. The pharmacological properties related to wound healing and phytochemical data described in the literature for the active species, as well as other relevant information are presented in Table 1.

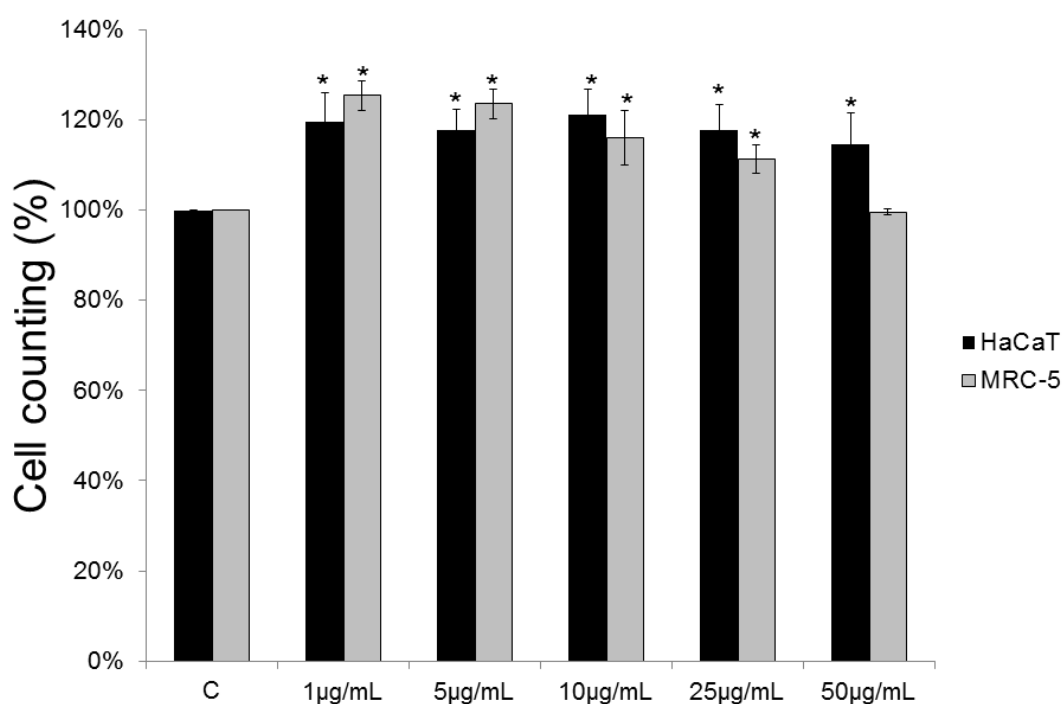
### 3.2 *In vitro* assessments

Compounds with wound healing properties can act through different mechanisms and skin cells proliferation is one of them (Fátima et al., 2008). Keratinocytes are responsible for the tissue epithelization, which happens through proliferation and migration (Harper et al., 2014). Moreover, this kind of cell has been used in screenings for wound healing activity (Agyare et al., 2009; Wang et al., 2013). The MTT assay results are expressed as percentage of cell viability (Table 2).

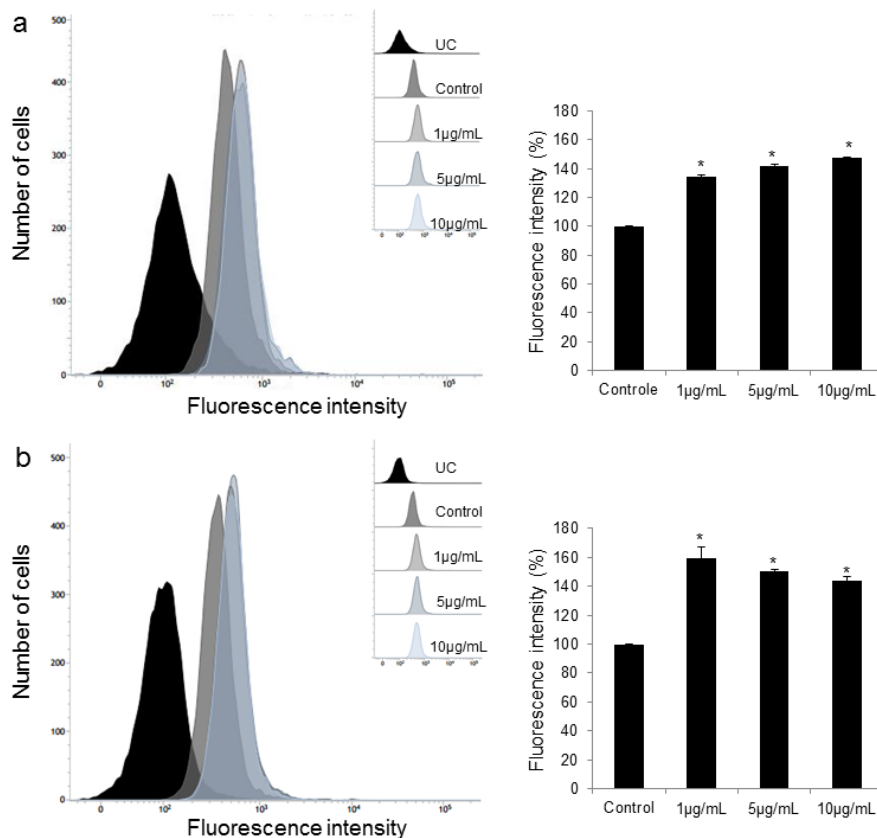
**Table 2:** Cell viability of HaCaT keratinocytes after 24 h treatment with aqueous and ethanolic extracts (MTT assay). Data with standard deviation (SD) are from three independent assays performed in 5 replicates. Negative control: untreated cells. \*  $p < 0.05$  compared to the negative control.

Plant species		1 $\mu\text{g/mL}$	5 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$
<i>Achyrocline satureioides</i>	EtOH	120 $\pm$ 7%*	115 $\pm$ 2%*	118 $\pm$ 5%*	114 $\pm$ 2%*	112 $\pm$ 4%*
	H <sub>2</sub> O	112 $\pm$ 5%	114 $\pm$ 8%*	121 $\pm$ 5%*	116 $\pm$ 3%*	124 $\pm$ 2%*
<i>Matricaria recutita</i>	EtOH	94 $\pm$ 5%	106 $\pm$ 4%	105 $\pm$ 4%	107 $\pm$ 7%	112 $\pm$ 7%*
	H <sub>2</sub> O	107 $\pm$ 3%	108 $\pm$ 6%	106 $\pm$ 2%	119 $\pm$ 7%*	121 $\pm$ 4%*
<i>Melia azedarach</i>	EtOH	110 $\pm$ 6%*	112 $\pm$ 5%*	106 $\pm$ 6%	112 $\pm$ 6%	115 $\pm$ 5%*
	H <sub>2</sub> O	96 $\pm$ 5%	99 $\pm$ 5%	98 $\pm$ 5%	123 $\pm$ 2%*	117 $\pm$ 4%*
<i>Mirabilis jalapa</i>	EtOH	99 $\pm$ 3%	104 $\pm$ 6%	104 $\pm$ 7%	112 $\pm$ 6%*	113 $\pm$ 4%*
	H <sub>2</sub> O	112 $\pm$ 6%*	104 $\pm$ 4%	107 $\pm$ 1%	122 $\pm$ 7%*	128 $\pm$ 7%*

The most active extract was *Achyrocline satureioides* ethanolic extract, once it stimulated keratinocyte proliferation at the lowest concentration tested. In order to confirm this result, cell counting was performed (Figure 2). Likewise, the extract was evaluated on fibroblasts (MRC-5), where one can observe the increased proliferative effect on small concentrations. Also to confirm the findings, Ki-67 proliferation assay was done (Figure 3). Ki-67 is an intracellular protein highly expressed in proliferative cells that is considered an important cell proliferation marker. Both tests were done in keratinocytes (HaCaT) and fibroblasts (MRC-5) once their proliferation is a key step to proper wound healing (Harper et al., 2014).



**Figure 2:** Cell proliferation evaluated by cell counting after 24 h of treatment of HaCaT and MRC-5 cells with *Achyrocline satureioides* ethanolic extract at concentrations of 1, 5, 10, 25 and 50 µg/mL. Results are mean values  $\pm$  SD (n = 3). \* Indicates statistical significance when treated groups were compared to control (one-way ANOVA followed by Tukey’s test,  $p < 0.05$ ).



**Figure 3:** Ki-67 assay evaluated after 24h of treatment of HaCaT (a) and MRC-5 (b) cells with *Achyrocline satureioides* ethanolic extract at concentrations of 1, 5 and 10 µg/mL. In the flow cytometry histogram UC indicates the unlabeled control. In the graphic we show the percentage of fluorescence intensity compared to the control, considered as 100%. Results are mean values  $\pm$  SD (n = 2). \* Indicates statistical significance when treated groups were compared to control (DMEM), indicating an increase in the fluorescence intensity (one-way ANOVA followed by Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

*Achyrocline satureioides* belongs to the Asteraceae family, popularly known as “macela”, this species is widely used in Latin America. In Brazil, the distribution occurs mainly in South and Southeast regions, being found on the following phytogeographic domains: Cerrado, Mata Atlântica and Pampa (Loeuille and Monge, 2014). The vegetation of Pampa is predominant on the Alto Uruguai region of Rio Grande do Sul state, one of the regions studied here. Moreover, similarities of this biome are found in Argentina and Uruguay, where *A. satureioides* is also traditionally used (Sabini et al., 2013).

Both, ethanolic and aqueous extracts of *A. satureioides* promoted some keratinocyte proliferation at all concentrations. But, the ethanolic extract showed significant proliferation in the lowest concentration in all tests, MTT assay with HaCaT cells, cell counting and Ki-67 assay with HaCaT and MRC-5 cells. It is important to highlight that even in the highest concentration tested, the extract did not show toxicity. *A. satureioides* has flavonoids, coumarins, phenolic acids, chalcones, phloroglucinol derivatives among other compounds in its chemical composition (Table 1). Besides, Consentino et al. (2008) have demonstrated the immunomodulatory effect of the aqueous extract of *A. satureioides* and the anti-inflammatory activity has also been described in literature (De Souza et al., 2007). All these findings support the traditional use of the species for wound healing purposes and indicate that it can be acting in different stages of the healing process.

Similarly, the aqueous extract of *Matricaria recutita*, *Melia azedarach* and *Mirabilis jalapa* at concentrations of 25 µg/mL and 50 µg/mL, promoted significant cell growth. These species have anti-inflammatory properties among others that can be related to wound healing (Table 1). *M. recutita* and *M. jalapa* are used in popular medicine as poultice, where the aerial parts and leaves respectively, are used to cover wounds. Moreover, the wound healing activity of *M. jalapa* was accessed *in vivo* by Gogoi et al. (2014). In the study, a methanolic extract of the roots was evaluated by an excision model and the extract was capable of diminishing the epithelialization days number, aside from increasing angiogenesis and collagen production.

Besides, the presence of polyphenols in the chemical composition of these plant species may provide them the ability to indirectly influence the normal process of proliferation, and thereby act in wound repair (Ratz-Lyko et al., 2015).

Extracts of *Bidens pilosa* L., *Chaptalia nutans* (L.) Polak, *Malva parviflora* L., *Piper regnelli* DC, *Plantago australis* Lam. and *Sambucus australis* Cham. & Schldl. did not show any activity. On the other hand, ethanolic extracts of *Pluchea sagittalis*, *Sedum dendroideum*, *Symphytum officinale* and *Tanacetum vulgare* were cytotoxic to keratinocytes at higher concentrations (results not shown). Taking comfrey (*S. officinale*) as an example, herbal practitioners consider the species effective for the treatment of wounds and with little risk (Frost et al., 2014). So, although comfrey presented cytotoxicity, its popular use cannot be disregarded once the plant can be acting in wound healing through different pathways.

#### **4. Conclusions**

Spite all pharmaceutical advances, the ability of drugs to simulate wound repair is still restricted (Fátima *et al.*, 2008). In this context, the ethnodirected studies are a way to discover new agents, based on the folk science (Elizabetsky and Souza, 2010). The results demonstrated that *Achyrocline satureioides*, *Matricaria recutita*, *Melia azedarach* and *Mirabilis jalapa* were able to stimulate keratinocytes growth *in vitro*. It was possible to determine the proliferative capacity of ethanolic extract of *A. satureioides* by three different assays, which combined with its antimicrobial and anti-inflammatory properties, support the traditional use; however to confirm the wound healing capacity more variables may be accessed and *in vivo* studies must be performed. Also, the species that did not show any activity can be stimulating wound repair by other mechanisms.

#### **Conflict of interest statement**

The authors declare that there is no conflict of interest in this research.

#### **Acknowledgements**

The authors are grateful to Brazilian agency CNPq for financial support. Special thanks to Luisa L. Villa PhD (ICESP, School of Medicine, University of São Paulo), Silvy S. Maria-Engler PhD (Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo) and Jennifer Saffi (Department of Basic Health Sciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre – UFCSPA) for providing the cell lines used in the study.

#### **References**

Agyare, C., Asase, A., Lechtenber, M., Niehues, M., Deters, A., Hensel, A., 2009. An ethnopharmacological survey and *in vitro* confirmation of ethnopharmacological use of

medicinal plants used for wound healing in Bosomtwi-Atwima-Kwanwoma area, Ghana. *Journal of Ethnopharmacology* 125, 393-403.

Barros, F.M.C., Pereira, K.N., Zanetti, G.D., Heinzmann, B.M., 2007. Plantas de uso medicinal no município de São Luiz Gonzaga. *Latin American Journal of Pharmacy* 26(5), 652-662.

Battisti, C., Garlet, T.M.B., Essi, L., Horbach, R.K., Andrade, A., Badke, M.R., 2013. Plantas medicinais no município de Palmeira das Missões, RS, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 11(3), 338-348.

Borges, A.M., 2010. Plantas medicinais no cuidado em saúde de moradores da Ilha dos Marinheiros: Contribuições à enfermagem. M. Sc. thesis, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 129 pp.

Carpinella, M.C., Ferrayoli, C.G., Palacios, S.M., 2005. Antifungal synergistic effect of scopoletin, a hydroxycoumarin isolated from *Melia azedarach* L. *Fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 2922-2927.

Casero, C., Machín, F., Méndez-Álvarez, S., Demo, M., Ravelo, A.G., Pérez-Hernández, N., Joseph-Nathan, P., Estévez-Braun, A., 2015. Structure and antimicrobial activity of phloroglucinol derivatives from *Achyrocline satureioides*. *Journal of Natural Products* 78, 93-102.

Ceolin, T., 2009. Conhecimento sobre plantas medicinais entre agricultores de base ecológica da região sul do Rio Grande do Sul. M.Sc. thesis, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 108 pp.

Chakraborty, G.S., Singh, V., Kumar, L., Bhadgajar, R., 2012. Antiinflammatory and antinociceptive activity of hydroalcoholic extract of *Mirabilis jalapa* and *Mirabilis japonica*. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 12, 177-180.

Cosentino, M., Bombelli, R., Carcano, E., Luini, A., Marino, F., Crema, F., Dajas, F., Lecchini, S., 2008. Immunomodulatory properties of *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. infusion: A study on human leukocytes. *Journal of Ethnopharmacology* 116(3), 501-507.

- Courrèges, M.C., Benencia, F., Coulombié, F.C., Coto, C.E., 1998. In vitro and in vivo activities of *Melia azedarach* L. aqueous leaf extracts on murine lymphocytes. *Phytomedicine* 5(1), 47-53.
- De Souza, K. C. B., Bassani, V. L., Schapoval, E. E. S., 2007. Influence of excipients and technological process on anti-inflammatory activity of quercetin and *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. extracts by oral route. *Phytomedicine* 14(3), 102-108.
- Elisabetsky, E., Coelho de Souza, G., 2010. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In Simões, C. M. O. (Org), Petrovick, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, p. 109-120.
- Fátima, A., Modolo, L.V., Sanches, A.C.C., Porto, R.R., 2008. Wound healing agents: The role of natural and non-natural products in drug development. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 8(9), 879-888.
- Figueredo, C.A., Gurgel, I.G.D., Gurgel Junior, G.D., 2014. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. *Physis: Revista de Saúde Coletiva* 24(2): 381-400.
- Frost, R., O'Meara, S., MacPherson, H., 2014. The external use of comfrey: A practitioner survey. *Complementary Therapies in Clinical Practice* 20(4), 347-355.
- Garlet, T.M.B., 2000. Levantamento das plantas medicinais utilizadas no município de Cruz Alta, RS, Brasil. M. Sc. Thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 211 pp.
- Gogoi, J., Nakhuru, K.S., Chattopadhyay, P., Rai, A.K., Gogoi, H.K., Veer, V., 2014. In vivo evaluation of cutaneous wound healing activity of *Mirabilis jalapa* L. radix. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 14, 103-109.
- Hajji, M., Jarraya, R., Lassoued, I., Masmoudi, O., Damak, M., Nasri, M., 2010. GC/MS and LC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts from *Mirabilis jalapa* tubers. *Process Biochemistry* 45, 1486-1493.
- Harper, D., Young, A., McNaught, C., 2014. The physiology of wound healing. *Surgery* 32(9), 445-450.

Huang, R.C., Tadera, K., Yagi, F., Minami, Y., Okamura, H., Iwagawa, T., Nakatani, M., 1996. Limonoids from *Melia azedarach*. *Phytochemistry* 43(3), 581-583.

Jia, Y., Zhao, G., Jia, J., 2008. Preliminary evaluation: The effects of *Aloe ferox* Miller and *Aloe arborescens* Miller on wound healing. *Journal of Ethnopharmacology* 120, 181-189.

Khan, A.V., Ahmed, Q.U., Mir, M.R., Shukla, I., Khan, A.A., 2011. Antibacterial efficacy of the seed extracts of *Melia azedarach* against some hospital isolated human pathogenic bacterial strains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* XX, 452-455.

Khan, M.R., Kihara, M., Omoloso, A.D., 2001. Antimicrobial activity of *Horsfieldia helwigii* and *Melia azedarach*. *Fitoterapia* 72, 423-427.

Kubo, R.R., 1997. Levantamento das plantas de uso medicinal em Coronel Bicaco, RS. M.Sc. thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 163 pp.

Loeuille, B., Monge, M., 2014. Achyrocline in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available on: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB108826>>.

Magalhães, R.G. de., 1997. Plantas medicinais na região do Alto Uruguai-RS: Conhecimentos de João Martins Fuíza, "Sarampião". M. Sc. thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 172 pp.

Marodin, S.M., 2000. Plantas utilizadas como medicinais no município de Dom Pedro de Alcântara, Rio Grande do Sul. M. Sc. thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 413 pp.

Mesquita Z.P., 1984. Divisões regionais do Rio Grande do Sul: Uma revisão. *Ensaio FEE* 5(2), 95-146.

Oliveira, S.G.D., Moura, F.R.R., Demarco, F.F., Nascente, O.S., Del Pino, F.A.B., Lund, R.G. 2012. An ethnomedicinal survey on phytoterapy with professionals and patients from Basic Care Units in the Brazilian Unified Health System. *Journal of Ethnopharmacology*, 140: 428-437.



Orhan, I.E., Guner, E., Ozturk, N., Senol, F.S., Erdem, S.A., Kartal, M., Sener, B., 2012. Enzyme inhibitory and antioxidant activity of *Melia azedarach* L. naturalized in Anatolia and its phenolic acid and fatty acid composition. *Industrial Crops and Products* 37, 213-218.

Petronilho, S., Maraschin, M., Coimbra, M.A., Rocha, S.M., 2012. *In vitro* and *in vivo* studies of natural products: A challenge for their valuation. The case study of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Industrial Crops and Products* 40, 1-12.

Possamai, R.M., 2000. Levantamento etnobotânico das plantas de uso medicinal em Mariana Pimental, Rio Grande do Sul. M. Sc. thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 112 pp.

Ratz-Lyko, A., Arct, J., Majewski, S., Pytowska, K., 2015. The influence of polyphenols on the physiological processes in the skin. *Phytotherapy Research* 29, 509-517.

Retta, D., Dellacassa, E., Villamil, J., Suárez, S.A., Bandoni, A.L., 2012. Marcela, a promising medicinal and aromatic plant from Latin America: A review. *Industrial Crops and Products* 38, 27-38.

Ritter, M.R., Sobierajski, E.R., Schenkel, E.P., Mentz, L.A., 2002. Plantas usadas como medicinais no município de Ipê, RS, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 12(2), 51-62.

Sabini, M.C., Cariddi, L.N., Escobar, F.M., Mañas, F., Comini, L., Reinoso, E., Sutil, S.B., Acosta, A.C., Núñez Montoya, S., Contigiani, M.S., Zanon, S.M., Sabini, L.I., 2013. Evaluation of the cytotoxicity, genotoxicity and apoptotic induction of an aqueous extract of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. *Food and Chemical Toxicology* 60, 463- 470.

Schwambach, K.H., 2007. Utilização de plantas medicinais e medicamentos o autocuidado no município de Teutônica, RS. M. Sc. thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 97 pp.

Sebold, D.F., 2003. Levantamento etnobotânico de plantas de uso medicinal no município de Campo Bom, Rio Grande do Sul, Brasil. M. Sc. thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 107 pp.

Sen, C.K., Gordello, G.M., Roy, S., Kersner, R., Lambert, L., Hunt, T.K., Gottrup, F., Gurtner, G.C., Longaker, M.T., 2009. Human skin wounds: A major and snowballing threat to public health and the economy. *Wound Repair and Regeneration* 17(6), 763-771.

Siddiqui, B.S., Adil, Q., Begum, S., Siddiqui S., 1994. Terpenoids and steroids of the aerial parts of *Mirabilis jalapa* Linn. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* 37, 108–110.

Somavilla, N., Canto-Dorow, T.S., 1996. Levantamento das plantas medicinais utilizadas em bairros de Santa Maria, RS. *Ciências e Natura* 18, 131-148.

Szőke, É., Máday, E., Tyihák, E., Kuzovkina, I. N., Lemberkovics, É., 2004. New terpenoids in cultivated and wild chamomile (in vivo and in vitro). *Journal of Chromatography B* 800(1-2), 231-238.

Tazima, M.F.G. S., Vicente, Y.A.M.V.A., Moriya, T. 2008. Biologia da ferida e cicatrização. *Medicina (Ribeirão Preto)*, 41(3): 259-264.

Vendruscolo, G.S., 2004. Estudo etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. M. Sc. thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 277 pp.

Wang, R., Lechtenberg, M., Sendker, J., Petereit, F., Deters, A., Hensel, A., 2013. Wound-healing plants from TCM: in vitro investigations on selected TCM plants and their influence on human dermal fibroblasts and keratinocytes. *Fitoterapia* 84, 308-317.



## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**



O presente estudo obteve uma taxa de sucesso de 28,5%, uma vez que dentre as 14 espécies selecionadas, quatro apresentaram atividade proliferativa significativa (*Achyrocline satureioides*, *Matricaria recutita*, *Melia azedarach* e *Mirabilis jalapa*). Esse número pode ser considerado alto se compararmos uma possível taxa de sucesso se o método de seleção fosse randômico. Agyare et al. (2009) e Adetutu et al. (2011) conduziram estudos muito similares em Gana e Nigéria respectivamente, onde a informação etnofarmacológica foi extraída diretamente de curandeiros tradicionais da região, e as taxas de sucesso foram 27% e 11%, nesta ordem. O levantamento etnofarmacológico apresentado aqui teve por base outros trabalhos etnobotânicos, e foram selecionadas as plantas mais citadas entre todos esses estudos, mas a diferença entre as taxas de sucesso não foram muito significativas. No entanto, ainda não há uma padronização do quanto um extrato ou molécula deve estimular a proliferação celular para ser considerado um agente cicatrizante em potencial, além disso é importante ressaltar que outros ensaios *in vitro* precisam ser conduzidos para caracterizar globalmente a atividade cicatrizante (HOUGHTON et al., 2005).

No total, quatorze espécies foram avaliadas, sendo muitas delas exóticas, possivelmente incorporadas na medicina popular do estado do Rio Grande do Sul por colonizadores. A espécie mais ativa deste estudo foi a macela (*Achyrocline satureioides*), nativa do Rio Grande do Sul e de outros países da América Latina, já estudada por suas atividades antiinflamatória, antimicrobiana, imunomoduladora, gastroprotetora, etc (RETTA et al., 2012). Contudo, este é o primeiro relato de que o extrato da espécie possui ação proliferativa em células da pele e que pode ser promissor como agente cicatrizante. A macela não foi a espécie mais citada nos estudos etnobotânicos revisados, tendo apenas três citações, número mínimo estipulado pelos autores para seleção, diferentemente de *Aloe arborescens* e *Symphytum officinale*, espécies mais citadas.

A espécie *Achyrocline satureioides* está listada em um levantamento do Ministério do Meio Ambiente, Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial, sendo importante ressaltar que a macela é obtida pela população principalmente pelo extrativismo, evidenciando a necessidade de conhecimento para proteção da espécie como medicinal. A espécie também se encontra na 4ª Edição da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2000). No Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira de 2011 (BRASIL, 2011), seis espécies são citadas por seu uso como cicatrizante: *Calendula officinalis* L., *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Aloe vera* (L.) Burman f, *Caesalpinia ferrea* Mart., *Symphytum officinale* L. e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. Todas com uso tópico como pomada ou gel.

Em diversos estudos etnobotânicos avaliados a macela era apontada como “bom para tudo”, ou seja, a espécie é utilizada para tratar diferentes patologias, sendo a mais citada para tratamento de distúrbios gastrointestinais (VENDRUSCOLO, 2004). Apesar da etnofarmacologia ser uma excelente ferramenta de seleção de substâncias ativas, de acordo com Albuquerque e Hanazaki (2006), o fato de muitas preparações estarem ligadas a situações religiosas pode dificultar a veracidade dos dados coletados.

Como discutido no manuscrito, a composição química da macela inclui flavonoides, especialmente flavonóis e chalconas, cumarinas, polissacarídeos, entre outros, que podem estar atuando em separado ou sinergicamente para estimular a proliferação celular. Os flavonoides compõe uma das classes de compostos mais ativa considerando atividades biológicas, inclusive influenciam células importantes no processo cicatricial (RATZ-ŁYKO et al., 2015). No entanto, todas as hipóteses precisam ser testadas no futuro para determinar todas as características fitoquímicas do extrato etanólico, para identificar o ou os compostos ativos, e ainda são necessários estudos *in vitro* mais específicos, ou estudo *in vivo*.

A atividade anti-inflamatória de *Achyrocline satureioides* foi documentada por De Souza et al. (2000). A inflamação é parte importante do processo cicatricial, pois a partir dela é desencadeado o recrutamento de leucócitos para limpeza do leito da ferida e o estímulo para angiogênese (OLIVEIRA e DIAS, 2012). No entanto, feridas crônicas apresentam, muitas vezes, falha no controle da supressão da inflamação por fatores endógenos (ERFURT-BERGE e RENNEN, 2015). Sob essa ótica, um extrato com

capacidade anti-inflamatória deve ser bem avaliado para uso em feridas crônicas, a fim de equilibrar o processo inflamatório responsável pela cronificação. Consentino et al. (2008) descreveram a ação imunomodulatória do extrato aquoso de *Achyrocline satureioides* sugerindo que o mesmo atua sobre os neutrófilos (células chave da fase inflamatória), controlando a atividade dessas células.

Para determinar o efeito do extrato etanólico de *Achyrocline satureioides* como cicatrizante, novas avaliações *in vitro* e ensaios controlados *in vivo* poderão ser realizados futuramente, bem como o desenvolvimento de um medicamento de uso tópico, como a incorporação do extrato ativo em curativos especiais.

Resultados referentes às outras espécies avaliadas nesse estudo se encontram em anexo. Aquelas que não apresentaram resultados satisfatórios podem atuar por outros mecanismos para aceleração da cicatrização, podem não possuir atividade nas concentrações testadas, podem ser utilizadas por sua ação antimicrobiana (considerando feridas infectadas) ou ainda podem não ter qualquer tipo de ação cicatrizante. A última possibilidade não exclui a espécie do uso tradicional, uma vez que crenças e elementos religiosos podem estar envolvidos, como já dito anteriormente.

A partir do estudo proposto podemos identificar que a etnofarmacologia pode ser sim, uma ótima ferramenta de seleção de espécies vegetais potencialmente ativas, pois se baseia no uso das mesmas na medicina popular. Também foi possível verificar a atividade proliferativa do extrato etanólico de macela em baixas concentrações, o qual se tornou objeto promissor para estudos futuros.

Immanuel Kant disse: “Ciência é conhecimento organizado, sabedoria é vida organizada”. Penso que é possível transpor essa ideia para o contexto da Etnofarmacologia. A medicina popular, explorada por estudos etnodirigidos nada mais é do que a sabedoria, fruto de observações cotidianas, passada por gerações. As comunidades que fazem uso da medicina tradicional não o fazem porque obtiveram comprovações científicas em laboratório, mas sim porque possuem a sabedoria necessária para distinguir patologias e curas. E por isso essa ciência deve ser valorizada e respeitada por toda bagagem cultural que carrega, especialmente em um país como o Brasil.





## **REFERÊNCIAS**



ADETUTU, A.; MORGAN, W.A.; CORCORAN, O. Ethnopharmacological survey and in vitro evaluation of wound-healing plants used in South-western Nigeria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 50-56, 2011.

AGYARE, C.; ASASE, A.; LECHTENBER, M.; NIEHUES, M.; DETERS, A.; HENSEL, A. An ethnopharmacological survey and in vitro confirmation of ethnopharmacological use of medicinal plants used for wound healing in Bosomtwi-Atwima-Kwanwoma area, Ghana. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 125, p. 393-403, 2009.

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

AMMAR, I.; BARDAA, S.; MZID, M.; SAHNOUN, Z.; REBAII, T.; ATTIA, H.; ENNOURI, M. Antioxidant, antibacterial and *in vivo* dermal wound healing effects of *Opuntia* flower extracts. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 483-490, 2015.

ANTUNES-RICARDO, M.; GUTIÉRREZ-URIBE, J.; SERNA-SALDIVAR, S.O. Anti-inflammatory glycosylated flavonoids as therapeutic agents for treatment of diabetes-impaired wounds. **Current Topics on Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 2456-2463, 2015.

BADKE, M.R.; BUDÓ, M.L.D.; SILVA, F.M.; RESSEL, L.B. Plantas Medicinais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, v. 15, p. 132-139, 2011.

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

BHATTACHARYA, S. Wound healing through the ages. **Indian Journal of Plastic Surgery**, v. 45, p. 177-179, 2012.

BRANDÃO, Md.; COSENZA, G.P.; PEREIRA, F.L.; VASCONCELOS, A.S.; FAGG, C.W. Changes in the trade in native medicinal plants in Brazilian public markets. **Environmental monitoring and assessment**, v. 185, p. 7013-7023, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 126p., 2011.

BRASIL. Farmacopéia Brasileira. 4ed, Atheneu, São Paulo, 2000.

BRASIL. Plano Nacional de Promoção das Cadeias de Produtos da Sociobiodiversidade. Ministério do Desenvolvimento Agrário; Ministério do Meio Ambiente; Ministério do Desenvolvimento Social e Combate a Fome. Brasília, 2009.

BRUSOTTI, G.; ANDREOLA, F.; SFERRAZZA, G.; GRISOLI, P.; MERELLI, A.; ROBUSTELLI DELLA CUNA, F.S.; CALLERI, E.; NICOTERA, G.; PIERIMARCHI, P.; SERAFINO, A. In vitro evaluation of the wound healing activity of *Drypetes klainei* stem bark extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 4, p. 412-421, 2015.

BURTON, A.; SMITH, M.; FALKENBERG, T. Building WHO's global strategy for traditional medicine. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 7, p. 13-15, 2015.

BUTLER, M.S. The Role of Natural Product Chemistry in Drug Discovery. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 2141-2153, 2004.

CAMPOS, A.C.L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A.K. Cicatrização de feridas. **ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 20, p. 51-58, 2007.

CHOKBORIBAL, J.; TACHABOONYAKIT, W.; SANGVANICNH, P.; RUANGPORNVISUTI, V.; JETTANACHEAWCHANKIT, S.; THUNYAKITPISAL, P. Deacetylation affects the physical properties and bioactivity of acemannan, an extracted polysaccharide from *Aloe vera*. **Carbohydrate Polymers**, v.133, p. 556-566, 2015.

COSENTINO, M.; BOMBELLI, R.; CARCANO, E.; LUINI, A.; MARINO, F.; CREMA, F.; DAJAS, F.; LECCHINI, S. Immunomodulatory properties of *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. infusion: A study on human leukocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, p. 501-507, 2008.

DE SOUZA, K.C.B.; BASSANI, V.L.; SCHAPOVAL, E.E.S. Influence of excipients and technological process on anti-inflammatory activity of quercetin and *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. extracts by oral route. **Phytomedicine**, v. 14, p. 102-108, 2007.

DREIFKE, M.B.; JAYASURIYA, A.A.; JAYASURIYA, A.C. Current wound healing procedures and potential care. **Materials Science and Engineering: C**, v. 48, p. 651-662, 2015.

ELISABETSKY, E.; COELHO DE SOUZA, G. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In Simões, C. M. O. et al. (Org), *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, p. 109-120, 2010.

EMBODEN, W.A. The Ethnopharmacology of *Centella asiatica* (L.) Urban (Apiaceae). **Journal of Ethnobiology**, v. 5, p. 101-107, 1985.

EMING, S.A.; MARTIN, P.; TOMIC-CANIC, M. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. **Science Translational Medicine**, v. 6, p. 265-266, 2014.

ERFURT-BERGE, C.; RENNER, R. Chronic wounds – Recommendations for diagnostics and therapy. **Reviews in Vascular Medicine**, v. 3, p. 5-9, 2015.

ETKIN, N.L. Perspectives in ethnopharmacology: forging a closer link between bioscience and traditional empirical knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 177-182, 2001.

FARAHPOUR, M.R.; MIRZAKHANI, N.; DOOSTMOHAMMADI, J.; EBRAHIMZADEH, M. Hydroethanolic *Pistacia atlantica* hulls extract improved wound healing process; evidence for mast cells infiltration, angiogenesis and RNA stability. **International Journal of Surgery**, v. 17, p. 88-98, 2015.

FÁTIMA, A.; MODOLO, L.V.; SANCHES, A.C.C.; PORTO, R.R. Wound healing agents: The role of natural and non-natural products in drug development. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 879-888, 2008.

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

FRANCO, D.; GONÇALVES, L.F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 35, 2008. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

GOLDBERG, S.R.; DIEGELMANN, R.F. Wound healing Primer. **Surgical Clinics of North America**, v. 90, p. 1133-1146, 2010.

GUIDO, P.C.; RIBAS, A.; GAIOLI, M.; QUATTRONE, F.; MACCHI, A. The state of integrative medicine in Latin America: The long road to include complementary, natural, and traditional practices in formal health systems. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 7, p. 5-12, 2015.

HARPER, D.; YOUNG, A.; MCNAUGHT, C. The physiology of wound healing. **Surgery**, v. 32, p. 445-450, 2014.

HOUGHTON, P.J.; HYLANDS, P.J.; MENSAH, A.Y.; HENSEL, A.; DETERS, A.M. In vitro tests and ethnopharmacological investigations: Wound healing as an example. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 100-107, 2005.

IDRUS, R.B.H.; CHOWDHURY, S.R.; MANAN, N.A.B.A.; FONG, O.S.; ADENAN, M.I.A.; SAIM, A.B. Aqueous extract of *Centella asiatica* promotes corneal epithelium wound healing *in vitro*. **Journal fo Ethnopharmacology**, v. 140, p. 333-338, 2012.

JIN, S.G.; KIM, K.S.; YOUSAF, A.M.; KIM, D.W.; JANG, S.W.; SON, M.; KIM, Y.H.; KIM, J.O.; CHOI, H. Mechanical properties and *in vivo* healing evaluation of a novel *Centella asiatica*-loaded hydrocolloid wound dressing. **International Journal of Phamaceutics**, v. 490, p. 240-247, 2015.

JUNIOR, V.F.V.; PINTO, A.C. Plantas Mediciniais: Cura Segura? **Química Nova**, v.28, p. 519-528, 2005.

KIMURA, Y.; SUMIYOSHI, M.; SAMUKAWA, K.; SATAKE, N.; SAKANAKA, M. Facilitating action of asiaticoside at low doses on burn wound repair and its mechanism. **European Journal of Pharmacology**, v. 584, p. 425-423, 2008.

LEE, C.K.; HANSEN, S.L. Management of acute wounds. **Surgical Clinics of North America**, v. 89, p. 659-676, 2009.

LEE, J.; KIM, H.; LEE, M.H.; YOU, K.E., KWON, B.; SEO, H.J.; PARK, J. Asiaticoside enhances normal human skin cell migration, attachment and growth *in vitro* wound healing model. **Phytomedicine**, v. 19, p. 1223-1227, 2012.

LI, J.W.-H.; VEDERAS, J.C. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? **Science**, v. 325, p. 161-165, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas. 2ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum, 544p., 2008.

MAZZARI, A.L.D.A.; PRIETO, J.M. Herbal medicines on Brazil: pharmacokinetic profile and potential herb-drug interactions. **Frontiers in Pharmacology**, v. 5, p. 1-12, 2014.



MENTZ, L.A.; LUTZEMBERGER, L.C.; SCHENKEL, E.P. Da Flora Medicinal do Rio Grande do Sul: Notas sobre a Obra de D'Ávila (1910). **Caderno de Farmácia**, v. 13, p. 25-48, 1997.

MOREIRA D.L.; TEIXEIRA, S.S.; MONTEIRO, M. H.D.; DE-OLIVEIRA, A.C.A.X.; PAUMGARTTEN. Traditional use and safety of herbal medicines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 248-257, 2014.

MUDGE, E.J. Recent accomplishments in wound healing. **International Wound Journal**, v.12, p. 4-9, 2015.

MUTHUKUMAR, T.; ANBARASU, K.; PRAKASH, D.; SASTRY, T.P. Effect of growth factors and pro-inflammatory cytokines by the collagen biocomposite dressing material containing *Macrotyloma uniflorum* plant extract – *In vivo* wound healing. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 121, p. 178-188, 2014.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 311-335, 2012.

OLIVEIRA, I.V.P.M.; DIAS, R.V.C. Cicatrização de Feridas: Fases e Fatores de Influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, p. 267-271, 2012.

OLIVEIRA, S.G.D.; MOURA, F.R.R de.; DEMARCO, F.F.; NASCENTE, P.S.; DEL PINO, F.A.B.; LUND, R.G. An ethnomedicinal survey on phytotherapy with professionals and patients from Basic Care Units in the Brazilian Unified Health System. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, p. 428-437, 2012.

PIRIZ, M.A.; LIMA, C.A.B.; JARDIM, V.M.R.; MESQUITA, M.K.; SOUZA, A.D.Z.; HECK, R.M. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão da literatura. **Revista Brasileiras de Plantas Medicinai**s, v.16, p.628-636, 2014.

RATZ-ŁYKO, A.; ARCT, J.; MAJEWSKI, S.; PYTOWSKA, K. The influence of polyphenols on the physiological processes in the skin. **Phytotherapy Research**, v. 29, p. 509-517, 2015.

RETTA, D.; DELLACASSA, E.; VILLAMIL, J.; SUÁREZ, S.A.; BANDONI, A.L. Marcela, a promising medicinal and aromatic plant from Latin America: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 38, p. 27-38, 2012.

SEN, C.K.; GORDELLO, G.M.; ROY, S.; KERSNER, R.; LAMBERT, L.; HUNT, T.K.; GOTTRUP, F.; GURTNER, G.C.; LONGAKER, M.T. Human skin wounds: A major and snowballing threat to public health and the economy. **Wound Repair and Regeneration**, v. 17, p. 763-771, 2009.

SHUKLA, A.; RASIK, A.M.; JAIN, G.K.; SHANKAR, R.; KULSHRESTHA, D.K.; DHAWAN, B.N. *In vitro* and *in vivo* wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.65, p. 1-11, 1999.

SIERRA-GARCÍA, G.D.; CASTRO-RÍOS, R.; GONZÁLEZ-HORTA, A.; LARA-ARIAS, J.; CHÁVEZ-MONTES, A. Acemannan, an extracted polysaccharide from *Aloe vera*: A literature review. **Natural Products Communications**, v. 9, p. 1217-1221, 2014.

TAZIMA, M.F.G. S.; VICENTE, Y.A.M.V.A.; MORIYA, T. Biologia da ferida e cicatrização. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 41, p. 259-264, 2008.

VENDRUSCOLO, G.S. Estudo etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. M. Sc. thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 277 pp., 2004.

WHO (World Health Organization). The World Traditional Medicines Situation, in *Traditional Medicines: Global Situation, Issues and Challenges*. Geneva, v. 3, p. 1–14, 2011.

WITTE, M.B.; BARBUL, A. General Principles of Wound Healing. **Surgical Clinics of North America**, v. 77, p. 509–528, 1997.

XING, W.; GUO, W.; ZOU, C.; FU, T.; LI, X.; ZHU., M.; QI, J.; SONG, J.; DONG, C.; LI, Z.; XIAO, Y.; YUAN, P.; HUANG, H.; XU, X. Acemannan accelerates cell proliferation and skin wound healing through AKT/mTOR signaling pathway. **Journal of Dermatological Science**, v. 79, p. 101-109, 2015.

ZHANG, L.; TIZARD, I.R.; Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: The major carbohydrate fraction from *Aloe vera* gel. **Immunopharmacology**, v. 35, p. 199-128, 1996.

## **ANEXOS**



**ANEXO I:** Tabela contendo as informações da literatura de todas as quatorze espécies selecionadas para estudo. Apresentada resumida no manuscrito.

**ANEXO II:** Tabela contendo os resultados do ensaio MTT para todas as quatorze espécies selecionadas para estudo. Apresentada resumida no manuscrito.

**Table 1:** Ethnopharmacological data and pharmacological and chemical information relevant to wound healing of the selected study plants.

Plant Family/ Scientific name	Vernacular name	Part used	Pharmacological Properties	Chemical Composition	Voucher number	Citations
Asteraceae						
<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC	macela	Inflorescences	Anti-inflammatory, antibacterial, analgesic, antioxidant and free radical-scavenging capacity, cytoprotective, immunostimulant and vasorelaxant (Retta et al., 2012).	Phenolic acids, flavonoids, chalcones, coumarins, prenylated dibenzofuran, polyssacharides, lactones, polyacetylenides, essential oils (Retta et al., 2012); Phloroglucinol derivatives (Casero et al., 2015).	ICN 184321	3
<i>Bidens pilosa</i> L.	picão-preto <i>beggar-ticks</i>	Aerial parts	Anti-inflammatory, antioxidant, immunomodulatory, antibacterial, antifungal, vasodilatory (Bartolome et al., 2013); Analgesic (Fotso et al., 2014).	Aliphatics, flavonoids, terpenoids, phenylpropanoids, aromatics, porphyrins, polyynes, phenolic acids (Bartolome et al., 2013)	ICN 184322	4
<i>Chaptalia nutans</i> (L.) Polak.	arnica	Leaves	Anti-inflammatory (Badilla et al., 1999); Antimicrobial (Heinrich et al., 1992; Coelho de Souza et al., 2004).	Coumarins (Truitti; Sarragiotto, 1997).	ICN 184323	4
<i>Matricaria recutita</i> L.	camomila <i>chamomile</i>	Aerial parts	Antimicrobial, antioxidant, anti-platelet activity, anti-inflammatory (Petronilho et al., 2012).	Terpenoids (Szöke et al., 2004); Sesquiterpenes, flavonoids, coumarins, phenolic acids (Petronilho et al., 2012).	ICN 184324	4
<i>Pluchea sagittalis</i> (Lam.) Cabrera	arnica-do-campo	Leaves	Antimicrobial (Coelho de Souza et al., 2004); Anti-inflammatory, antioxidant (Pérez-Garcia et al., 1996); Antinociceptive (Figueredo et al., 2011).	Phenolic acids (Martino et al., 1979); Flavonoids (Martino et al., 1976; Figueredo et al., 2011); Sesquiterpenoids (Vera et al., 2008); Terpenoids (Figueredo et al., 2011).	ICN 184325	3

<i>Tanacetum vulgare</i> L.	catinga-de-mulata <i>tansy</i>	Leaves	Anti-inflammatory (Williams et al., 1999); Antimicrobial (Holetz et al., 2002); Anti-ulcer (Tournier et al., 1999); Antioxidant (Mantle et al., 2000); Immunomodulatory (Xie et al., 2007); Vasorelaxing (Lahlou et al., 2008).	Monoterpenes, diterpenes, sesquiterpenes, sterols (Umlauf et al., 2004); Triterpenes (Wilkomirski et al., 1992); Polyssacharides (Xie et al., 2007); Flavonoids (Williams et al., 1999).	ICN 184326	6
Adoxaceae						
<i>Sambucus australis</i> Cham. & Schtdl.	sabugueiro <i>elder</i>	Leaves/Bark	Antimicrobial, antioxidant (Nascimento et al., 2014).	Triterpenes (Rao et al., 2011); Flavonoids (Scopel et al., 2010)	ICN 184327	3
Boraginaceae						
<i>Symphytum officinale</i> L.	confrei <i>comfrey</i>	Leaves	Anti-inflammatory, analgesic, wound healing, immunomodulatory (Staiger, 2012); Antioxidant (Bošković; Mimica-Dukić, 2013).	Phenolic acids, glycopeptides, amino acids, triterpene saponins (Staiger, 2012); Polyssacharides, alkaloids, tannins, vitamins (Staiger, 2012; Frost et al., 2013; Frost et al., 2014).	ICN 184328	11
Crassulaceae						
<i>Sedum dendroideum</i> Moç. et Sessé ex DC	bálsamo <i>balsam</i>	Leaves	Anti-inflammatory, antinociceptive (de Melo et al., 2005; 2009); Anti-ulcer, antioxidant (Carrasco et al., 2014).	Flavonoids (de Melo et al., 2005; 2009; Carrasco et al., 2014); Phenolic acids, tannins (Carrasco et al., 2014); Anthocyanidins (Stevens et al., 1995).	ICN 184329	3
Malvaceae						
<i>Malva parviflora</i> L.	malva <i>cheeseweed</i>	Leaves	Anti-inflammatory (Shale et al., 2005; Bouriche et al., 2011); Antioxidant (Bouriche et al., 2011; Abbasi et al., 2015); Antibacterial (Shale et al., 2005); Antifungal (Wang; Bunkers, 2000).	Phenolics (Abbasi et al., 2015).	ICN 184330	6



Meliaceae						
<i>Melia azedarach</i> L.	Cinamomo chinaberry	Leaves	Antibacterial (Khan et al., 2001;2011); Inhibition of complement activation (Benecia et al., 1994); Antifungal (Carpinella et al., 2003; 2005); Anti-inflammatory (Lee et al., 2000); Antioxidant (Orhan et al., 2012); Immunomodulatory (Courrèges et al., 1998); Skin disease (Saleem et al., 2008).	Lignans, phenolic aldehydes, coumarins (Carpinella et al., 2003b;2005); Terpenes (Huang et al., 1996); Phenolic acids (Orhan et al., 2012).	ICN 184331	3
Nyctaginaceae						
<i>Mirabilis jalapa</i> L.	boa-noite four-o'clock	Leaves	Antibacterial (Kusamba et al., 1991; Hajji et al., 2010); Anti-inflammatory, Antinociceptive (Chakraborty et al., 2012; Walker et al., 2008); Antioxidant, free radical-scavenging, antifungal (Hajji et al., 2010); Wound-healing (Gogoi et al., 2014)	Terpenoids, steroids (Siddiqui et al., 1994); Phenolic acids, flavonoids (Hajji et al., 2010).	ICN 184332	3
Piperaceae						
<i>Piper regnellii</i> DC	pariparoba	Leaves	Antifungal (Koroishi et al., 2008); Antimicrobial (Holetz et al., 2002; Costantin et al., 2001).	Neolignans (Pessini et al., 2003); Phenylpropanoids, monoterpenes, sesquiterpenes (Santos et al., 2015).	ICN 184333	3
Plantaginaceae						
<i>Plantago australis</i> Lam.	tansagem	Leaves	Anti-inflammatory, analgesic (Palmeiro et al., 2002); Antioxidant (Nemitz et al., 2010).	Phenolic acids, flavonoids (Nemitz et al., 2010).	ICN 184334	6



## REFERÊNCIAS DA TABELA

ABBASI, A.M.; SHAH, M.H.; LI, T.; FU, X.; GUO, X.; LIU, R.H. Ethnomedicinal values, phenolic contents and antioxidant properties of wild culinary vegetables. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 162, p. 333-345, 2015.

BADILLA, B.; MORA, G.; POVEDA, L.J. Anti-inflammatory activity of aqueous extracts of five Costa Rican medicinal plants in Sprague-Dawley rats. **Revista de Biología Tropical**, v. 47, p. 723-727, 1999.

BARTOLOME, A.P.; VILLASEÑOR, I.M.; YANG, W.-C. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): botanical properties, tradicional uses, phytochemistry, and pharmacology. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Article ID 340215, 51pages, 2013.

BOŠKOVIĆ, S.; MIMICA-DUKIĆ, N. Antioxidant activity of different extracts of marigold, comfrey and yarrow. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 22, p. 1731-1735, 2013.

BOURICHE, H.; MEZITI, H.; SENATOR, A.; ARNHOLD, J. Anti-inflammatory, free radical-scavenging, and metal-chelating activities of *Malva parviflora*. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, p. 942-946, 2011.

CARPINELLA, M.C.; FERRAYOLI, C.G.; PALACIOS, S.M. Antifungal synergistic effect of scopoletin, a hydroxycoumarin isolated from *Melia azedarach* L. Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2922-2927, 2005.

CARPINELLA, M.C.; GIORDA, L.M.; FERRAYOLI, C.G.; PALACIOS, S.M. Antifungal effects of different organic extracts from *Melia azedarach* L. on phytopathogenic fungi and their isolated active components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2506-2511, 2003.

CARRASCO, V.; PINTO, L.A.; CORDEIRO, K.W.; CARDOSO, C.A.L.; FREITAS, K.C. Antiulcer activities of the hydroethanolic extract of *Sedum dendroideum* Moc et Sessé ex DC. (balsam). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 158, p. 345-351, 2014.

CASERO, C.; MACHÍN, F.; MÉNDEZ-ÁLVAREZ, S.; DEMO, M.; RAVELO, A.G.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, N.; JOSEPH-NATHAN, P.; ESTÉVEZ-BRAUN, A. Structure

and antimicrobial activity of phloroglucinol derivatives from *Achyrocline satureioides*. **Journal of Natural Products**, v. 78, p. 93-102, 2015.

CHAKRABORTHY, G.S.; SINGH, V.; KUMAR, L.; BHADGUJAR, R. Antiinflammatory and antinociceptive activity of hydroalcoholic extract of *Mirabilis jalapa* and *Mirabilis japonica*. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 12, p. 177-180, 2012.

COELHO DE SOUZA, G.; HASS, A.P.S.; VON POSER, G.L.; SCHAPOVAL, E.E.S.; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, p. 135-143, 2004.

COSTANTIN, M.B.; SARTORELLI, P.; LIMBERGER, R.; HENRIQUES, A.T.; STEPPE, M.; FERREIRA, M.J.P.; OHARA, M.T.; EMERENCIANO, V.P.; KATO, M.J. Essential oils from *Piper cernuum* and *Piper regnelli*: Antimicrobial activities and analysis by GC/MS and <sup>13</sup>C-NMR. **Planta Medica**, v. 67, p. 771-773, 2001.

COURRÈGES, M.C.; BENENCIA, F.; COULOMBIÉ, F.C.; COTO, C.E. In vitro and in vivo activities of *Melia azedarach* L. aqueous leaf extracts on murine lymphocytes. **Phytomedicine**, v. 5, p. 47-53, 1998.

DE MELO, G. O.; MALVAR, D.C.; VANDERLINDE, F.A.; PIRES, P.A.; CÔRTEZ, W.S.; GERMANO FILHO, P.; MUZITANO, M.F.; KAISER, C.R.; COSTA, S.S. Phytochemical and pharmacological study of *Sedum dendroideum* leaf juice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 217-220, 2005.

DE MELO, G.O.; MALVAR, D.C.; VANDERLINDE, F.A.; ROCHA, F.F.; PIRES, P.A.; COSTA, E.A.; MATOS, L.G.; KAISER, C.R.; COSTA, S.S. Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 124, p. 228-232, 2009.

FIGUEREDO, S.M.; NASCIMENTO, F.P.; FREITAS, C.S.; BAGGIO, C.H.; SOLDI, C.; PIZZOLATTI, M.G.; IBARROLA, M.C.C.; ARRUA, R.L.D.; SANTOS, A.R.S. Antinociceptive and gastroprotective actions of ethanolic extract from *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, p. 603-609, 2011.

FOTSO, A.F.; LONGO, F.; DJOMENI, P.D.D.; KOUAM, S.F.; SPITELLER, M.; DONGMO, A.B.; SAVINEAU, J.P. Analgesic and antiinflammatory activities of the

ethyl acetate fraction of *Bidens pilosa* (Asteraceae). **Inflammopharmacology**, v. 22, p. 105-114, 2014.

FROST, R.; MACPHERSON, H.; O'MEARA, S. A critical scoping review of external uses of comfrey (*Symphytum* spp). **Complementary Therapies in Medicine**, v. 21, p. 724-745, 2013.

FROST, R.; O'MEARA, S.; MACPHERSON, H. The external use of comfrey: A practitioner survey. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 20, p. 347-355, 2014.

GOGOI, J.; NAKHURU, K.S.; CHATTOPHADHAYAY, P.; RAI, A.K.; GOGOI, H.K.; VEER, V. In vivo evaluation of cutaneous wound healing activity of *Mirabilis jalapa* L. radix. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 14, p. 103-109, 2014.

HAJJI, M.; JARRAYA, R.; LASSOUED, I.; MASMOUDI, O.; DAMAK, M.; NASRI, M. GC/MS and LC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts from *Mirabilis jalapa* tubers. **Process Biochemistry**, v. 45, p. 1486-1493, 2010.

HEINRICH, M.; KUHN, M.; WRIGHT, C.W.; RIMPLER, H.; PHILLIPSON, J.D.; SCHANDELMAIER, A.; WARHURST, D.C. Parasitological and microbiological evaluation of mixed Indian medicinal plants (Mexico). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 36, p. 81-85, 1992.

HOLETZ, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P. Screening of some plants used in Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 1027-1031, 2002.

HUANG, R.C.; TADERA, K.; YAGI, F.; MINAMI, Y.; OKAMURA, H.; IWAGAWA, T.; NAKATANI, M. Limonoids from *Melia azedarach*. **Phytochemistry**, v. 43, p. 581-583, 1996.

KOROISHI, A.M.; FOSS, S.R.; CORTEZ, D.A.G.; UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P. In vitro antifungal activity of extracts and

neolignans from *Piper regnelli* against dermatophytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, p. 270-277, 2008.

KUSAMBA, C.; BYAMANA, K.; MBUYI, W.M. Antibacterial activity of *Mirabilis jalapa* seed powder. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 35, p. 197-199, 1991.

LAHLOU, S.; TANGI, K.C.; LYOUSSI, B.; MOREL, N. Vascular effects of *Tanacetum vulgare* L. leaf extract: *In vitro* pharmacological study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 98-102, 2008.

MANTLE, D.; EDDEB, F.; PICKERING, A.T. Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 47-51, 2000.

MARTINO, V.S.; DEBENEDETTI, S.L.; COUSSIO, J.D. Caffeoylquinic acids from *Pterocaulon virgatum* and *Pluchea sagittalis*. *Phytochemistry*, v. 18, p. 2052, 1979.

MARTINO, V.S.; FERRARO, G.E.; COUSSIO, J.D. A new flavonoid from *Pluchea sagittalis*. **Phytochemistry**, v. 15, p. 1086-1087, 1976.

NASCIMENTO, P.G.G.; LEMOS, T.L.G.; BIZERRA, A.M.C.; ARRIAGA, A.M.C.; FERREIRA, D.A.; SANTIAGO, G.M.P.; BRAZ-FILHO, R.; COSTA, J.G.M. Antibacterial and antioxidant activities of ursolic acid and derivatives. **Molecules**, v. 19, p. 1317-1327, 2014.

NEMITZ, M.C.; BANDERÓ FILHO, V.; ZANETTI, G.D.; ZANOTTO, C.Z.; MANFRON, M.P. Phenolic compounds and antioxidant activity of the leaves of *Plantago australis* L. (Plantaginaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, p. 1082-1087, 2010.

ORHAN, I.E.; GUNER, E.; OZTURK, N.; SENOL, F.S.; ERDEM, S.A.; KARTAL, M.; SENER, B. Enzyme inhibitory and antioxidant activity of *Melia azedarach* L. naturalized in Anatolia and its phenolic acid and fatty acid composition. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 213-218, 2012.

PALMEIRO, N.S.; ALMEIDA, C.E.; GHEDINI, P.C.; GOULART, L.S.; BALDISSEROTTO, B. Analgesic and anti-inflammatory properties of *Plantago australis* hydroalcoholic extract. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 21, p. 89-92, 2002.

PÉREZ-GARCIA, F.; MARÍN, E.; CAÑIGUERAL, S.; ADZET, T. Anti-inflammatory action of *Pluchea sagittalis*: Involvement of an antioxidant mechanism. **Life Sciences**, v. 59, p. 2033-2040, 1996.

PESSINI, G.L.; DIAS FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V.; CORTEZ, D.A.G. Antibacterial activity of extracts and neolignans from *Piper regnelli* (Miq.) C. DC. var *pallescens*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 1115-1120, 2003.

PETRONILHO, S.; MARASCHIN, M.; COIMBRA, M.A.; ROCHA, S.M. *In vitro* and *in vivo* studies of natural products: A challenge for their valuation. The case study of chamomile (*Matricaria recutita* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 40, p. 1-12, 2012.

RAO, V.S.; DE MELO, C.L.; QUEIROZ, M.G.; LEMOS, T.L.; MENEZES, D.B.; MELO, T.S.; SANTOS, F.A. Ursolic acid, a pentacyclic triterpene from *Sambucus australis*, prevents abdominal adiposity in mice fed a high-fat diet. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, p. 1375-1382, 2011.

RETTA, D.; DELLACASSA, E.; VILLAMIL, J.; SUÁREZ, S.A.; BANDONI, A.L. Marcela, a promising medicinal and aromatic plant from Latin America: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 38, p. 27-38, 2012.

SALEEM, R.; RANI, R.; AHMED, M.; SADAF, F.; AHMAD, S.I.; UL ZAFAR, N.; KHAN, S.S.; SIDDIQUI, B.S.; LUBNA, A.F.; KHAN, S.A.; FAIZI, S. Effect of cream containing *Melia azedarach* flowers on skin diseases in children. **Phytomedicine**, v. 15, p. 231-236, 2008.

SANTOS, A.L DOS.; POLIDORO, A. DOS S.; SCHNEIDER, J.K.; CUNHA, M.E DA.; SAUCIER, C.; JACQUES, R.A.; CARDOSO, C.A.L.; MOTA, J.M.; CARAMÃO, E.B. Comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry (GCxGC/TOFMS) for the analysis of volatile compounds in *Piper regnelli* (Miq.) C. DC. essential oils. **Microchemical Journal**, v. 118, p. 242-251, 2015.

SCOPEL, M.; MENTZ, L.A.; HENRIQUES, A.T. Comparative analysis of *Sambucus nigra* and *Sambucus australis* flowers: development and validation of an HPLC method

for raw material quantification and preliminary stability study. **Planta Medica**, v. 76, p. 1026-1031, 2010.

SHALE, T.L.; STIRK, W.A.; VAN STADEN, J. Variation in antibacterial and anti-inflammatory activity of different growth forms of *Malva parviflora* and evidence for synergism of the anti-inflammatory compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, p. 325-330, 2005.

SIDDIQUI, B.S.; ADIL, Q.; BEGUM, S.; SIDDIQUI S. Terpenoids and steroids of the aerial parts of *Mirabilis jalapa* Linn. **Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 37, p. 108–110, 1994.

STAIGER, C. Comfrey: A Clinical Overview. **Phytoterapy Research**, v. 26, p. 1441-1448, 2012.

STEVENS, J.F.; HART, H.T.; VAN HAM, R.C.H.J.; ELEMA, E.T.; VAN DEN ENT, M.M.V.X.; WILDEBOER, M.; ZWAVING, J.H. Distribution of alkaloids and tannins on the Crassulaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 23, p. 157-165, 1995.

SZŐKE, É.; MÁDAY, E.; TYIHÁK, E.; KUZOVKINA, I. N.; LEMBERKOVICS, É. New terpenoids in cultivated and wild chamomile (in vivo and in vitro). **Journal of Chromatography B**, v. 800, p. 231-238, 2004.

TOURNIER, H.; SCHINELLA, G.; DE BALSÀ, E.M.; BUSCHIAZZO, H.; MAÑEZ, S.; DE BUSCHIAZZO, P.M. Effect of the chloroform extract of *Tanacetum vulgare* and one of its active principles, parthenolide, on experimental gastric ulcer in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, p. 215-219, 1999.

TRUITTI, M. DA C.T.; SARRAGIOTTO, M.H. Three 5-methylcoumarins from *Chaptalia nutans*. **Phytochemistry**, v. 47, p. 97-99, 1997.

UMLAUF, D.; ZAPP, J.; BECKER, H.; ADAM, K.P. Biosynthesis of irregular monoterpenes artemisia ketone, the sesquiterpene germacrene D and other isoprenoids in *Tanacetum vulgare* L. (Asteraceae). **Phytochemistry**, v. 65, p. 2463-2470, 2004.

VERA, N.; MISICO, R.; SIERRA, M.G.; ASAKAWA, Y.; BARDÓN, A. Eudesmanes from *Pluchea sagittalis*. Their antifeedant activity on *Spodoptera frugiperda*. **Phytochemistry**, v. 69, p. 1689-1694, 2008.



WALKER, C.I.B.; TREVISAN, G.; ROSSATO, M.F.; FRANCISCATO, C.; PEREIRA, M.E.; FERREIRA, J.; MANFRON, M.P. Antinociceptive activity of *Mirabilis jalapa* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 169-175, 2008.

WANG, X.; BUNKERS, G.J. Potent heterologous antifungal proteins from Cheeseweed (*Malva parviflora*). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 279, p. 669-673, 2000.

WILKOMIRSKI, B.; KUCHARSKA, E. Triterpene chemotypes of some polish populations of *Tanacetum vulgare*. **Phytochemistry**, v. 31, p. 3915-3916, 1992.

WILLIAMS, C.A.; HARBORNE, J.B.; EAGLES, J. Variations in lipophilic and polar flavonoids in the genus *Tanacetum*. **Phytochemistry**, v. 52, p. 1301-1306, 1999.

XIE, G.; SCHEPETKIN, I.A.; QUINN, M.T. Immunomodulatory activity of acidic polysaccharides isolated from *Tanacetum vulgare* L. **International Immunopharmacology**, v. 7, p. 1639-1650, 2007.

**Table 2:** Cell viability of HaCaT keratinocytes after 24h treatment with aqueous and ethanolic extracts (MTT assay). Data with standard deviation (SD) are from three independent assays performed in 5 replicates. Negative control: untreated cells. \*  $p < 0.001$  compared to the negative control.

Plant species		1 $\mu\text{g/mL}$	5 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$
<i>Achyrocline satureioides</i>	EtOH	120 $\pm$ 7%*	115 $\pm$ 2%*	118 $\pm$ 5%*	114 $\pm$ 2%*	112 $\pm$ 4%*
	H <sub>2</sub> O	112 $\pm$ 5%	114 $\pm$ 8%*	121 $\pm$ 5%*	116 $\pm$ 3%*	124 $\pm$ 2%*
<i>Bidens pilosa</i>	EtOH	88 $\pm$ 2%	95 $\pm$ 5%	92 $\pm$ 6%	80 $\pm$ 7%	81 $\pm$ 4%
	H <sub>2</sub> O	104 $\pm$ 6%	102 $\pm$ 5%	99 $\pm$ 7%	103 $\pm$ 7%	100 $\pm$ 7%
<i>Chaptalia nutans</i>	EtOH	97 $\pm$ 7%	90 $\pm$ 5%	88 $\pm$ 6%	80 $\pm$ 6%	85 $\pm$ 5%
	H <sub>2</sub> O	108 $\pm$ 2%	107 $\pm$ 5%	106 $\pm$ 5%	111 $\pm$ 2%	116 $\pm$ 7%*
<i>Malva parviflora</i>	EtOH	98 $\pm$ 3%	97 $\pm$ 2%	96 $\pm$ 6%	99 $\pm$ 1%	98 $\pm$ 2%
	H <sub>2</sub> O	97 $\pm$ 3%	99 $\pm$ 0%	104 $\pm$ 2%	108 $\pm$ 5%	111 $\pm$ 3%
<i>Matricaria recutita</i>	EtOH	94 $\pm$ 5%	106 $\pm$ 4%	105 $\pm$ 4%	107 $\pm$ 7%	112 $\pm$ 7%
	H <sub>2</sub> O	107 $\pm$ 3%	108 $\pm$ 6%	106 $\pm$ 2%	119 $\pm$ 7%*	121 $\pm$ 4%*
<i>Melia azedarach</i>	EtOH	110 $\pm$ 6%	112 $\pm$ 5%	106 $\pm$ 6%	112 $\pm$ 6%	115 $\pm$ 5%
	H <sub>2</sub> O	96 $\pm$ 5%	99 $\pm$ 5%	98 $\pm$ 5%	123 $\pm$ 2%*	117 $\pm$ 4%*
<i>Mirabilis jalapa</i>	EtOH	99 $\pm$ 3%	104 $\pm$ 6%	104 $\pm$ 7%	112 $\pm$ 6%	113 $\pm$ 4%
	H <sub>2</sub> O	112 $\pm$ 6%	104 $\pm$ 4%	107 $\pm$ 1%	122 $\pm$ 7%*	128 $\pm$ 7%*
<i>Piper regnellii</i>	EtOH	105 $\pm$ 2%	99 $\pm$ 7%	99 $\pm$ 5%	104 $\pm$ 6%	98 $\pm$ 1%
	H <sub>2</sub> O	103 $\pm$ 5%	106 $\pm$ 4%	104 $\pm$ 1%	108 $\pm$ 4%	110 $\pm$ 5%
<i>Plantago australis</i>	EtOH	98 $\pm$ 7%	104 $\pm$ 2%	109 $\pm$ 5%	103 $\pm$ 6%	92 $\pm$ 5%
	H <sub>2</sub> O	99 $\pm$ 3%	99 $\pm$ 4%	99 $\pm$ 6%	105 $\pm$ 6%	100 $\pm$ 4%
<i>Pluchea sagittalis</i>	EtOH	97 $\pm$ 5%	97 $\pm$ 5%	95 $\pm$ 5%	84 $\pm$ 4%*	74 $\pm$ 7%*
	H <sub>2</sub> O	96 $\pm$ 5%	97 $\pm$ 2%	100 $\pm$ 4%	104 $\pm$ 4%	101 $\pm$ 6%
<i>Sambucus australis</i>	EtOH	103 $\pm$ 6%	93 $\pm$ 5%	98 $\pm$ 5%	94 $\pm$ 6%	96 $\pm$ 3%
	H <sub>2</sub> O	101 $\pm$ 2%	109 $\pm$ 4%	106 $\pm$ 4%	102 $\pm$ 4%	101 $\pm$ 3%
<i>Sedum dendroideum</i>	EtOH	100 $\pm$ 5%	96 $\pm$ 6%	94 $\pm$ 5%	96 $\pm$ 4%	89 $\pm$ 5%*
	H <sub>2</sub> O	101 $\pm$ 4%	98 $\pm$ 5%	96 $\pm$ 4%	100 $\pm$ 6%	100 $\pm$ 7%
<i>Symphytum officinale</i>	EtOH	110 $\pm$ 0%	102 $\pm$ 3%	101 $\pm$ 5%	95 $\pm$ 5%	89 $\pm$ 5%*
	H <sub>2</sub> O	105 $\pm$ 2%	105 $\pm$ 3%	103 $\pm$ 2%	104 $\pm$ 6%	99 $\pm$ 7%
<i>Tanacetum vulgare</i>	EtOH	105 $\pm$ 4%	107 $\pm$ 5%	115 $\pm$ 3%	92 $\pm$ 5%	66 $\pm$ 7%*
	H <sub>2</sub> O	99 $\pm$ 6%	105 $\pm$ 6%	101 $\pm$ 3%	105 $\pm$ 5%	108 $\pm$ 2%