

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 23/02/2018.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

KAREN CRISTIANE HIGA

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E CITOTOXICIDADE
DOS EXTRATOS GLICÓLICOS DE *Cynara cardunculus*
var. *scolymus* (L.) Fiori (ALCACHOFRA), *Myracrodruon*
urundeuva Allemão (AROEIRA-DO-SERTÃO) E
Camellia sinensis (L.) Kuntze (CHÁ VERDE)**

2016

KAREN CRISTIANE HIGA

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E CITOTOXICIDADE DOS
EXTRATOS GLICÓLICOS DE *Cynara cardunculus* var. *scolymus*
(L.) Fiori (ALCACHOFRA), *Myracrodruon urundeuva* Allemão
(AROEIRA-DO-SERTÃO) E *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (CHÁ
VERDE)**

Tese apresentada ao curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP – Univ Estadual Paulista, Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área de Microbiologia / Imunologia.

Orientadora: Profa. Adj. Luciane Dias de Oliveira

São José dos Campos

2016

Apresentação gráfica e normatização de acordo com:
Alvarez S, Coelho DCAG, Couto RAO, Durante APM. Guia prático para
Normalização de Trabalhos Acadêmicos do ICT. Rev. São José dos
Campos: ICT/UNESP; 2016.

Higa, Karen Cristiane

Atividade anti-inflamatória e citotoxicidade dos extratos glicólicos de *Cynara cardunculus* var. *scolymus* (L.) Fiori (alcachofra), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira-do-sertão) e de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (chá verde) / Karen Cristiane Higa. - São José dos Campos : [s.n.], 2016.
66 f. : il.

Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista, 2016.
Orientador: Luciane Dias de Oliveira.

1. Ação anti-inflamatória de extratos glicólicos. 2. Citotoxicidade. 3. Alcachofra. 4. Aroeira-do-sertão. 5. Chá verde .
I. Oliveira, Luciane Dias de , orient. II. Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho'. IV. UNESP - Univ Estadual Paulista. V. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Achille Bassi e Seção Técnica de Informática, ICMC/USP com adaptações - STATi e STI do ICT/UNESP. Dados fornecidos pelo autor.

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 23 de fevereiro de 2016
E-mail: higa_ka@hotmail.com

Assinatura: _____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Adj. Luciane Dias de Oliveira (Orientadora)

Instituto de Ciências e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

Profa Dra. Luana Marotta Reis de Vasconcelos

Instituto de Ciências e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Fernanda Malagutti Tome

UNIP - Universidade Paulista
Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Naira Correia Cusma Pelógia

UNITAU - Universidade de Taubaté
Campus de Taubaté

Profa. Dra. Simey Thury Vieira Fisch

UNITAU - Universidade de Taubaté
Campus de Taubaté

São José dos Campos, 23 de fevereiro de 2016.

DEDICATÓRIA

A Deus que me abençoou com essa oportunidade e me deu forças para concluir a pesquisa e colocou pessoas maravilhosas ao meu lado durante este período.

A Ana Cecília e todas amigas do Centro Cultural Alfa que me apoiaram e rezaram por mim.

Aos meus pais, Satiko Tsunoda Higa e Mário Higa, pelo carinho, paciência e dedicação. Não há palavras suficientes para agradecer-lhes por tudo de bom que ambos fizeram e fazem por mim.

Aos meus familiares e meus irmãos Juliane e Eduardo que sempre torceram por mim.

AGRADECIMENTOS

À UNESP - Univ Estadual Paulista, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Prof. Dr. Carlos Augusto Pavanelli e do vice-diretor Prof. Dr. Estevão Tomomitsu Kimpara,

Ao Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, na pessoa da coordenadora Profa. Adj. Juliana Campos Junqueira,

À minha orientadora Profa. Adj. Luciane Dias de Oliveira, pelo convívio amigável, atenção, dedicação, carinho, paciência em me ajudar a superar as dificuldades no decorrer da pesquisa,

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, prof. Tit. Antonio Olavo Cardoso Jorge, Profa. Adj. Cristiane Yumi Koga-Ito, profa. Dra. Graziella Nuernberg B. B. Brito, prof. Dr. Mauro P. Samaria, profa. Dra. Ana Lia Anbinder, profa. Dra. Samira Esteves Afonso Camargo, prof. Dr. Sigmar de Mello Rode pelo convívio fraterno e atenção na minha formação acadêmica,

À professoras Dra. Luana M. R. de Vasconcellos, a profa. Dra. Fernanda Malagutti Tome, a profa. Dra. Naira Correia Cusma Pelógia, e a profa. Dra. Simey Thury Vieira Fisch por aceitarem o convite e se disporem a participar da minha banca.

AGRADECIMENTOS

À minha amiga, Dra. Adeline, que me incentivou a fazer o doutorado, e que sempre esteve disposta a ajudar quando preciso,

Ao Dr. Jonatas Rafael, à Daiane e ao Felipe que permitiram que os acompanhassem em seus experimentos, o que me ajudou muito na prática e no dia a dia da pesquisa,

Aos amigos, Dra. Miriam, Rafaella, Marisol, Marcelo, Ana Carolina, Nádia, Isabela, Felipe, Ana Luíza, Lucas, Leile, Lívia, Fernanda, Rodney e Ligia companheiros de créditos e de trabalho,

Aos professores. MSc. Simone Lapena, MSc.Leda Robusti, Dra. Leila, Dra. Mara, prof Dr. Cleber e demais docentes da Unip que sempre me ajudaram,

À Olga Z. Higa, Fernando Baratela, Teresa Marsi, Anderson Lobo e todos que contribuíram no trabalho de biomateriais.,

À Renata e toda equipe da biblioteca Professora Leila Novaes que sempre me ajudaram na pesquisa e à Mariana amiga que sempre me apoiou.

“Persevera no cumprimento exato das obrigações de agora. - Esse trabalho - humilde, monótono, pequeno - é oração plasmada em obras que te preparam para receber a graça do outro trabalho - grande, vasto e profundo - com que sonhas.”

São Josemaria Escrivá

SUMÁRIO

RESUMO	08
ABSTRACT	09
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Macrófagos e citocinas	14
2.2 Plantas e fitoterápicos	15
2.2 Chá verde (<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze)	17
2.3 Aroeira-do-sertão (<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão)	21
2.4 Alcachofra (<i>Cynara cardunculus</i> var. <i>scolymus</i> (L.)Fiori ...	23
3 PROPOSIÇÃO	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 Avaliação da citotoxicidade dos extratos	28
4.1.1 Ensaio de citotoxicidade com MTT	30
4.2 Avaliação da atividade anti-inflamatória dos extratos	32
4.2.1 Ensaio Imunoenzimático ELISA.....	34
4.3 Análise estatística	37
5 RESULTADOS	38
6 DISCUSSÃO	52
7 CONCLUSÃO	60
8 REFERÊNCIAS	61

Higa KC. Atividade anti-inflamatória e citotoxicidade dos extratos glicólicos de *Cynara cardunculus* var. *scolymus* (L.) Fiori (alcachofra), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira-do-sertão) e de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (chá verde) [tese]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2016.

RESUMO

A baixa citotoxicidade e ação anti-inflamatória são características interessantes para enxaguatórios bucais, dentifrícios e medicamentos de uso odontológico. Sendo assim, é necessário avaliar estas propriedades nos extratos glicólicos vegetais que podem ser ingredientes das formulações desses produtos. O presente estudo avaliou as seguintes atividades biológicas para cada um dos extratos glicólicos de *Cynara cardunculus* var. *scolymus* (L.) Fiori (alcachofra), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira-do-sertão) e *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (chá verde) em culturas de macrófagos de camundongo (RAW 264.7) pelo tempo de exposição de 5 min e 24 h: a) atividade citotóxica pelo método do MTT em 11 diluições seriadas, sendo que a concentração inicial dos extratos foi de 200mg/mL. b) atividade anti-inflamatória, após estímulo com lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli* pelo método ELISA quantificou IL-1 β , TNF- α e IL-10. Os resultados foram analisados estatisticamente por ANOVA e teste de Tukey, com $p \leq 5\%$. A citotoxicidade dos extratos foi dose e tempo dependentes. No tempo de exposição de 5 min, o extrato de alcachofra apresentou citotoxicidade na concentração de 200 mg/mL. No tempo de exposição de 24 h, o chá verde apresentou citotoxicidade nas concentrações ≥ 50 mg/mL, aroeira-do-sertão estimulou a proliferação de macrófagos na concentração de 0,39 mg/mL a 12,5 mg/mL e a alcachofra apresentou citotoxicidade nas concentrações $\geq 12,5$ mg/mL. O extrato de chá verde apresentou potencial anti-inflamatório na concentração de 12,5 mg/mL e foi dose dependente, promovendo diminuição da produção de citocinas pró-inflamatória, como IL-1 β e TNF- α . A aroeira-do-sertão apresentou ação imunopotenciadora na concentração de 12,5 mg/mL no tempo de exposição de 24 h. Com relação a alcachofra há necessidade de novos estudos para identificar sua ação imunomoduladora.

Palavras-chave: Ação anti-inflamatória de extratos glicólicos. Citotoxicidade. Alcachofra. Aroeira-do-sertão. Chá verde. RAW 264.7.

Higa KC. *Anti-inflammatory activity and cytotoxicity of glycolic extracts of Cynara cardunculus var. scolymus (L.) Fiori (artichoke), Myracrodruon urundeuva Allemão (pepper tree) and Camellia sinensis (L.) Kuntze (green tea) [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): Institute of Science and Technology, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2016.*

ABSTRACT

The low cytotoxicity and anti-inflammatory action are interesting features for mouthwashes, toothpastes and dental medication. Therefore, it is necessary to evaluate these properties in plant glycolic extracts which can be ingredients of the formulation of these products. This study evaluated the following biological activities for each of the glycolic extracts of Cynara cardunculus var. scolymus (L.) Fiori (artichoke), Myracrodruon urundeuva Allemão (pepper tree) and Camellia sinensis (L.) Kuntze (green tea) in mouse macrophage cultures (RAW 264.7) by the exposure time of 5 min and 24 h. a) cytotoxicity by MTT method in 11 serial dilutions, the initial concentration of the extracts was 200 mg/mL. b) Anti-inflammatory activity after stimulation with lipopolysaccharide (LPS) of Escherichia coli was performed by immunoenzymatic test (ELISA) using specific antibodies to quantify IL-1 β , TNF- α and IL-10. The results were subordinated to statistical analyses (ANOVA and Turkey test), with $p \leq 0,05$. The cytotoxicity of the extracts was dependent on dose and time. At 5 min exposure time, artichoke extract showed cytotoxicity at a concentration of 200 mg/mL. At 24 h exposure time, green tea showed cytotoxicity at the concentrations ≥ 50 mg/mL, pepper tree stimulated the proliferation of macrophages in the concentrations of 0,39mg/mL to 12.5 mg/mL and artichoke showed cytotoxicity at the concentrations ≥ 12.5 mg/mL. Green tea extract showed anti-inflammatory potential at a concentration of 12.5 mg/mL and was dependent on dose, promoting a decrease production of pro-inflammatory cytokines as IL-1 β and TNF- α . Pepper tree presented immunopotentiating action at a concentration of 12.5 mg/mL at 24 h of exposure time. Regarding artichoke, there is a need for further studies to identify their immunomodulatory action.

Keywords: Anti-inflammatory activity of glycolic extract. Cytotoxicity. Artichoke. Pepper tree. Green tea. RAW 264.7.

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento tradicional de plantas medicinais para fins terapêuticos é amplamente utilizado, mas, para que seu uso seja seguro, há necessidade de pesquisas para avaliar suas propriedades terapêuticas e suas possíveis ações tóxicas para o organismo vivo. Assim, o conhecimento tradicional de plantas medicinais se aliado à pesquisa científica podem potencializar a produção de novos medicamentos e dentifrícios.

O enxaguatório bucal e/ou dentifrício ideal apresenta propriedades como baixa citotoxicidade e ação anti-inflamatória. Sendo assim, é necessário avaliar estas propriedades nos extratos glicólicos vegetais que farão parte da formulação de produtos de uso odontológico.

De acordo com a literatura (Zapolska-Downar et al., 2002; Zhu et al., 2005; Figueredo et al., 2014), pode-se verificar que existem muitos estudos que utilizam extratos alcoólicos de diversas plantas. Em 2002, Reis et al. verificaram o efeito genotóxico do etanol em células da mucosa bucal pelo aumento de micronúcleos em células esfoliadas da língua no grupo de indivíduos expostos ao etanol em relação ao grupo controle. Assim, o álcool pode agredir as células da mucosa bucal, sendo, portanto, de interesse analisar extratos vegetais livres de álcool, como os extratos glicólicos que possuem propilenoglicol como veículo.

Existe no mercado alguns enxaguatórios bucais sem álcool como Colgate Plax® e Listerine Zero®, ambos contêm na formulação propilenoglicol. Este é muito usado como carreador para emulsificantes e veículo para flavorizantes preferencialmente ao etanol, pois impede a volatilização e fornece um aroma mais estável (Rowe et

al., 2003). O propilenoglicol é encontrado também em formulações de cosméticos. Esta substância é um fluido incolor, viscoso, apresenta baixa toxicidade sendo solúvel tanto em água como em álcool. Além disso, o propilenoglicol apresenta baixo potencial de sensibilização da pele (Lessmann et al., 2015). Assim, o propilenoglicol presente nos extratos glicólicos vegetais pode ser empregado em formulações de medicamentos e dentifrícios sem apresentar risco à saúde.

Há várias formulações de enxaguatórios bucais, estes produtos são importantes para prevenir o surgimento da cárie e da gengivite juntamente com a escovação, mas não há no mercado enxaguatórios contendo extratos glicólicos vegetais.

Os extratos glicólicos escolhidos para o presente estudo foram das seguintes espécies vegetais: *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (chá verde), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira-do-sertão) e *Cynara cardunculus* var. *scolymus* (L.) Fiori (alcachofra), sendo que esta última pertence à Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) (Brasil, 2009).

Chá verde, obtida das folhas da *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, é um dos chás mais consumidas no mundo. A obtenção do chá verde é a partir das folhas não oxidadas desta espécie. O chá verde é amplamente empregado em várias formulações de cosméticos, alimentos funcionais e fitoterápicos.

O chá preto é originado das folhas oxidadas da *Camellia sinensis*, muito consumido como alimento. Tanto o chá verde como o chá preto é originado das folhas da *Camellia sinensis*, mas apresentam constituintes químicos diferentes. O chá verde tem atividade anti-inflamatória maior que o chá preto e igual à indometacina em ratos com artrite reumatoide (Ramadan et al., 2015). Um estudo clínico randomizado em pacientes com periodontite sobre o efeito da pasta de dente com 1,4% do extrato de chá verde observou que este pode servir

como um coadjuvante terapêutico para tratamento da periodontite (Hrishi et al., 2015).

Vários estudos sobre o chá verde sugerem sua ação anti-inflamatória (Choi et al., 2014; Hrishi et al., 2014; Ramadan et al., 2015; Marinovic et al., 2015; Cyboran et al., 2015; Chen et al., 2015), antioxidante (Ramadan et al., 2015; Cyboran et al., 2015) e antimicrobiana (Zhao et al., 2013; Radji et al., 2013; Antunes et al., 2014). Tais ações foram estudadas tanto *in vitro* quanto *in vivo*, utilizando diversos derivados vegetais como extrato seco, extrato aquoso e extrato alcóolico, mas são escassos os estudos sobre a ação anti-inflamatória em extratos glicólicos do chá verde.

Myracrodruon urundeuva Allemão, muito conhecida como aroeira-do-sertão é uma espécie nativa do cerrado brasileiro. Em um estudo sobre plantas medicinais de Pernambuco observou que os extratos de aroeira-do-sertão apresentaram indicações terapêuticas abrangentes como: ação anti-inflamatória e expectorante, pode ainda ser usado para tratamento de gonorréia, úlceras bucais e doenças nas gengivas (Saraiva et al., 2015).

Cynara cardunculus var. *scolymus* (L.) Fiori. conhecida popularmente como alcachofra é uma espécie perene e herbácea, nativa da região mediterrânea. Desde tempos antigos é apreciado como um prato saboroso com propriedades benéficas para saúde. A alcachofra contém substâncias com ação antioxidante (Zapolska-Downar et al., 2002; Durazzo et al., 2013; Gurel et al., 2013; Fissore et al., 2014), anti-inflamatórias (Zapolska-Downar et al., 2002; Yasukawa et al., 2010; Gurel et al., 2013; Tanaka et al., 2013) e antimicrobiana (Zhu et al., 2004, 2005). Além disso, o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira assinala que a infusão de suas folhas secas deve ser usada via oral como antidispeptico, colerético e colagogo (Brasil, 2015).

Diante dos estudos promissores dos extratos vegetais obtidos dessas três espécies de plantas medicinais, ainda são poucas as

pesquisas sobre extratos glicólicos vegetais. Assim, há um grande interesse em avaliar a citotoxicidade e ação anti-inflamatória desses extratos para sua aplicação na área odontológica em diferentes formulações terapêuticas.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que:

A citotoxicidade dos extratos foi dose e tempo dependentes. No tempo de exposição de 5 min, o extrato de alcachofra apresentou citotoxicidade na concentração de 200 mg/mL. No tempo de exposição de 24 h, o chá verde apresentou citotoxicidade nas concentrações ≥ 50 mg/mL, aroeira-do-sertão estimulou a proliferação de macrófagos nas concentrações de 0,39 mg/mL a 12,5 mg/mL e a alcachofra apresentou citotoxicidade nas concentrações $\geq 12,5$ mg/mL. O extrato de chá verde apresentou potencial anti-inflamatório na concentração de 12,5 mg/mL, promovendo redução de IL-1 β e TNF- α . A aroeira-do-sertão apresentou ação imunopotenciadora na concentração de 12,5 mg/mL no tempo de exposição de 24 h, com aumento de IL-1 β e TNF- α . Com relação a alcachofra há necessidade de novos estudos para identificar sua ação imunomoduladora.

8 REFERÊNCIAS*

Antunes DP, Salvia AC, de Araújo RM, Di Nicoló R, Koga Ito CY, de Araújo MA. Effect of green tea extract and mouthwash without alcohol on *Candida albicans* biofilm on acrylic resin. *Gerodontology*. 2014 May 21. doi: 10.1111/ger.12132.

Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 267 de 22 de setembro de 2005. Aprova o “Regulamento técnico de espécies vegetais para o preparo de chás” [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). [acesso em 23 de Julho de 2015]. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/e2ad670047457e3d8a4ade3fbc4c6735/RDC_267_2005.pdf?MOD=AJPERES

Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 26 de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). [acesso em 23 de Julho de 2015]. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a9e43d0044140f579b5affb9cd167b7c/rdc0026_13_05_2014.pdf?MOD=AJPERES

Brasil. Ministério da Saúde. Bulas padrão de medicamentos fitoterápicos. [Internet]. Brasília (DF): Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); 2011. [acesso em 23 de Julho de 2015]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/bula_padronizadas_fitoterapico.pdf

Brasil. Ministério da Saúde. Formulário de Fitoterápicos Farmacopéia Brasileira. [Internet]. Brasília (DF): Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). [acesso em 23 de Julho de 2015]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/conteudo/Formulario_de_Fitoterapicos_da_Farmacopeia_Brasileira.pdf

*Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [homepage na Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [disponibilidade em 2008 ago; citado em 25 ago.] disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Brasil. Ministério da Saúde. Lista de Plantas medicinais de interesse para o SUS (RENISUS) de 6 de março de 2009. [Internet]. Brasília (DF): Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). [acesso em 23 de Julho de 2015] Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvc/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf

Carlini EA, Duarte-Almeida JM, Tabach R. Assessment of the toxicity of the Brazilian pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Aroeira-do-sertão). *Phytother Res.* 2013;27(5):692-8. doi: 10.1002/ptr.4767. Epub 2012 Jul 4.

Carvalho Nilo Bitu V, Matias EF, de Lima WP, da Costa Portelo A, Coutinho HD, de Menezes IR. Ethnopharmacological study of plants sold for therapeutic purposes in public markets in Northeast Brazil. *J Ethnopharmacol.* 2015;172:265-72. doi: 10.1016/j.jep.2015.06.022. Epub 2015 Jun 20.

Chen J, Xu J, Li J, Du L, Chen T, Liu P, et al. Epigallocatechin-3-gallate attenuates lipopolysaccharide-induced mastitis in rats via suppressing MAPK mediated inflammatory responses and oxidative stress. *Int Immunopharmacol.* 2015;26(1):147-52. doi: 10.1016/j.intimp.2015.03.025

Choi YS, Bae CH, Song SY, Kim YD. The effect of Epigallocatechin-3-gallate in allergic airway inflammation. *Rhinology.* 2014;52(4):406-12. doi: 10.4193/Rhin13.189.

Cyboran S, Strugała P, Włoch A, Oszmiański J, Kleszczyńska H. Concentrated green tea supplement: biological activity and molecular mechanisms. *Life Sci.* 2015;126:1-9. doi: 10.1016/j.lfs.2014.12.025

Durazzo A, Foddai MS, Temperini A, Azzini E, Venneria E, Lucarini M, et al. Antioxidant properties of seeds from lines of artichoke, cultivated cardoon and wild cardoon. *Antioxidants (Basel).* 2013;2(2):52-61. doi: 10.3390/antiox2020052.

Estevão LR, Medeiros JP, Simões RS, Arantes RM, Rachid MA, Silva RM, et al. Mast cell concentration and skin wound contraction in rats treated with Brazilian pepper essential oil (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *Acta Cir Bras.* 2015;30(4):289-95. doi: 10.1590/S0102-865020150040000008

Estevão LR, Mendonça FS, Baratella-Evêncio L, Simões RS, Barros ME, Arantes RM, et al. Effects of aroeira-do-sertão (*Schinus terebinthifolius* Raddi) oil on cutaneous wound healing in rats. *Acta Cir Bras*. 2013;28(3):202-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502013000300008>

Estève D, Galitzky J, Bouloumié A, Fonta C, Buchet R, Magne D. Multiple functions of MSCA-1/TNAP in adult mesenchymal progenitor/stromal cells. *Stem Cells Int*. 2016;2016:1815982. doi: 10.1155/2016/1815982

Figueredo FG, Lucena BF, Tintino SR, Matias EF, Leite NF, Andrade JC, et al. Chemical composition and evaluation of modulatory of the antibiotic activity from extract and essential oil of *Myracrodruon urundeuva*. *Pharm Biol*. 2014;52(5):560-5. doi: 10.3109/13880209.2013.853810.

Fissore EN, Santo Domingo C, Pujol CA, Damonte EB, Rojas AM, Gerschenson LN. Upgrading of residues of bracts, stems and hearts of *Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* to functional fractions enriched in soluble fiber. *Food Funct*. 2014;5(3):463-70. doi: 10.1039/c3fo60561b.

Guerra MP, Nodari RO. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. Da UFSC; 2000. Cap. 1. p. 11-24.

Gurel E, Ustunova S, Ergin B, Tan N, Caner M, Tortum O, et al. Herbal haemorrhoidal cream for haemorrhoids. *Chin J Physiol*. 2013;56(5):253-62. doi: 10.4077/CJP.2013.BAB127

Hong JM, Kwon OK, Shin IS, Song HH, Shin NR, Jeon CM, et al. Anti-inflammatory activities of *Physalis alkekengi* var. *franchetii* extract through the inhibition of MMP-9 and AP-1 activation. *Immunobiology*. 2015;220(1):1-9. doi:10.1016/j.imbio.2014.10.004

Hrishi T, Kundapur P, Naha A, Thomas B, Kamath S, Bhat G. Effect of adjunctive use of green tea dentifrice in periodontitis patients: a randomized controlled pilot study. *Int J Dent Hyg*. 2015. doi: 10.1111/idh.12131. [Epub ahead of print]

Jesus D, Oliveira JR, Oliveira FE, Higa KC, Junqueira JC, Jorge AOC, et al. *Persea americana* glycolic extract: In vitro study of antimicrobial activity against *Candida albicans* biofilm and cytotoxicity evaluation. *The Scientific World Journal*. 2015;Nov 5 doi:10.1155/2015/531972. [Epub ahead of print]

Jorjão AL. Avaliação dos efeitos de *Lactobacillus rhamnosus* e seus produtos sobre a produção de mediadores pró e anti-inflamatórios por macrófagos [dissertação]. São José dos Campos (SP): Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2012.

Lessmann H, Schnuch A, Geier J, Uter W. Skin-sensitizing and irritant properties of propyleneglycol. *Contact Dermatitis*. 2015;53:247–59. Doi: 10.1111/j.0105-1873.2005.00693.x

Machado AC, Oliveira RC. Medicamentos Fitoterápicos na odontologia : evidências e perspectivas sobre o uso da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). *Rev. Bras. Plantas Med.* 2014;16:283–9.

Marinovic MP, Morandi AC, Otton R. Green tea catechins alone or in combination alter functional parameters of human neutrophils via suppressing the activation of TLR-4/NFκβ p65 signal pathway. *Toxicology in Vitro*. 2015;29:1766–78. doi: 10.1016/j.tiv.2015.07.014.

Martinez-Elizalde KS, Jimenez-Estrada M, Flores CM, Hernandez LB, Rosas-Lopez R, Duran-Diaz A, et al. Evaluation of the medicinal properties of *Cyrtocarpa procera* Kunth fruit extracts. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15:74. doi: 10.1186/s12906-015-0602-y.

Mota MA, Landim JS, Targino TS, Silva SF, Silva SL, Pereira MR. Evaluation of the anti-inflammatory and analgesic effects of green tea (*Camellia sinensis*) in mice. *Acta Cir Bras*. 2015;30(4):242-6. doi: 10.1590/S0102-865020150040000002.

Nootash S, Sheikhzadeh N, Baradaran B, Oushani AK, Maleki Moghadam MR, Nofouzi K, et al. Green tea (*Camellia sinensis*) administration induces expression of immune relevant genes and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol*. 2013;35(6):1916-23. doi: 10.1016/j.fsi.2013.09.030.

Oliveira FE. Atividade imunomoduladora de *Lactobacillus rhamnosus* em macrófagos de camundongos estimulados com Lipopolisacarídeo, Ácido Lipoteicóico e manana [dissertação]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2013.

Oliveira JR. Ensaio de citotoxicidade de extratos naturais após determinação da concentração microbicida mínima para *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans* e *Candida* spp. [dissertação]. São José dos Campos (SP): Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2011.

Oliveira JR, de Castro VC, das Graças Figueiredo Vilela P, Camargo SE, Carvalho CA, Jorge AO, et al. Cytotoxicity of Brazilian plant extracts against oral microorganisms of interest to dentistry. *BMC Complement Altern Med*. 2013;13:208. doi: 10.1186/1472-6882-13-208.

Oliveira JR, de Aguiar Almeida RB, das Graças Figueiredo Vilela P, de Oliveira FE, da Rocha RF, Jorge AO, et al. Control of microorganisms of oral health interest with *Arctium lappa* L. (burdock) extract non-cytotoxic to cell culture of macrophages (RAW 264.7). *Arch Oral Biol*. 2014;59(8):808-14. doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.05.013.

Oliveira LD, Carvalho CA, Carvalho AS, Alves Jde S, Valera MC, Jorge AOC. Efficacy of endodontic treatment for endotoxin reduction in primarily infected root canals and evaluation of cytotoxic effects. *J Endod*. 2012;38(8):1053–7. doi: 10.1016/j.joen.2012.04.015.

Radji M, Agustama RA, Elya B, Tjampakasari CR. Antimicrobial activity of green tea extract against isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2013;3(8):663-7. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60133-1.

Ramadan G, El-Beih NM, Talaat RM, Abd El-Ghffar EA. Anti-inflammatory activity of green versus black tea aqueous extract in a rat model of human rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2015 May 12. doi: 10.1111/1756-185X.12666. [Epub ahead of print]

Reis SR, Sadigursky M, Andrade MG, Soares LP, Espirito Santo AR, Vilas Boas DS. Genotoxic effect of ethanol on oral mucosa cells. *Pesqui Odontol Bras*. 2002;16(3):221-5. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-74912002000300007>

Ribas MO, Sousa MH, Sartoretto J, Lanzoni TA, Noronha L, Acra LA. Effect of the *Schinus terebinthifolius* Raddi in the process of tissular repair in ulcers induced in mucosa oral of the rat. *J Dent Science*. 2006; 21:245–252.

Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 4. ed. Great Britain: Pharmaceutical Press; 2003.

Saraiva ME, Ulisses AV, Ribeiro DA, de Oliveira LG, de Macêdo DG, de Sousa FF, et al. Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. *J Ethnopharmacol*. 2015;171:141-53. doi: 10.1016/j.jep.2015.05.034.

Tan WS, Arulselvan P, Karthivashan G, Fakurazi S. *Moringa oleifera* flower extract suppresses the activation of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages via NF- κ B pathway. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:720171. doi: 10.1155/2015/720171.

Tanaka YT, Tanaka K, Kojima H, Hamada T, Masutani T, Tsuboi M, et al. Cynaropicrin from *Cynara scolymus* L. suppresses photoaging of skin by inhibiting the transcription activity of nuclear factor-kappa B. *Bioorg Med Chem Lett.* 2013;23(2):518-23. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.11.034.

Tong H, Mao D, Zhai M, Zhang Z, Sun G, Jiang G. Macrophage activation induced by the polysaccharides isolated from the roots of *Sanguisorba officinalis*. *Pharm Biol.* 2015;53(10):1511-5. doi: 10.3109/13880209.2014.991834.

Tropicos. *Cynara cardunculus* var. *scolymus* (L.) Fiori [Internet]. St. Louis: Missouri Botanical Garden; 2016. [acesso 26 Jan 2016]. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Name/50282151>

Yasukawa K, Matsubara H, Sano Y. Inhibitory effect of the flowers of artichoke (*Cynara cardunculus*) on TPA-induced inflammation and tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *J Nat Med.* 2010;64(3):388-91. doi: 10.1007/s11418-010-0403-z.

Zapolska-Downar D, Zapolski-Downar A, Naruszewicz M, Siennicka A, Krasnodebska B, Kołodziej B. Protective properties of artichoke (*Cynara scolymus*) against oxidative stress induced in cultured endothelial cells and monocytes. *Life Sci.* 2002;71(24):2897-908. Doi:10.1016/S0024-3205(02)02136-7

Zhao L, La VD, Grenier D. Antibacterial, antiadherence, antiprotease, and anti-inflammatory activities of various tea extracts: potential benefits for periodontal diseases. *J Med Food.* 2013;16(5):428-36. doi: 10.1089/jmf.2012.0207.

Zhu X, Zhang H, Lo R. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. *J Agric Food Chem.* 2004;52(24):7272-8. Doi: 10.1021/jf0490192

Zhu XF, Zhang HX, Lo R. Antifungal activity of *Cynara scolymus* L. extracts. *Fitoterapia.* 2005;76(1):108-11. doi:10.1016/j.fitote.2004.10.016