

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

Efeito hepatoprotetor dos extratos aquoso e alcoólico da marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) em modelo experimental *in vitro*

CAROLINA ANTUNES

PORTO ALEGRE - RS

2022

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

Efeito hepatoprotetor dos extratos aquoso e alcoólico da marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) em modelo experimental *in vitro*

Dissertação apresentada por
Carolina Antunes para obtenção do
grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Luis Konrath

Co-Orientador: Prof. Dr. Marcelo Dutra Arbo

PORTO ALEGRE - RS

2022

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 29 de agosto de 2022, pela Banca Examinadora constituída por:

Profª Drª Mara Rejane Ritter
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profª Drª Miriam Anders Apel
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profª Drª Mirna Bairy Leal
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

FICHA CATALOGRÁFICA

Antunes, Carolina
Efeito hepatoprotetor dos extratos aquoso e
alcoólico da marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.)
DC.) em modelo experimental in vitro / Carolina
Antunes. -- 2022.
103 f.
Orientador: Eduardo Luis Konrath.

Coorientador: Marcelo Dutra Arbo.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre,
BR-RS, 2022.

1. Doenças Hepáticas e Hepatotoxicidade. 2. Plantas
Medicinais Nativas. 3. Plantas Hepatoprotetoras. 4.
Achyrocline satureioides. I. Konrath, Eduardo Luis,
orient. II. Dutra Arbo, Marcelo, coorient. III.
Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por minha vida e minha saúde, nunca estive sozinha, por ter colocado em meu caminho pessoas maravilhosas.

A UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao PPGCF - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela possibilidade de execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Luis Konrath, por ter me aceito em seu grupo de pesquisa, pela orientação, pelos seus ensinamentos repassados, pelas oportunidades, por incentivar à pesquisa científica aos seus alunos. Gratidão por ter trabalhado junto durante os anos de mestrado.

Ao Prof. Dr. Marcelo Dutra Arbo, pela co-orientação, pela oportunidade de trabalhar em seu Laboratório de Toxicologia, pelos ensinamentos relacionados à toxicologia e pelo incentivo.

Aos colegas dos Laboratórios de Farmacognosia e Toxicologia da UFRGS, especialmente ao Renan Stein, pela parceria e troca de aprendizados na área da farmacognosia; e à Yasmin Piton, pela paciência, por toda ajuda e todos ensinamentos sobre as culturas celulares.

A minha eterna companheira Cleusa Silveira, que sempre esteve comigo em todos os momentos, apoiando-me em qualquer situação de derrotas ou vitórias, sempre me lembrando que eu iria conseguir vencer qualquer etapa deste trabalho e qualquer etapa da vida. Minha profunda gratidão, por estar sempre ao meu lado. Também aos nossos filhos de quatro patas, que sempre estiveram comigo dando apoio a cada miado e ao amor. A minha mãe Cristina Jorge dos Santos por sempre acreditar em mim e por toda sua fé. A minha mãe Maria Luiza e ao meu pai Antonio Ben Hur Antunes Junior por acreditarem e me apoiarem. Aos meus irmãos Júlia Antunes e Pedro Antunes, pelas descontrações, pelas risadas e parceria.

Ao meu grande amigo e colega Luis Henrique Silveira do Nascimento, a Daiane Moraes que sempre me ajudaram com apoio emocional, também pelos momentos de descontração.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, minha eterna gratidão!

RESUMO

As doenças hepáticas têm sido uma das preocupações e um desafio para a saúde pública. Apesar dos avanços da medicina moderna, a busca por alternativas terapêuticas têm aumentado, devido a fatores como, por exemplo, efeitos adversos a longo prazo do tratamento de patologias hepáticas. Diante disso, os produtos naturais se tornam uma alternativa terapêutica para tratamento de diversos distúrbios, inclusive hepáticos. *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Marcela) é uma planta nativa do Brasil e muito utilizada na medicina popular, sendo suas partes empregadas com várias finalidades terapêuticas, tais como analgésica, antioxidante, anti-inflamatória entre outras. O objetivo deste estudo foi buscar evidências de tradicionalidade do uso de plantas medicinais hepatoprotetoras nativas do Brasil e avaliar o efeito hepatoprotetor, em modelo *in vitro*, de *A. satureioides* contra danos induzidos por paracetamol. Em uma primeira parte deste estudo, foi feita uma revisão das espécies das plantas brasileiras utilizadas como agentes hepatoprotetores, citadas em 25 livros de diferentes regiões do país. Baseado nas 153 espécies encontradas no levantamento realizado na primeira parte deste estudo, foi realizada uma análise abrangente com estudos científicos mais relevantes entre as plantas utilizadas no uso tradicional, dentre elas *A. satureioides*. Em uma segunda parte, foi realizada experimentalmente a avaliação do efeito hepatoprotetor e citotóxico de *A. satureioides* em células HepG2 contra danos induzidos por paracetamol. Foram utilizadas as inflorescências de *A. satureioides* para o preparo dos extratos aquoso e etanólico para avaliar a toxicidade e o efeito protetor de ambos, nas concentrações de 6,25 a 100 µg/mL. A citotoxicidade foi avaliada pela redução do MTT e incorporação do corante vermelho neutro (VN). A atividade hepatoprotetora foi avaliada em células HepG2 após a incubação com paracetamol. Não houve alteração significativa na viabilidade celular nas diferentes concentrações testadas para os extratos aquosos de *A. satureioides*. Quanto ao extrato etanólico, não foi observada redução significativa na viabilidade celular no teste de redução do MTT. No entanto, no teste de VN observamos uma leve citotoxicidade em concentrações a partir de 12,5 µg/mL. Para a análise de hepatoproteção, os extratos foram co-incubados com 100 µg de paracetamol por 3h. Observamos que ambos os extratos de *A. satureioides* co-incubados com paracetamol protegem eficientemente as células da morte em todas as concentrações testadas e em ambos os ensaios. Da mesma forma, a silimarina (usada como controle positivo) também protegeu as células da morte. Os resultados contribuem para um possível uso seguro da planta, mas há a necessidade de realizar outros testes para validação do uso.

Palavras chave: Doenças hepáticas; plantas medicinais; uso tradicional; hepatoproteção

ABSTRACT

Hepatoprotective effect of aqueous and alcoholic extracts of marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) in an *in vitro* experimental model

Liver diseases have been one of the concerns and a challenge for public health. Despite advances in modern medicine, the search for therapeutic alternatives has increased, due to factors such as long-term adverse effects of the treatment of liver diseases. In view of this, natural products become a therapeutic alternative for the treatment of various disorders, including liver disorders. *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Marcela) is a plant native to Brazil and widely used in folk medicine, and its parts are used for various therapeutic purposes, such as analgesic, antioxidant, anti-inflammatory, among others. The objective of this study was to seek evidence of the traditional use of hepatoprotective medicinal plants native to Brazil and to evaluate the hepatoprotective effect, by *in vitro* model, of *A. satureioides* against paracetamol-induced damage. In the first part of this study, a review of the plant species used as hepatoprotective agents, cited in 25 books from different regions of the country, was carried out. Based on the 153 species studied, elaborated in the study carried out in the first part, a comprehensive analysis was carried out with the most relevant scientific studies among the plants used in the traditional use by them *A. satureioides*. In a second part, an evaluation of the hepatoprotective and cytotoxic effect of *A. satureioides* on HepG2 cells against paracetamol-induced damage was carried out experimentally. *A. satureioides* inflorescences were used for the preparation of aqueous and ethanolic extracts to evaluate the toxicity and protective effect of both, at concentrations of 6.25 to 100 µg/mL. Cytotoxicity was assessed by MTT reduction and neutral red dye (NR) incorporation. Hepatoprotective activity was evaluated in HepG2 cells after incubation with paracetamol. There was no significant change in cell viability at different concentrations tested for aqueous extracts of *A. satureioides*. As for the ethanol extract, no significant reduction in cell viability was observed in the MTT reduction test. However, in the VN test, we observed a slight cytotoxicity at concentrations from 12.5 µg/mL. For the analysis of hepatoprotection, the extracts were co-incubated with 100 µg of paracetamol for 3h. We observed that both *A. satureioides* extracts co-incubated with paracetamol efficiently protected cells from death at all concentrations tested and in both assays. Likewise, silymarin (used as a positive control) also protected the cells from death. The plant results contribute to a possible use, but there is a need to carry out tests to validate the use.

Key words: Liver diseases; medicinal plants; traditional use; hepatoprotection

SUMÁRIO

1. Introdução	11
1.1 Revisão Bibliográfica	15
1.1.1. Hepatotoxicidade e doenças hepáticas	15
1.1.2 Políticas públicas em Plantas Medicinais e Fitoterápicos	18
1.1.3 Mercado farmacêutico brasileiro de produtos fitoterápicos	20
1.1.4 Plantas hepatoprotetoras	21
1.1.5 <i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. (Asteraceae)	23
2. Objetivos	27
2.1 Objetivo Geral	27
2.2 Objetivos específicos	27
3. Resultados	29
3.1.	29
3.2.	64
4. Discussão Geral	83
4.1 Plantas hepatoprotetoras nativas do Brasil	84
4.2 <i>Achyrocline satureioides</i>	86
5. Conclusão e Perspectivas	89
6. Referências	91

1. Introdução

O fígado é o órgão metabolicamente mais complexo do organismo humano, representando entre 2,5 a 4,5% da massa corporal total, com um peso entre 1300g a 1700g, dependendo do sexo e do peso corporal, sendo considerado o maior órgão interno do corpo humano e também um dos mais importantes, visto que apresenta funções multibiológicas no metabolismo de proteínas, lipídeos e carboidratos (LEE et al., 2007; GUYTON; HALL, 2017; ARIAS et al., 2020). Além disso, o fígado desempenha uma importante função de desintoxicação e excreção de compostos endógenos e exógenos, qualquer lesão ou comprometimento de suas funções pode levar a implicações para a saúde (SUBRAMANIAM et al., 2015).

Disfunções hepáticas podem resultar de uma grande variedade de lesões, incluindo infecções, isquemia, autoimunidade e hepatites induzidas por fármacos ou toxinas. Doenças hepáticas agudas ou crônicas se tornam um desafio para a saúde pública, apesar dos avanços da medicina, ainda não existem fármacos eficazes que estimulem a função hepática e ofereçam proteção completa ao fígado, ou que ajudem na regeneração das células hepáticas (MADRIGAL-SANTILLÁN et al., 2014; ZÁRYBNICKÝ et al., 2018).

Os principais achados histopatológicos nas lesões hepáticas incluem processo inflamatório difuso, comprometimento panlobular, celularidade aumentada e necroses focais disseminadas no parênquima hepático, que podem ser causadas por vírus como a hepatite viral A, B ou C. Além disso, algumas condições clínicas caracterizadas por lesões hepáticas podem ser provocadas por agentes químicos, como pelo uso abusivo de medicamentos (PORTO, 2007; SINGH et al., 2011). As doenças hepáticas crônicas são quase sempre oriundas do aumento do estresse oxidativo, independente da causa do distúrbio do fígado. Sendo assim, o estado redox influencia o curso das alterações hepáticas, inflamatórias, metabólicas e proliferativas (CICHOŹ-LACH; MICHALAK, 2014). Portanto, é necessário identificar alternativas farmacêuticas para o tratamento de doenças hepáticas a fim de que sejam alternativas mais eficazes e menos tóxicas.

A busca por produtos naturais para tratar, prevenir ou curar doenças é uma prática que vem desde os primórdios da humanidade, a fim de garantir sua

sobrevivência ou melhoria de sua saúde. Assim, a utilização tanto de plantas medicinais quanto de extratos e seus princípios ativos isolados é uma prática intrínseca à história humana (BRASIL, 2006a; ZARDETO-SABEC et al., 2019). Conforme a RDC nº14 de 14/03/2013 que dispõe sobre as boas práticas de fabricação de insumos farmacêuticos ativos de origem vegetal, a ANVISA define como planta medicinal qualquer espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos (BRASIL, 2013).

As plantas medicinais, que podem ser consideradas uma das práticas terapêuticas mais antigas, vêm contribuindo para o desenvolvimento da ciência em busca de conhecimentos e avanços científicos na área dos produtos naturais. A Organização Mundial de Saúde (OMS), desde 2002, reconhece as plantas medicinais como importantes recursos terapêuticos, desde que sejam avaliadas quanto à segurança e efetividade (WHO, 2011). Os registros e a seleção das espécies vegetais se baseiam no conhecimento popular, essas informações extraídas de referências bibliográficas, como documentos que retratam o longo histórico de uso de uma determinada planta, devem ser consideradas como fontes de pesquisa, uma abordagem que contribui para a síntese de novos produtos farmacêuticos (DA ROCHA et al., 2021).

A utilização de vegetais em preparações farmacêuticas (extratos, pomadas, tinturas e cápsulas) para prática terapêutica é conhecida como fitoterapia, nas quais as plantas podem originar medicamentos fitoterápicos após uma série de processos industriais, a fim de chegarem ao mercado farmacêutico. O uso da fitoterapia além de aumentar os recursos terapêuticos, incentiva o desenvolvimento social e ambiental (ANTONIO et al., 2014; de FIGUEREDO et al., 2014). A prática do uso da fitoterapia tem se impulsionado nos últimos anos, e o mercado mundial de fitoterápicos, atualmente, fatura em torno de aproximadamente 22 bilhões de dólares. Em contrapartida, o mercado mundial de medicamentos químicos cresce 4% ao ano, enquanto que o mercado fitoterápico cresce até 15% ao ano. Acredita-se que, atualmente, 25% de todas as prescrições mundiais são de fitoterápicos (ZARDETO-SABEC et al., 2019).

Desde 2004, o Brasil começou a avaliar medicamentos fitoterápicos de acordo com os mesmos padrões de segurança e qualidade exigidos pela

Organização Mundial de Saúde (NETO et al., 2020). No entanto, mesmo com as iniciativas do Ministério da Saúde através da implementação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (BRASIL, 2006), ainda é pouco explorado o potencial uso sustentável da biodiversidade brasileira para a produção de fitoterápicos, apesar de que as plantas medicinais e seus derivados serem utilizados há tanto tempo pela população nos cuidados primários à saúde (FRANÇA; VASCONCELLOS, 2018).

Pesquisas que utilizam diferentes métodos avaliativos e fontes de evidência (históricas, tradicionais e científicas) são importantes a fim de possibilitar a ampliação do uso tradicional de produtos naturais e no desenvolvimento desses produtos terapêuticos, visto que é necessário cautela para o uso da terapia com plantas medicinais, uma vez que o produto natural não significa necessariamente que seja livre de efeitos colaterais (ATANASOV et al., 2015). O Brasil é considerado como um dos países que possui uma das maiores biodiversidades do mundo entre flora e fauna. De acordo com estimativas recentes de Abranches (2020), as espécies de animais e vegetais conhecidos no país representam 15% a 20% da diversidade biológica global. O Brasil não se destaca somente por sua flora megadiversa, mas sim por possuir um grande potencial farmacológico, consequência direta dessa biodiversidade, que estão distribuídas em seis macro biomas: Amazônia, Cerrado, Caatinga, Pampa, Pantanal e Mata Atlântica (IBGE, 2013). Dentre os componentes da biodiversidade brasileira estão inseridas as plantas medicinais, apresentando aproximadamente 56 mil espécies, o que equivale a 19% da flora mundial (DA ROCHA et al., 2021).

Compostos isolados de plantas, como flavonoides e terpenoides, têm recebido considerável atenção nos últimos anos, devido às suas propriedades farmacológicas, incluindo atividade hepatoprotetora e antioxidante (ALI et al., 2019). Apesar disso, o potencial do uso de plantas como fontes de novos medicamentos ainda é pouco explorado. Apenas 8% das espécies vegetais têm sido investigadas quanto aos seus aspectos fitoquímicos e farmacológicos, nas quais muitas vezes há apenas estudos preliminares, e em sua maioria pré-clínicos. Adicionalmente, para a grande maioria das espécies nativas do país, faltam estudos clínicos, farmacocinéticos e aqueles relacionados ao mecanismo de ação, associados a

testes com produtos isolados (BRASIL, 2012; DUTRA et al., 2016; REGÔ et al., 2021).

Algumas espécies apresentam evidências dos possíveis potenciais efeitos hepatoprotetores relacionados com a indicação popular de uso, como a *Cynara scolymus* L. (alcachofra) e a *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (cardo mariano) (MILAGRES et al., 2020), assim como as espécies *Phyllanthus niruri* L. e *Panus giganteus* (Berk.) Corner, ambas utilizadas para tratamentos de doenças hepáticas (VARGAS-MENDOZA et al., 2014). Estudos documentaram que *S. marianum* com suas propriedades antioxidantes e outras propriedades associadas, é um agente hepatoprotetor único. A silimarina, que é o principal componente dessa espécie, é altamente hepatoprotetora e tem sido usada para tratamentos de desordens hepáticas (JAYARAJ et al., 2007; BAHMANI et al., 2015).

Um estudo avaliou a composição química e as atividades hepatoprotetora e analgésica *in vivo* do extrato de folhas de *Solanum paniculatum* L. Quimicamente, foi identificada a presença de flavonóides destacando-se quercetina, rutina e compostos fenólicos. O extrato foi capaz de produzir efeitos protetores hepáticos contra a toxicidade induzida por paracetamol em camundongos, bem como efeitos antinociceptivos nos testes realizados. Este estudo sugere que o extrato de *S. paniculatum* é capaz de prevenir e tratar os efeitos tóxicos do paracetamol sobre o fígado e também possui propriedades analgésicas, sendo assim um fitoterápico promissor (de SOUZA et al., 2019). Outro estudo também evidenciou o potencial significativo do efeito hepatoprotetor da espécie, contribuindo com a atividade protetora e corroborando para seu uso tradicional (GAZOLLA et al., 2020).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivos a realização de uma ampla revisão da literatura etnobotânica a partir de livros editados no Brasil, no qual foram selecionadas e discutidas as principais plantas medicinais nativas brasileiras utilizadas popularmente para o tratamento de distúrbios hepáticos, além da realização de um estudo para a avaliação do potencial efeito hepatoprotetor da espécie *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. em um modelo *in vitro*.

1.1 Revisão Bibliográfica

1.1.1. Hepatotoxicidade e doenças hepáticas

O fígado apresenta importante função nas atividades metabólicas, armazenamento de nutrientes, além de estar envolvido em quase todas as vias bioquímicas responsáveis pelo crescimento, imunidade, armazenamento de glicogênio, vitaminas, minerais e outras substâncias. Tem a capacidade de sintetizar algumas proteínas como proteínas do sangue, enzimas, hormônios, fatores imunológicos e de coagulação. Outro papel essencial do fígado é a desintoxicação de drogas e substâncias químicas estranhas, o fígado remove contaminantes do sangue e produtos residuais como produtos químicos, drogas, fungos, bactérias, parasitas, aditivos alimentares, álcool e células mortas (OKAIYETO et al., 2018; VENMATHI MARAN et al., 2022).

Devido ao fígado ser o principal órgão do processo de metabolização, ele está suscetível a danos por substâncias, pode ser afetado por processos inflamatórios, doenças metabólicas e autoimunes, ou ainda hepatotoxicidade induzida por fármacos ou substâncias tóxicas. A hepatotoxicidade leva ao comprometimento do fígado e a redução de sua função. Diante de todas essas funções essenciais que o fígado proporciona ao corpo humano, as doenças hepáticas continuam sendo uma das principais ameaças à saúde pública e constituem um problema mundial. Cerca de 2 milhões de pessoas morrem a cada ano de doença hepática (ASRANI et al., 2013; HOFFMANN et al., 2021).

A doença hepática é um termo que indica danos às células, tecidos, estruturas ou funções, podendo ser do tipo não inflamatória (hepatose), inflamatória, (hepatite aguda ou crônica) ou tumoral (adenoma hepático ou carcinoma hepatocelular). As lesões podem ser induzidas por fatores biológicos (bactérias, vírus e parasitas) ou doenças autoimunes, bem como diferentes tipos de medicamentos preparados quimicamente como, como altas doses de paracetamol, substâncias altamente tóxicas, como tetracloreto de carbono (CCl_4), ou o consumo abusivo de álcool (DESHWAL et al., 2011; MADRIGAL-SANTILLÁN et al., 2014; SRIVASTAVA; SRIVASTAVA, 2018).

Adicionalmente, algumas espécies vegetais acumulam alcalóides pirrolizidínicos, compostos capazes de ocasionar fortes efeitos hepatotóxicos, genotóxicos, atividades citotóxicas, neurotóxicas, entre outros, sendo portanto uma ameaça para a saúde humana. Em termos globais, cerca de 6.000 espécies apresentam esses metabólitos secundários, predominantemente pertencentes às famílias Asteraceae, Boraginaceae, Compositae e Fabaceae (NEUMAN et al., 2015; SCHRAMM et al., 2019). A exposição a estes agentes hepatotóxicos resulta em estresse oxidativo através da produção abundante de espécies reativas de oxigênio, aumentando a peroxidação lipídica e induzindo danos oxidativos às células hepáticas, o que pode resultar em esteatose hepática, hepatite crônica, cirrose e carcinoma hepatocelular (VENMATHI MARAN et al., 2022).

Aproximadamente 2 milhões de adultos e mais de 400 milhões de pessoas sofrem de obesidade e diabetes, respectivamente, ambos aumentam ainda mais o risco de distúrbios hepáticos, como doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) e carcinoma hepatocelular. Hepatite aguda causada por infecções virais por hepatite B ou C, aumenta ainda mais o risco de lesões hepáticas (WHO, 2018; ASRANI et al., 2019). No Brasil, 40% dos adultos estão acima do peso, 8,9% dos homens e 13% das mulheres são obesos, o que pode proporcionar a maior incidência de DHGNA (COTRIM et al., 2016). Segundo Nader e colaboradores (2014) às doenças hepáticas foram a oitava causa de morte no Brasil, durante o período analisado entre 2001 a 2009.

Espasandin e colaboradores (2021) trouxeram resultados analisados pelo DATASUS em 2018, que apontaram para a maior taxa de mortalidade por doença hepática alcoólica (19,22%) com predomínio do percentual na região Sudeste (20,31%) seguido pela região Norte (19,85%). Também foi abordado uma análise de internações hospitalares, pelas mesmas condições clínicas, no período entre 2008 a 2020 que corresponderam em um total de 204.276, tendo ainda a região Sudeste com maior índice 96.033.

As taxas de internações hospitalares por doenças hepáticas tendem a aumentar, alguns estudos relatam que esse aumento será três vezes maior em admissões em unidade de terapia intensiva (UTI), assim como admissões hospitalares (WELCH et al., 2008; LIANG et al., 2011). Dentre as principais causas

de internações hospitalares atuais estão: cirrose hepática, cirrose hepática alcoólica e insuficiência aguda e subaguda, sendo estas mais frequentes em pacientes com idade entre 40 a 59 anos (JEPSEN et al., 2008).

Outro estudo observou a taxa de mortalidade e internação por doença hepática na Amazônia Ocidental entre o período de 2008 a 2017, os resultados mostraram que os pacientes afetados em grande parte, possuíam idade superior a 50 anos. A principal causa dos óbitos foi fibrose e cirrose hepáticas responsável por 45,19% das mortes, seguida de doença alcoólica do fígado com 25,79%, as doenças hepáticas tóxicas representaram o menor número de casos durante o período analisado com 0,064% dos óbitos. Para a análise de internação, foi observado maior número de internações no sexo masculino com 69,80% dos casos, os indivíduos com idade superior a 50 anos são os que mais ficaram internados (CALLADO et al., 2021).

Diante disso, apesar dos desenvolvimentos significativos da medicina moderna, ainda não existem medicamentos totalmente eficazes para promover função hepática, fornecer proteção total do órgão ou auxiliar na regeneração de hepatócitos. Medicamentos antivirais, esteróides e imunizações são comumente utilizados para tratar ou prevenir doenças hepáticas, entretanto há muito risco de efeitos colaterais durante os tratamentos (MADRIGAL-SANTILLÁN et al., 2014). As substâncias hepatoprotetoras têm como alvo fisiológico o fígado, seus princípios ativos atuam na regulação do metabolismo hepático por meio de uma variedade de mecanismos, como a atividade antioxidante, anti-inflamatória (GYRISH; PRADHAN, 2017; OKAIYETO et al., 2018).

Alguns estudos têm relatado que as plantas medicinais e seus compostos fitoquímicos ajudam a proteger contra distúrbios hepáticos (TIEPPO et al., 2006; RODRIGUES et al., 2010; RABELO et al., 2018; de SOUZA et al., 2019). Portanto, é necessário atenção para a identificação de plantas medicinais e seus compostos com propriedades antioxidantes, preventivas e potencial terapêutico contra doenças hepáticas, assim como o incentivo das políticas de saúde para descobertas e desenvolvimentos de produtos naturais terapêuticos.

1.1.2 Políticas públicas em Plantas Medicinais e Fitoterápicos

A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos é uma prática cada vez mais disseminada globalmente e incentivada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), especialmente nos países em desenvolvimento (MATTOS et al., 2018). Segundo dados da OMS, 80% da população mundial ainda depende de práticas na Atenção Primária à Saúde, e 80-85% utilizam plantas ou preparações à base de vegetais, sendo que no Brasil são desenvolvidos programas de fitoterapia na Atenção Primária à Saúde da rede pública em diversos municípios e estados (BRASIL, 2006a).

A Atenção Primária à Saúde no Brasil é definida como o contato inicial do indivíduo com o sistema de rede de atenção à saúde que constitui um conjunto de ações (individuais e coletivas) nas quais abrange a promoção e proteção da saúde, prevenção de doenças, diagnóstico, tratamento, reabilitação, manutenção da saúde, com o objetivo de desenvolver uma atenção integral que impacte nas situações de saúde (BRASIL, 2012). Realizada em 1986 no Brasil, a 8ª Conferência Nacional de Saúde foi recomendada a introdução das práticas tradicionais de cura popular no atendimento público de saúde (da ROSA et al., 2011).

A partir da década de 1980, foram intensificadas iniciativas de fortalecer a fitoterapia no sistema público de saúde, devido ao crescente interesse popular e institucional. Diante disso, políticas, programas, resoluções, portarias e relatórios foram elaborados com ênfase na fitoterapia. Uma das primeiras ações do Ministério da Saúde em relação ao desenvolvimento da fitoterapia no Brasil foi a institucionalização do Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos (CEME), em 1982, com o objetivo de desenvolver medicamentos fitoterápicos originados a partir da determinação do real valor farmacológico das preparações de plantas usadas pela população brasileira, com embasamentos científicos, com vistas à sua inclusão na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME). Em 1986, na 10ª Conferência Nacional de Saúde, ocorreu a inserção da Fitoterapia na assistência farmacêutica pública, com ampla participação popular para a elaboração das normas para sua utilização. Desde então, medidas administrativas vêm sendo tomadas pelo Ministério da Saúde com vistas a delinear

ações governamentais para a área de plantas medicinais e fitoterápicos (BRASIL 2006a; BRASIL, 2006b).

A Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPICS), publicada em 2006, aborda aspectos do serviço de Fitoterapia, Medicina Tradicional Chinesa, Homeopatia, Crenoterapia em estabelecimentos de Atenção Básica, e é coordenada pelo Departamento de Atenção Básica do Ministério da Saúde (BRASIL, 2006b). Essa política traz dentre suas diretrizes para plantas medicinais e fitoterapia a elaboração da Relação Nacional de Plantas Medicinais e de Fitoterápicos, além do provimento do acesso a plantas medicinais e fitoterápicos aos usuários do SUS (BADKE et al., 2012). O Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, de 2007, visa “garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (BRASIL, 2008).

Em relação à pesquisa com plantas medicinais, entre as ações do Ministério da Saúde, está a publicação da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (Rennisus), em 2009. Pesquisadores, profissionais da saúde, técnicos da Anvisa e do Ministério da Saúde analisaram uma lista preliminar de 237 espécies vegetais, utilizadas nos serviços de saúde estaduais e municipais. Para a elaboração da lista foram considerados o conhecimento tradicional e popular, os estudos químicos e farmacológicos disponíveis. A relação final das plantas selecionadas, atualmente, contempla 71 espécies vegetais, sendo 22 nativas do Brasil, incluindo plantas popularmente indicadas como hepatoprotetoras, como *Solanum paniculatum* L., *Baccharis crispa* Spreng. e *Croton cajucara* Benth. (BRASIL, 2009). Apesar dos Estados e Municípios investirem em políticas públicas de atenção primária à saúde, é perceptível a necessidade de investimento em educação permanente dos profissionais da saúde, uma vez que as informações sobre os fitoterápicos existem, porém, algumas vezes, não são transmitidas corretamente aos pacientes (da ROCHA et al., 2021).

A compreensão do contexto histórico do uso de produtos naturais, nas quais são hoje possíveis a criação e a implementação de políticas no âmbito nacional na área de saúde, contribui para avanços frente a validações científicas da eficácia e

segurança do uso de plantas medicinais e produtos fitoterápicos. Portanto, é uma importante estratégia, com vistas à melhoria da atenção primária à saúde da população e à inclusão social, as ampliações das opções terapêuticas ofertadas aos usuários do SUS, com o objetivo de garantir acesso às plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à fitoterapia, com segurança, eficácia e qualidade, na perspectiva da integralidade da atenção à saúde (BRUNING et al., 2012).

1.1.3 Mercado farmacêutico brasileiro de produtos fitoterápicos

Os produtos naturais têm sido fonte essencial para a concepção e desenvolvimento de novos medicamentos. Uma análise de aprovações de medicamentos demonstrou que aproximadamente 64% dos considerados aprovados tinham um produto natural em seu desenvolvimento (VALLI et al., 2013). Newman e Cragg (2016) avaliaram as aprovações dos medicamentos derivados de produtos naturais pelo Food and Drug Administration (FDA) entre 1981 a 2014, e observaram que durante esse período o FDA aprovou 1.562 medicamentos, sendo que 4% eram produtos naturais inalterados, 21% eram derivados de produtos naturais, 4% eram medicamentos sintéticos que apresentavam farmacóforo de produtos naturais.

O Brasil apresenta uma das grandes biodiversidades do mundo, compreendendo aproximadamente cerca de 45.000 espécies vegetais, o que representa entre 20 a 22% do total mundial (DUTRA et al., 2016). A população brasileira tem um grande histórico da utilização de plantas medicinais para tratamentos de diferentes doenças agudas ou crônicas, e este fato tem atraído pesquisadores e algumas empresas farmacêuticas brasileiras a fim de se estudarem as plantas medicinais nativas e seus princípios ativos, assim como planejar o desenvolvimento de produtos naturais terapêuticos (HARVEY et al., 2015). Apesar disso, o mercado brasileiro de fitoterápicos ainda é bastante modesto, representando cerca de 261 milhões de dólares, isso compreende menos de 5% do mercado global de medicamentos brasileiros e cerca de 28 bilhões de dólares em 2014 (DUTRA et al., 2016).

A diversidade química de metabólitos ativos é uma das razões para as investigações científicas de interesse de produtos naturais, que influenciam na descoberta e no desenvolvimento de medicamentos (DA SILVA BOLZANI et al., 2012). Os agentes fitoterápicos que são extratos padronizados obtidos de uma ou mais plantas nos quais se mostram seguras em estudos científicos e que atendem aos padrões de qualidade, foram aprovados para uso humano no Brasil e em muitos outros países (CALIXTO, 2019).

1.1.4 Plantas hepatoprotetoras

Numerosos extratos de plantas medicinais ou seus compostos ativos têm sido estudados como promissores agentes terapêuticos (GUAN; HE, 2015). As plantas medicinais com atividade hepatoprotetora utilizadas para tratamentos de distúrbios hepáticos são de grandes interesses de estudos a fim de elucidar seu mecanismo de ação e caracterizar compostos que podem ser usados para o desenvolvimento de medicamentos hepatoprotetores (LIMA et al., 2019).

Algumas preparações à base de plantas existem na forma de extratos padronizados, com os principais compostos conhecidos, ou são investigados e empregados em sua forma isolada. Como, por exemplo, a silimarina de *Silybum marianum* (L.) Gaertn., curcumina de *Curcuma longa* L., ácido elágico. Esses compostos químicos podem apresentar diversas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, capacidades hepáticas regenerativas, entre outras. Além disso, podem servir como alvos primários para futuro desenvolvimento de produtos naturais hepatoprotetores (PRADHAN; GIRISH, 2006; GIRISH; PRADHAN, 2008).

Os produtos naturais obtidos de plantas usadas tradicionalmente para doenças do fígado foram revisadas por diversos autores (MURIEL; RIVERA-ESPINOZA, 2008; ADEWUSI; AFOLAYAN, 2010; VALAN et al., 2010; ALVARI et al., 2012; DHIMAN et al., 2012; DING et al., 2012; GIRISH; PRADHAN, 2012; ZHANG et al., 2013) que descreveram os constituintes com propriedades hepatoprotetoras e os classificaram em compostos fenólicos, cumarinas, óleos essenciais, alcalóides, terpenos, esteróides e outros.

Adewusi e Afolayan (2010) realizaram uma revisão de literatura de produtos naturais que apresentavam atividade hepatoprotetora e observaram que mais de cem plantas com 58 compostos classificados em um grupo químico apropriado foram abordadas. Concluindo serem alvos atraentes para estudos futuros, e a identificação de seus constituintes ativos provavelmente levará a novas terapias para doenças do fígado.

Campos e colaboradores (2018) realizaram uma revisão com base na etnofarmacologia, fitoquímica, atividades farmacológicas e toxicidade de *Indigofera suffruticosa* Mill., Fabaceae, a qual está distribuída em todo Brasil. Foram citados mais de 40 compostos químicos, alguns deles isolados, oriundos de extratos orgânicos e aquosos de diversas partes da planta. Estes compostos ativos possuem ação anti-inflamatória, antibacteriana e hepatoprotetora, entre outras.

Devido aos efeitos biológicos descritos para os flavonoides encontrados em *Baccharis crispa* Spreng., Pádua e colaboradores (2014) conduziram a investigação do efeito protetor de *B. crispa* contra dano hepático induzido por paracetamol em ratos, que receberam um pré-tratamento com extrato hidroalcoólico na concentração de 600 mg/kg. O tratamento foi capaz de inibir significativamente a elevação das atividades das transaminases séricas ALT e AST realizadas no experimento. Além disso, a análise histopatológica evidenciou uma proteção contra os danos hepáticos causados pelo agente hepatotóxico. Chaves e colaboradores (2020) realizaram a caracterização química de polissacarídeos da infusão de *B. crispa* e analisaram seus efeitos hepatoprotetores. O grupo observou um tipo de polissacarídeo presente na infusão da planta, na qual contribuiu para o efeito hepatoprotetor da espécie. Experimentos *in vivo* mostraram que houve proteção do fígado de lesões induzidas por tetracloreto de carbono (CCl₄).

Outro estudo investigou o efeito hepatoprotetor de uma fração solúvel em etanol de *B. crispa* em ratos expostos a um modelo de esteatose hepática não-alcoólica induzida por diabetes, dislipidemia e tabagismo. Os resultados mostraram que o tratamento nas doses 30 e 100 mg/kg reduziram os danos hepáticos, observados através da normalização dos valores das transaminases ALT e AST. O efeito benéfico observado para o extrato de *B. crispa* foi semelhante e até

superior ao tratamento padrão, ou seja, insulina associada à sinvastatina (BARBOSA et al., 2020).

Baccharis dracunculifolia DC. (Asteraceae) e *Plectranthus barbatus* Andrews (Lamiaceae) são conhecidas e utilizadas no Brasil como plantas medicinais e relatadas pela literatura para tratamentos de patologias do fígado (da SILVA et al., 2019). Alasbahi e Melsig (2010) realizaram uma revisão sobre a fitoquímica, usos etnobotânicos e farmacologia de *P. barbatus*, os principais achados etnobotânicos são para distúrbios intestinais, fadiga hepática, respiratórios, entre outros. Além de apresentar constituintes químicos como os terpenóides e óleos essenciais que estão associados aos efeitos biológicos da planta. As folhas de *B. dracunculifolia* são ricas em compostos fenólicos, terpenos e óleos essenciais, que estão relacionadas aos efeitos antioxidantes, anti-inflamatórias e hepatoprotetoras (BACHIEGA et al., 2013; ROBERTO et al., 2016). Foi realizada uma investigação do efeito hepatoprotetor de ambos os extratos das plantas em modelo *in vitro* com células estreladas hepática imortalizada humana, os resultados sugeriram um potencial efeito hepatoprotetor dos extratos, reforçando o uso seguro para tratamento de distúrbio hepático (da SILVA et al., 2019).

1.1.5 *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Asteraceae)

Asteraceae, distribuída em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, é considerada globalmente uma das maiores famílias botânicas (NAKAJIMA et al., 2015). No Brasil, ela é representada por cerca de 326 gêneros e 2.205 espécies em diferentes biomas (ROQUE et al., 2021). *A. satureioides* é popularmente conhecida como “macela”, “macela-do-campo”, ou “marcela”, e é nativa da América do Sul, ocorrendo no Uruguai, Argentina e Paraguai, no Brasil também ocorre no Nordeste (Bahia), no Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro) e Sul (Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul) (DEBLE, [s. d.]).

A. satureioides possui entre 10 a 50 cm de altura, densamente ramificada; caule, e folhas cobertas por pêlos esbranquiçados; folhas lineares com largura até 1,5 cm e 10 a 15 cm de comprimento. As brácteas, que formam o capítulo, são

amareladas ou esbranquiçadas, em número de 5 a 10, reunidas nos ápices dos ramos em inflorescência, (Fig. 1) (DEBLE, [s. d.]). As inflorescências secas são utilizadas na medicina caseira e também no enchimento de travesseiros e almofadas pelo aroma suave e agradável. Na medicina popular brasileira, o chá da planta é utilizado como digestivo, antiespasmódico, anti-inflamatório, expectorante, anti diarreico, além de ser popularmente utilizado para tratamento de distúrbios gástricos (RETTA et al., 2012). Além disso, estudos científicos demonstraram atividade hepatoprotetora da planta (KADARIAN et al., 2002; RITTER et al., 2017) e atividade antioxidante (BALESTRIN et al., 2016; SALGUEIRO et al., 2016).



Figura 1. *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (FLORA CAMPESTRE, 2020).

A infusão das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. é popularmente utilizada como sedativa, anti-inflamatória, antiespasmódica e distúrbios gastrointestinais. A espécie apresenta propriedades biológicas como a hepatoproteção, a imunomodulação, antimicrobiano, anti-inflamatória e anticancerígena, tais atividades atribuídas a esta planta estão correlacionadas a presença de compostos químicos biossintetizados (BOLSON et al., 2015). Devido a sua ampla utilização na medicina popular e as propriedades terapêuticas atribuídas, *A. satureioides* vem sendo amplamente estudada do ponto de vista químico. Destacam-se, como principais metabólitos secundários, os flavonóides, terpenóides, carotenóides, cumarinas, esteróides e os óleos essenciais, compostos fenólicos e

polifenóis relacionados, ácido caféico, entre outros (RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2014).

A Figura 2 apresenta os principais compostos encontrados em *A. satureioides* (RETTA et al., 2012). Dentre os flavonoides presentes no extrato das inflorescências, destacam-se a quercetina, 3-O-metil-quercetina, luteolina e achyrobichalcona, encontrados nas preparações extrativas hidroalcoólicas (GUGLIUCCI; MENINI, 2002; CARINI et al., 2015).

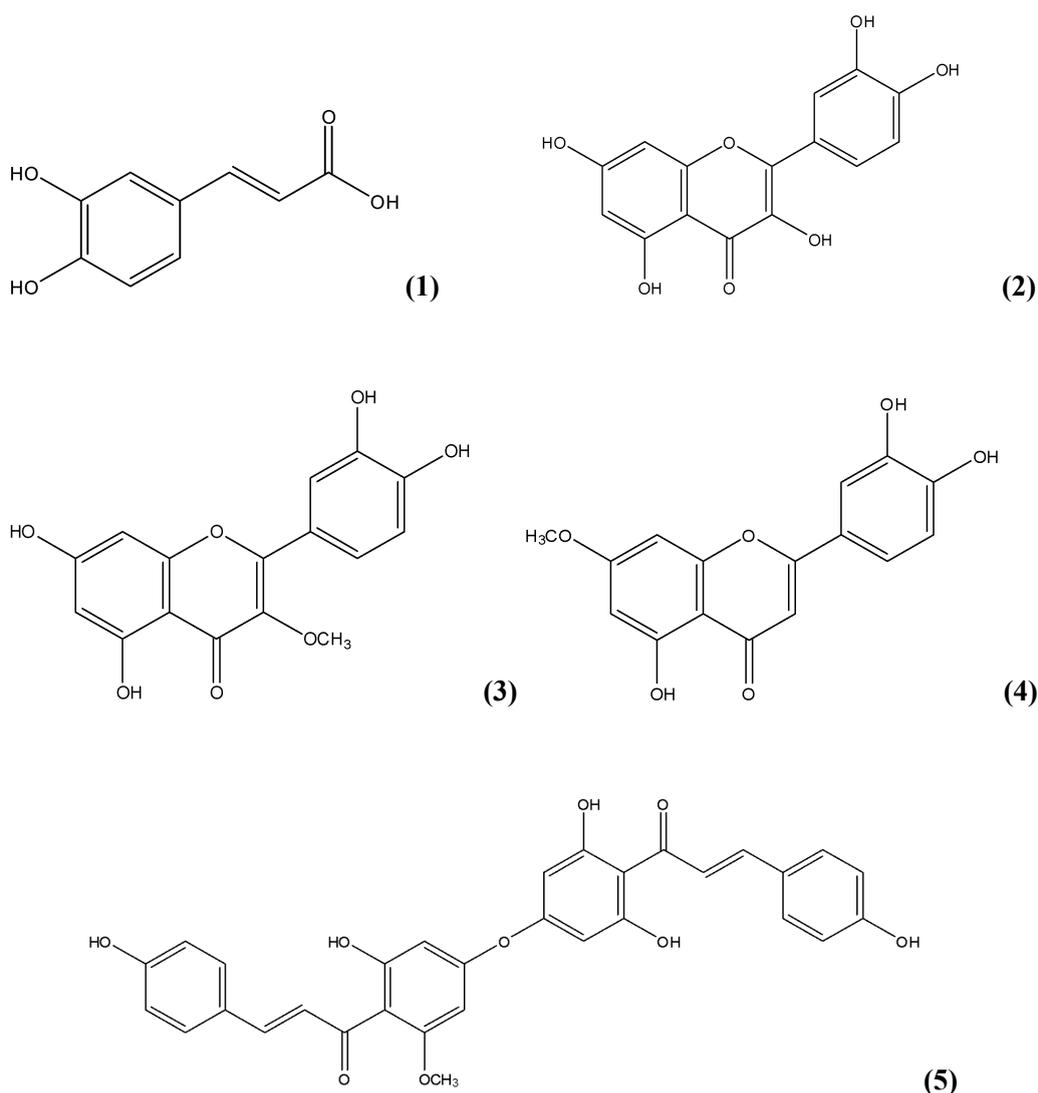


Figura 2. Principais compostos encontrados em *A. satureioides*: Ácido cafeico (1); quercetina (2); 3-O-metil quercetina (3); luteolina (4); achyrobichalcona (5). Figura elaborada pela autora.

Os flavonoides possuem atividades antioxidantes, que são importantes na proteção celular, evitando o estresse oxidativo e a formação dos radicais livres que podem ser encontrados em algumas patologias como doença de Parkinson,

Alzheimer, diabetes, entre outras. Diversos estudos científicos têm sido desenvolvidos e confirmam a bioatividade dos flavonoides presentes em *A. saturoioides*, o que fundamenta a relação destes com as propriedades terapêuticas demonstradas pela espécie (BOOTS et al., 2008; CARINI et al., 2014; CARINI et al., 2015).

Martínez-Busi e colaboradores (2019) realizaram o isolamento e a elucidação estrutural dos principais flavonóides de *A. saturoioides*, bem como a caracterização *in vitro* de suas propriedades antioxidantes e neuroprotetoras para verificar sua relevância no tratamento da neurodegeneração. Isômeros do ácido dicafeoilquínico, quercetina, luteolina, isoquercetina e 3-O-metil-quercetina foram identificados como os principais polifenóis. Os resultados mostraram que a quercetina foi a mais eficaz que a luteolina e a isoquercetina, enquanto a 3-O-metil-quercetina não foi capaz de proporcionar neuroproteção significativa. Os resultados contribuíram para a elucidação dos mecanismos químicos e moleculares subjacentes às ações bioativas dos compostos de *A. saturoioides* que contribuem para seus efeitos neuroprotetores.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O objetivo central desta dissertação foi realizar uma revisão de literatura a fim de compilar, descrever e discutir as principais plantas medicinais nativas brasileiras utilizadas popularmente como agentes hepatoprotetores. Com base neste levantamento, foi possível realizar a escolha de *A. satureioides* para realizar um estudo em modelo *in vitro*, a fim de se investigarem os efeitos tóxico e hepatoprotetor da planta, considerando o potencial terapêutico dessa espécie vegetal.

2.2 Objetivos específicos

- a) Realizar um levantamento de plantas medicinais nativas brasileiras empregadas popularmente para desordens hepatobiliares a partir de livros de literatura etnobotânica, com foco em plantas medicinais, publicados por autores de várias regiões do Brasil;
- b) Apresentar uma análise abrangente dos estudos científicos mais relevantes encontrados em bases de dados eletrônicas, com base nas espécies identificadas através do levantamento de literatura, compilando e discutindo os resultados;
- c) Elaborar e caracterizar quimicamente os extratos aquoso e alcoólico obtidos de *A. satureioides*;
- d) Investigar *in vitro* a citotoxicidade e o efeito hepatoprotetor dos extratos após a indução de danos celulares na presença de paracetamol em linhagem de células hepáticas HepG2.

3. Resultados

3.1.

A subseção 3.1. é constituída por artigo científico publicado, conforme referência abaixo, que no texto completo da dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 29 – 63.

ANTUNES, C., ARBO, M. D., e KONRATH, E. L. Hepatoprotective native plants documented in Brazilian traditional medicine literature: current knowledge and prospects. *Chemistry & Biodiversity*, 2022, Vol 19, e202100933.

3.2.

O texto completo da subseção 3.2., que no texto completo da dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 64 – 82, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico. Consta da caracterização química, avaliação citotóxica e hepatoprotetora dos extratos aquoso e alcoólico de Marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) obtidos, respectivamente, por infusão e maceração das inflorescências na proporção 1:50. A caracterização química foi realizada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC), e o modelo experimental *in vitro* para a avaliação da citotoxicidade e hepatoproteção foi realizado em células HepG2 (Hepatoblastoma humano) contra o dano induzido por paracetamol, utilizando como controle positivo a silimarina.

4. Discussão Geral

Considerando que 10% da população mundial é afetada por algum tipo de patologia hepática, como as hepatites B e C, carcinoma hepatocelular, doença hepática alcoólica, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), cirrose hepática e insuficiência hepática (LI et al., 2018; KHAN et al., 2019), e que, no Brasil, 10 mil casos de hepatite C são notificados por ano, podendo, as pessoas infectadas, desenvolver doenças hepáticas crônicas, necessitando de assistência à saúde especializada de alta complexibilidade (BRASIL, 2017), a busca por produtos naturais, à base de plantas, tem aumentado, visto que as terapias com medicamentos hepatoprotetores, muitas vezes, podem estar associadas a reações adversas. Diante disso, há necessidade de se buscar alternativas terapêuticas que possam proteger o fígado, de forma eficiente, contra danos ou que possam ajudar a regenerar as células hepáticas. Além disso, as plantas, também, têm desempenhado importante papel na busca por novos compostos para os mais diversos fins terapêuticos (ADEWUSI; AFOLAYAN, 2010).

O Brasil é considerado um país com uma das maiores biodiversidades do mundo, representando cerca de 15% de todas as espécies vivas do planeta e aproximadamente 0,5% de 300.000 espécies de plantas estão catalogadas (VALLI et al., 2018). Apesar da grande extensão territorial e da riqueza da flora brasileira, essa diversidade ainda é pouco explorada do ponto de vista químico para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos, cosméticos, suplementos alimentares e outros. As plantas são consideradas fontes biologicamente ativas, que produzem diversas classes de compostos e estruturas de metabólitos secundários que podem revelar propriedades terapêuticas para a população (BARREIRO e BOLZANI, 2009).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, cerca de 80% da população mundial utiliza plantas medicinais ou preparações destas, no que se refere à atenção primária à saúde (MATTOS et al., 2018). Em relação aos avanços da utilização das plantas medicinais no Brasil, estão a inserção da fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS) e a criação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (de FIGUEREDO et al., 2014) O uso da fitoterapia tem motivos diversos, como aumentar os recursos terapêuticos, reviver o conhecimento

tradicional, preservar a biodiversidade, além do desenvolvimento ambiental e social (ANTONIO et al., 2014). Desde 2004, a ANVISA estabeleceu regulamentação para garantia da qualidade de medicamentos fitoterápicos, exigindo comprovação da eficácia e segurança dos mesmos (ZARDETO-SABEC et al., 2019). A eficácia e a segurança de produtos naturais desenvolvidos à base de plantas devem ser validados por meio de levantamentos etnofarmacológicos e toxicológicos pré-clínicos e clínicos (SAHOO et al., 2010).

Os resultados desse trabalho foram descritos e discutidos no formato de manuscritos científicos: o primeiro tratou-se sobre uma revisão documentada de plantas hepatoprotetoras nativas do Brasil, manuscrito publicado no periódico *Chemistry & Biodiversity*; o segundo, ainda a ser submetido, tratou-se da investigação, em modelo *in vitro*, da ação protetora dos extratos obtidos de *A. satureioides* contra dano hepático induzido por paracetamol. Os dois manuscritos científicos complementam-se, após a revisão literária sobre plantas nativas hepatoprotetoras, o foco principal foi verificar a possibilidade do uso seguro de preparação dos extratos da marcela (*Achyrocline satureioides*) para o tratamento contra danos hepáticos.

4.1 Plantas hepatoprotetoras nativas do Brasil

Neste estudo, foi realizada uma busca na literatura com o objetivo de constatar evidências de tradicionalidade de uso de plantas nativas do Brasil. O foco principal foi compilar, descrever e discutir os principais agentes hepatoprotetores listados em livros de autores de várias regiões do país e realizar uma análise abrangente de estudos científicos mais relevantes para verificar a possibilidade de uso clínico de preparações com plantas no tratamento de distúrbios hepatobiliares.

De todas as espécies documentadas 56,4% eram nativas da flora brasileira, com predominância de citações para as famílias Fabaceae e Asteraceae, corroborando estudos conduzidos anteriormente (RODRIGUES; ANDRADE, 2014; FAGUNDES et al., 2017). Nossos resultados relatam que diferentes partes das plantas podem ser utilizadas para obtenção da atividade hepatoprotetora. As folhas

são as mais utilizadas, correspondendo a 27,5% das espécies citadas. Esse resultado está de acordo com o estudo realizado por Fagundes e colaboradores (2017). A preferência pela utilização das folhas das plantas também foi relatada anteriormente (OLIVEIRA; MENINI NETO, 2012; VÁSQUEZ et al., 2014).

Sobre o potencial contra lesões hepáticas, foi possível observar que existe uma relação com o conteúdo de bioativos presentes nas espécies vegetais, como flavonoides, compostos fenólicos, ligninas entre outros, que são os responsáveis pelos efeitos hepatoprotetores descritos pelas plantas. Os agentes hepatotóxicos são precursores de moléculas altamente reativas e com potencial danoso a estruturas orgânicas. A inflamação oriunda da lesão é capaz de provocar uma grande ampliação do estresse oxidativo, e por isso o emprego de compostos bioativos, principalmente aqueles que geram uma atividade antioxidante, tem sido destaque em estudos científicos e o emprego dessas plantas se destacam devido à sua constituição fitoquímica (MADRIGAL-SANTILLÁN et al., 2014; PEREIRA et al., 2016).

Amburana cearensis (Allemão) A.C.Sm., que pertence à família Fabaceae, foi testada por um grupo de pesquisadores que realizou um tratamento com a casca da planta, e observaram que a espécie foi capaz de promover melhora nos padrões de lesão tecidual, percebida por análises histológicas que demonstraram menor necrose e infiltração de células inflamatória e, além disso, demais parâmetros como enzimas hepáticas e marcadores oxidativos também foram preservados (LEAL et al., 2008).

Nossos resultados demonstraram que espécies como *Solanum paniculatum*, *Baccharis crispa*, *Phyllanthus niruri* entre outros, tiveram seus efeitos hepatoprotetores elucidados por estudos científicos. Apesar disso, ainda faltam mais ensaios que demonstrem seus efeitos farmacológicos. As espécies *A. satureioides*, *Piper umbellatum*, *Echinodurus macrophyllus*, *Fevillea trilobata* são indicadas para estudos mais detalhados para obtenção de novos agentes hepatoprotetores, visto que se sugere que os compostos bioativos produzidos pelas espécies ocasionam proteção hepática.

4.2 *Achyrocline satureioides*

Nosso estudo experimental pré-clínico teve como foco a caracterização química do extrato aquoso e etanólico das inflorescências de *Achyrocline satureioides*, além da investigação do efeito protetor de ambos os extratos e avaliação da citotoxicidade. Os nossos resultados foram descritos e discutidos em formato de manuscrito científico ainda a ser submetido.

Em relação a caracterização fitoquímica da espécie *A. satureioides* nossos resultados corroboram com os trabalhos anteriores (BIDONE et al., 2014; CARINI et al., 2015; MORESCO et al., 2017a; MORESCO et al., 2017b), nas quais foram identificados em ambos os extratos quatro principais flavonóides: quercetina, luteolina, 3-O-metilquercetina, achyrobichalcona. Destes, a luteolina e achyrobichalcona foram encontradas em menores quantidades, porém esse resultado também foi descrito em outros trabalhos experimentais realizados com a espécie (HOLZSCHUH et al., 2010; BICA et al., 2013).

Alguns pesquisadores têm investigado as propriedades terapêuticas de *A. satureioides*, devido ao alto teor de polifenóis e flavonoides. Esses estudos são projetados levando em consideração a forma de administração do uso tradicional, através do preparo de infusões (CASERO et al., 2013; CASERO et al., 2015). Além disso, após a inclusão de *A. satureioides* na Farmacopeia, a planta tem sido reconhecida pelo uso tradicional e difundido em toda região Sul do Brasil (BALESTRIN et al., 2016).

A associação aos efeitos terapêuticos de *A. satureioides* com os altos teores de flavonóides são sugeridos por alguns estudos que investigaram o efeito antioxidante da planta, que demonstra que a espécie é bastante ativa para o efeito estudado (POLYDORO et al., 2004; FERRARO et al., 2008; PEREIRA et al., 2008). Nossos resultados em relação ao efeito protetor hepático demonstraram que ambos os extratos foram capazes de proteger as células da mesma maneira que o controle positivo testado, mostrando-se bastante ativo, sugerindo que esse efeito também esteja relacionado com os altos teores de flavonóides encontrados na planta.

O efeito hepatoprotetor contra danos causados pela infecção por *Trypanosoma evansi* foi apontado por Ritter e colaboradores (2017), avaliando o óleo

essencial de *A. satureioides* administrado em nanocápsulas. O efeito protetor hepático do extrato aquoso de *A. satureioides* foi demonstrado em modelo *in vivo* e foi associado a presença de flavonóides que causam efeitos antioxidantes, visto que são os principais componentes antioxidantes naturais no extrato (KADARIAN et al., 2002; RETTA et al., 2012).

Em relação a toxicidade, nossos resultados para o extrato aquoso de *A. satureioides* mostraram que não houve alterações significativas da viabilidade celular, ou seja, o extrato não causou morte celular. Esse resultado corrobora com o trabalho elaborado por Rivera e colaboradores (2004) que avaliaram a toxicidade aguda do extrato aquoso da espécie em ratos com doses entre 30 - 300 mg/kg. O extrato apresentou baixa toxicidade quando administrado intraperitonealmente em ratos e nenhuma toxicidade quando administrado oralmente. De modo geral, os resultados indicam que os extratos de *A. satureioides* podem ser considerados seguros quanto ao uso tradicional e apresentam efeitos protetores hepáticos. Entretanto, há necessidade de maiores investigações e outros ensaios a serem realizados para validar seus efeitos promissores contra danos hepáticos.

5. Conclusão e Perspectivas

Com base nos resultados deste trabalho, observou-se evidências do uso tradicional de plantas medicinais nativas utilizadas como agentes hepatoprotetores, relacionando as evidências científicas mais relevantes das plantas citadas, como *Solanum paniculatum*, *Baccharis crispa*. Entretanto, mesmo com diversos relatos sobre algumas espécies como *Achyrocline satureioides*, *Fevillea trilobata*, observamos que ainda faltam estudos científicos mais aprofundados que comprovem e validem o uso popular e que possam evidenciar seus potenciais efeitos farmacológicos. Portanto, são indicados para estudos mais detalhados, com o objetivo de se obter novos agentes protetores do fígado.

Na segunda parte deste trabalho observaram-se os efeitos protetores dos extratos de *A. satureioides* contra danos hepáticos induzidos por paracetamol. Nosso estudo reforça a importância de pesquisas futuras sobre o potencial de *A. satureioides*, sendo assim como perspectivas, pretendemos aprofundar os estudos a fim de verificarmos os efeitos hepatoprotetores utilizando-se outros modelos experimentais *in vitro* bem como *in vivo*, utilizando-se tanto os extratos aquoso e etanólico, como também os flavonoides puros. Adicionalmente, estudos *in silico* serão conduzidos a fim de melhor compreendermos o mecanismo de ação hepatoprotetora para *A. satureioides*.

6. Referências

- ABRANCHES, S. Biological megadiversity as a tool of soft power and development for Brazil. *Brazilian Political Science Review*, 2020, Vol. 14.
- ADEWUSI, E. A. e AFOLAYAN, A. J. A review of natural products with hepatoprotective activity. *J Med Plants Res*, 2010, Vol. 4(13), pág.: 1318-1334.
- ALASBAHI, R. H. e MELZIG, M. F. *Plectranthus barbatus*: a review of phytochemistry, ethnobotanical uses and pharmacology—part 1. *Planta medica*, 2010, Vol. 76(07), pág.: 653-661.
- ALI, S. A.; SHARIEF, N. H.; MOHAMED, Y. S. Hepatoprotective activity of some medicinal plants in Sudan. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, Vol 2019.
- ALVARI, A.; AHMAD, F.J.; ABDIN, M.Z. Contemporary overview on clinical trials and future prospects of hepato-protective herbal medicines. *Rev Recent Clin Trials*, 2012, Vol 7(3), pág.: 214–23.
- ANTONIO, G. D.; TESSER, C. D.; MORETTI-PIRES, R. O. Phytotherapy in primary health care. *Revista de saude publica*, 2014, Vol. 48, pág. 541-553.
- ARIAS, I. M.; ALTER, H. J.; BOYER, J. L.; COHEN, D. E.; SHAFRITZ, D. A.; THORGEIRSSON, S. S.; WOLKOFF, A. W. (Eds) The liver: biology and pathobiology. *John Wiley & Sons*, 2020.
- ASRANI, S. K.; DEVARBHAVI, H.; EATON, J.; KAMATH, P. S. Burden of Liver Diseases in the World. *J. Hepatol.* 2019, Vol 70, pág.: 151–171.
- ASRANI, S. K.; LARSON, J. J.; YAWN, B.; THERNEAU, T. M.; KIM, W. R. Underestimation of liver-related mortality in the United States. *Gastroenterology*, 2013, Vol 145(2), pág.: 375-382.
- ATANASOV, A. G.; WALTENBERGER, B.; PFERSCHY-WENZIG, E. M.; LINDER, T.; WAWROSCH, C.; UHRIN, P.; STUPPNER, H. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology advances*, 2015, Vol 33(8), pág.: 1582-1614.
- BACHIEGA, T. F.; DE SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J. M. Immunomodulatory/anti-inflammatory effects of *Baccharis dracunculifolia* leaves. *Natural product research*, 2013, Vol 27(18), pág.: 1646-1650.
- BADKE, M. R.; BUDÓ, M. D. L. D.; ALVIM, N. A. T.; ZANETTI, G. D.; HEISLER, E. V. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. *Texto & Contexto-Enfermagem*, 2012, Vol 21, pág.: 363-370.
- BAHMANI, M.; SHIRZAD, H.; RAFIEIAN, S.; RAFIEIAN-KOPPAEI, M. *Silybum marianum*: beyond hepatoprotection. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 2015, Vol 20(4), pág.: 292-301.
- BALESTRIN, L. A.; BIDONE, J.; BORTOLIN, R. C.; MORESCO, K.; MOREIRA, J. C.; TEIXEIRA, H. F. Protective effect of a hydrogel containing *Achyrocline*

satureioides extract-loaded nanoemulsion against UV-induced skin damage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2016, Vol 163, pág.: 269-276.

BARBOSA, R. J.; DA SILVA, G. R.; COLA, I. M.; KUCHLER, J. C.; COELHO, N.; BARBOZA, L. N.; DOS REIS LÍVERO, F. A. (2020). Promising therapeutic use of *Baccharis trimera* (Less.) DC. as a natural hepatoprotective agent against hepatic lesions that are caused by multiple risk factors. *Journal of ethnopharmacology*, 2020, Vol 254, pág.: 112729.

BARREIRO, E. J. e BOLZANI, V. D. S. Biodiversity: potential source for drug discovery. *Química Nova*, 2009, Vol 32, pág.: 679-688.

BIANCHI, S. E. Isolamento de achyrobichalcona e 3-O-metilquercetina a partir de inflorescências de *Achyrocline satureioides* utilizando cromatografia em contracorrente de alta performance (HPCCC) e avaliação do potencial citotóxico in vitro em linhagem de câncer de mama MDA-MB-231, 2018.

BICA, V. C.; CARINI, J. P.; PIRAN, S. M.; BASSANI, V. L.; PETROVICK, P. R. Improvement of a HPLC method for determining quercetin, luteolin, 3- O methylquercetin and achyrobichalcone in *Achyrocline satureioides* preparations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013.

BIDONE, J.; BICA, V. C.; PETROVICK, P. R.; SIMÕES, C. M. O.; KOESTER, L. S.; BASSANI, V. L.; TEIXEIRA, H. F. Simultaneous quantification of flavonoids from *Achyrocline satureioides* by a polar-reversed phase LC method—application to skin permeation/retention studies. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2014, Vol 69(1), pág.: 5-9.

BOLSON, M.; HEFLER, S. R.; DALL, E. I.; CHAVES, O.; JUNIOR, A. G.; Junior, E. L. C. Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, Vol 161, pág.: 1-10.

BOOTS, A. W.; HAENEN, G. R; BAST, A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European journal of pharmacology*, 2008, Vol 585 (2-3), pág.: 325-337.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Interministerial nº 2.960, de 9 de dezembro de 2008. Aprova o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos.

Apresenta o processo de construção da Rénisus. 2009. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/daf/pnmpf/ppnmpf/plantas-medicin角度-de-interesse-ao-sus-2013-renisus>>. Acesso em: 12 de julho de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Práticas Integrativas e Complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica[Internet]. 2012. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/praticas_integrativas_complementares_plantas_medicin角度_cab31.pdf> Acesso em 10 de julho de 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 14, de 14 de março de 2013. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos de Origem Vegetal. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 2013. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0014_14_03_2013.html>. Acesso em: 22 de junho de 2022.

BRUNING, M. C.; MOSEGUI, G. B.; VIANNA, C. M. The use of phytotherapy and medicinal plants in primary healthcare units in the cities of Cascavel and Foz do Iguaçu - Paraná: The viewpoint of health professionals. *Ciência e Saúde Coletiva*, 2012, Vol 17, pág.: 2675-2685.

CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2019, Vol 91.

CALLADO, A. N.; BEZERRA, I. M. P.; ADAMI, F.; de ALCANTARA SOUSA, L. V.; de ABREU, L. C. Mortality and hospitalization for liver disease in the western Amazon from 2008 to 2017. *Journal of Human Growth and Development*, 2021, Vol 31(1), pág.: 116-124.

CAMPOS, J. K.; ARAÚJO, T. F. D. S.; BRITO, T. G. D. S.; da SILVA, A. P.; CUNHA, R. X. D.; MARTINS, M. B.; LIMA, V. L. D. M. *Indigofera suffruticosa* Mill.(Anil): Plant profile, phytochemistry, and pharmacology review. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2018.

CARIDDI, L.; ESCOBAR, F.; SABINI, C.; TORRES, C.; REINOSO, E.; CRISTOFOLINI, A.; SABINI, L. (2012). Apoptosis and mutagenicity induction by a characterized aqueous extract of *Baccharis articulata* (Lam.) Pers.(Asteraceae) on normal cells. *Food and chemical toxicology*, 2012, Vol 50(2), pág.: 155-161.

CARINI, J. P.; KLAMT, F.; BASSANI, V. L. Flavonoids from *Achyrocline satureioides*: promising biomolecules for anticancer therapy. *RSC advances*, 2014, Vol 4(7), pág.: 3131-3144.

CARINI, J. P.; LEITÃO, G. G.; SCHNEIDER, P. H.; SANTOS, C. C.; COSTA, F. N.; HOLZSCHUH, M. H.; BASSANI, V. L. Isolation of achyrobichalcone from *Achyrocline satureioides* by high-speed countercurrent chromatography. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2015, Vol 16(1),pág.: 66-71.

CASERO, C.; ESTEVEZ-BRAUN, A.; RAVELO, A. G.; DEMO, M.; MÉNDEZ-ÁLVAREZ, S.; MACHIN, F. Achyrofuran is an antibacterial agent capable of killing methicillin-resistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in the nanomolar range. *Phytomedicine*, 2013, Vol 20(2), pág.: 133-138.

CASERO, C.; MACHIN, F.; MÉNDEZ-ÁLVAREZ, S.; DEMO, M.; RAVELO, A. G.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, N.; ESTÉVEZ-BRAUN, A. Structure and antimicrobial activity of phloroglucinol derivatives from *Achyrocline satureioides*. *Journal of natural products*, 2015, Vol 78(1), pág.: 93-102.

CHAVES, P. F. P.; ADAMI, E. R.; ACCO, A.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. C. Chemical characterization of polysaccharides from *Baccharis trimera* (Less.) DC. infusion and its hepatoprotective effects. *Food Research International*, 2020, Vol 136, pág.: 109510.

CICHOŹ-LACH, H. e MICHALAK, A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World journal of gastroenterology: WJG*, 2014, Vol 20(25), pág.: 8082.

COTRIM, H. P.; PARISE, E. R.; OLIVEIRA, C. P.; LEITE, N.; MARTINELLI, A.; GALIZZI, J.; OLIVEIRA, F. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. *Annals of hepatology*, 2016, Vol 10(1), pág.: 33-37.

da ROCHA, L. P. B.; de OLIVEIRA ALVES, J. V.; da SILVA AGUIAR, I. F.; da SILVA, F. H.; da SILVA, R. L.; de ARRUDA, L. G.; da SILVA, M. V. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. *Research, Society and Development*, 2021, Vol 10(10), e44101018282-e44101018282.

da ROSA, C.; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representations and use intention of phytoterapy in primary health care. *Ciência & saúde coletiva*, 2011, Vol 16(1), pág.: 311.

da SILVA BOLZANI, V.; VALLI, M.; PIVATTO, M.; VIEGAS, C. Natural products from Brazilian biodiversity as a source of new models for medicinal chemistry. *Pure and Applied Chemistry*, 2012, Vol 84(9), pág.: 1837-1846.

Da SILVA, C. M., CAETANO, F. H.; PEREIRA, F. D. C.; MORALES, M. A. M.; SAKANE, K. K.; MORAES, K. Cellular and molecular effects of *Baccharis dracunculifolia* DC and *Plectranthus barbatus* Andrews medicinal plant extracts on retinoid metabolism in the human hepatic stellate cell LX-2. *BMC complementary and alternative medicine*, 2019, Vol 19(1), pág.: 1-11.

de FIGUEREDO, C. A.; GURGEL, I. G. D.; JUNIOR, G. D. G. The National Policy on Medicinal Plants and Phytoterapy: building, perspectives and challenges. *Physis*, 2014, Vol 24(2), pág.: 381.

DEBLE, L.P. *Achyrocline* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [s. d]. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB108826>>. Acesso em: 07 setembro de 2022

DESHWAL, N.; SHARMA, A. K.; SHARMA, P. Review on hepatoprotective plants. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 2011, Vol 7, pág.: 15-26.

DHIMAN, A.; NANDA, A.; AHMAD, S. A recent update in research on the antihepatotoxic potential of medicinal plants. *J Chinese Integr Med*, 2012, Vol 10, pág.: 117-27.

DING, R. B.; TIAN, K.; HE, C. W.; JIANG, Y.; WANG, Y. T.; WAN, J. B. Herbal medicines for the prevention of alcoholic liver disease: A review. *J Ethnopharmacol* 2012, Vol 144, pág.: 457–65.

DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. *Pharmacological research*, 2016, Vol 112, pág.: 4-29.

ESPASANDIN, V. L.; das CHAGAS, L. C.; PIMENTEL, L. N. R.; SANTOS, C. P.; MOLINARO, K. Análise da internação, taxa de mortalidade e custos de tratamento hospitalar em pacientes com doença hepática alcoólica nas regiões brasileiras nos últimos 13 anos. *Brazilian Journal of Development*, 2021, Vol 7(6), pág.: 61696-61709.

FAGUNDES, N. C. A.; OLIVEIRA, G. L.; SOUZA, B. G. D. Etnobotânica de plantas medicinais utilizadas no distrito de Vista Alegre, Claro dos Poções–Minas Gerais, 2017.

FERRARO, G.; ANESINI, C.; OUVINA, A.; RETTA, D.; FILIP, R.; GATTUSO, M.; BANDONI, A. Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of *Achyrocline satureioides* flowers from different zones in Argentina. *Latin American Journal of Pharmacy*, 2008, Vol 27(4), pág.: 626-628.

FRANÇA, E. e VASCONCELLOS, A. G. "Herbal medicine patents in Brazil: an analysis of status of patent applications in the period of 1995-2017." *CC&T, Cadernos de Ciência & Tecnologia*, 2018, Vol 35(3), pág.: 329-359.

GAZOLLA, M. C.; MARQUES, L. M. M.; SILVA, M. G.; ARAÚJO, M. T. M. F.; MENDES, R. L.; da SILVA ALMEIDA, J. R. G.; LOPES, N. P. Characterization of 3-aminospirostane alkaloids from roots of *Solanum paniculatum* L. with hepatoprotective activity. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2020, Vol 34, e8705.

GIRISH, C. e PRADHAN, S. C. Drug development for liver diseases: focus on picroliv, ellagic acid and curcumin. *Fundamental & clinical pharmacology*, 2008, Vol 22(6), pág.: 623-632.

GIRISH, C. e PRADHAN, S. C. Indian herbal medicines in the treatment of liver diseases: Problems and promises. *Fund Clin Pharmacol*, 2012, Vol 26, pág.: 180–9.

GIRISH, C. e PRADHAN, S. C. Herbal drugs on the liver. In: *Liver Pathophysiology. Academic Press*, 2017, pág.: 605-620.

GUAN, Y. S. e HE, Q. Plants consumption and liver health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.

GUGLIUCCI, A. e MENINI, T. Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited *in vitro* by water extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides*. *Life Sciences*, 2002, Vol 71(6), pág.: 693-705.

GUYTON, A. C. e HALL, J. E. Guyton & Hall: tratado de fisiologia médica. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nature reviews drug discovery*, 2015, Vol 14 (2), pág.: 111-129.

HOFMANN, J.; HACKI, V.; ESSER, H.; MESZAROS, A. T.; FODOR, M.; ÖFNER, D.; HAUTZ, T. Cell-based regeneration and treatment of liver diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, Vol 22(19), pág.: 10276.

HOLZSCHUH, M. H.; GOSMANN, G.; SCHNEIDER, P. H.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BASSANI, V. L. Identification and stability of a new bichalcone in *Achyrocline satureioides* spray dried powder. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2010, Vol 65(9), pág.: 650-656.

IBGE, Instituto Brasileiro De Geografia Estatística. Biomas do Brasil, 2013. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/15842-biomas.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 12 de Junho de 2022.

JAYARAJ, R.; DEB, U.; BHASKAR, A. S.; PRASAD, G. B.; RAO, P. V. Hepatoprotective efficacy of certain flavonoids against microcystin induced toxicity in mice. *Environ Toxicol.* 2007, Vol 22, pág.: 472–479.

JEPSEN, P.; VILSTRUP, H.; SORENSEN, H. T. Alcoholic cirrhosis in Denmark—population-based incidence, prevalence, and hospitalization rates between 1988 and 2005: a descriptive cohort study. *BMC gastroenterology*, 2008.

KADARIAN, C.; BROUSSALIS, A. M.; MIÑO, J.; LOPEZ, P.; GORZALCZANY, S.; FERRARO, G.; ACEVEDO, C. Hepatoprotective activity of *Achyrocline satureioides* (Lam) DC. *Pharmacological Research*, 2002, Vol 45(1), pág.: 57-61.

KAPPEL, V. D.; PEREIRA, D. F.; CAZAROLLI, L. H.; GUESSER, S. M.; da SILVA, C. H. B.; SCHENKEL, E. P.; SILVA, F. R. Short and long-term effects of *Baccharis articulata* on glucose homeostasis. *Molecules*, 2012, Vol 17(6), pág.: 6754-6768.

KHAN, H.; ULLAH, H.; NABAVI, S. M. Mechanistic insights of hepatoprotective effects of curcumin: Therapeutic updates and future prospects. *Food and Chemical Toxicology*, 2019.

LEAL, L. K.; FONSECA, F. N.; PEREIRA, F. A.; CANUTO, K. M.; FELIPE, C. F.; FONTENELE, J. B.; VIANA, G. S. Protective effects of amburoside A, a phenol glucoside from *Amburana cearensis*, against CCl₄-induced hepatotoxicity in rats. *Planta medica*, 2008, Vol 74(05), pág.: 497-502.

LEE, C. H.; PARK, S. W.; KIM, Y. S.; KANG, S. S.; KIM, J. A.; LEE, S. H.; LEE, S. M. Protective mechanism of glycyrrhizin on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2007, Vol 30(10), pág.: 1898-1904.

LI, S.; WANG, N.; HONG, M.; TAN, H. Y.; PAN, G.; FENG, Y. Hepatoprotective effects of a functional formula of three Chinese medicinal herbs: experimental evidence and network pharmacology-based identification of mechanism of action and potential bioactive components. *Molecules*, 2018, Vol 23(2), pág.: 352.

LIANG, W.; CHIKRITZHS, T.; PASCAL., R.; BINNS, C. W. Mortality rate of alcoholic liver disease and risk of hospitalization for alcoholic liver cirrhosis, alcoholic hepatitis and alcoholic liver failure in Australia between 1993 and 2005. *Internal medicine journal*, 2011, Vol 41(1a), pág.: 34-41.

LIMA, I. R.; SILVA, I. B.; LIMA, R. M. L.; SILVA, T. M. S.; MAIA, M. B. S.; LEITE, S. P. Hepatoprotective efficacy of methanolic extract of *Indigofera suffruticosa* (Mill) on paracetamol-induced liver damage in mice. *Arquivos de Gastroenterologia*, 2019, Vol 56, pág.: 333-338.

MADRIGAL-SANTILLÁN, E.; MADRIGAL-BUJAJIDAR, E.; ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, I.; SUMAYA-MARTÍNEZ, M. T.; GUTIÉRREZ-SALINAS, J.; BAUTISTA, M.; MORALES-GONZÁLEZ, J. A. Review of natural products with hepatoprotective effects. *World journal of gastroenterology: WJG*, 2014, Vol 20(40), pág.: 14787.

MARTÍNEZ-BUSI, M.; ARREDONDO, F.; GONZÁLEZ, D.; ECHEVERRY, C.; VEGA-TEIJIDO, M. A.; CARVALHO, D.; ABIN-CARRIQUIRY, J. A. Purification, structural elucidation, antioxidant capacity and neuroprotective potential of the main polyphenolic compounds contained in *Achyrocline satureioides* (Lam) DC (Compositae). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2019, Vol 27(12), 2579-2591.

MARTINEZ, M. J. A.; BESSA, A. L.; BENITO, P. B. Biologically active substances from the genus *Baccharis* L.(Compositae). *Studies in Natural Products Chemistry*, 2005, Vol 30, pág.: 703-759.

MATTOS, G.; CAMARGO, A.; de SOUSA, C. A.; ZENI, A. L. B. Medicinal plants and herbal medicines in Primary Health Care: the perception of the professionals. *Ciencia & saude coletiva*, 2018, Vol 23(11), pág.: 3735-3745.

MILAGRES, E. A. N.; MEGUERIAN, B. A.; CARVALHO, V. S.; LOBATO, V.; de SOUZA ARRUDA, L.; FIUT, M. A. Eficácia das plantas medicinais *Cynara scolymus* L. e *Silybum marianum* (L.) Gaertn em relação ao dano hepático: um estudo de revisão. *VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde*, 2020, Vol 32(3), pág.: 187-201.

MORESCO, K. S.; SILVEIRA, A. K.; SCHNORR, C. E.; ZEIDÁN-CHULIÁ, F.; BORTOLIN, R. C.; BITTENCOURT, L. D. S.; MOREIRA, J. C. F. Supplementation with *Achyrocline satureioides* inflorescence extracts to pregnant and breastfeeding rats induces tissue-specific changes in enzymatic activity and lower neonatal survival. *Biomedicines*, 2017a, Vol 5(3), pág.: 53.

MORESCO, K. S.; SILVEIRA, A. K.; ZEIDÁN-CHULIÁ, F.; CORREA, A. P. F.; OLIVEIRIA, R. R.; BORGES, A. G.; MOREIRA, J. C. F. Effects of *Achyrocline satureioides* inflorescence extracts against pathogenic intestinal bacteria: chemical characterization, *in vitro* tests, and *in vivo* evaluation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017b.

MURIEL, P. e RIVERA-ESPINOZA, Y. Beneficial drugs for liver diseases. *J Appl Toxicol*, 2008, Vol 28, pág.: 93–103.

NADER, L. A.; de MATTOS, A. A.; BASTOS, G. A. Burden of liver disease in Brazil. *Liver International*, 2014, Vol 34(6), pág.: 844-849.

NAKAJIMA, J. N.; LOEUILLE, B.; HEIDEN, G.; DEMATTEIS, M.; HATTORI, E. K. O.; MAGENTA, M.A.G. Asteraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. [Internet]. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/listaBrasil>>. Acesso em 19 de Julho de 2022.

NETO, J. A. R.; TARÔCO, B. R. P.; dos SANTOS, H. B.; THOMÉ, R. G.; WOLFRAM, E.; de A. RIBEIRO, R. I. M. Using the plants of Brazilian Cerrado for wound healing: From traditional use to scientific approach. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020, Vol 260, 112547.

NEUMAN, M. G.; COHEN, L.; OPRIS, M.; NANAU, R. M.; JEONG, H. Hepatotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 2015, Vol 18(4), pág.: 825-843.

NEWMAN, D. J. e CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of natural products*, 2016, Vol 79(3), pág.: 629-661.

OKAIYETO, K.; NWODO, U.U.; MABINYA, L.V.; OKOH, A.I. A Review on Some Medicinal Plants with Hepatoprotective Effects. *Pharmacogn. Rev.* 2018, Vol 12, pág.: 186–199.

OLIVEIRA, E. R. D., e MENINI N. L. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do povoado de Manejo, Lima Duarte-MG. *Revista Brasileira de plantas medicinais*, 2012, Vol 14, pág.: 311-320.

PÁDUA, B. D. C.; ROSSONI JUNIOR, J. V.; de BRITO MAGALHÃES, C. L.; CHAVES, M. M.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L.; COSTA, D. C. Protective effect of *Baccharis trimera* extract on acute hepatic injury in a model of inflammation induced by acetaminophen. *Mediators of inflammation*, 2014, Vol 2014.

PEREIRA, C. G.; GUALTIERI, I. P.; MEIRELES, M. A. A. Effect of different extraction processes on the recovery of extracts from *Achyrocline satureioides* DC: An evaluation of antioxidant activity. *Separation Science and Technology*, 2008, Vol 43(6), pág.: 1549-1563.

PEREIRA, C.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. Extraction, identification, fractionation and isolation of phenolic compounds in plants with hepatoprotective effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, Vol 96(4), pág.: 1068-1084.

POLYDORO, M.; de SOUZA, K. C. B.; ANDRADES, M. E.; da SILVA, E. G.; BONATTO, F.; HEYDRICH, J.; MOREIRA, J. C. F. Antioxidant, a pro-oxidant and cytotoxic effects of *Achyrocline satureioides* extracts. *Life sciences*, 2004, Vol 74(23), pág.: 2815-2826.

PORTO, Celmo Celeno. Vademecum de clínica médica. In: Vademecum de clínica médica. 2007.

PRADHAN, S. C. e GIRISH, C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian journal of medical research*, 2006, Vol 124(5), pág.: 491.

RABELO, A. C. S.; de PÁDUA LÚCIO, K.; ARAÚJO, C. M.; de ARAÚJO, G. R.; de AMORIM MIRANDA, P. H.; CARNEIRO, A. C. A.; COSTA, D. C. *Baccharis trimera*

protects against ethanol induced hepatotoxicity in vitro and in vivo. *Journal of ethnopharmacology*, 2018, Vol 215, pág.: 1-13.

RÊGO, A. G. S.; de MACEDO REIS, L. C.; da SILVA, F. L. Fitomedicamentos utilizados na medicina popular e suas potencialidades pouco exploradas. *Research, Society and Development*, 2021, 10(16), e189101623017-e189101623017.

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*, 2012, Vol 38, pág.: 27-38.

RITTER, C. S.; BALDISSERA, M. D.; GRANDO, T. H.; SOUZA, C. F.; SAGRILLO, M. R.; da SILVA, A. P. T.; MONTEIRO, S. G. *Achyrocline satureioides* essential oil-loaded in nanocapsules reduces cytotoxic damage in liver of rats infected by *Trypanosoma evansi*. *Microbial pathogenesis*, 2017, Vol 103, pág.: 149-154.

RIVERA, F.; GERVAZ, E.; SERE, C.; DAJAS, F. Toxicological studies of the aqueous extract from *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC (Marcela). *Journal of ethnopharmacology*, 2004, Vol 95(2-3), pág.: 359-362.

ROBERTO, M. M.; MATSUMOTO, S. T.; JAMAL, C. M.; MALASPINA, O.; MARIN-MORALES, M. A. Evaluation of the genotoxicity/mutagenicity and antigenotoxicity/antimutagenicity induced by propolis and *Baccharis dracunculifolia*, by in vitro study with HTC cells. *Toxicology in Vitro*, 2016, Vol 33, pág.: 9-15.

RODRIGUES, A. P. e ANDRADE, L. H. C. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais utilizadas pela comunidade de Inhamã, Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 2014, Vol 16, pág.: 721-730.

RODRIGUES, G.; Marcolin E.; BONA, S.; PORAWSKI, M.; LEHMANN, M.; MARRONI, N. P. 'Hepatic alterations and genotoxic effects of *Croton cajucara* Benth (SACACA) in diabetic rats', *Arq. Gastroenterol.* 2010, Vol 47, pág.: 301–305.

RODRIGUEZ-MATEOS, A., VAUZOUR, D.; KRUEGER, C. G.; SHANMUGAM NAYAGAM, D.; REED, J.; CALANI, L.; CROZIER, A. Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. *Archives of toxicology*, 2014, Vol 88(10), 1803-1853.

ROQUE, N., NAKAJIMA, J., HEIDEN, G., MONGE, M., & RITTER, M. Asteraceae in Flora do Brasil 2020. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. 2021 Disponível em:< <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB55>>. Acesso em, 7 de setembro de 2022.

SAHOO, N.; MANCHIKANTI, P.; DEY, S. Herbal drugs: standards and regulation. *Fitoterapia*, 2010, Vol 81(6), pág.: 462-471.

SALGUEIRO, A. C.; FOLMER, V.; da ROSA, H. S.; COSTA, M. T.; BOLIGON, A. A.; PAULA, F. R.; PUNTEL, G. O. *In vitro* and *in silico* antioxidant and toxicological activities of *Achyrocline satureioides*. *Journal of ethnopharmacology*, 2016, Vol 194, pág.: 6-14.

SCHARAMM, S.; KOHLER, N.; ROZHIN, W. (2019). Pyrrolizidine alkaloids: biosynthesis, biological activities and occurrence in crop plants. *Molecules*, 2019, Vol 24 (3), pág.: 498.

FLORA CAMPESTRE; *Achyrocline satureioides* in Flora Campestre, 2020. Disponível em: <<https://www.ufrgs.br/floracampestre/achyrocline-satureioides/>>. Acesso em: 27 de Julho de 2022.

SINGH, A.; BHAT, T. K.; SHARMA, O. P. Clinical Biochemistry of Hepatotoxicity. *J Clinic Toxicol* S4: 001. doi: 10.4172/2161-0495. S4-001 *J Clinic Toxicol Clinical Pharmacology: Research & Trials* ISSN: 2161-0495 JCT, an open access journal. *vitro Systems*, 2011.

SRIVASTAVA, R. e SRIVASTAVA, P. Hepatotoxicity and the Role of Some Herbal Hepatoprotective Plants in Present Scenario. *Int. J. Dig. Dis.* 2018, Vol 4, pág.: 1–4

SUBRAMANIAM, S.; KHA, H. B. H., ELUMALAI, N.; LAKSHMI, S. Y. S. Hepatoprotective effect of ethanolic extract of whole plant of *Andrographis paniculata* against CCl₄-induced hepatotoxicity in rats. *Comp Clin Path*, 2015, Vol 24, pág.: 1–7.

TIEPPO, M.; PORAWSKI, M.; SALVADOR, M.; MOREIRA, A. J.; COLLADO, P. S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; MARRONI, N. P. *Croton cajucara* BENTH. Leaf Extract Scavenges the Stable Free Radical DPPH and Protects Against Oxidative Stress Induced by Paraquat. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2006, Vol 29(1), pág.: 161-165.

TROPICOS. *Achyrocline satureioides* Lam. DC. Missouri Botanical Garden. [s. d.]. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Name/2717100>>. Acesso em 19 de Julho de 2022.

VALAN, M. F.; BRITTO, A. J. B.; VENKATARAMAN, R. Phytoconstituens with hepatoprotective activity. *Int J Chem Sci*, 2010, Vol 8, pág.: 1421–32.

VALLI, M.; dos SANTOS, R. N.; FIGUEIRA, L. D.; NAKAJIMA, C. H.; CASTRO-GAMBOA, I.; ANDRICOPULO, A. D.; BOLZANI, V. S. Development of a natural products database from the biodiversity of Brazil. *Journal of natural products*, 2013, Vol 76(3), pág.: 439-444.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2018, Vol 90, pág.: 763-778.

VARGAS-MENDOZA, N.; MADRIGAL-SANTILLÁN, E.; MORALES-GONZÁLEZ, Á.; ESQUIVEL-SOTO, J.; ESQUIVEL-CHIRINO, C.; GONZÁLEZ-RUBIO, M. G. L.; MORALES-GONZÁLEZ, J. A. Hepatoprotective effect of silymarin. *World journal of hepatology*, 2014, Vol 6(3), 144.

VÁSQUEZ, S. P. F.; MENDONÇA, M. S. D.; NODA, S. D. N. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. *Acta amazônica*, 2014, Vol 44, 457-472.

VENMATHI MARAN, B. A.; IQBAL, M.; GANGADARAN, P.; AHN, B. C.; RAO, P. V.; SHAH, M. D. Hepatoprotective Potential of Malaysian Medicinal Plants: A Review on Phytochemicals, Oxidative Stress, and Antioxidant Mechanisms. *Molecules*, 2022, Vol 27(5), pág.: 1533.

WELCH, C.; HARRISON, D.; SHORT, A.; ROWAN, K. The increasing burden of alcoholic liver disease on United Kingdom critical care units: secondary analysis of a high quality clinical database. *Journal of health services research & policy*, 2008, Vol 13.

WHO, The world medicines situation 2011. Traditional medicines: global situation, issues and challenges. Geneva: WHO, 2011

WHO, World Health Organization. Global Burden of Disease Estimates for 2000–2012; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2018.

ZARDETO-SABEC, G.; ALMEIDA DE JESUS, R.; QUEMEL, F. S.; ZENAIDE, F. S. Medicinal Plants as an Alternative in the Treatment of Cancer. *Braz. J. Surg. Clin. Res.*, 2019, Vol 9, pág.: 75-80.

ZÁRYBNICKÝ, T.; BOUSOVÁ, I.; AMBROZ, M.; SKÁLOVÁ, L. Hepatotoxicity of monoterpenes and sesquiterpenes. *Archives of toxicology*, 2018, Vol 92(1), pág.: 1-13.

ZHANG, A.; SUN, H.; WANG, X. Recent advances in natural products from plants for treatment of liver diseases. *European journal of medicinal chemistry*, 2013, Vol 63, pág. 570-577.