



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E MEIO
AMBIENTE



**Variação da composição química de óleo essencial das folhas de *Schinus*
terebinthifolia Raddi em diferentes estados brasileiros**

JANAINE ALBERTO MARANGONI

Dourados – MS
Setembro/2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E MEIO
AMBIENTE



JANAINE ALBERTO MARANGONI

**Variação da composição química de óleo essencial das folhas de *Schinus*
terebinthifolia Raddi em diferentes estados brasileiros**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE E MEIO AMBIENTE.
Área de Concentração: Conservação dos Recursos Naturais.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Anelise Samara Nazari Formagio
Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Claudia Andrea Lima Cardoso

Dourados – MS
Setembro/2021

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil**

M311v	<p>Marangoni, Janaine Alberto.</p> <p>Variação da composição química de óleo essencial das folhas de <i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi em diferentes estado brasileiros. / Janaine Alberto Marangoni. – Dourados, MS : UFGD, 2022.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Anelise Samara Nazari Formagio.</p> <p>Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Meio Ambiente) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Pimenta rosa. 2. α-pineno 3. Limoneno. 4. Anti-inflamatória. 5. Antinociceptiva . I. Título.</p>
-------	--

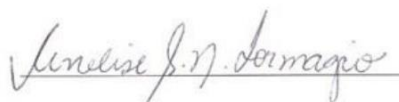
©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

"VARIÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE
Schinus terebinthifolia Raddi EM DIFERENTES ESTADOS BRASILEIROS"

POR

JANAINE ALBERTO MARANGONI

DISSERTAÇÃO APRESENTADA À UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS (UFGD), COMO PARTE DOS REQUISITOS EXIGIDOS PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM BIODIVERSIDADE E MEIO AMBIENTE -
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: "CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS NATURAIS".



PROF.^a DR.^a ANELISE SAMARA NAZARI FORMAGIO
ORIENTADORA – UFGD



PROF.^a DR.^a JANE MANFRON BUDEL
MEMBRO TITULAR – UEPG



PROF.^a DR.^a ROSILDA MARA MUSSURY FRANCO SILVA
MEMBRO TITULAR – UFGD

Aprovada em 17 de setembro de 2021.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre me guiar e por permitir realizar meu grande sonho, que é ser Mestre e seguir a carreira acadêmica, a Nossa Senhora das Graças por ser minha intercessora nos momentos difíceis.

Aos meus pais Jair Marangoni e Maria Ines, por serem meu porto seguro e me incentivar a correr atrás dos meus sonhos, e não medir esforços para que eles se realizem.

Ao meu irmão Jair Herminio pelo companheirismo e sempre estar ao meu lado em todos os momentos.

Ao meu noivo Eliandro que sempre me incentivou e continua incentivando meus estudos, acreditando na minha carreira acadêmica, Amor você é meu exemplo.

Aos da minha família Marangoni e Alberto, que torceram pelo meu crescimento e pelo auxílio que prestaram quando necessitei.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Anelise Formagio pela paciência, por todas as oportunidades que me proporcionou e pelos valiosos ensinamentos.

Agradeço à minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Claudia Andrea Lima Cardoso, pelo auxílio da identificação dos compostos.

Agradeço também Profa. Dra. Candida Leite Kassuya, pelo auxílio com as atividades biológicas.

Aos Anelídios colegas e ex-colegas do laboratório por auxiliarem em todos os momentos nos testes, e também com palavras de carinho e perseverança.

Agradeço em especial meus colegas-amigos Pedro e Sidney por todos os momentos que passamos juntos, e agradeço por todos os momentos que ainda vamos passar juntos.

A Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, especialmente o secretário Felipe D'Apolito em sua competência exemplar, ao PPG Biodiversidade E Meio Ambiente pela oportunidade de desenvolver meu mestrado e dar continuidade aos meus objetivos.

À Capes pela bolsa concedida. À Fundect pelo auxílio financeiro para desenvolvimento do projeto de pesquisa. Muito obrigada a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

Schinus terebinthifolia Raddi, Anacardiaceae, popularmente conhecida como pimenta-rosa, é uma espécie nativa da América do Sul, e no Brasil principalmente entre o Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul, em biomas de Mata Atlântica e Cerrado. Na medicina tradicional as cascas e/ou folhas são utilizadas na forma de decocção e/ou infusão no tratamento de inflamações uterinas. Folhas e frutos são ricos em óleo essencial, com predominância de monoterpenos e sesquiterpenos. A espécie vem sendo utilizada na recuperação de áreas degradadas pela fácil adaptação. Por se tratar de uma espécie que se adapta facilmente em diversas localidades, vários fatores podem interferir na variação química de metabolitos secundários. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar a composição química do óleo essencial de folhas de *S. terebinthifolia* (OEST) coletado nos seguintes estados do Brasil: Bahia, Espírito Santo, Paraná, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul e São Paulo e posteriormente avaliar sua atividade anti-inflamatórias e antinociceptiva. A extração do óleo essencial de folhas foi realizada por hidrodestilação e submetidas a análise por CG/EM. A atividade anti-inflamatória foi realizada pelo modelo de edema de pata induzido por carragenina (Cg) em camundongos, seguida da avaliação antinociceptiva pelo método de hiperalgesia mecânica e sensibilidade ao frio. Os óleos essenciais tiveram a predominância de compostos monoterpênicos e sesquiterpênicos, sendo α -pineno e limoneno os constituintes predominantes em todas as regiões. O edema de pata em dose única do OEST dos seis estados (30 mg/kg), inibiu significativamente a formação do edema comparado ao grupo controle, também reduziu a sensibilidade induzida por estímulo mecânico e houve uma resposta hipersensível ao frio, no intervalo entre 3 h e 4 h após a indução com Cg em comparação com o grupo controle. Este estudo indica que as amostras da OEST coletadas em seis estados brasileiros diferiram em sua composição química, porém é caracterizado pelo predomínio de monoterpenos e sesquiterpenos, entretanto os efeitos anti-inflamatórios e antinociceptiva não se diferenciaram o que se correlacionaram com o efeito sinérgico de seus componentes.

Palavras-chave: pimenta-rosa; α -pineno; limoneno; anti-inflamatória; antinociceptiva

ABSTRACT

Schinus terebinthifolia Raddi, Anacardiaceae, popularly known as pink pepper, is a native species of South America, and in Brazil mainly between Rio Grande do Norte and Rio Grande do Sul, in Atlantic Forest and Cerrado biomes. In traditional medicine its bark and/or leaves are used as a decoction and/or infusion in the treatment of uterine inflammation. Leaves and fruits are rich in essential oil, with a predominance of monoterpenes and sesquiterpenes. The species has been used in the recovery of degraded areas due to its easy adaptation. As it is a species that easily adapts to different locations, several factors can interfere with the chemical variation of secondary metabolites. Thus, the aim of this study was to investigate the chemical composition of the essential oil from the leaves of *S. terebinthifolia* (EOST) collected in the following Brazilian states: Bahia, Espírito Santo, Paraná, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul and São Paulo and subsequently evaluate its anti-inflammatory and antinociceptive activity. The extraction of essential oil from the leaves was performed by hydrodistillation and analyzed by GC/MS. The anti-inflammatory activity was performed by the carrageenan (Cg)-induced paw edema model in mice, followed by the antinociceptive evaluation by the method of mechanical hyperalgesia and cold sensitivity. Essential oils had a predominance of monoterpenes and sesquiterpenes, with α -pinene and limonene being the predominant constituents in all regions. Paw edema in a single dose of EOST from the six states (30 mg/kg) significantly inhibited edema formation compared to the control group, also reduced the sensitivity induced by mechanical stimulation and there was a hypersensitive response to cold, in the interval between 3 h and 4 h after induction with Cg compared to the control group. This study indicates that EOST samples collected in six Brazilian states differed in their chemical composition, but it is characterized by the predominance of monoterpenes and sesquiterpenes, however the anti-inflammatory and antinociceptive effects did not differ, which correlated with the synergistic effect of their components.

Keywords: pink pepper, α -pinene; limonene; anti-inflammatory, antinociceptive

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. <i>Schinus terebinthifolia</i> (A) Árvore no habitat; (B) Tronco evidenciando a casca; (C) Ramo frutífero e (D) Ramo florido	17
Figura 2. Distribuição geográfica da espécie <i>S. terebinthifolia</i> no Brasil	18
Figura 3. Biossíntese de terpenos.	19
Figura 4. Processo inflamatório agudo e crônico	28

Manuscrito

Figure 1. Detailed information on the <i>Schinus terebinthifolia</i> collection sites. States are Bahia (BA, Itaparica 24 m), Espírito Santo (ES, São Mateus 36 m), Paraná (PR, Maringá 551 m), Rio Grande do Sul (RS, Santa Maria 139 m), Mato Grosso do Sul (MS, Dourados 430 m), and São Paulo (SP, Olímpia 518 m).	48
Figure 2. Dendrogram obtained by the cluster analysis of the essential oil composition profiles of <i>S. terebinthifolia</i> from the six Brazilian states.	53
Figure 3. Heatmap for the total composition of the essential oil composition profiles of <i>S. terebinthifolia</i> from the six Brazilian states.	54
Figure 4. Effect of oral administration of EOST on the Cg-induced (A) paw edema (at 2 and 4 h) and (B) mechanical and (C) cold hyperalgesia (at 3 and 4 h) in mice. Animals received EOST-PR, EOST-BA, EOST-MS, EOST-ES, EOST-RS, EOST-SP (30 mg/kg, p.o.) or a control (vehicle) or dexamethasone (DEXA, 1.0 mg/kg, s.c.), and after 1 h had elapsed, an intraplantar injection of carrageenan (300 µg/paw). Each bar represents the mean ± SEM of n = 6 animals/group. * P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001 when compared with the control group. One-way ANOVA followed by the Newman-Keuls test.	60

LISTA DE ESQUEMA

Esquema 1. Proposta de estudo de folhas de *Schinus terebinthifolia* Raddi 14
coletadas em seis estados brasileiro.

Manuscrito

Scheme 1. Biosynthetic route of main cyclic monoterpenes (α -pinene, 55
limonene, β -pinene) found in the essential oil of *S. terebinthifolia*.

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Compostos identificados nas folhas de *S. terebinthifolia* 21

Tabela 2. Usos etnofarmacológicos e estudos farmacológicos de *S. terebinthifolia* 27

Manuscrito

Table 1. Chemical composition of *S. terebinthifolia* leaves EOST-BA, EOST-ES, EOST-PR, EOST-RS, EOST-MS and EOST-SP. 56

Table 2. Chemical classes of essential oil from *S. terebinthifolia* and their Pearson correlations with the altitude of the plant sampling sites. 57

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

¹² C	Carbono
¹ H	Hidrogênio
¹⁶ O	Oxigênio
AIEs	Anti-inflamatórios esteroidais
AINEs	Anti-inflamatórios não-esteroidais
BA	Bahia
CFA	Adjuvante Completo Freund
Cg	Carragenina
CG/EM	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectro de Massa
COX	Ciclo-oxigenase
DEXA	Dexametasona
DDMS	Herbário da Universidade Federal da Grande Dourados
DMAPP	Pirofosfato de Dimetilalilo
EE	Extrato etanólico
EHE	Extrato hidroetanólico
EM	Extrato metanólico
ES	Espírito Santo
EOST	Essential oil of <i>Schinus terebinthifolia</i>
EOST-BA	Essential oil of <i>Schinus terebinthifolia</i> Bahia
EOST-ES	Essential oil of <i>Schinus terebinthifolia</i> Espírito Santo
EOST-MS	Essential oil of <i>Schinus terebinthifolia</i> Mato Grosso do Sul
EOST-PR	Essential oil of <i>Schinus terebinthifolia</i> Paraná
EOST-RS	Essential oil of <i>Schinus terebinthifolia</i> Rio Grande do Sul
EOST-SP	Essential oil of <i>Schinus terebinthifolia</i> São Paulo
IPP	Isopentenil-difosfato
MEP	Metil-eritritol-fosfato
MS	Mato Grosso do Sul
OE	Óleo essencial
OEST	Óleo essencial de <i>Schinus terebinthifolia</i>
PR	Paraná

RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais
RS	Rio Grande do Sul
SP	São Paulo
SUS	Sistema Único de Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Anarcadeaceae	15
2.2 <i>Schinus terebinthifolia</i>	15
2.2.1 Nomenclatura popular	15
2.2.2 Botânica	16
2.2.3 Distribuição geográfica	17
2.2.4 Óleo essencial de <i>Schinus terebinthifolia</i>	18
2.2.5 Uso popular de <i>Schinus terebinthifolia</i>	26
2.3 Inflamação	28
3 OBJETIVOS	30
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
5 MANUSCRITO	44
6 CONCLUSÃO	70
7 ANEXOS	71
7.1 Aprovação do Comitê de Ética (CEUA) – 33/2019	71
7.2 Comprovante de submissão do manuscrito	72

1 INTRODUÇÃO

Schinus terebinthifolia pertencente a Anacardiaceae, foi descrita pela primeira vez por Giuseppe Raddi em 1820, uma árvore de porte médio, com uma ampla distribuição geográfica incluindo as Américas, África e Oceania, porém é uma espécie nativa da América do Sul, principalmente no Brasil, Paraguai, leste da Argentina e Uruguai, no Brasil está presente do estado do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul, principalmente na Mata Atlântica e no Cerrado (Corrêa, 1974; Lorenzi, 1998; Tlili et al., 2018).

Sendo conhecida popularmente no Brasil como pimenta-rosa, aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira, aroeira-da-praia, aroeira-negra e/ou aroeira-de-minas (Brasil, 2014; Carvalho et al., 2017). Seu uso popular foi relatado pela primeira vez por um holandês durante sua visita ao Nordeste do Brasil (1637-44), uma vez que o extrato de frutas, folhas e cascas são usados na medicina popular para tratar úlceras, reumatismo, gota, tumores, diarreia, doenças de pele, artrite e inflamações, e também como balsâmico, hemostático ou tônico para tratar feridas de infecções urinárias e respiratórias (Braga, 1960; Morton, 1978; Balbach, 1986; Martinez et al., 1996; Melo Jr, et al., 2002; Medeiros et al., 2007; El-Massry et al., 2009; Santana et al., 2012).

Em 2009, o Ministério da Saúde brasileiro elaborou uma Lista Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS) e incluiu *S. terebinthifolia* (Brasil, 2009), por ser utilizada na medicina popular para tratar processos anti-inflamatórios e para o tratamento de cervicite, vaginite, cervicovaginite, sua casca e folhas são utilizadas na forma de decocção e/ou infusão (Morton, 1978; Amorim & Santos, 2003; Brasil, 2014; Rosas et al., 2019). Nesse contexto, o Kronel® é um medicamento fitoterápico desenvolvido a partir do extrato de casca seca de *S. terebinthifolia* 0,4%, disponível no mercado, produzido pela INFAN - INDÚSTRIA QUÍMICA FARMACÊUTICA NACIONAL S/A e destinado ao tratamento cervicites, vaginites e cervicovaginites (Kronel, 1999).

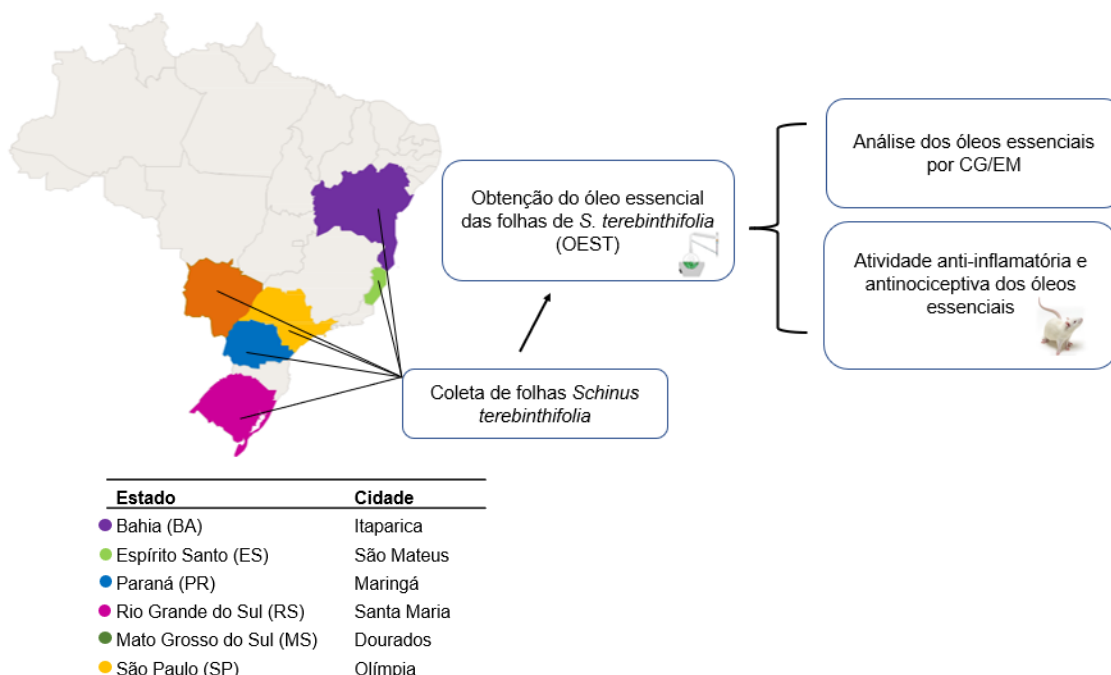
Por se tratar de uma espécie que se adapta facilmente em diversas localidades, vários fatores podem interferir na variação química de metabolitos secundários, tais como a temperatura, a umidade, a luminosidade, a altitude, pluviometria, radiação ultravioleta, solo e condições nutricionais, sazonalidade, ciclo circadiano, método de coleta, secagem e parte da planta que será coletada (Gomes et al., 2019).

Por ter um elevado teor de óleo essencial, encontrado principalmente nas folhas e frutos, estudos de determinação da composição química do óleo essencial de *S.*

terebinthifolia, relatam a predominância de monoterpenos e sesquiterpenos (Dannenberg et al., 2019; Carvalho et al., 2017; Gomes et al, 2013a), destacando como majoritários α -pineno, β -pineno, sabineno, β -mirceno, α -felandreno, β -felandreno e δ -3-carene, germacreno D, biciclogermacreno (Pawlowski et al., 2012; Tabaldi et al., 2014; Pinto et al, 2016; Guzzo da Silva et al., 2018).

Dessa forma, considerando que o metabolismo secundário das plantas é responsável pela biossíntese das moléculas responsáveis pela ação farmacológica (Kroymann, 2011), porém os fatores bióticos e abióticos podem interferir na variação química de metabolitos secundários das plantas, tais como temperatura, altitude, latitude, composição atmosférica, disponibilidade hídrica, nutrientes do solo, exposição aos raios UV, e ainda fatores bióticos, como interação planta/microrganismo, planta/insetos, planta/planta, idade, estágio de desenvolvimento e ritmo circadiano (Ganzera et al., 2008; Brown, 2010; Santos et al., 2011; Pavarini et al., 2012), sendo assim um elemento que está fora do controle humano.

Assim, o objetivo desse estudo foi identificar a composição química do óleo essencial de folhas de *S. terebinthifolia* (OEST) de seis estados do Brasil, e adicionalmente, foi avaliada a ação anti-inflamatória e atividade analgésica do óleo essencial, em modelos experimentais *in vivo* de inflamação em camundongos. Uma proposta de estudo está evidenciada no Esquema 1.



Esquema 1. Proposta de estudo de folhas de *Schinus terebinthifolia* Raddi coletadas em seis estados brasileiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anacardiaceae

Anacardiaceae têm cerca de 81 gêneros e 800 espécies, destes 15 gêneros e 64 espécies são nativos do Brasil (Silva-Luz et al., 2020), localizados principalmente em áreas tropicais, mas também em áreas subtropicais e temperadas (Schulze-Kaysers et al., 2015). Geralmente árvores ou arbustos com canais resinosos que quando expostos por injúrias têm um aroma característico (Wannan, 2006), a madeira é de boa qualidade e muitas substâncias são extraídas para uso na indústria de alimentos e/ou farmacêutica e na medicina (Hsieh et al., 2004), as espécies mais conhecidas dessa família são o caju (*Anacardium occidentale* L.), manga (*Mangifera indica* L.), cajá (*Spondias mombim* L.), pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolia*) e aroeira-salsa (*Schinus molle*) (Pell et al., 2010; Machado et al., 2018).

2.2 *Schinus terebinthifolia*

Schinus são reconhecidas 28 espécies e 17 variedades de árvores e arbustos nativos de clima temperado da América do Sul, no Brasil 12 espécies, sendo dessas 4 endêmicas e 4 sinônimos (Burckhardt & Basset, 2000; Silva-Luz et al., 2020), foi descrita por um sueco naturalista Carolus Linnaeus em 1753, designando o gênero *Schinus* L., derivado de “aroeira”, nome latino dado para a árvore Mastic (*Pistacia lentiscus* L.), por sua vez há *S. terebinthifolia* Raddi foi descrita pela primeira vez em 1820 pelo italiano Giuseppe Raddi, o nome terebinthifolius é derivado de “terebinthus”, nome em latim para a árvore Terebinto (*Pistacia terebinthus* L.) e “folium” de folhas em referências as folhas resinosas da espécie (Corrêa, 1974; Gundidza et al., 2009).

2.2.1 Nomenclatura popular

Schinus terebinthifolia é conhecida popularmente como pimenta-rosa, aroeira-da-praia, aroeira-precoce, aroeira-mansa, aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira, aroeira-do-beijo, aroeira-negra, aroeira-branca, aroeira-do-campo, aroeira-do-sertão, aroeira-do-paraná, aroeira-de-remédio, aroeira-mansa, aroeira-vermelha (Carvalho et al., 2013; Silva-Luz & Pirani, 2014; Brasil, 2014).

Em outros países como “brasilianischer pfeffer” e “peruanischer pfeffer” (Alemanha), “Pimentero del Brasil” e “turbinto” (Espanha), “Faux poivrier” e “poivre

rose” (França), “Christmas berry,” “Brazilian pepper,” “Florida holly,” e “peppertree” (Estados Unidos), cobal (Cuba); cambuí (México), e Chichita (Argentina) (Morton, 1978; Lorenzi & Matos, 2002; Carvalho et al., 2013; Dawkins & Esiobu, 2016).

2.2.2 Macroscópica da planta

É uma árvore de porte mediano que atinge de 5-10 m de altura e 20-30 cm de diâmetro (fig. 1A), pode ser encontrada na forma de arbusto ou árvore (Baggio, 1988; Brasil, 2014), sua copa é ovoide, com um tronco tortuoso, revestido por uma casca grossa (Brasil, 2014; Clemente, 2006). As cascas (fig. 1B) apresentam na sua superfície externa uma cor parda com rachados no sentido longitudinal e poucas no sentido transversal, porém na parte interna apresenta a coloração avermelhada e com estrias no sentido longitudinal (Balbach, 1956; Brasil, 2014).

As folhas são perenes, de coloração verde escuro, possuindo de 3 a 10 pares de folíolos imparipinados, aromáticos (fig. 1C) (Baggio, 1988; Brasil, 2014), os frutos são numerosos, pequenos, em forma de drupa, possuem coloração avermelhada brilhante, mas inicialmente tem cor verde, sendo eles extremamente aromáticos, período frutificação predomina durante os meses de janeiro a julho dependendo da sua distribuição geográfica, desta forma quando o fruto está maduro, transforma-se em uma espécie de concha que envolve a semente, que é única e mede cerca de 0,3 mm de diâmetro (fig. 1C) (Bornhausen, 2002; Lorenzi & Matos, 2002). As flores são pequenas de coloração amarelo a branco, masculinas e femininas, em panículas piramidais (fig. 1D) (Lorenzi, 2002). A raiz é pivotante, bastante desenvolvida, favorecendo a sobrevivência da espécie em ambientes adversos (Baggio, 1988), entretanto tendo um grande potencial de regeneração natural dos biomas, e sendo utilizada na recuperação de áreas degradadas (Lorenzi, 1998; Gomes et al., 2013a).



Figura 1. *Schinus terebinthifolia* (A) Árvore no habitat; (B) Tronco evidenciando a casca; (C) Ramo frutífero e (D) Ramo florido

2.2.3 Distribuição geográfica

Possui distribuição subtropical e tropical (fig.2), sendo considerada uma planta nativa da América do Sul, principalmente no Brasil, Paraguai, leste da Argentina e Uruguai (Carvalho et al., 2013). No Brasil é encontrada nos estados: Amapá, Pará, Tocantins (Norte); Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe (Nordeste); Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso (Centro-Oeste); Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo (Sudeste); e Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Sul) (Silva-Luz & Pirani, 2012; Silva-Luz et al., 2020), isso pode ser associado à sua fácil adaptação em diversos biomas como: caatinga, cerrado, mata atlântica e pampa (Silva-Luz et al., 2020), nas diferentes vegetações: área antrópica, campo limpo, cerrado (lato sensu), floresta ciliar ou galeria, floresta estacional semidecidual, floresta ombrófila (floresta pluvial), floresta ombrófila mista, manguezal, restinga (Silva-Luz & Pirani, 2012; Silva-Luz et al., 2020). A espécie pode sobreviver em estações secas, é vista por toda a faixa litorânea do Brasil, mas também em terrenos secos, habitando várias formações vegetais (Lenzi & Orth, 2004).



Figura 2. Distribuição geográfica da espécie *S. terebinthifolia* no Brasil (Silva-Luz et al., 2020).

Devido à facilidade de adaptação a diversos habitats, a espécie pode sobreviver em estações secas, é facilmente vista por toda a faixa litorânea do Brasil, mas também em terrenos secos, habitando várias formações vegetais (Degáspari et al, 2005). Uma característica marcante dessa espécie é a presença de óleos essenciais, (podendo variar de acordo com a localidade e fatores edafoclimáticos), presentes em toda parte da planta conferindo assim caráter medicinal (Pio Corrêa, 1984).

2.2.4 Óleo essencial de *Schinus terebinthifolia* (OEST)

Os óleos essenciais são substâncias voláteis, aromáticas e lipossolúveis obtidos em diferentes partes da planta, como em flores, folhas, caules, sementes, frutos, raízes, cascas, através de diferentes métodos de extração. A composição química pode ser influenciada de acordo com a espécie, parte utilizada, localização geográfica, período de colheita, estágio de desenvolvimento, idade da planta método de extração (Costa et al., 2015). A formação dos compostos presentes nos óleos essenciais se dá a partir da formação de terpenoides originados a partir do ácido mevalônico, ou de fenilpropanoides, oriundos do ácido chiquímico, porém a rota mais comum é do mevalonato (citossólica) e do metil-eritritol-fosfato MEP (plastídica). São necessárias três moléculas de acetil-CoA ligadas para formar o ácido mevalônico, que este passa por reações de pirofosforilação, descarboxilação e desidratação para produzir o isopentenil-difosfato (IPP). Em ambas, são encontrados em maior abundância, os monoterpenos e os sesquiterpenos, compostos constituídos de 10 e 15 carbonos respectivamente (Taiz e Zeiger, 2009), conforme figura 3.

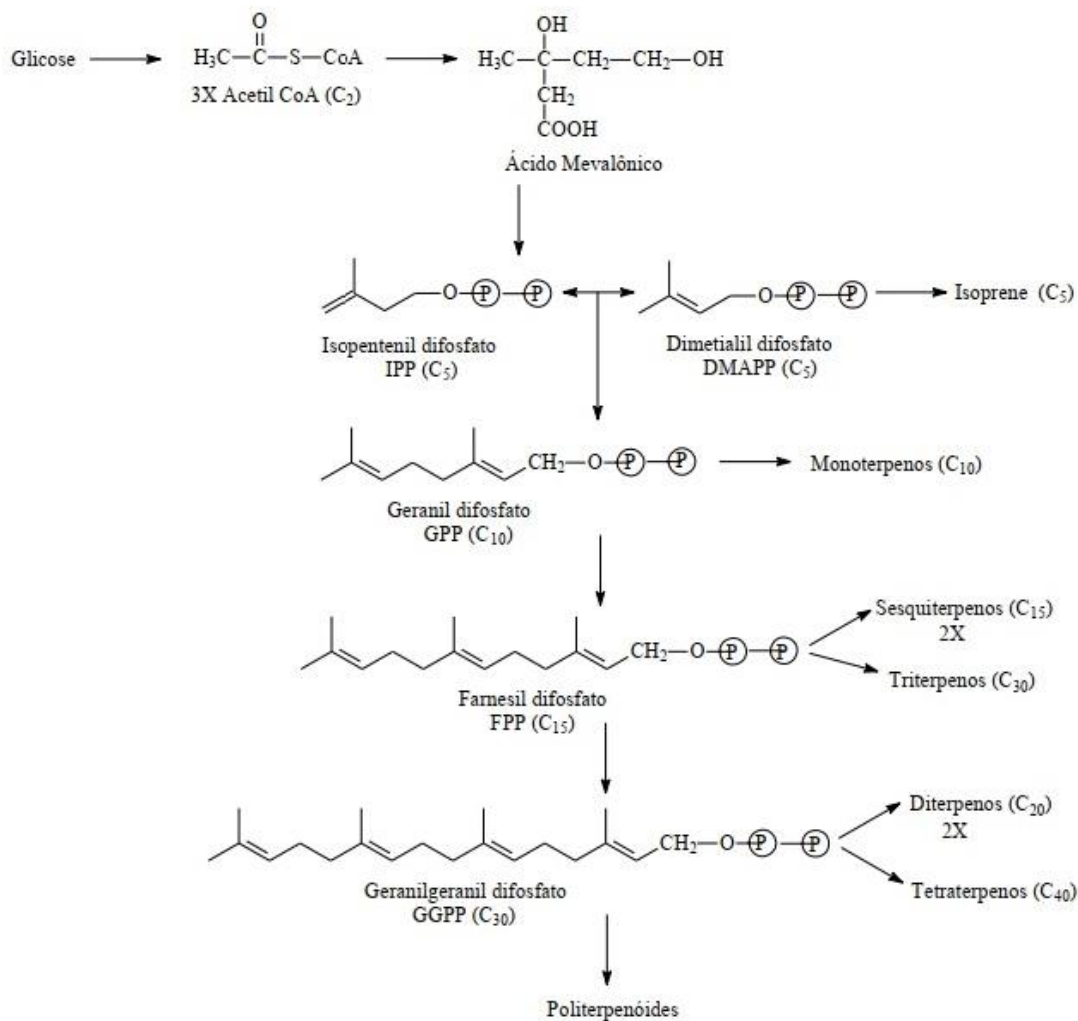


Figura 3. Biossíntese de terpenos (Taiz e Zeiger, 2009)

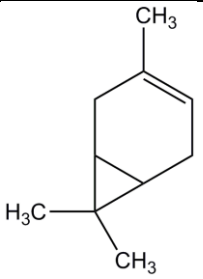
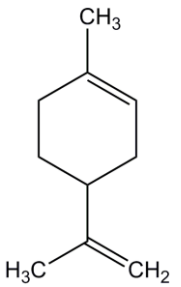
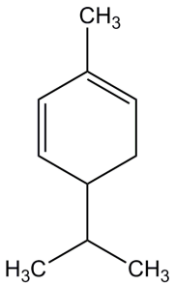
Vários fatores podem interferir na variação química de metabolitos secundários das plantas, tais como a temperatura, a umidade, a luminosidade, a altitude, pluviometria, radiação ultravioleta, solo e condições nutricionais, sazonalidade, ciclo circadiano, método de coleta, secagem e parte da planta (Morais, 2009; Gomes et al., 2019). Uma deficiência ou excesso de nutrientes podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos promovendo maior ou menor síntese de metabolitos secundários e, conseqüentemente, plantas de uma mesma espécie podem resultar em diferenças químicas de acordo com as condições do local em que se encontram (Zhang et al., 2018). Os óleos essenciais constituem um dos mais importantes grupos de matérias primas para as indústrias de alimentos, farmacêutica, perfumaria e afins. São constituídos por uma mistura complexa de diversas classes de substâncias, dentre elas os fenilpropanóides, mono e sesquiterpenos, pertencentes ao metabolismo secundários das plantas (Morais, 2009).

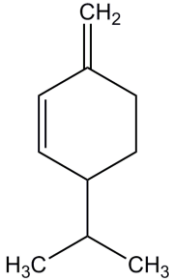
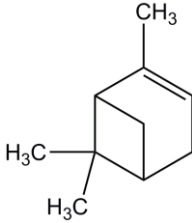
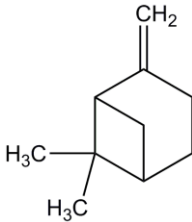
O óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolia* apresentaram rendimentos numa faixa de 1,74% –10% (Carvalho et al., 2013; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Lloyd et al., 1977; Tabaldi et al., 2014), enquanto o OEST de folhas *S. terebinthifolia* tem rendimentos entre 0,10% e 0,74% (El-Massry et al. 2009; Ennigrou et al., 2018; Pinto et al., 2016; Santos et al., 2009). O perfil das classes metabólicas em ambos os óleos essenciais relatam a predominância de monoterpenos e sesquiterpenos, ficando evidenciados como os principais compostos limoneno, α -felandreno, β -felandreno, α -pineno, β -pineno, β -mirceno, silvestreno (Clemente, 2006; Cole, 2008; Richter et al., 2010; Affonso et al., 2012; Gomes et al, 2013b; Silva et al., 2010; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Carvalho et al., 2017; Guzzo da Silva et al., 2018; Dannenberg et al., 2019, Bittencourt Fagundes et al., 2020), sendo destacados na tabela 1 os compostos presentes em folhas *S. terebinthifolia*.

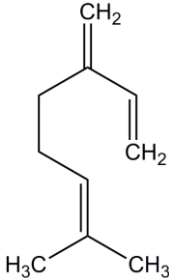
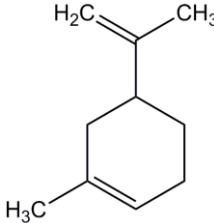
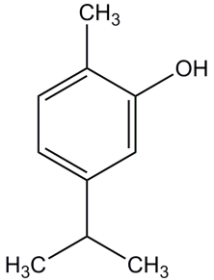
Estudos realizados por nosso grupo de pesquisa mostraram que o OEST obtido dos frutos de *S. terebinthifolia* coletado em Dourados-MS, Brasil, quando comparado aos dados da literatura, evidenciou algumas diferenças no perfil cromatográfico, bem como na composição quantitativa do óleo essencial β -pineno (22,56%), sabineno (15,78%), *z*-salven (10,69%), β -pineno (10,52%), α -funebreno (8,82%) e limoneno (5,52%), o OEST exibiu atividade anti-inflamatória induzida por carragenina (Cg) pelo modelo de edema de pata em camundongos e bolsa de ar e persistente induzido por CFA (Formagio et al., 2011). Em outro estudo também com os frutos, demonstrou-se que a composição química do óleo essencial não foi influenciada pelo número de fileiras de plantas na parcela ou pelas doses de cama de frango em nenhum momento de avaliação (Tabaldi et al., 2014).

Considerando um estudo realizado no Brasil, no estado do Rio Grande do Sul com o OEST de folhas de *S. terebinthifolia* com obtenção de óleo essencial, apresentou como compostos majoritários α -pineno (31,59%) e trans-ocimeno (12,32%) (Pawlowski et al., 2012). Em outro estudo realizado no norte da Tunísia com o OEST de folhas *S. terebinthifolia*, obteve óleos amarelados claros com odor característico pungente, com rendimento de 0,69%, sendo identificados no total de 117 compostos, com predomínio de monoterpeno e como compostos principais α -felandreno (33,06%) e α -pineno (14,85%) (Ennigrou et al., 2018).

Tabela 1. Compostos identificados nas folhas de *S. terebinthifolia*

Composto	Concentração	Formula molecular	Classe	Estrutura	Referência
δ -3-careno	0,22 - 68,78%	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpeno		Santana et al, 2012; Uliana et al., 2016; Ennigrou et al., 2018
limoneno	2,89 - 23,8%	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpeno		Santos et al., 2009; Uliana et al., 2016; Ennigrou et al., 2018
α -felandreno	0,6 – 33,06%	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpeno		Barbosa et al., 2007; Santana et al, 2012; Pawlowski et al., 2012; Ennigrou et al., 2018

β -felandreno	0,12 - 18,08%	$C_{10}H_{16}$	Monoterpeno		Barbosa et al., 2007; Santana et al, 2012; Pawlowski et al., 2012
α -pineno	1,07 – 31,59%	$C_{10}H_{16}$	Monoterpeno		Barbosa et al., 2007; Pawlowski et al., 2012; Santana et al, 2012; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Uliana et al., 2016; Ennigrou et al., 2018
β -pineno	1,22 - 12,59%	$C_{10}H_{16}$	Monoterpeno		Barbosa et al., 2007; Pawlowski et al., 2012; Santana et al, 2012; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2018

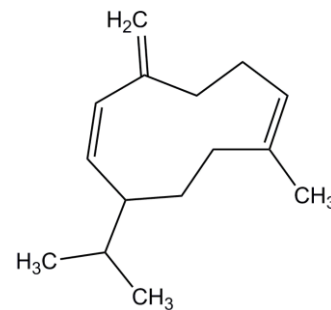
mirreno	0,05 – 20,43 %	$C_{10}H_{16}$	Monoterpeno		Barbosa et al., 2007; Santos et al., 2009; Santana et al., 2012; Uliana et al., 2016; Ennigrou et al., 2018
silvestreno	3,7%	$C_{10}H_{16}$	Monoterpeno		Santana et al., 2012
carvacrol	0,04%	$C_{10}H_{14}O$	Monoterpeno Oxigenado		Ennigrou et al., 2018

germacreno D

2,65 – 23,8%

$C_{15}H_{24}$

Sesquiterpeno



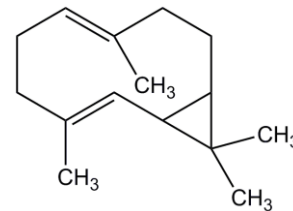
Santos et al., 2009; Pawlowski et al., 2012; Santana et al., 2012; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Ennigrou et al., 2018

cariofileno

2, 10 – 12,25

$C_{15}H_{24}$

Sesquiterpeno



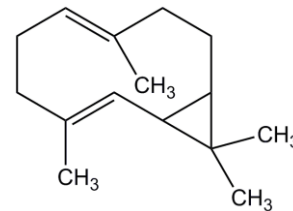
Barbosa et al., 2007; Santana et al., 2012; Uliana et al., 2016

biciclogermacreno

0,65 – 33,8%

$C_{15}H_{24}$

Sesquiterpeno



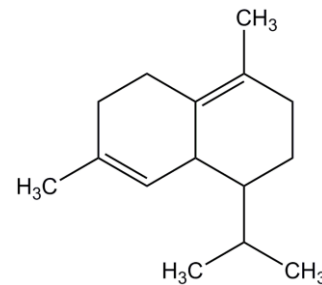
Barbosa et al., 2007; Pawlowski et al., 2012; Santana et al., 2012; Ennigrou et al., 2018

δ -cadineno

2,26 – 9,21%

$C_{15}H_{24}$

Sesquiterpeno



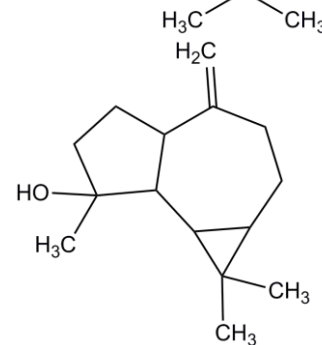
Santos et al., 2009; Pawlowski et al., 2012; Santana et al., 2012

sphatulenol

0,10 - 1,90%

$C_{15}H_{24}O$

Sesquiterpeno
Oxigenado



Barbosa et al., 2007; Santana et al., 2012; Pawlowski et al., 2012; Ennigrou et al., 2018

2.2.5 Uso popular e atividades biológicas de *Schinus terebinthifolia*

Na medicina tradicional casca e/ou folhas de *S. terebinthifolia* são utilizadas na forma de decocção e/ou infusão no tratamento de inflamações uterinas, feridas e úlceras de pele e mucosas, tumores, diarreia, artrite e infecções urinárias e sistemas respiratórios (Morton, 1978; Amarin & Santos, 2003; Rosas et al, 2019; Brandão et al, 2006; Brasil, 2014). Devido ao amplo uso na medicina tradicional dessa espécie, em 2009 o Ministério da Saúde criou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse do SUS (RENISUS) e incluiu *S. terebinthifolia* para o tratamento das cervicites, vaginites e cérvico-vaginites (Brasil, 2009).

Estão sendo realizados estudos com diferentes tipos de extratos com as cascas, folhas e frutos para comprovar o uso etnofarmacológico de *S. terebinthifolia*, tais como atividades: atividade antioxidantes, atividade anti-inflamatória, atividade antimicrobiana e atividades antitumorais (El -Massry et al., 2009; Bendaoud et al., 2010; Fedel-Miyasato et al., 2014; Sereniki et al., 2016; Silva et al., 2017; dos Santos da Rocha et al., 2019; de Oliveira et al., 2020), conforme detalhado na tabela 2. Essas evidências resultaram no lançamento do medicamento de aplicação tópica Kronel®, sendo esse um medicamento fitoterápico desenvolvido a partir do extrato de casca seca de *S. terebinthifolia* 0,4%, disponível no mercado destinado ao tratamento de todos os supracitados condições ginecológicas (Kronel, 1999).

No trabalho realizado por Estevão et al. (2017) com óleo essencial de folhas de *S. terebinthifolia*, no tratamento de ferida, inflamação, angiogênese e deposição de colágeno na cicatrização de feridas na pele após excisão em camundongos, promoveu respostas anti-inflamatórias e angiogênicas, e também há melhora na reposição de colágeno. Em outro estudo, porém utilizando peixes-zebra adultos que avaliou os efeitos antinociceptivos neuropáticos agudos, óleo essencial de folhas de *S. terebinthifolia* mostraram um efeito farmacológico com inibição da nocicepção sem alterar locomoção e sem causar toxicidade nos animais (Lima et al., 2020).

α -pineno, composto isolado de frutos de *S. terebinthifolia* apresentou atividade contra melanoma, com potencial para induzir apoptose em células cancerosas (Matsuo et al., 2011), outro estudo de Piccinelli et al. (2014) mostrou que óleos essenciais e compostos isolados como: (R) - (+) - limoneno e α -felandreno isolados de frutos de *S. terebinthifolia* coletados no município de Dourados - MS - Brasil, apresentaram atividade anti-inflamatória inibindo a formação de edema e infiltração de células.

Tabela 2: Usos etnofarmacológicos e estudos farmacológicos de *S. terebinthifolia*

Parte da Planta	Usos Etnofarmacológicos	Estudos farmacológicos
Casca	Úlceras, problemas respiratórios, reumatismo, tumores, diarreia, doenças de pele, artrite, antisséptico, anti-inflamatório, balsâmico, hemostático, tônico, tratamento de feridas e de infecções urinárias e respiratórias; gripe, dor de dente, feridas na boca, dor de garganta (Balbach, 1956; Braga, 1960; Morton, 1978; Melo Jr et al., 2002; Amorim & Santos, 2003; Medeiros et al., 2007; Lima et al., 2009; Martorelli et al., 2011 Moura-Costa et al., 2012)	Atividade antimicrobiana e anti-inflamatória (EE) (Melo Jr et al., 2002), cicatrizante (EHE) (Coutinho et al., 2006; Lucena et al., 2006; Santos, 2013), atividade antioxidante, tratamento de doenças neurodegenerativas (Parkinson's) (EE) (Sereniki et al., 2016),
Folhas	Tratamento de infecções bacterianas, como agente anti-inflamatórias, anti-úlceras, anti-séptico, balsâmico, hemostático; tratamento de feridas tônicas e de infecções urinárias e respiratórias (Braga, 1960; Martinez et al., 1996; Melo Jr et al., 2002; El-Massry et al., 2009)	Antiproliferativa (EA) (Queires et al., 2006), cicatrizante e anti-inflamatório (EHE) (Nunes Jr et al., 2006; Martorelli et al., 2011), cicatrizante, anti-inflamatória e quimiopreventiva (EM) (Fedel-Miyasato et al., 2014), anti-inflamatório e antioxidante (EM) (Silva et al., 2017), angiogênico e anti-inflamatório (OE) (Estevão et al., 2017), hiperglicemia pós-prandial, sintomas de diabetes, antioxidante (EM) (dos Santos da Rocha et al., 2019), anti-inflamatório e antinoceptivo (OE) (Lima et al., 2020),
Frutos	-	Atividade antimicrobiana (OE) (Martínez et al., 1996), atividade antioxidante e antitumoral (OE) (Bendaoud et al., 2010), atividade anti-inflamatória (OE) (Formagio et al., 2011) atividade antioxidante (EM) (Bernardes et al., 2014), antinoceptivo e atividade antidepressiva (OE) (Piccinelli et al., 2015), atividade antioxidante e antibacteriana (OE) (Salem et al., 2018), atividade antioxidante (EM) (de Oliveira et al., 2020), atividade antioxidante, anti-inflamatória e antinoceptiva (EO) (Feriani et al., 2020),

EA: Extrato aquoso; EE: Extrato etanólico; EM: Extrato metanólico; EHE: Extrato hidroetanólico; OE: Óleo essencial

2.3 Inflamação

A inflamação é uma resposta biológica complexa de tecidos vasculares a estímulos nocivos, tais como patógenos, danos celulares ou irritantes (físicos ou químicos). É um mecanismo de defesa destinado a remover os estímulos lesivos e iniciar o processo de cicatrização do tecido (Maldini et al., 2009). O processo inflamatório pode ser dividido em duas fases: inflamação aguda e crônica, as quais são marcantes pelo tempo ou evolução relativa, e caracterizadas por cinco sinais cardinais: calor, rubor, edema, dor e perda da função (fig.4) (Cruvinel et al., 2010).

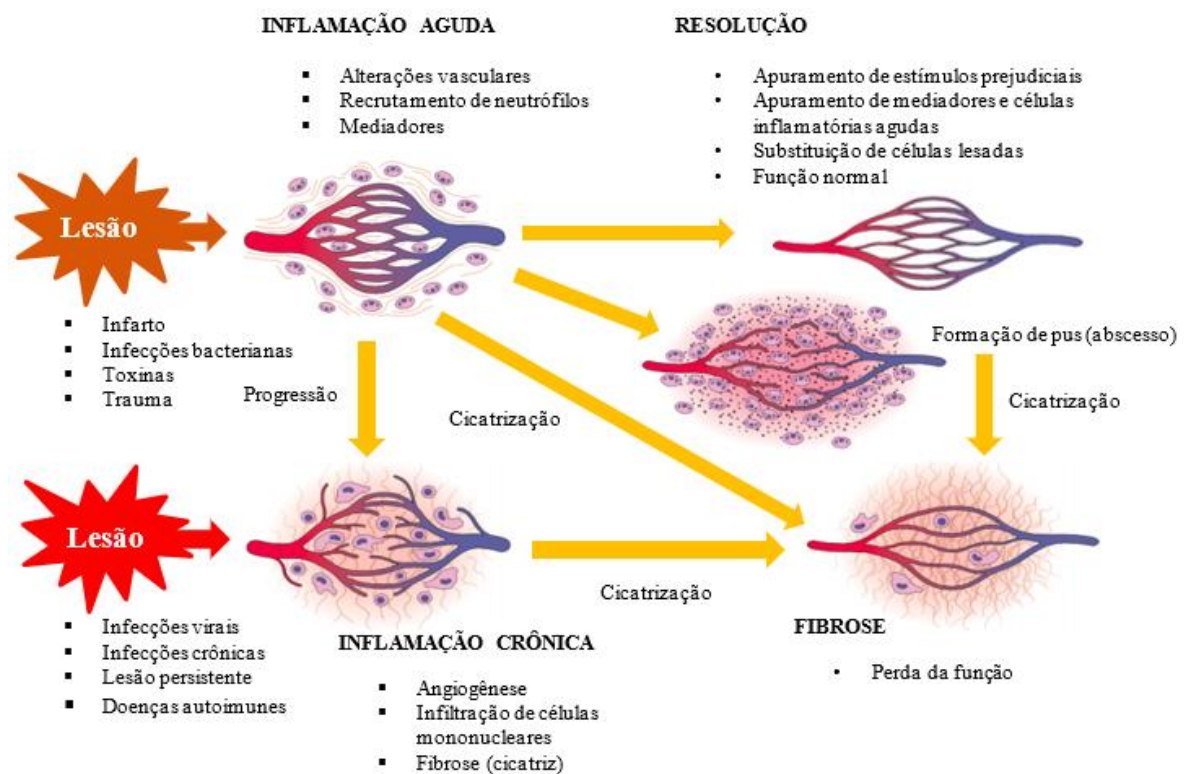


Figura 4. Processo inflamatório agudo e crônico (Kumar et al., 2005)

A inflamação aguda considerada de curta duração (horas ou dias) é caracterizada pela presença de vasodilatação (ocasionada por mediadores como óxido nítrico e prostaglandinas), exsudação de líquido (plasma), infiltração de células polimorfonucleares (neutrófilos), seguido por monócitos que se diferenciam em macrófagos e finalmente os fibroblastos que se proliferam, podendo restabelecer a estrutura do tecido danificado. Além da vasodilatação, a formação do edema é um outro sinal importante da inflamação aguda. O edema é oriundo do fluxo transvascular de fluido rico em proteínas (plasma), dos compartimentos intravasculares para o interstício em

decorrência do aumento de permeabilidade vascular de capilares e vênulas, como resultado da liberação de histamina, bradicinina, fatores do complemento e fator de agregação plaquetária no sítio inflamatório (Rang & Dale et al, 2007).

A inflamação crônica é caracterizada por ter maior duração (semanas a meses) e, está correlacionada à presença de linfócitos e macrófagos, proliferação de vasos sanguíneos e as tentativas de reparo tecidual com consequente destruição do tecido e a formação de fibrose e necrose tecidual (Tabas & Glass, 2013).

Para o tratamento de processos inflamatórios é realizado com administração de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) e, em casos específicos, anti-inflamatórios esteroidais (AIES). Entretanto, o uso crônico destes, acarreta efeitos colaterais graves, como ulceração gástrica ou intestinal, distúrbios renais, edema, retenção de sódio e hipertensão arterial (Dale & Stacey, 2016).

Os AINES tradicionais como naproxeno, ibuprofeno, diclofenaco, indometacina, flurbiprofeno, nabumeton e aspirina inibem tanto COX-1 como COX-2, classificados como anti-inflamatórios não seletivos. Por atuarem nas duas COXs, reduz a inflamação por inibir a COX-2 que é altamente seletiva, porém causa efeitos secundários gastrointestinais por inibirem a COX-1, entretanto isto pode ser explicado pelo envolvimento de ambas as COXs na produção de prostanoídes associados com proteção gástrica (Mitchell & Warner, 2006).

Com a descoberta da COX-2 durante o processo inflamatório, surgiu novas perspectivas terapêuticas para o desenvolvimento de drogas com menos efeitos adversos, denominados de Coxibes ou inibidores seletivos da COX-2 (FitzGerald & Patrono, 2001). Alguns exemplos de coxibes são celecoxibe, parecoxibe, valdecoxibe, etoricoxibe e rofecoxibe. Em 2004 e 2005 o medicamento rofecoxibe e valdecoxibe foram retirados do mercado por causar problemas cardiovasculares e celecoxibe foi recomendado a colocação de tarja preta por apresentar risco cardiovascular (Garcia Júnior et al., 2005).

Em relação aos glicocorticoides conhecidos como anti-inflamatórios esteroidais ou hormonais são bastante prescritos pois são utilizados em protocolos de tratamento de uma ampla variedade de doenças inflamatórias e autoimunes, como a artrite reumatoide, por exemplo (Rauch et al., 2011). Alguns exemplos são: a cortisona e a hidrocortisona (ação curta), prednisona, prednisolona, metilprednisolona e a triancinolona (ação intermediária), dexametasona e betametasona (ação longa) (Anti et al., 2008).

Compostos naturais com diferentes mecanismos de ação podem ser utilizados no tratamento de doenças inflamatórias, dentre os metabólitos secundários com potencial

atividade anti-inflamatória estão a curcumina, extraída de *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae); a rutina, a quercetina, a apigenina, a morina e a narigenina, obtidas de *Ginkgo biloba* (Ginkgoaceae); a silimarina, extraída de *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (Asteraceae); alguns flavonoides, como a baicaleína, obtida de *Scutellaria baicalensis* Georgi (Lamiaceae) e o cirsiol, derivado de *Achillea fragrantissima* (Forssk.) Sch.Bip. (Asteraceae), entre outros compostos (Calixto et al., 2003). Desta forma, estudos a partir de plantas com potencial medicinal são necessários para contribuir para a descoberta de novos anti-inflamatórios que possam ser utilizados com eficácia e segurança para o tratamento da doença.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a composição química do óleo essencial obtido de folhas coletadas de *Schinus terebinthifolia* de seis estados brasileiros e comprovar a atividade anti-inflamatória e atividade antinociceptiva *in vivo*.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar a extração do óleo essencial de folhas de *S. terebinthifolia* coletadas na Bahia, Espírito Santo, Paraná, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul e São Paulo;
- Identificar os compostos majoritários presentes nos óleos essenciais por CG/EM;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória pelo modelo edema de pata induzido por carragenina;
- Avaliar a atividade antinociceptiva pelo modelo de hiperalgia mecânica;
- Avaliar a atividade de sensibilidade ao frio pelo teste da acetona.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Affonso, C., Fernandes, R., Oliveira, J., Martins, M., Lima, S., Sousa Júnior, G., Fernandes, M., Zanini, S. Effects of the essential oil from fruits of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) on reproductive functions in male rats. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23(1), p. 180-185, 2012.

Amorim, M. M. R. & Santos, L. C. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. **Revista Brasileira De Ginecologia e Obstetrícia**, v. 25, p. 95-102, 2003.

Anti, S. M. A., Giorgi, R. D. N., Chahade, W. H. Antiinflamatórios hormonais: Glicocorticóides. **Einstein**, v. 6, p. 159-165, 2008.

Baggio, A. J. Aroeira como potencial para usos múltiplos na propriedade rural. **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 17, p. 25-32, 1988.

Balbach, A. As plantas curam. **Ed. São Paulo: Missionária**, v. 2, 1956.

Barbosa, L., Demuner, A., Clemente, A., Paula, V., Ismail, F. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Química Nova**, v. 30(8), p. 1959-1965, 2007.

Bauer, A. & Bronstrup, M. Industrial natural product chemistry for drug discovery and development. **Natural Product Reports**, v. 31, p. 35-60, 2014.

Bendaoud, H., Romdhane, M., Souchard, J., Cazaux, S., Bouajila, J. Chemical Composition and Anticancer and Antioxidant Activities of *Schinus Molle* L. and *Schinus Terebinthifolius* Raddi Berries Essential Oils. **Journal of Food Science**, v. 75(6), p. 466-472, 2010.

Bernardes, N., Heggdorne-Araújo, M., Borges, I., Almeida, F., Amaral, E., Lasunskaja, E., Muzitano, M., Oliveira, D. Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus terebinthifolius*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24(6), p. 644-650, 2014.

Bittencourt Fagundes, M., Ballus, C., Perceval Soares, V., de Freitas Ferreira, D., Sena Vaz Leães, Y., Sasso Robalo, S., Guidetti Vendruscolo, R., Bastianello Campagnol, P., Smanioto Barin, J., Cichoski, A., Bevilacqua Marcuzzo, S., Assumpção Bertuol, D.,

Wagner, R. Characterization of olive oil flavored with Brazilian pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in different maceration processes. **Food Research International**, v. 137, p. 109593, 2020.

Bornhausen, R. L. As ervas do sítio: história, magia, saúde, culinária e cosmética. **São Paulo: BEI Comunicação**, 2002.

Braga, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. **Imprensa Oficial, Fortaleza**, v. 2, 1960.

Brandão, M., Cosenza, G., Moreira, R., Monte-Mor, R. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16(3), p. 408-420, 2006.

Brasil. Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS. **Renisus – Ministério da saúde**, 2009.

Brasil. Monografia da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia). **Ministério da saúde**, 2014.

Brown, G. D. The biosynthesis of artemisinin (Qinghaosu) and the phytochemistry of *Artemisia annua* L. (Qinghao). **Molecules**, v. 15, p. 7603-7698, 2010.

Burckhardt, D. & Basset, Y. The jumping plant-lice (*Hemiptera, Psylloidea*) associated with *Schinus* (Anacardiaceae): systematics, biogeography and host plant relationships. **Journal of Natural History**, v. 34(1), p. 57-155, 2000.

Calixto, J. B.; Otuki, M. F.; Santos, A. R. S. Antiinflammatory compounds of plant origin. Part I. Action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor Kb (NFKb). **Planta Medica**, v. 69, p. 1-12, 2003.

Carvalho, M., Melo, A., Aragão, C., Raffin, F., Moura, T. *Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15(1), p.158-169, 2013.

Carvalho, J., Pinheiro, P., Marques, C., Bastos, L., Bernardes, P. Composição Química e Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Óleo de Pimenta Rosa (*Schinus terebinthifolius*). **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, p. 59-63, 2017.

Clemente, A. D. Composição química e atividade biológica do óleo essencial da pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi.). **Tese (Doutorado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa**, 2006.

Cole, E.R. Estudo fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* RADDI) e sua eficácia no combate ao dengue. **Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Espírito Santo – Brasil**, 2008.

Corrêa, M. P. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. **Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, Brasil**, v. 3, p. 125–126, 1974.

Costa, D., Costa, H., Albuquerque, T., Ramos, F., Castilho, M., Sanches-Silva, A. Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45(2), p. 336-354, 2015.

Coutinho, I., Torres, O., Matias, J., Coelho, J., Stahlke Júnior, H., Agulham, M., Bachle, Ê., Camargo, P., Pimentel, S., Freitas, A. Efeito do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 21(suppl 3), p. 49-54, 2006.

Crozier, A., Clifford, M. N., Ashihara, H. Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. **Editores Backwell**, 2006.

Cruvinel, W., Mesquita Júnior, D., Araújo, J., Catelan, T., Souza, A., Silva, N., Andrade, L. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos

mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50(4), p. 434-447, 2010.

Dale, R. & Stacey, B. Multimodal Treatment of Chronic Pain. **Medical Clinics of North America**, v. 100(1), p. 55–64, 2016.

Dannenber, G., Funck, G., Silva, W., Fiorentini, Â. Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. **Food Control**, v.95, p. 115-120, 2019.

Dawkins, K. & Esiobu, N. Emerging Insights on Brazilian Pepper Tree (*Schinus terebinthifolius*) Invasion: The Potential Role of Soil Microorganisms. **Frontiers in Plant Science**, v.7, 2016.

Degáspari, C. H., Waszczynskyj, N., Prado, M. R. M. Antimicrobial activity of *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29(3), p. 617-22, 2005.

de Oliveira, V., Augusta, I., Braz, M., Riger, C., Prudêncio, E., Sawaya, A., Sampaio, G., Torres, E., Saldanha, T. Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: Chemical constituents, bioactive compounds and *in vitro* and *in vivo* antioxidant capacity. **Food Chemistry**, 315, p.126274, 2020.

dos Santos Cavalcanti, A., de Souza Alves, M., da Silva, L., dos Santos Patrocínio, D., Sanches, M., Chaves, D. and de Souza, M. Volatiles composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25(4), p. 356-362, 2015.

dos Santos da Rocha, P., de Araújo Boleti, A., do Carmo Vieira, M., Carollo, C., da Silva, D., Estevinho, L., dos Santos, E., de Picoli Souza, K. Microbiological quality, chemical profile as well as antioxidant and antidiabetic activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 220, p.36-46, 2019.

DuBois, R., Abramson, S., Crofford, L., Gupta, R., Simon, L., Putte, L., Lipsky, P. Cyclooxygenase in biology and disease. **The FASEB Journal**, v. 12(12), p.1063-1073, 1998.

El-Massry, K., El-Ghorab, A., Shaaban, H., Shibamoto, T. Chemical Compositions and Antioxidant/Antimicrobial Activities of Various Samples Prepared from *Schinus terebinthifolius* Leaves Cultivated in Egypt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57(12), p. 5265-5270, 2009.

Ennigrou, A., Casabianca, H., Vulliet, E., Hanchi, B., Hosni, K. Assessing the fatty acid, essential oil composition, their radical scavenging and antibacterial activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves and twigs. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55(4), p. 1582-1590, 2018.

Estevão, L., Simões, R., Cassini-Vieira, P., Canesso, M., Barcelos, L., Rachid, M., Câmara, C., Evêncio-Neto, J. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) leaves oil attenuates inflammatory responses in cutaneous wound healing in mice. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 32(9), p. 726-735, 2017.

Fedel-Miyasato, L., Kassuya, C., Auharek, S., Formagio, A., Cardoso, C., Mauro, M., Cunha-Laura, A., Monreal, A., Vieira, M., Oliveira, R. Evaluation of anti-inflammatory, immunomodulatory, chemopreventive and wound healing potentials from *Schinus terebinthifolius* methanolic extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24(5), p. 565-575, 2014.

Feriani, A., Tir, M., Hamed, M., Sila, A., Nahdi, S., Alwasel, S., Harrath, A., Tlili, N. Multidirectional insights on polysaccharides from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* fruits: Physicochemical and functional profiles, in vitro antioxidant, anti-genotoxicity, antidiabetic, and antihemolytic capacities, and in vivo anti-inflammatory and anti-nociceptive properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 2576-2587, 2020.

FitzGerald, G., Patrono, C. The Coxibs, Selective Inhibitors of Cyclooxygenase-2. **New England Journal of Medicine**, v. 345(6), p.433-442, 2001.

Formagio, A. S. N., Kassuya Iriguchi, E. K., Roveda, L. M., Vieira, M. C., Lima Cardoso, C. A., Heredia Zarate, N., Tabaldi, L. A., Leite Kassuya, C. A. Chemical Composition and Anti-Inflammatory Activity of the Essential Oil of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) Fruits. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 30(8), p. 1555-9, 2011.

Ganzera, M., Guggenberger, M., Stuppner, H., Zidorn, Z. Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Matricaria chamomilla* cv BONA. **Planta Medica**, v. 74, p. 453-457, 2008.

Garcia Júnior, I.R.; Gaujac, C.; Gealh, W.C.; Magro Filho, O.; Hochuli Vieira, E. Uso dos inibidores seletivos da COX-2 na odontologia. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 34, p. 167-171, 2005.

Gomes, A., Almeida, M., Leite, M., Schwaiger, S., Stuppner, H., Halabalaki, M., Amaral, J., David, J. Seasonal variation in the chemical composition of two chemotypes of *Lippia alba*. **Food Chemistry**, v. 273, p.186-193, 2019.

Gomes, F. S., Procopio, T. F., Napoleão, T. H., Coelho, L. C. B. B., Paiva, P. M. G. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114(3), p. 672-679, 2013a.

Gomes, V., Agostini, G., Agostini, F., Atti dos Santos, A., Rossato, M., Variation in the essential oils composition in Brazilian populations of *Schinus molle* L. (Anacardiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 48, p. 222-227, 2013b.

Gundidza, M., Gweru, N., Magwa, M. L., Mmbengwa, V., Samie, A. The chemical composition and biological activities of essential oil from the fresh leaves of *Schinus*

terebinthifolius from Zimbabwe. **African Journal of Biotechnology**, v. 8(24), p. 7164-7169, 2009.

Guzzo da Silva, B., Foglio, M., Vieira e Rosa, P., Taranto, O., Frattini Fileti, A. Optimization of hydrodistillation and in vitro anticancer activity of essential oil from *Schinus terebinthifolius* Raddi fruits. **Chemical Engineering Communications**, v. 206(5), p. 619-629, 2018.

Hsieh, T., Liu, T., Chia, Y., Chern, C., Lu, F., Chuang, M., Mau, S., Chen, S., Syu, Y., Chen, C. Protective effect of methyl gallate from *Toona sinensis* (Meliaceae) against hydrogen peroxide-induced oxidative stress and DNA damage in MDCK cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42(5), p. 843-850, 2004.

Kroymann, J. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14(3), p. 246–251, 2011.

Kronel: Gel. Responsável técnico Marta Melissa Leite Maia. **INFAN - Indústria Química Farmacêutica Nacional S/A**, 1999.

Lenzi M. & Orth A. I. Characterization of the functional reproductive system of the pinkpepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi), in Florianópolis, SC, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 26(2), p. 198- 201, 2004.

Lorenzi, H. Árvores Brasileiras: Manual de identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil. **Editora Plantarum**, v. 2, 1998.

Lima, L., Vasconcelos, C., Maranhão, H., Leite, V., Ferreira, P., Andrade, B., Araújo, E., Xavier, H., Lafayette, S., Wanderley, A. Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 126(3), p.468-473, 2009.

Lima, M. B. P & Vidal, C. Plantas medicinais utilizadas por gestantes em unidades básicas de saúde de um município do sertão central. **Anais da Mostra Científica da Farmácia**, v. 4(2), 2017.

Lima, M., de Araújo, J., Gonçalves Mota, C., Magalhães, F., Campos, A., da Silva, P., Rodrigues, T., Matos, M., de Sousa, K., de Sousa, M., Saker-Sampaio, S., Pereira, A., Teixeira, E., dos Santos, H. Antinociceptive Effect of the Essential Oil of *Schinus terebinthifolius* (female) Leaves on Adult Zebrafish (*Danio rerio*). **Zebrafish**, v. 17(2), p. 112-119, 2020.

Lorenzi, H. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Instituto Plantarum**, p. 368, 2002.

Lorenzi, H. & Matos, F. J. A. Medicinal Plants of Brazil: Native and Exotic (in Portuguese)., **Instituto Plantarum**, 2002.

Lucena, P., Ribas Filho, J., Mazza, M., Czezko, N., Dietz, U., Correa Neto, M., Henriques, G., Santos, O., Ceschin, Á., Thiele, E. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 21(suppl 2), p. 46-51, 2006.

Maldini, M., Sosa, S., Montoro, P., Giangaspero, A., Balick, M., Pizza, C., Loggia, R. Screening of the topical anti-inflammatory activity of the bark of *Acacia cornigera* Willdenow, *Byrsonima crassifolia* Kunth, *Sweetia panamensis* Yakovlev and the leaves of *Sphagneticola trilobata* Hitchcock. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122(3), p. 430-433, 2009.

Matsuo, A., Figueiredo, C., Arruda, D., Pereira, F., Borin Scutti, J., Massaoka, M., Travassos, L., Sartorelli, P., Lago, J. α -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 411(2), p. 449-454, 2011.

Martínez, M. J., González, N. A., Betancourt-Badell, J. Actividad antimicrobiana del *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 1, p. 37-39, 1996.

Martorelli, S. B. F., Pinheiro, A. L. B., Souza, I. A., Higini, J. S., Bravo, F. Extrato hidroalcoólico de *schinus terebinthifolius* raddi (aroeira) 30% em orabase. **International Journal Of Dentistry**, v. 10, p. 80 – 90, 2011

Medeiros, K., Monteiro, J., Diniz, M., Medeiros, I., Silva, B., Piuvezam, M. Effect of the activity of the Brazilian polyherbal formulation: *Eucalyptus globulus* Labill, *Peltodon radicans* Pohl and *Schinus terebinthifolius* Raddi in inflammatory models. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17(1), p. 23-28, 2007.

Melo Jr., E. J. M., Raposo, M. J., Lisboa Neto, J. A., Diniz, M. F., Marcelino Jr., C. A. Santana, A. E. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: microbiological and microscopic analysis. **Phytomedicine**, v. 9, p. 109-116, 2002.

Mitchell, J., Warner, T. COX isoforms in the cardiovascular system: understanding the activities of non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.5(1), p.75-86, 2006.

Morais, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 4050-4063, 2009.

Morton, J. Brazilian pepper—Its impact on people, animals and the environment. **Economic Botany**, v. 32(4), p. 353-359, 1978.

Moura-Costa, G., Nocchi, S., Ceole, L., Mello, J., Nakamura, C., Dias Filho, B., Temponi, L., Ueda-Nakamura, T. Antimicrobial activity of plants used as medicinals on an indigenous reserve in Rio das Cobras, Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143(2), p.631-638, 2012.

Nunes Jr., J., Ribas-Filho, J., Malafaia, O., Czeczko, N., Inácio, C., Negrão, A., Lucena, P., Moreira, H., Wagenfuhr Jr., J., Cruz, J. Avaliação do efeito do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) no processo de cicatrização da linea alba de ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 21(suppl 3), p. 8-15, 2006.

Pavarini, D., Pavarini, S., Niehues, M., Lopes, N. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. **Animal Feed Science and Technology**, 176(1-4), p.5-16, 2012.

Pawlowski, Â., Kaltchuk-Santos, E., Zini, C., Caramão, E., Soares, G. Essential oils of *Schinus terebinthifolius* and *S. molle* (Anacardiaceae): Mitodepressive and aneugenic inducers in onion and lettuce root meristems. **South African Journal of Botany**, v. 80, p. 96-103, 2012.

Pell, S., Mitchell, J., Miller, A., Lobova, T. Anacardiaceae. **Flowering Plants. Eudicots**, p.7-50, 2010.

Piccinelli, A., Santos, J., Konkiewitz, E., Oesterreich, S., Formagio, A., Croda, J., Ziff, E., Kassuya, C. Antihyperalgesic and antidepressive actions of (R)- (+)-limonene, α -phellandrene, and essential oil from *Schinus terebinthifolius* fruits in a neuropathic pain model. **Nutritional Neuroscience**, v. 18(5), p. 217-224, 2014.

Pinto, J., Vieira, M., Zárate, N., Formagio, A., Cardoso, C., Carnevali, T., Souza, P. Effect of Soil Nitrogen and Phosphorus on Early Development and Essential Oil Composition of *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19(1), p. 247-257, 2016.

Pio Corrêa, M. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. **Imprensa Nacional**, v. 1, p. 1926-1978, 1984.

Pontes, R. M. F., Monteiro, P. S., Rodrigues, M. C. S. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças atendidas em um centro de saúde do Distrito Federal. **Comunicação em ciências da saúde**, v. 17(2), p. 129-139, 2006.

Queires, L. C., Fauvel-Lafève, F., Terry, S., De la Taille, A., Kouyoumdjian, J. C., Chopin, D. K., Vacherot, F., Rodrigues, L. E., Crépin, M. Polyphenols purified from the Brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolius*, Raddi) induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells. **Anticancer Research**, v. 26, p. 379-87, 2006.

Rauch, A., Gossye, V., Bracke, D., Gevaert, E., Jacques, P., Van Beneden, K., Vandooren, B., Rauner, M., Hofbauer, L., Haegeman, G., Elewaut, D., Tuckermann, J., De Bosscher, K. An anti-inflammatory selective glucocorticoid receptor modulator preserves osteoblast differentiation. **The FASEB Journal**, v. 25(4), p. 1323-1332, 2011.

Rang, H. P., Dale, M. M., Fuchs, F. D., Wannmacher, L. Farmacologia: Farmacologia Clínica. **Editora Elsevier**, v. 8, 2016.

Richter, R., Von Reuß, S., König, W. Spirocyclopropane-type sesquiterpene hydrocarbons from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Phytochemistry**, v. 71(11-12), p. 1371-1374, 2010.

Rosas, E. C., Correa, L. B., das Graças Henriques, M. Antiinflammatory Properties of *Schinus terebinthifolius* and Its Use in Arthritic Conditions. **Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases**, p.489-505, 2019.

Salem, M., El-Hefny, M., Ali, H., Elansary, H., Nasser, R., El-Settawy, A., El Shanhorey, N., Ashmawy, N., Salem, A. Antibacterial activity of extracted bioactive molecules of *Schinus terebinthifolius* ripened fruits against some pathogenic bacteria. **Microbial Pathogenesis**, v. 120, p. 119-127, 2018.

Santos, R. M., Fortes, G. A. C.; Ferri, P. H., Santos, S. C. Influence of foliar nutrients on phenol levels in leaves of *Eugenia uniflora*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 21, p. 581-586, 2011.

Santos, R. A. Influence of *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) and *Carapa guianensis* Aublet (andiroba) in the healing process of gastrorrhaphies. **Arquivos Brasileiros de**

Cirurgia Digestiva, v. 26, p. 84-91, 2013.

Schulze-Kaysers, N., Feuereisen, M., Schieber, A. Phenolic compounds in edible species of the Anacardiaceae family – a review. **RSC Advances**, v. 5(89), p. 73301-73314, 2015.

Sereniki, A., Linard-Medeiros, C., Silva, S., Silva, J., Peixoto Sobrinho, T., da Silva, J., Alves, L., Smaili, S., Wanderley, A., Lafayette, S. *Schinus terebinthifolius* administration prevented behavioral and biochemical alterations in a rotenone model of Parkinson's disease. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26(2), p.240-245, 2016.

Silva, A., Almeida, D., Ronchi, S., Bento, A., Scherer, R., Ramos, A., Cruz, Z. The essential oil of Brazilian pepper, *Schinus terebinthifolia* Raddi in larval control of *Stegomyia aegypti* (Linnaeus, 1762). **Parasites & Vectors**, v. 3(1), p. 79, 2010.

Silva, M., Iriguchi, E., Kassuya, C., Vieira, M., Foglio, M., Carvalho, J., Ruiz, A., Souza, K., Formagio, A. *Schinus terebinthifolius*: phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.27(4), p.445-452, 2017.

Silva-Luz, C. L. & Pirani, J. R. Anacardiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil Jardim Botânico. **Flora Brasil**, 2014.

Silva-Luz, C. L., Pirani, J. R., Pell, S. K., Mitchell, J. D. Anacardiaceae in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. **Flora Brasil**, 2020.

Tabaldi, L., Vieira, M., Zárate, N., Formagio, A., Pilecco, M., Silva, L., Santos, K. Influence of poultry litter and plant density on the production and chemical composition of the essential oil of *Schinus terebinthifolius* Raddi fruits. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16(2), p. 398-405, 2014.

Tabas, I. & Glass, C. K. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. **Science**, v. 339(6116), p. 166-172, 2013.

Taiz, L., Zeiger, E. Fisiologia vegetal. **Artmed**, v. 4, 2009.

Taiz, L., Zeiger, E. Fisiologia vegetal. **Artemed**, v. 5, 2013.

Tlili, N., Yahia, Y., Feriani, A., Labidi, A., Ghazouani, L., Nasri, N., Saadaoui, E. and Khaldi, A. *Schinus terebinthifolius* vs *Schinus molle*: A comparative study of the effect of species and location on the phytochemical content of fruits. **Industrial Crops and Products**, v.122, p.559-565, 2018.

Uliana, M., Fronza, M., da Silva, A., Vargas, T., de Andrade, T. and Scherer, R. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 235-240, 2016.

Wannan, B. Analysis of Generic Relationships in Anacardiaceae. **Blumea - Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants**, v. 51(1), p. 165-195, 2006.

Zhang, X., Yu, Y., Yang, D., Qi, Z., Liu, R., Deng, F., Cai, Z., Li, Y., Sun, Y., Liang, Z. Chemotaxonomic variation in secondary metabolites contents and their correlation between environmental factors in *Salvia miltiorrhiza* Bunge from natural habitat of China. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 335-347, 2018.

5. MANUSCRITO

Seasonal variation in the chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oil of *Schinus terebinthifolia* Raddi.

Janaine Alberto Marangoni ^a, Jannaina Velasques da Costa Pinto^b, Candida Aparecida Leite Kassuya ^c, Pedro Cruz de Oliveira Junior ^a, Sidney Mariano dos Santos ^c, Claudia Andrea Lima Cardoso ^d, Rosilda Mara Mussury Franco Silva^a, Maria do Carmo Vieira ^e and Anelise Samara Nazari Formagio ^{a,c*}

^a Faculty of Biological and Environmental Sciences, Federal University of Grande Dourados UFGD, MS, Brazil.

^b Centro de Formação em Ciências Agroflorestais, Universidade Federal do Sul da Bahia, Itabuna, Brazil.

^c Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados UFGD, MS, Brazil.

^d State University of Mato Grosso do Sul, University City of Dourados, UEMS, MS, Brazil.

^e Faculty of Agricultural Sciences, Federal University of Grande Dourados UFGD, MS, Brazil.

***Corresponding author at:** Faculty of Biological and Environmental Sciences, Federal University of Grande Dourados UFGD, MS, Brazil, Rodovia Dourados/Itahum. Km 12 – Unidade II, Caixa Postal: 364 – Cep: 79.804-970. Phone: 55- (67) 3410-2205; Fax 55- (67) 3410-2205.

E-mail addresses: aneliseformagio@gmail.com (A.S.N.F)

ABSTRACT

Background: *Schinus terebinthifolia* Raddi. (Anacardiaceae), commonly known as pink pepper, is a plant native to South America that grows in several of Brazil's states. Its leaves and fruits are rich in essential oil, distinguished by a predominance of monoterpenes and sesquiterpenes, it being widely used in traditional medicine for the treatment of inflammations.

Purpose: This study's objective was to investigate the chemical composition of the essential oil of *S. terebinthifolia* leaves (EOST) collected in six states of Brazil, and to evaluate its anti-inflammatory effects in mice.

Methods: Leaves of *S. terebinthifolia* were collected in six states of Brazil, and subjected to hydrodistillation in Clevenger type apparatus, the analysis was performed in a CG/MS. The anti-inflammatory activity and hyperalgesia were performed using the carrageenan-induced paw edema methodology.

Results: The essential oil showed variation across the six states in its yield (0.40% to 0.86%) and chemical composition: hydrocarbon monoterpenes (28.76%–47.73%), sesquiterpenes, (31.43%–41.76%), oxygenated monoterpenes (14.31%–19.57%), and oxygenated sesquiterpenes (4.87%– 14.38%). Both α -pinene and limonene were predominant constituents of essential in five regions, except for one state where α -phellandrene and limonene were the dominant components. In the *in vivo* testing, all EOST samples exerted antiedematogenic and antihyperalgesic effects, when tested in a carrageenan-induced paw inflammation (mechanical and thermal hyperalgesia) model with oral doses of 30 mg/kg.

Conclusion: Our results indicate that the EOST samples collected in six Brazilian states differed in their chemical composition but not their anti-inflammatory and

antihyperalgesic effects, which was correlated with the synergistic effect of its components.

Keywords: Pink pepper; Monoterpenes; Sesquiterpenes; Inflammation; Anti-hyperalgesic.

Abreviattions: Abreviattions: CFA - complete Freund's adjuvant; Cg - carrageenan; COX-2 - Cyclooxygenase; DEXA - dexamethasone; IPP - isopentenyl pyrophosphate; DMAPP - dimethylallyl pyrophosphate; s.c - subcutaneous

Introduction

Schinus terebinthifolia Raddi. (Anacardiaceae), commonly known as pink pepper, is a popular evergreen shrub or tree that is widely distributed in Brazilian territory, though mainly occurring in the Atlantic Forest (Corrêa, 1974; Tlili et al., 2018). In folk medicine, its stem bark and leaves are primarily used in the form of decoction and/or infusion to treat various health disorders, as well as anti-inflammatory processes (Amorim and Santos, 2003; Brasil, 2014; Morton, 1978; Rosas et al., 2019). The importance of *S. terebinthifolius* has promoted this plant's inclusion in the Brazilian Pharmacopeia (Brandão et al., 2006).

Both the leaves and fruits of *terebinthifolia* are rich in essential oil, with predominance of monoterpenes and sesquiterpenes. Chemical analyses of the essential oil extracted from leaves showed that its major components were spathulenol (0.19%–3.01%), δ -3-carene (0.18%–2.69%), β -phellandrene (0.21%–6.59%), β -myrcene (0.86%–1.69%), β -pinene (1.22%–8.99%), bicyclogermacrene (2.09%–15.0%), germacrene D (2.65%–23.8%), α -pinene (5.7%–31.59%), and limonene (6.62%–14.21%) according to

all studies (Ennigrou et al, 2018; Pawlowski et al., 2012; Pinto et al., 2016; Santana et al., 2012; Santos et al., 2009; Uliana et al., 2016).

Anti-inflammatory effects of essential oil from *terebinthifolia* leaves were recently reported (Estevão et al., 2017; Lima et al., 2020). Studies conducted by our research group revealed that, when compared to literature data, the essential oil obtained from *S. terebinthifolia* fruits collected in Dourados-MS, Brazil, differed slightly in its chromatographic profile and quantitative composition; this essential oil exhibits anti-inflammatory activity when assayed for carrageenan-induced rat paw-edema, air pouch, and CFA-induced persistent (Formagio et al., 2011).

Essential oils have attracted much scientific interest for being substances with anti-inflammatory potential. However, environmental conditions (extrinsic factors) can cause significant variation in plant secondary metabolism and this could affect the yield and relative values of an essential oil's components (Gobbo-Neto and Lopes, 2007). Thus, the variation in compounds in essential oils is important, because it is a key parameter that could be related to the biological activity in the plants.

Combining popular knowledge of anti-inflammatory processes' treatment with the variation in plant secondary metabolism, this study investigated the chemical composition of the essential oil in *S. terebinthifolia* leaves (EOST) collected in Brazil throughout six states as well as its anti-inflammatory and analgesic activity in mice.

Materials and methods

Plant material

Leaves of *S. terebinthifolia* were collected at the fruiting stage (June 2019) from six Brazilian states in the Atlantic Forest biome (**Figure 1**). The plant was identified and a voucher specimen DDMS 4600 was deposited in the herbarium of the Faculty of

Biological and Sciences, Federal University of Grande Dourados (UFGD), Mato Grosso do Sul, Brazil, SisGen 010220/2015-1–CNPq/CGEN/MMA.

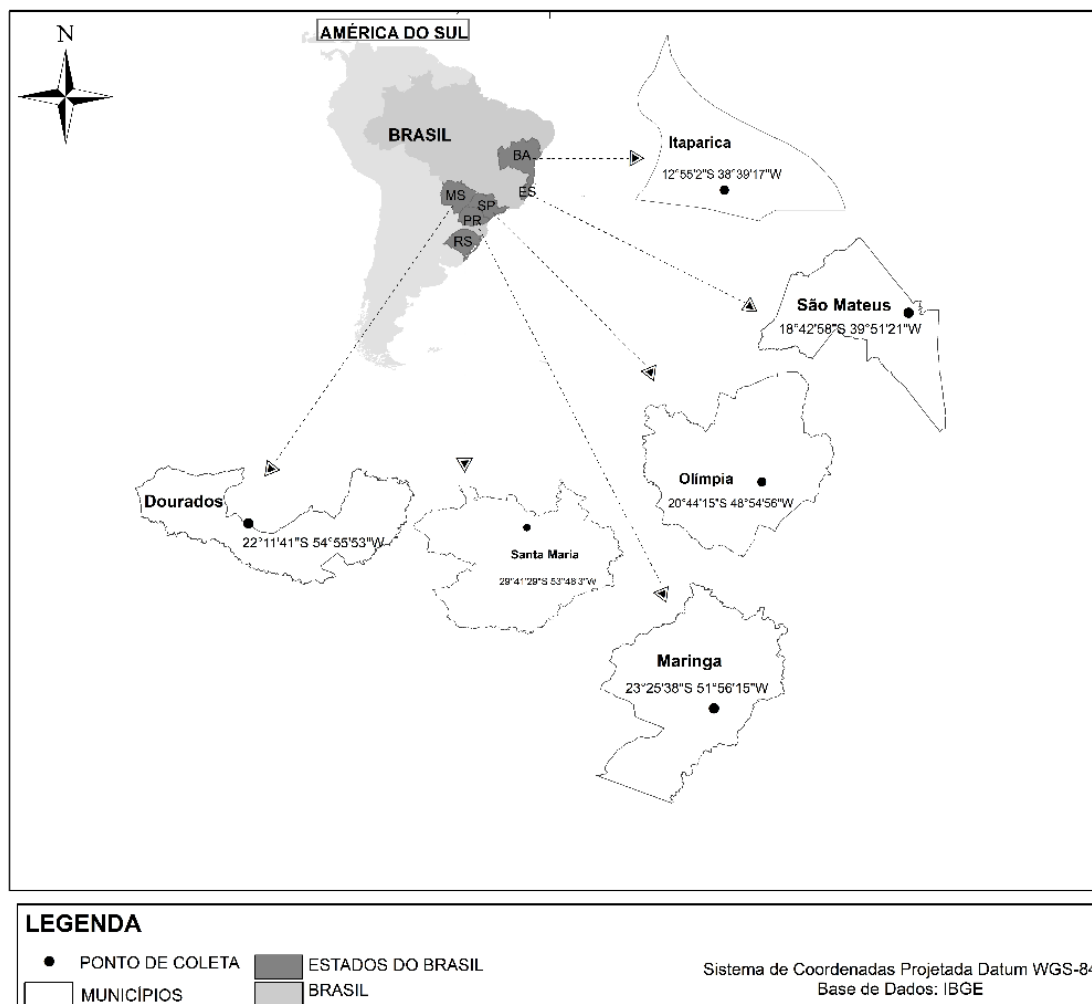


Figure 1. Detailed information on the *Schinus terebinthifolia* collection sites. States are Bahia (BA, Itaparica 24 m), Espírito Santo (ES, São Mateus 36 m), Paraná (PR, Maringá 551 m), Rio Grande do Sul (RS, Santa Maria 139 m), Mato Grosso do Sul (MS, Dourados 430 m), and São Paulo (SP, Olímpia 518 m).

Extraction of the essential oil

Fresh leaves (400 g) of *S. terebinthifolia* at each sampling site were subjected to hydrodistillation in a Clevenger type apparatus for approximately 4 h to obtain the

essential oil (EOST), following the procedure described in the Brazilian Pharmacopeia (Brasil, 2010). The obtained samples of essential oil of *S. terebinthifolia* growing in Bahia (EOST -BA), Espírito Santo (EOST -ES), Paraná (EOST -PR), Rio Grande do Sul (EOST -RS), Mato Grosso do Sul (EOST -MS) and São Paulo (EOST -SP) all had same characteristic odor. They were dried over anhydrous sodium sulfate and, after filtration, stored in glass bottles at low temperature (4°C) until further testing and analysis.

Analysis of the essential oil

The analysis of essential oil samples was performed using the same gas chromatograph equipped with a mass spectrometer detector (GCMS-QP2010 Ultra, Shimadzu, Kyoto, Japan). A DB-5 column (30-m length, 0.25-mm internal diameter, 0.25- μ m film thickness) was used, with helium (99.999% purity) as the carrier gas, using a flow rate of 1.0 mL min⁻¹ and an injection volume of 1 μ L (in the split mode, 1:10). Initial oven temperature was 50°C, with heating to 280°C at 3°C min⁻¹. The injector temperature was 220°C and the temperature of the transfer line as well as the quadrupole detector was 280°C. The MS scan parameters included an electron impact ionization voltage set at 70 V, a mass range spanning 50 to 600 Daltons, and a scan interval of 0.3 s.

The retention index was calculated using a mixture of linear alkanes (C₈–C₄₀) as an external reference. Compound identification was achieved by comparing the mass spectra of the essential oil samples with those spectra available in the NIST21 and WILEY229 libraries, as well as with data reported in the literature (Adams, 2007).

Animals

Swiss male mice (8 weeks old) were used, these provided by the Central Vivarium of Federal University of Grande Dourados. All the mice were kept on a 12-h light–dark cycle under controlled humidity (60%–80%) and temperature ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Two hours before the experiments, the animals were placed in the laboratory and used only once per experiment ($n = 6/\text{group}$). The experiments were conducted with the approval of the Ethics Committee (CEUA) of our institution, under protocol number of 33/2019.

Analyses of edema, mechanical hyperalgesia, and cold sensitivity in the carrageenan model

Male Swiss mice were divided into experimental treatment groups (6 animals/group) and treated orally (1 h before the carrageenan injection) with EOST-BA, EOST-ES, EOST-PR, EOST-RS, EOST-MS, and EOST-SP (30 mg/kg), and vehicle. In the positive control group, a dose of steroidal anti-inflammatory dexamethasone (DEXA, 1.0 mg / kg, subcutaneously) was administered 30 min before the carrageenan delivery. After the respective treatments, the animals received in their right paw 50 μL of the carrageenan solution (Cg, 300 μg diluted in sterile 0.9% saline). The left paw received the same volume of sterile 0.9% saline solution, and served as the control. The edema was gauged as the difference in thickness between legs, measured using a digital micrometer (DIGIMESS 110-284) at 2 h and 4 h after the carrageenan injection, and expressed in units of mL. (Henriques et al., 1990; Kassuya et al., 2009). Analyses of mechanical hyperalgesia (von Frey apparatus) and cold allodynia (test with drop acetone) were performed at 3 and 4 h after the carrageenan injection (Decosterd and Woolf, 2000).

Statistical analyses

To determine the relationship between classes of oil compounds and sampling sites' altitude, Pearson's correlation test was used (GraphPad Software, San Diego, CA,

USA), with a heat map and cluster graph produced in Past3[®]. All biological data are presented here as the mean \pm SEM (standard error of the mean), the difference between groups was assessed by analysis of variance (one-way ANOVA) followed by the Newman–Keuls test. The number of animals per group is indicated in the figure legends. Statistical differences were evaluated at $P < 0.05$, in GraphPad software.

Results and discussion

The essential oil obtained by hydrodistillation from *S. terebinthifolia* leaves collected from six diverse states in Brazil showed variation in its yield and chemical composition. Based on plant (w/w), the essential oil yields ranged from 0.40% to 0.86%. The highest yield was found in essential oil from Bahia (EOST-BA) with 0.86%, EOST-SP (0.83%), and EOST-MS (0.80%), followed by EOST-PR (0.78%), EOST-RS (0.70%), and EOST-ES (0.40%). This result was consistent with other findings for essential oil extracted from the aerial parts of *S. terebinthifolia* that had yields between 0.10% and 0.74% (El-Massry et al. 2009; Ennigrou et al, 2018; Pinto et al., 2016; Santos et al., 2009). However, other work demonstrated the essential oils extracted from the fruits of *S. terebinthifolia* had higher yields, of 1.74%–10% (Carvalho et al., 2013; dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Lloyd et al., 1977; Tabaldi et al., 2014).

More interestingly, however, were the differences in oil composition. In **Table 1** are the chemical composition profiles of the essential oil samples identified by gas chromatography. The number of identified compounds in each essential oil varied as follows: EOST-BA, EOST-RS, and EOST-MS had 20 compounds; EOST-ES and EOST-PR had 21 compounds and EOST -SP had 16 compounds. The essential oil of *S. terebinthifolia* was composed mainly of hydrocarbon monoterpenes (28.76%– 47.73%) and hydrocarbon sesquiterpenes (31.43%–41.76%). Oxygenated monoterpenes (14.31%–

19.57%) and oxygenated sesquiterpenes (4.87%–14.38%) were identified in lower percentages.

Pearson correlations were performed to discern possible relationships between the altitude of the states sampled and chemical classes (**Table 2**). These results showed that hydrocarbon monoterpenes and oxygenated sesquiterpenes were not affected by altitude ($r = 0.7701$ and $r = -0.8360$, respectively) indicating a strong correlation. However, oxygenated monoterpenes had a moderate correlation ($r = -0.5976$) and a weak correlation was found for hydrocarbon sesquiterpenes ($r = 0.3763$), which suggested the classes of compounds were highly correlated with altitude.

The α -pinene and limonene were predominant constituents of oil samples from five states, having concentrations of 11.66%–19.45% and 8.52%–22.34%, respectively (**Table 1**). Both were main compounds in four states: EOST-BA (α -pinene, 22.34%; limonene, 16.22%), EOST-PR (α -pinene, 11.43%; limonene, 14.01%), EOST-RS (α -pinene, 13.42%; limonene, 19.45%) and EOST-MS (α -pinene, 14.90%; limonene, 12.99%). The main compounds in EOST-ES were limonene (17.01%) and β -pinene (14.63%). The sole exception was EOST-SP, for which α -phellandrene (20.13%) and limonene (11.66%) were dominant components (**Table 1**). Other constituents, such as sabinene (6.08%–9.01%), α -copaene (6.34%–10.15%), α -funebrene (2.05%–3.33%), and germacrene D (3.24%–8.21%) were found in the essential oil samples of five states, with the exception again being EOST-SP (**Table 1**), it solely harboring α -phellandrene (20.13%), E-caryophyllene (6.78%), and elemol (14.30%).

We compared these results with those from studies in the literature concerning the essential oils extracted from fruits. This confirmed the presence of monoterpenes as major constituents of *S. terebinthifolia* essential oil, highlighting limonene, α -pinene, β -pinene,

germacrene D, α - phellandrene, and β - phellandrene (dos Santos Cavalcanti et al., 2015; Gois et al., 2016; Richter et al., 2010).

In applying the hierarchical cluster analysis to the data in **Table 1**, a single main group and two subgroups were evident (**Figure 2**). Both formed by the class of monoterpenes, the first subgroup had a predominance of the compound limonene (EOST-ES, EOST-PR, and EOST-RS) while the second subgroup had a predominance of α -pinene (EOST-BA and EOST-MS). In analyzing the heatmap (**Figure 3**) for chemical composition of the essential oil samples from the six states, it is evident that limonene and α -pinene are prevalent in all states. Yet the elemol stands out for being one of the most abundant compounds in EOST-SP, one belonging to the oxygenated sesquiterpenes class, whereas the compounds sabinene, β -pinene, and α -copaene are evidenced in EOST-BA, EOST-ES, EOST-PR, EOST-RS, and EOST-MS.

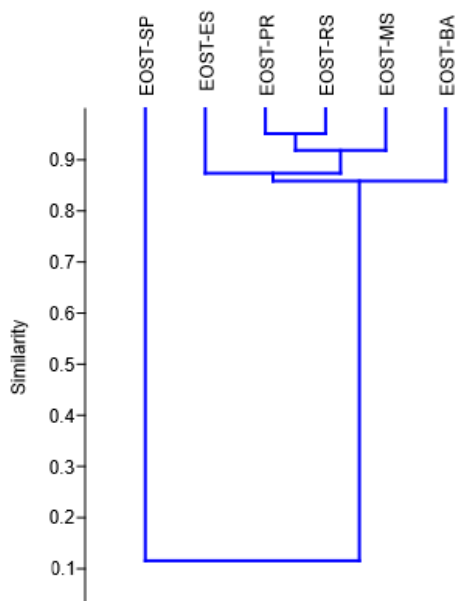


Figure 2. Dendrogram obtained by the cluster analysis of the essential oil composition profiles of *S. terebinthifolia* from the six Brazilian states.

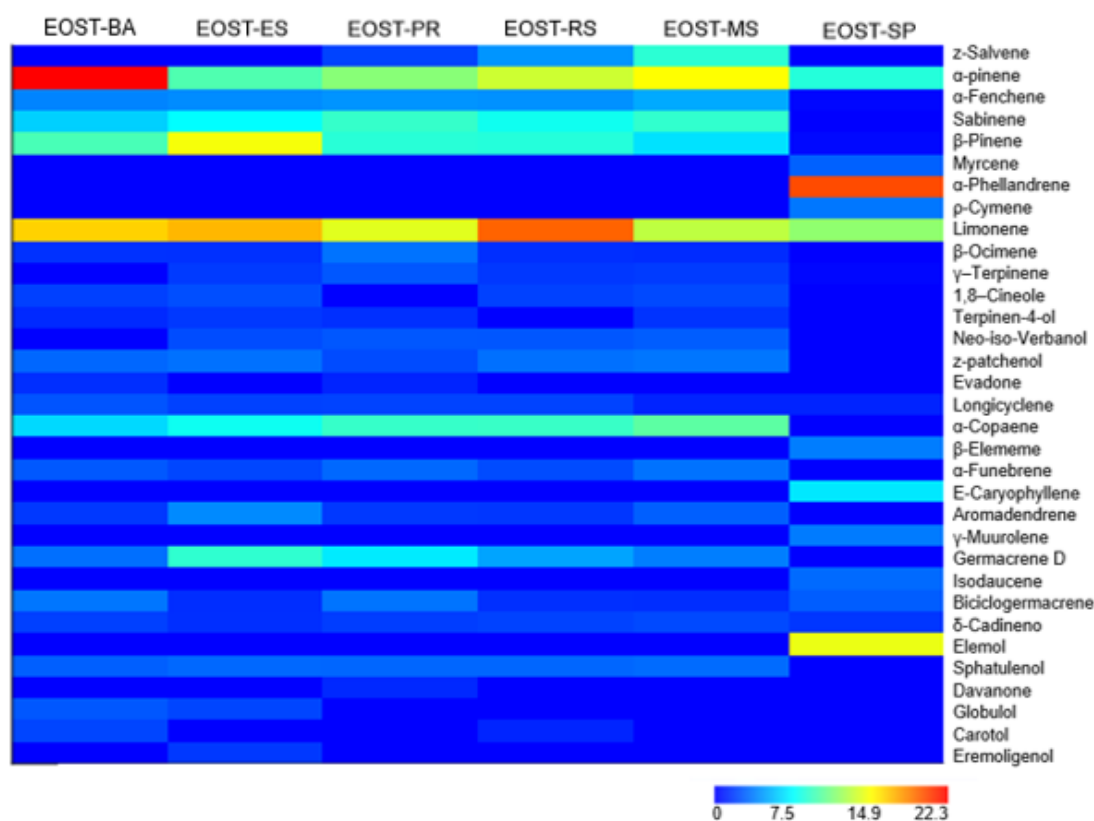
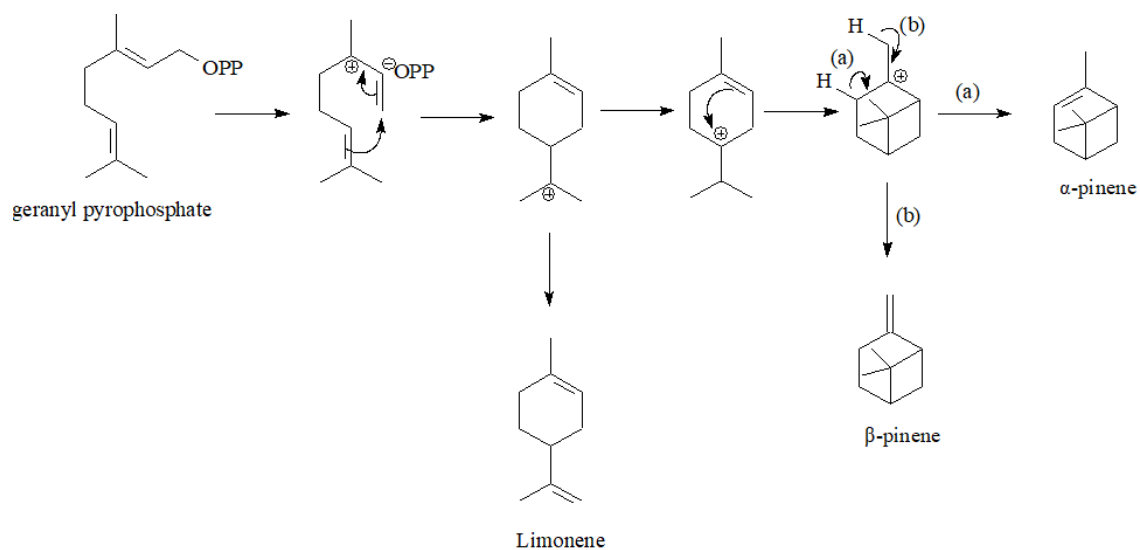


Figure 3. Heatmap for the total composition of the essential oil composition profiles of *S. terebinthifolia* from the six Brazilian states.

This variation can be due to many factors, such as seasonal and plant growth stage differences. These results suggest the differential chemical composition and differing concentrations of prevailing compounds (α -pinene, limonene, α - phellandrene) in the essential oil can be attributed to climatic variability and altitudinal variation. Surprisingly, however, this has yet to be reported in the literature for *S. terebinthifolia*. The developmental stage of the plant can also influence the amount of secondary metabolites produced in its leaves, as well their relative proportions among tissue types.

The formation of monoterpenes begins with the combination of one isopentenyl pyrophosphate (IPP) with one dimethylallyl pyrophosphate (DMAPP). The DMAPP undergoes ionization, forming a highly electrophilic intermediate that attacks the IPP producing geranyl pyrophosphate, the precursor of all monoterpenes. **Scheme 1** depicts

the possible biosynthetic route of main monoterpenes (α -pinene, limonene, β -pinene) found in the essential oil of *S. terebinthifolia*, these originating from rearrangements involving the cyclical species.



Scheme 1. Biosynthetic route of main cyclic monoterpenes (α -pinene, limonene, β -pinene) found in the essential oil of *S. terebinthifolia*.

Table 1. Chemical composition of *S. terebinthifolia* leaves EOST-BA, EOST-ES, EOST-PR, EOST-RS, EOST-MS and EOST-SP.

Class	Compounds	Retention indexes		Content (%)					
		Determined	Literature	EOST-BA	EOST-ES	EOST-PR	EOST-RS	EOST-MS	EOST-SP
Monoterpenes	z-salvene	856	847	-	-	1.96	4.34	8.70	-
	α -pinene	939	932	22.34	9.76	11.43	13.42	14.90	8.52
	α -fenchene	953	945	3.85	4.08	4.32	4.23	4.95	0.2
	Sabinene	976	969	6.08	7.45	9.01	7.89	8.89	-
	β -pinene	979	974	9.56	14.63	8.63	8.52	6.60	0.26
	Myrcene	987	988	-	-	-	-	-	2.84
	α -phellandrene	1001	1002	-	-	-	-	-	20.13
	ρ -cymene	1019	1020	-	-	-	-	-	3.48
	Limonene	1029	1024	16.22	17.01	14.01	19.45	12.99	11.66
	β -ocimene	1037	1032	1.44	1.42	3.37	1.34	1.26	-
	γ -terpinene	1060	1054	-	1.69	2.55	1.61	1.73	0.2
				28.76	32.62	37.71	38.17	38.96	47.73
Oxygenated monoterpene	1,8-cineole	1031	1026	1.87	2.29	-	1.91	2.15	-
	Terpinen-4-ol	1177	1174	1.22	1.64	1.38	-	1.51	-
	Neo-iso-verbanol	1190	1187	-	2.22	2.54	2.52	2.71	-
	z-patchenol	1319	1316	3.02	3.30	2.21	3.27	3.46	-
	Evadone	1340	1337	1.34	-	1.04	-	-	-
				19.17	19.57	17.96	14.31	19.48	-
Sesquiterpene	Longicyclene	1374	1371	2.46	1.91	1.95	1.95	1.03	1.03
	α -copaene	1377	1374	6.34	7.85	9.03	9.09	10.15	-
	β -elemene	1386	1389	-	-	-	-	-	3.64
	α -funebrene	1403	1402	2.57	2.05	3.05	2.19	3.33	-
	E-caryophyllene	1414	1417	-	-	-	-	-	6.78
	Aromadendrene	1439	1439	1.63	4.03	1.63	1.58	2.78	-
	γ -muurolene	1475	1478	-	-	-	-	-	3.59

	Germacrene D	1485	1484	3.24	8.82	6.86	4.80	3.67	-
	Isodaucene	1499	1500	-	-	-	-	-	3.09
	Bicyclgermacrene	1500	1500	3.44	1.33	3.38	1.37	1.32	2.72
	δ -cadineno	1514	1522	1.89	1.34	1.79	1.94	2.13	1.59
				33.55	32.62	31.43	33.40	34.09	41.76
Oxygenated sesquiterpene	Elemol	1552	1548	-	-	-	-	-	14.3
	Sphatulenol	1578	1577	2.78	3.03	2.98	2.97	3.14	-
	Davanone	1588	1587	-	-	1.17	-	-	-
	Globulol	1585	1590	2.56	2.02	-	-	-	-
	Carotol	1595	1594	2.02	-	-	1.05	-	-
	Eremoligenol	1631	1629	-	1.65	-	-	-	-
				14.38	13.98	8.98	9.54	4.87	5.96
Total identified				95.87	97.87	94.29	95.44	97.4	95.47
Others				3.6	1.21	3.92	4.58	2.6	4.55

Table 2. Chemical classes of essential oil from *S. terebinthifolia* and their Pearson correlations with the altitude of the plant sampling sites.

	EOST-BA	EOST-ES	EOST-PR	EOST-RS	EOST-MS	EOST-SP	Pearson correlation coefficient	ρ value
Altitude (MASL)	24	36	551	139	430	518	1	0
Hydrocarbon	28.76	32.62	37.71	38.17	38.96	47.73	0.7701	0.0732
Monoterpene								
Oxygenated monoterpene	19.17	19.57	17.96	14.31	19.48	nd	-0.5976	0.2104
Hydrocarbon	33.55	32.62	31.43	33.40	34.09	41.76	0.3763	0.4622

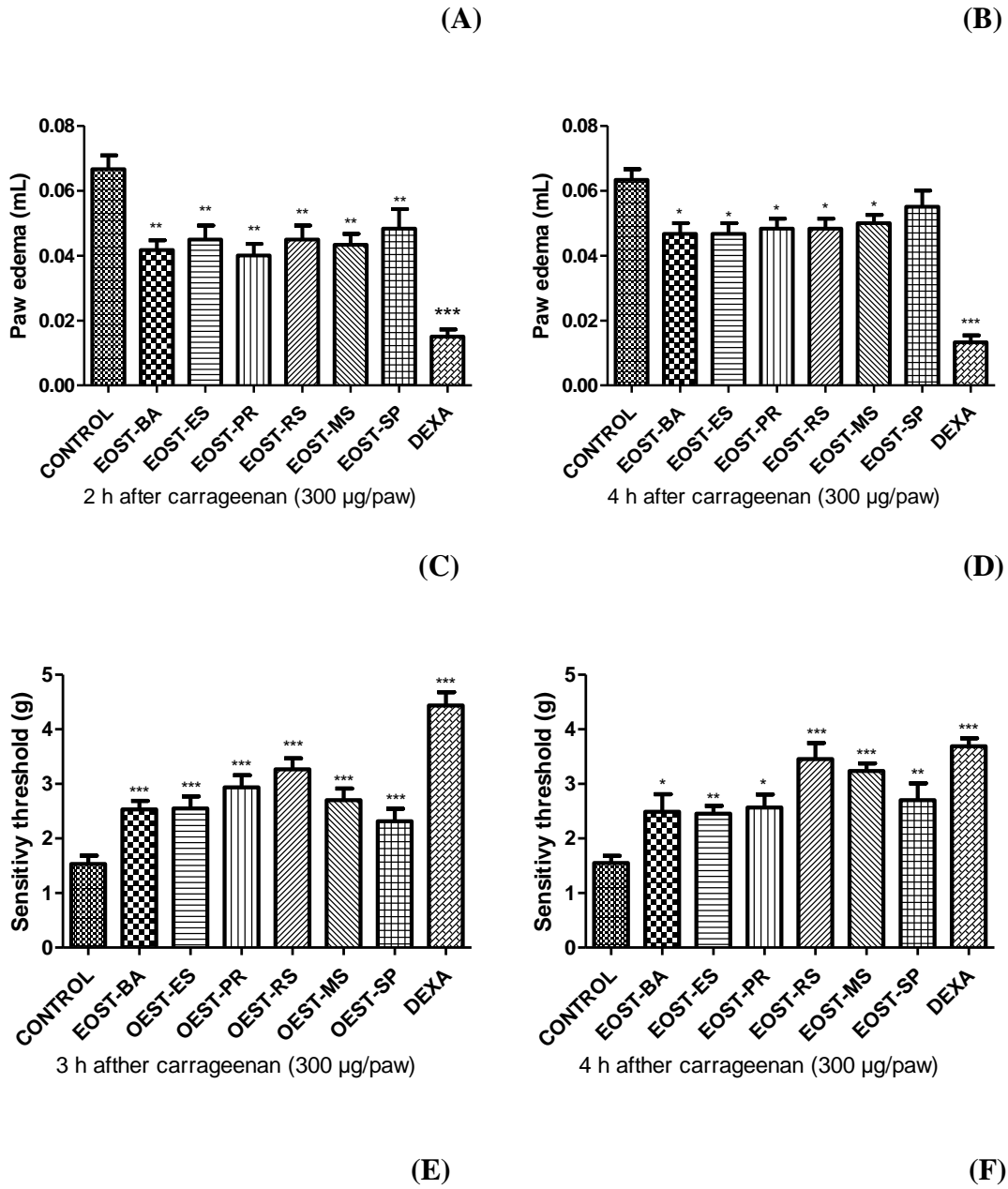
Sesquiterpene								
Oxygenated	14.38	13.98	8.98	9.54	4.87	5.96	-0.8360	0.0381
sesquiterpene								
Others	3.6	1.21	3.92	4.58	2.6	4.55	0.5344	0.2747

For EOST-BA, EOST-ES, EOST-PR, EOST-RS, EOST-MS, and EOST-SP. their MASL (m above sea level) differ significantly at $P < 0.05$.

Compounds isolated as α -pinene have demonstrated potential to induce apoptosis in cancer cells (Matsuo et al., 2011). Piccinelli et al. (2015) found that the essential oil and isolated compounds, such as: (R)-(+)-limonene and α -phellandrene, from *S. terebinthifolia* fruits engaged in anti-inflammatory activity against edema formation and cell infiltration.

The Cg-injection into the mouse paw was able to induce edema and mechanical and cold hyperalgesia in all animals of the control group (**Figure 4**). Cg-induced paw edema was reproduced in our work (**Figure 4A, B**). A single dose of EOST (30 mg/kg) significantly inhibited Cg-induced paw edema formation when compared to the control group (**Figure 4A**): the degree of inhibition was $39.99\% \pm 3\%$ (EOST-PR), $37.00\% \pm 4\%$ (EOST-BA), $34.90\% \pm 2\%$ (EOST-MS), $32.05\% \pm 6\%$ (EOST-ES and EOST-RS), and $27.52\% \pm 8\%$ (EOST-SP) at 2 h. However, this magnitude of reduction was not maintained after the fourth hour of observation (**Figure 4B**), when the degree of inhibition was evidently less pronounced, at $26.33\% \pm 3\%$ (EOST-BA and EOST-ES), $23.70\% \pm 5\%$ (EOST-PR and EOST-RS), and $21.05\% \pm 3\%$ (EOST-MS). The positive control (DEXA) showed a significant inhibition of $73.33\% \pm 5\%$ and $78.94\% \pm 3\%$ after 2 h and 4 h, respectively (**Figure 4A, B**). The EOST-SP did not have the same effect as the other states' essential oil samples, which may be linked to its distinctive chemical composition, whose constituent profile was dominated by α -phellandrene (20.13%). Additionally, the oral dose of 30 mg/kg of all EOSTs decreased the sensitivity of mice to mechanical stimuli at 3 h after the administration (degrees of inhibition: 33.79%–48.52%). At 4 h, however, only EOST-BA, EOST-ES, EOST-PR, and EOST-SP still exerted inhibitory effects (34.50%, 33.70%, 30.75%, and 27.05%, respectively) (***) (**Figure 4C, D**). The DEXA group (1 mg/kg) had degrees of inhibition of 65% and 58% when evaluated after 3 and 4 h, respectively (**Figure 4C, D**). Doses of 30 mg/kg of all EOSTs

inhibited mice sensitivity to cold stimuli at 3 h and 4 h after the carrageenan delivery (degree of inhibition: 65.79%–58.52%) (Figure 4E, F).



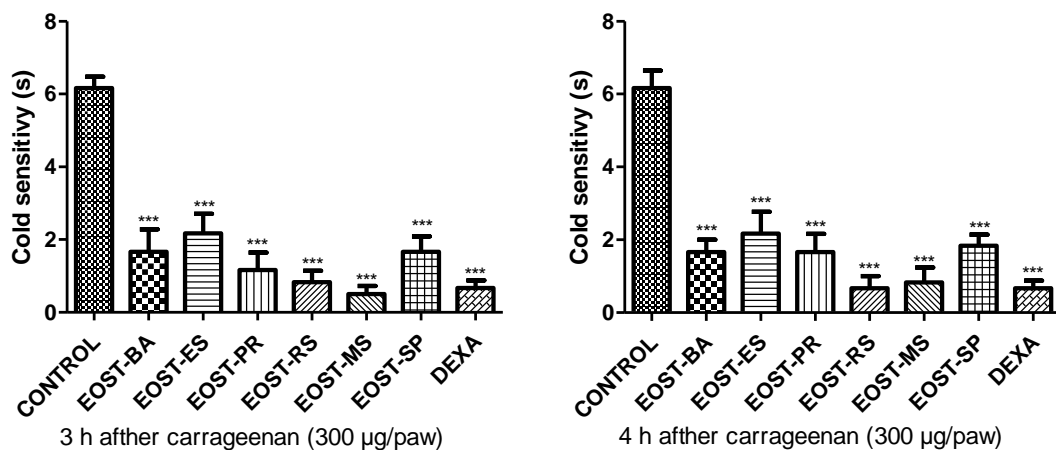


Figure 4. Effect of oral administration of EOST on the Cg-induced (A) paw edema (at 2 and 4 h) and (B) mechanical and (C) cold hyperalgesia (at 3 and 4 h) in mice. Animals received EOST-PR, EOST-BA, EOST-MS, EOST-ES, EOST-RS, EOST-SP (30 mg/kg, p.o.) or a control (vehicle) or dexamethasone (DEXA, 1.0 mg/kg, s.c.), and after 1 h had elapsed, an intraplantar injection of carrageenan (300 µg/paw). Each bar represents the mean \pm SEM of $n = 6$ animals/group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ when compared with the control group. One-way ANOVA followed by the Newman–Keuls test.

In a study done in 2017 that investigated the healing process and anti-inflammatory activity of essential oil from *S. terebinthifolia* leaves, the oil improved wound closure and had angiogenic and fibrogenic effects while also promoting anti-inflammatory responses in injured mice (Estevão et al., 2017). More recently, Lima et al. (2020), using another experimental animal model (adult zebrafish [female]), found that the leaves essential oil reduced the number of nociceptive behaviors induced by formalin and inflammatory nociception, neither altering locomotor activity nor causing acute toxicity.

Huang et al. (2019) studied the essential oil from *Gynura procumbens* leaves for its composition, finding that α -pinene and limonene were predominant and exhibited significant anti-inflammatory and antinociceptive effects via the inhibition of inflammatory infiltrates induced by nociceptive stimuli and overexpression of COX-2; hence that oil could serve as a potent therapeutic agent for the treatment of chronic pain.

Work by Piccinelli et al. (2015) showed that the essential oil obtained from *S. terebinthifolia* fruits and the compounds present in this oil, including limonene and α -phellandrene, exhibited antinociceptive effects against mechanical hyperalgesia. Accordingly, we may suppose that the effects of EOST-ES, EOST-PR, and EOST-RS are due to the major compound limonene in them whereas for EOST-SP the major compound α -phellandrene is likely bioactively responsible.

Conclusion

This study shows that the qualitative and quantitative composition of essential oil from *S. terebinthifolia* leaves collected throughout six states of Brazil is characterized by a predominance of monoterpenes and sesquiterpenes. Notably, its main constituents are α -pinene and limonene for all states sampled, except for EOST-SP which was rich in α -phellandrene. Variation in the content of the EOST did not affect the anti-inflammatory activity evaluated. This could be linked to the synergistic effect of the leaf oil constituents, which thus offer anti-inflammatory and antinociceptive potential for the development of new herbal medicines.

Author contributions

JAM and ASNF designed the study. MCV, JVCP and RMMFS material botanical and information of the collection sites. JAM, ASNF, PCOJ, SMS and CALC conducted

phytochemical analysis, extraction and characterization of the chemical constituents; CALK, JAM and ASNF performed the anti-inflammatory assays. All authors agree to be accountable for all aspects of work ensuring integrity and accuracy.

Acknowledgements

The authors are grateful to CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazil), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brazil, 159905/2019-2), and UFGD (Universidade Federal da Grande Dourados, Brazil) for financial support and fellowships.

Declaration of Competing Interest

All authors have no conflict of interest in this publication.

References

- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th edn. Allured Publishing Corporation., Carol Stream, IL, USA.
- Amorim, M. M. R., Santos, L. C., 2003. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. Revista Brasileira De Ginecologia e Obstetrícia 25, 95-102. <https://doi.org/10.1590/S0100-72032003000200004>
- Brandão, M., Cosenza, G., Moreira, R., Monte-Mor, R., 2006. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. Revista Brasileira de Farmacognosia 16, 408-420. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000300020>

Brasil, 2010. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Farmacopeia Brasileira, 1.

Brasil, 2014. Monografia da espécie *Schinus terebinthifolius* raddi (aroeira-da-praia). Ministério da saúde.

Corrêa M.P., 1974. Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro.

Carvalho, M., Melo, A., Aragão, C., Raffin, F., Moura, T., 2013. *Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais 15, 158-169. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000100022>

Decosterd, I., Woolf, C.J., 2000. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. Pain 87, 149–158. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00276-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00276-1)

dos Santos Cavalcanti, A., de Souza Alves, M., da Silva, L., dos Santos Patrocínio, D., Sanches, M., Chaves, D., de Souza, M., 2015. Volatiles composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. Revista Brasileira de Farmacognosia 25, 356-362. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.003>

El-Massry, K., El-Ghorab, A., Shaaban, H., Shibamoto, T., 2009. Chemical Compositions and Antioxidant/Antimicrobial Activities of Various Samples Prepared from *Schinus*

terebinthifolius Leaves Cultivated in Egypt. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57, 5265-5270. <https://doi.org/10.1021/jf900638c>

Ennigrou, A., Casabianca, H., Vulliet, E., Hanchi, B., Hosni, K., 2018. Assessing the fatty acid, essential oil composition, their radical scavenging and antibacterial activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves and twigs. Journal of Food Science and Technology 55, 1582-1590. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3049-6>

Estevão, L., Simões, R., Cassini-Vieira, P., Canesso, M., Barcelos, L., Rachid, M., Câmara, C.A.G., Evêncio-Neto, J., 2017. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) leaves oil attenuates inflammatory responses in cutaneous wound healing in mice. Acta Cirurgica Brasileira 32, 726-735. <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-8650201700900000005>

Formagio, A. S. N., Kassuya Iriguchi, E. K., Roveda, L. M., Vieira, M. C., Lima Cardoso, C. A., Heredia Zarate, N., Tabaldi, L. A., Leite Kassuya, C. A., 2011. Chemical Composition and Anti-Inflammatory Activity of the Essential Oil of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) Fruits. Latin American Journal of Pharmacy 30, 1555-1559.

Gobbo-Neto, L., Lopes, N.P., 2007. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. Química Nova 30, 374–381. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>

Gois, F., Cairo, P., de Souza Cantarelli, V., do Bomfim Costa, L., Fontana, R., Allaman, I., Sbardella, M., de Carvalho Júnior, F., Costa, L., 2016. Effect of Brazilian red pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) essential oil on performance, diarrhea and gut health of weanling pigs. *Livestock Science* 183, 24-27. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.11.009>

Henriques, M.G., Weg, V.B., Martins, M.A., Silva, P.M., Fernandes, P.D., Cordeiro, R.S., Vargaftig, B.B., 1990. Differential inhibition by two hexazepine PAF antagonists of acute inflammation in the mouse. *British Journal of Pharmacology* 99, 164–168. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1990.tb14671.x>

Huang, X., Li, X., Qin, Q., Li, Y., Zhang, W. and Tang, H., 2019. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of active ingredients in the essential oils from *Gynura procumbens*, a traditional medicine and a new and popular food material. *Journal of Ethnopharmacology* 239, 111916. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111916>

Kassuya, C., Cremoneze, A., Barros, L., Simas, A., da Rocha Lapa, F., Mello-Silva, R., Stefanello, M., Zampronio, A., 2009. Antipyretic and anti-inflammatory properties of the ethanolic extract, dichloromethane fraction and costunolide from *Magnolia ovata* (Magnoliaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 124, 369-376. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.06.003>

Lima, M., de Araújo, J., Gonçalves Mota, C., Magalhães, F., Campos, A., da Silva, P., Rodrigues, T., Matos, M., de Sousa, K., de Sousa, M., Saker-Sampaio, S., Pereira, A.,

- Teixeira, E., dos Santos, H., 2020. Antinociceptive Effect of the Essential Oil of *Schinus terebinthifolius* (female) Leaves on Adult Zebrafish (*Danio rerio*). *Zebrafish* 17, 112-119. <https://doi.org/10.1089/zeb.2019.1809>
- Lloyd, H.A., Jaouni, T.M., Evans, S.L., Morton, J.F., 1977. Terpenes of *Schinus terebinthifolius*. *Phytochemistry* 16, 1301–1302. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)94384-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)94384-X)
- Matsuo, A., Figueiredo, C., Arruda, D., Pereira, F., Borin Scutti, J., Massaoka, M., Travassos, L., Sartorelli, P., Lago, J., 2011. α -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 411, 449-454. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.06.176>
- Morton, J., 1978. Brazilian pepper—Its impact on people, animals and the environment. *Economic Botany* 32, 353-359. <https://doi.org/10.1007/BF02907927>
- Pawlowski, Â., Kaltchuk-Santos, E., Zini, C., Caramão, E., Soares, G., 2012. Essential oils of *Schinus terebinthifolius* and *S. molle* (Anacardiaceae): Mitodepressive and aneugenic inducers in onion and lettuce root meristems. *South African Journal of Botany* 80, 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.03.003>
- Piccinelli, A., Santos, J., Konkiewitz, E., Oesterreich, S., Formagio, A., Croda, J., Ziff, E., Kassuya, C., 2015. Antihyperalgesic and antidepressive actions of (R)-(+)-limonene, α -phellandrene, and essential oil from *Schinus terebinthifolius* fruits in a

neuropathic pain model. *Nutritional Neuroscience* 18, 217-224.

<https://doi.org/10.1179/1476830514Y.0000000119>

Pinto, J., Vieira, M., Zárata, N., Formagio, A., Cardoso, C., Carnevali, T., Souza, P., 2016. Effect of Soil Nitrogen and Phosphorus on Early Development and Essential Oil Composition of *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Journal Of Essential Oil Bearing Plants* 19, 247-257. <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2014.977561>

Richter, R., von Reuss, S.H, König, W.A, 2010. Spirocyclopropane-type sesquiterpene hydrocarbons from *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Phytochemistry* 71, 1371-1374. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.05.003>

Rosas, E., Correa, L., das Graças Henriques, M., 2019. Antiinflammatory Properties of *Schinus terebinthifolius* and Its Use in Arthritic Conditions. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases*, 489-505. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813820-5.00028-3>

Santana, J., Sartorelli, P., Guadagnin, R., Matsuo, A., Figueiredo, C., Soares, M., da Silva, A., Lago, J., 2012. Essential oils from *Schinus terebinthifolius* leaves – chemical composition and in vitro cytotoxicity evaluation. *Pharmaceutical Biology* 50, 1248-1253. <https://doi.org/10.3109/13880209.2012.666880>

Santos, A., Rossato, M., Agostini, F., Serafini, L., Santos, P., Molon, R., Dellacassa, E., Moyna, P., 2009. Chemical Composition of the Essential Oils from Leaves and Fruits of *Schinus mole* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi from Southern Brazil. *Journal*

Of Essential Oil Bearing Plants 12, 16-25.

<http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2009.10643686>

Tabaldi, L., Vieira, M., Zárate, N., Formagio, A., Pilecco, M., Silva, L., Santos, K., 2014.

Influence of poultry litter and plant density on the production and chemical composition of the essential oil of *Schinus terebinthifolius* Raddi fruits. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s 16, 398-405. https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_192

Tlili, N., Yahia, Y., Feriani, A., Labidi, A., Ghazouani, L., Nasri, N., Saadaoui, E., Khaldi,

A., 2018. *Schinus terebinthifolius* vs *Schinus molle*: A comparative study of the effect of species and location on the phytochemical content of fruits. *Industrial Crops and Products* 122, 559-565. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.080>

Uliana, M., Fronza, M., da Silva, A., Vargas, T., de Andrade, T., Scherer, R., 2016.

Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. *Industrial Crops and Products* 83, 235-240. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.077>

6. CONCLUSÃO

Este estudo mostrou que a composição qualitativa e quantitativa do óleo essencial das folhas de *S. terebinthifolia* coletadas em seis estados do Brasil é caracterizada pelo predomínio de monoterpenos e sesquiterpenos. Notavelmente, seus principais constituintes são α -pineno e limoneno para todos os estados amostrados, exceto para EOST-SP que era rico em α -felandreno, entretanto essas variações podem ser devido a muitos fatores, como diferenças sazonais, edáficos e estágio de crescimento. A variação no conteúdo do EOST não afetou a atividade anti-inflamatória avaliada na dose única (30 mg / kg) inibindo a formação do edema de pata induzido por Cg, e havendo também sensibilidade induzida por estímulo mecânico e resposta hipersensível ao frio, no intervalo entre 3 h a 4 h após a indução, isso pode estar relacionado ao efeito sinérgico dos constituintes do óleo da folha, que oferecem potencial antiinflamatório e antinocepcivo para o desenvolvimento de novos medicamentos fitoterápicos.

7. ANEXOS

7.1 Aprovação do Comitê de Ética (CEUA) – 33/2019



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

Dourados-MS, 21 de Maio de 2020.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "***Varição da composição química do óleo essencial das folhas e frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi de quatro estados brasileiros***", registrada sob o protocolo de nº 33/2019, sob a responsabilidade de *Anelise Samara Nazari Formagio* – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata, subfilo Vertebrata* (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFGD) da Universidade Federal Da Grande Dourados, em reunião de 08/11/2019.

<i>Finalidade</i>	() Ensino (X) Pesquisa Científica
<i>Vigência da autorização</i>	01/07/2020 a 28/02/2021
<i>Espécie/linhagem/raça</i>	<i>Rattus norvegicus/Wistar e Mus musculus/Swiss</i>
<i>Nº de animais</i>	227
<i>Peso/idade</i>	45 dias
<i>Sexo</i>	10 fêmeas Wistar e 140 machos e 77 fêmeas Swiss
<i>Origem</i>	Biotério Central UFGD

Melissa Negrão Sepulveda
Coordenadora CEUA

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFGD – Rua João Rosa Góes, 1761 – Vila Progresso.
Dourados/MS. E-mail: ceua@ufgd.edu.br

7.2 Comprovante de submissão do manuscrito

Phytomedicine

Seasonal variation in the chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oil of *Schinus terebinthifolia* Raddi.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Original Article
Section/Category:	Current issues in Phytomedicine research
Keywords:	Pink pepper; Monoterpenes; Sesquiterpenes; Inflammation; Anti-hyperalgesic.
Corresponding Author:	anelise formagio UFGD Dourados, MS Mato Grosso do Sul BRAZIL
First Author:	anelise formagio
Order of Authors:	anelise formagio Janaine Marangoni Jannaina Pinto Candida Kassuya Pedro Oliveira Junior Sidney dos Santos Claudia Cardoso Rosilda M A Mussury Maria do Carmo Vieira
Abstract:	<p>Background: <i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi. (Anacardiaceae), commonly known as pink pepper, is a plant native to South America that grows in several of Brazil's states. Its leaves and fruits are rich in essential oil, distinguished by a predominance of monoterpenes and sesquiterpenes, it being widely used in traditional medicine for the treatment of inflammations.</p> <p>Purpose: This study's objective was to investigate the chemical composition of the essential oil of <i>S. terebinthifolia</i> leaves (EOST) collected in six states of Brazil, and to evaluate its anti-inflammatory effects in mice.</p> <p>Methods : The essential oil (EOST) was extracted from the leaves of <i>S. terebinthifolia</i> by hydrodistillation and analysed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Anti-inflammatory potential was assessed using carrageenan-induced paw edema assay.</p> <p>Results: The essential oil showed variation across the six states in its yield (0.40% to 0.86%) and chemical composition: hydrocarbon monoterpenes (28.76%–47.73%), sesquiterpenes, (31.43%–41.76%), oxygenated monoterpenes (14.31%–19.57%), and oxygenated sesquiterpenes (4.87%– 14.38%). Both α-pinene and limonene were predominant constituents of essential in five regions, except for one state where α-phellandrene and limonene were the dominant components. In the <i>in vivo</i> testing, all EOST samples exerted antiedematogenic and antihyperalgesic effects, when tested in a carrageenan-induced paw inflammation (mechanical and thermal hyperalgesia) model with oral doses of 30 mg/kg.</p> <p>Conclusion : Our results indicate that the EOST samples collected in six Brazilian states differed in their chemical composition but not their anti-inflammatory and antihyperalgesic effects, which was correlated with the synergistic effect of its components.</p>



Please verify your contribution to Seasonal variation in the chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oil of Schinus terebinthifolia Raddi.



Traduzir a mensagem para: Português (Brasil) | Nunca traduzir do: Inglês



PHYTOMEDICINE <em@editorialmanager.com>

Ter, 24/08/2021 17:36

Para: Você



This is an automated message.

Journal: Phytomedicine

Title: Seasonal variation in the chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oil of Schinus terebinthifolia Raddi.

Corresponding Author: Dr. anelise formagio

Co-Authors: Janaine Marangoni; Jannaina Pinto; Candida Kassuya; Pedro Oliveira Junior; Sidney dos Santos; Claudia Cardoso; Rosilda M A Mussury; Maria do Carmo Vieira

Manuscript Number:

Dear Marangoni,

Dr. anelise formagio submitted this manuscript via Elsevier's online submission system, Editorial Manager, and you have been listed as a Co-Author of this submission.

Elsevier asks Co-Authors to confirm their consent to be listed as Co-Author and track the papers status. In order to confirm your connection to this submission, please click here to confirm your co-authorship: <https://www.editorialmanager.com/phymed/l.asp?i=427826&l=4UHFJGJL>

If you have not yet registered for the journal on Editorial Manager, you will need to create an account to complete this confirmation. Once your account is set up and you have confirmed your status as Co-Author of the submission, you will be able to view and track the status of the submission as it goes through the editorial process by logging in at <https://www.editorialmanager.com/phymed/>

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author directly at aneliseformagio@yahoo.com.br; aneliseformagio@ufgd.edu.br

Thank you,
Phytomedicine