

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

JULIANA MACEDO NASCIMENTO

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO
EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DA *Eugenia dysenterica* (CAGAITA) EM
MODELO EXPERIMENTAL DE INFLAMAÇÃO PERITONEAL EM
CAMUNDONGOS BALB/C**

UBERLÂNDIA

2019

JULIANA MACEDO NASCIMENTO

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO
EXTRATO AQUOSO DAS FOLHA DA *Eugenia dysenterica* (CAGAITA) EM
MODELO EXPERIMENTAL DE INFLAMAÇÃO PERITONEAL EM
CAMUNDONGOS BALB/C**

Projeto de Pesquisa apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II (TCC 2, GMV048) do Curso de Graduação em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof. Dra. Celene Maria de Oliveira Simões Alves

UBERLÂNDIA

2019

JULIANA MACEDO NASCIMENTO

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO
EXTRATO AQUOSO DAS FOLHA DA *Eugenia dysenterica* (CAGAITA) EM
MODELO EXPERIMENTAL DE INFLAMAÇÃO PERITONEAL EM
CAMUNDONGOS BALB/C**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Uberlândia (MG).

Uberlândia, 09 de dezembro de 2019.

Banca Examinadora:

Prof. Dra. Celene Maria de Oliveira Simões Alves
Orientadora

Prof. Dr. Francisco Cláudio Dantas Mota
Membro

Dra. Taís de Campos Lima
Membro

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, a Deus por ter me mantido na trilha certa durante este projeto de pesquisa com saúde e forças para chegar até o final.

Agradeço aos meus pais, Jucelino e Divoene, por todo o esforço investido na minha educação. Sou grata, também, ao meu irmão Gabriel e à minha família Siqueira de coração que sempre se mostraram orgulhosos em cada pequena conquista.

Gratidão à minha orientadora, Celene, que, apesar da intensa rotina de sua vida acadêmica, aceitou me orientar nesta monografia. As suas valiosas contribuições dadas durante todo o processo fizeram toda a diferença.

Também agradeço à Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPP) pela oportunidade e incentivo em percorrer o caminho da pesquisa científica. Assim como a todos os meus professores do curso de Medicina Veterinária pela excelência da qualidade técnica de cada um.

À Rede de Biotérios de Roedores da UFU (REBIR) por possibilitar que os experimentos fossem realizados da melhor forma possível.

E por último, mas não menos importante, agradeço a todos os amigos que me incentivaram e ajudaram com trocas de ideias e conhecimentos, em especial à Jessica que me ajudou diretamente em toda a realização da pesquisa. Juntos, conseguimos avançar e ultrapassar todos os obstáculos.

RESUMO

A espécie *Eugenia dysenterica*, conhecida no Brasil como cagaita, faz parte da família *Myrtaceae*. Estudos fitoquímicos demonstraram que essa espécie produz, dentre os metabólitos secundários, flavonoides e taninos, os quais possuem atividades anti-inflamatórias bem estabelecidas na literatura. Vários derivados vegetais da *E. dysenterica* têm sido utilizados em estudos que avaliaram suas propriedades farmacológicas, dentre elas, anti-inflamatórias. Contudo, até o presente momento, não há dados disponíveis sobre o potencial anti-inflamatório do extrato aquoso das folhas da referida espécie. Assim, o presente projeto de pesquisa investigou possível atividade anti-inflamatória do extrato aquoso das folhas de *E. dysenterica* em modelo experimental *in vivo* de inflamação peritoneal induzida por carragenina (CGN). Camundongos BALB/c foram divididos em quatro grupos (G): G1: animais que receberam por via oral (v.o) carboximetilcelulose (CBX) representando o grupo controle negativo para ação anti-inflamatória; G 2, 3 e 4: animais tratados com diferentes concentrações do extrato (100, 500 e 1.000 mg/Kg, respectivamente). Sessenta minutos após os tratamentos por v.o., os animais de todos os grupos receberam injeção intraperitoneal (i.p.) de CGN 1% para indução da inflamação peritoneal. Após quatro horas, os animais foram anestesiados e mortos por deslocamento cervical. Em seguida, a cavidade peritoneal foi gentilmente lavada com solução salina tamponada com fosfato (PBS), pH 7,2, e o lavado peritoneal foi coletado para as contagens total e diferencial de leucócitos. Os resultados obtidos mostraram que houve diminuição na migração de leucócitos totais para a cavidade peritoneal nos animais tratados com o extrato aquoso das folhas de *E. dysenterica*, em todas as concentrações utilizadas. A contagem diferencial de leucócitos mostrou redução estatisticamente significativa da migração de linfócitos na cavidade peritoneal dos animais tratados com o extrato; contudo, este efeito não foi observado com as populações de neutrófilos e monócitos. Juntos, estes dados sugerem possível ação anti-inflamatória do extrato aquoso das folhas da cagaita.

Palavras-chave: *Eugenia dysenterica*. Inflamação peritoneal. Carragenina. Extrato aquoso.

ABSTRACT

The *Eugenia dysenterica* species, known in Brazil as cagaita, is part of the Myrtaceae family. Phytochemical studies demonstrate that this species produces, among the secondary metabolites, flavonoids and tannins, which are the anti-inflammatory activities well used in the literature. Various plant compounds of *E. dysenterica* have been used in studies that have evaluated their pharmacological properties, among them, anti-inflammatory. However, to date, there are no data available on the anti-inflammatory potential of the aqueous extract of the leaves of the species. Thus, the present research project investigated the anti-inflammatory activity extracted from *E. dysenterica* leaves in an *in vivo* experimental model of peritoneal inflammation induced by carrageenan (CGN). BALB/c mice were divided into four groups (G): G1: animals that received orally (v) carboxymethylcellulose (CBX) representing the negative control group for anti-inflammatory action; G 2, 3 and 4: isolated animals with different levels of extraction (100, 500 and 1,000 mg / kg, respectively). Sixty minutes after the v.o. procedures, animals in all groups received intraperitoneal (i.p.) injection of 1% CGN to induce peritoneal inflammation. After four hours, the animals were anesthetized and killed by cervical dislocation. Then, the peritoneal cavity was gently washed with phosphate buffered saline (PBS), pH 7.2, and the peritoneal lavage was collected for total and differential leukocyte counts. The results obtained showed that there was a reduction of total leukocytes for the peritoneal cavity in the animals that received aqueous extract of the leaves of *E. dysenterica*, in all ranges used. The differential leukocyte count showed a statistically significant reduction in lymphocytes in the peritoneal cavity of animals eaten with extract; however, this effect was not observed with the detection of neutrophils and monocytes. Together, these data suggest a possible anti-inflammatory action of the aqueous extract of the leaves of the cagaita.

Keywords: *Eugenia dysenterica*. Peritoneal inflammation. Carrageenan. Aqueous extract.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.	7
2	REVISÃO DE LITERATURA.	9
2.1	<i>Eugenia dysenterica</i>	9
2.2	Atividades biológicas.	10
2.3	Inflamação.	11
2.4	Medicamentos anti-inflamatórios.	13
2.5	Fitoterápicos em medicina veterinária.	13
3	JUSTIFICATIVA.	15
4	OBJETIVOS.	16
4.1	Objetivo Geral.	16
4.2	Objetivos específicos.	16
5	MATERIAL E MÉTODOS.	17
5.1	Local de Execução.	17
5.2	Material vegetal e obtenção do extrato aquoso.	17
5.3	Animais.	17
5.4	Avaliação dos efeitos farmacológicos anti-inflamatórios.	18
5.5	Protocolo de eutanásia.	21
5.6	Análise estatística.	21
6	RESULTADOS.	22
6.1	Padronização de modelo experimental para avaliação de atividade anti-inflamatória em camundongos BALB/c: método para indução da inflamação peritoneal	22
6.2	Efeito anti-inflamatório do extrato aquoso de <i>Eugenia dysenterica</i>	23
7	DISCUSSÃO.	26
8	CONCLUSÕES.	29
	REFERÊNCIAS.	30

1 INTRODUÇÃO

Inflamação é uma resposta de defesa do organismo animal à lesão tecidual ou infecção. Durante a fase aguda, caracteriza-se por um aumento na permeabilidade vascular e extravasamento de plasma, resultando em acúmulo de líquido, leucócitos e mediadores inflamatórios no sítio de inflamação (GUO et al., 2012).

No sentido de aliviar as manifestações clínicas de um processo inflamatório, drogas anti-inflamatórias, não-esteroidais (AINEs) e esteroidais (AIEs), são comumente utilizadas. Entretanto, o uso prolongado destes agentes terapêuticos é seguido por reações adversas, tais como distúrbios gastrointestinais e insuficiência renal, retenção de NaCl e água, depressão da medula óssea, dentre outros (QANDIL, 2012).

Apesar de haver grande número de fármacos anti-inflamatórios disponíveis no mercado farmacêutico, existe necessidade de se identificar novos compostos que possam ser usados com segurança para a prevenção e tratamento de desordens inflamatórias (HUR et al., 2012).

A popularização da utilização de produtos de origem animal, mineral ou vegetal para fins medicinais levou ao desenvolvimento de práticas culturais que podem oferecer riscos, já que nem todos os produtos naturais, principalmente plantas, são desprovidos de riscos à saúde, podendo afetar pessoas e animais (BARBOSA, 2011).

É de extrema importância fundamentar, do ponto de vista científico, os usos populares de vários derivados vegetais. Além disto, é extremamente importante divulgar a eficácia e a segurança reais desses produtos às populações que os utilizam, haja vista que nem todas as receitas populares são livres de riscos e adequadas para tratamento de enfermidades em geral. Dessa maneira, estudos sobre esta temática são bastante relevantes (BARBOSA, 2011; BATISTA et al., 2017).

O uso de plantas para fins terapêuticos data desde a antiguidade, o processo de desenvolvimento dessa prática, chamada de “arte da cura”, aconteceu na prática por tentativas de acertos e erros. Estudiosos adotavam a Doutrina das Assinaturas, que consistia na observação das plantas e comparações entre órgãos humanos e doenças, por exemplo: o açafraão, por ter a cor amarela, curaria a icterícia e os feijões, por terem formato de rins, ajudariam a manter a função renal normal. Essa doutrina acabou contribuindo para o avanço dos estudos farmacêuticos, os quais comprovaram que produtos naturais poderiam realmente ter efeitos curativos (ALENCAR e ALBUQUERQUE, 2012).

Existem, na literatura, dados mostrando que drogas derivadas de produtos naturais modulam vários mediadores inflamatórios, incluindo a expressão de moléculas pró-inflamatórias que são elementos-chave na inflamação, tais como as enzimas óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e ciclooxigenase -2 (COX-2), bem como citocinas (IL-1 β , TNF- α , IL-10) (BELLIK et al., 2013).

A espécie *Eugenia dysenterica*, nativa do Cerrado brasileiro, tem sido utilizada em vários estudos que avaliaram seu potencial como fonte de compostos bioativos e propriedades farmacológicas. Assim, várias atividades importantes do ponto de vista terapêutico têm sido atribuídas à referida espécie, tais como, antidiarreica, antioxidante, atividade inibitória da enzima tirosinase e α -amilase, antifúngica, antimicrobiana, laxativa, antitumoral, antiviral, nutracêutica, moluscocida, antiulcerogênica, anti-helmíntica, para tratamento de diabetes e até para fins cosméticos (COSTA et al., 2000; BEZERRA et al., 2002; GASPAR et al., 2010; LIMA et al., 2010; CECÍLIO et al., 2012; FINCO, SILVA e OLIVEIRA, 2012; SIQUEIRA et al., 2013; SILVA, 2014; ZORZIN, 2014; SILVA et al., 2015; THOMAZ et al., 2018).

Contudo, ainda são escassos dados acerca de possível ação anti-inflamatória do extrato aquoso das folhas da *E. dysenterica*. A maioria das ações farmacológicas citadas parecem estar associadas à presença de metabólitos secundários, tais como taninos, flavonoides, terpenos e saponinas nas folhas da planta, sendo taninos e flavonoides aqueles responsáveis por maior parte dos compostos fenólicos totais (COUTO et al., 2009; CECÍLIO et al., 2012; PESTANA et al., 2017).

Uma vez que vários desses metabólitos, como flavonoides, taninos e terpenos possuem atividades anti-inflamatórias e/ou analgésicas descritas na literatura, torna-se plausível que o extrato aquoso das folhas da *E. dysenterica* possa exibir alguma propriedade anti-inflamatória. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar essa propriedade em modelo experimental *in vivo* de peritonite induzida por carragenina.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Eugenia dysenterica*

Eugenia dysenterica, popularmente conhecida no Brasil como “cagaita” ou “cagaiteira”, é uma planta medicinal da família Myrtaceae com uma ampla variedade de usos. Trata-se de um arbusto melífero, ornamental, amplamente distribuído no segundo maior bioma brasileiro, o Cerrado, estando adaptada a solos pobres; portanto, supõe-se que é pouco exigente em fertilidade (NAVES, 1999).

É uma árvore frutífera com até 10 m de altura, de tronco e ramos tortuosos, casca grossa, fissurada. As folhas são opostas, simples, de limbo oval ou elíptico, ápice ligeiramente acuminado, base variando de obtusa a subcordada, nervação reticulada não formando nervura marginal nítida. Os frutos têm formato globoso, bagáceo, cor amarelo-clara, levemente ácido, epicarpo membranoso (RIZZINI, 1971; RIBEIRO, PROENÇA e ALMEIDA, 1986).

O fruto da cagaita é comestível e tem sido tradicionalmente usado como um agente catártico (ALMEIDA et al., 1998). Em contrapartida, a infusão preparada com folhas de *E. dysenterica* é usada na medicina popular para tratar diarreia e disenteria (LIMA et al., 2010).

Além disso, a fruta tem mostrado importância econômica porque é comumente consumida fresca ou processada para obterem-se diferentes tipos de doces, picolés, vinhos e sorvetes (TELLES et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2011). A árvore também tem potencial como fornecedora de cortiça e sua madeira pode ser empregada para obras da construção civil, lenha e carvão (RIBEIRO, SILVA e FONSECA, 1992).

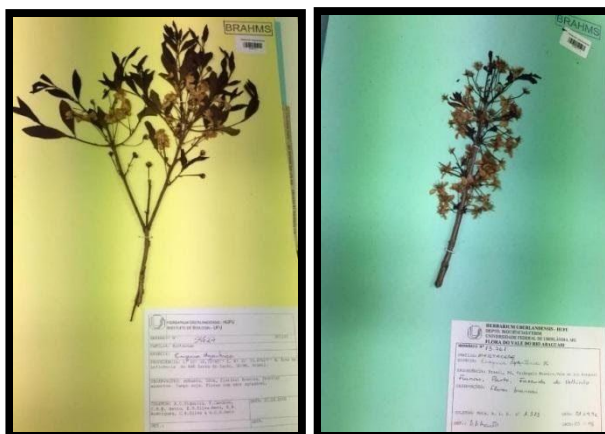


Figura 1. *Eugenia dysenterica*.

Fonte: Adaptada do Herbário da Universidade Federal de Uberlândia (Número de Registro: HUFU-45956).

2.2 *Atividades biológicas*

Um estudo realizado por pesquisadores do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, utilizando extrato aquoso das folhas de *E. Dysenterica*, demonstrou que a referida espécie apresenta atividade gastroprotetora em modelo animal de lesões gástricas induzidas pela administração de solução hidroalcoólica acidificada; este efeito gastroprotetor foi atribuído à inibição da produção de HCl, propriedades antioxidantes e à presença de compostos contendo grupos sulfidrílicos (-SH) no extrato aquoso da planta (PRADO et al., 2014). Essas ações parecem estar relacionadas à presença de taninos condensados no extrato, os quais foram identificados por análises fitoquímicas; essas substâncias podem ligar-se a mucinas na mucosa gástrica formando um revestimento protetor contra estímulos lesivos (PRADO et al., 2014). Galheigo e colaboradores observaram que o óleo essencial das folhas dessa espécie é capaz de inibir a diarreia induzida pela administração do agente catártico óleo de rícino (GALHEIGO et al., 2015). Efeito antidiarreico da *E. dysenterica* também foi demonstrado em estudos utilizando extrato aquoso das folhas desta planta (LIMA et al., 2010). De modo geral, compostos polifenólicos, como os flavonóides e os taninos, estão entre os metabólitos secundários associados às ações gastroprotetoras de plantas da família Myrtaceae (MARKMAN, BACCHI e KATO, 2004; MADALOSSO et al., 2012; PRADO et al., 2014). Análises das folhas de *Eugenia dysenterica*, utilizando técnicas físico-químicas, mostraram alto teor de compostos polifenólicos (flavonoides e taninos), bem como a presença de saponinas e terpenos (COSTA et al., 2000; COUTO et al., 2009; CARDOSO et al., 2011; PRADO et al., 2014).

Além dos efeitos gastroprotetores, estudos têm mostrado outras atividades farmacológicas apresentadas pela espécie *E. dysenterica* como atividades anti-helmíntica (GASPAR et al., 2010) e ação antifúngica (COSTA et al., 2000). Um estudo utilizando o óleo essencial extraído das folhas da *E. dysenterica* mostrou potencial efeito cicatrizante de feridas (SILVA et al., 2018). Propriedades neuroprotetoras também foram demonstradas em estudo utilizando extrato hidroalcoólico preparado a partir das folhas da *E. dysenterica* em modelo experimental *in vivo* (THOMAZ et al., 2018).

Outro trabalho também sugere que *Eugenia dysenterica* pode ter efeitos benéficos na obesidade (PESTANA et al., 2017) e pode ser útil na composição de cosméticos dermatológicos antienvhecimento (MOREIRA et al., 2017). Entretanto, até o presente momento não há dados na literatura sobre os possíveis efeitos farmacológicos analgésicos e anti-inflamatórios utilizando-se o extrato aquoso da *Eugenia dysenterica*.

Dentre o grupo de substâncias polifenólicas, os flavonoides destacam-se por apresentarem ampla distribuição em diversas espécies vegetais e possuírem vasta quantidade de ações biológicas, incluindo a capacidade de interferir em processos inflamatórios e sobre o sistema imune (CAZAROLLI et al., 2008; COUTINHO et al., 2009). Os mecanismos moleculares envolvidos nas atividades anti-inflamatórias dos flavonoides incluem, por exemplo, inibição da proliferação de linfócitos, da liberação de histamina dos mastócitos, inibição de enzimas pró-inflamatórias, tais como as enzimas ciclooxigenase-2 (COX-2), lipooxigenase e óxido nítrico sintase induzível (iNOS). Além disto, flavonoides podem inibir a expressão de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e MCP-1 (monocyte-chemoattractant protein-1), em diferentes tipos celulares, tais como macrófagos RAW, células T Jurkat e células mononucleares do sangue periférico. A inibição dos fatores de transcrição NF- κ B e AP-1 e de MAPKs (proteínas quinases ativadas por mitógenos) têm sido apontados como possíveis mecanismos moleculares envolvidos na ação moduladora dos flavonoides sobre a atividade de citocinas (CAZAROLLI et al., 2008; SERAFINI, PELUSO e RAGUZZINI, 2010).

Considerando que os flavonoides e os taninos apresentam atividades anti-inflamatórias e que *Eugenia dysenterica*, à semelhança de muitas outras espécies vegetais, é capaz de produzir esses metabólitos secundários, torna-se relevante investigar possíveis ações farmacológicas, tais como, analgésica e anti-inflamatória, nessa importante espécie do Cerrado brasileiro.

2.3 Inflamação

O processo inflamatório é um mecanismo de defesa no organismo animal saudável, responsável por protegê-lo contra agressões teciduais. Esse estímulo agressor inicia um processo inflamatório no organismo que a partir de mediadores químicos gera, principalmente, eventos vasculares e celulares (SPINOSA, GÓRNIK e BERNARDI, 2017).

O processo inflamatório pode ser agudo, sendo caracterizado por curta duração e sinais como dor, rubor, calor, tumor e perda de função; ou pode ser crônico, quando possui um tempo de permanência indeterminado e seus sinais clínicos dependem dos tipos celulares e mediadores humorais envolvidos (SPINOSA, GÓRNIAK e BERNARDI, 2017).

Os mediadores químicos envolvidos na inflamação podem ser de origem tecidual (aminas vasoativas, eicosanoides, citocinas, fator de ativação plaquetária, radicais livres superóxidos, óxido nítrico e neuropeptídios) ou plasmática (sistema complemento, sistema de coagulação e sistema de cininas). Dentro dos mediadores químicos de origem tecidual estão os eicosanoides, que são lipídios insaturados e derivados do ácido araquidônico (SPINOSA, GÓRNIAK e BERNARDI, 2017).

Quando ocorre uma lesão no tecido, células do organismo liberam frações de fosfolipídios (ácidos araquidônicos) através da ação da enzima fosfolipase A₂ (FLA₂). O ácido araquidônico não possui ação inflamatória, porém, ele é metabolizado pelas enzimas ciclooxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX), via que leva a geração de mediadores químicos importantes no processo da inflamação. Os mediadores químicos originados pela COX são as prostaglandinas (PG), prostaciclina (PGI₂) e tromboxanas (TX), já a via da LOX leva à formação de leucotrienos (LT) (SPINOSA, GÓRNIAK e BERNARDI, 2017). Em seguida, ocorre a fase vascular caracterizada pela vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, facilitando a passagem de proteínas plasmáticas para o tecido subjacente acompanhadas de água e, conseqüentemente, gerando o edema. Simultâneo a esse fenômeno, ocorre a fase celular, com a marginalização de leucócitos e, a partir de interações com moléculas de adesão específicas na superfície das células endoteliais, passagem dessas células para o tecido extravascular, um processo conhecido como diapedese (SPINOSA, GÓRNIAK e BERNARDI, 2017).

O episódio seguinte é a fase de reparação tecidual que consiste na constituição do tecido de granulação e cicatrização, porém, em alguns casos, o organismo não consegue eliminar os agentes desencadeantes da lesão tecidual e, dessa forma, o processo inflamatório se torna crônico. Nesses casos, devem ser instrumentos farmacológicos para eliminar ou reduzir a inflamação, como os medicamentos anti-inflamatórios (SPINOSA, GÓRNIAK e BERNARDI, 2017).

2.4 Medicamentos anti-inflamatórios

As drogas anti-inflamatórias mais comumente utilizadas são os anti-inflamatórios esteroidais (AIE) e os anti-inflamatórios não esteroidais (AINE).

Os AIE são corticoides (glicocorticoides) que mimetizam as ações anti-inflamatórias dos hormônios naturais, porém em maior magnitude uma vez que são administrados em doses supra fisiológicas, por isto apresentam potentes atividades anti-inflamatória e imunossupressora. Os glicocorticoides influenciam o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos; alguns glicocorticoides também possuem ações de mineralocorticoides e, por isso, possuem efeitos sobre o equilíbrio hídrico-eletrolítico no organismo (ANDRADE, 2008; SPINOSA, GÓRNIK e BERNARDI, 2017). Os corticosteroides interagem com proteínas receptoras nucleares em tecidos-alvo e alteram a expressão de genes responsivos aos corticosteroides, por exemplo, reduzindo a expressão de genes que codificam proteínas pró-inflamatórias. Todavia, possuem inúmeros efeitos adversos (ANDRADE, 2008; SPINOSA, GÓRNIK e BERNARDI, 2017).

Já os AINEs possuem ação inibidora sobre a enzima que metaboliza o ácido araquidônico: a ciclooxigenase (COX), reduzindo, dessa forma, a síntese de prostanoídes (prostaglandinas e troboxanos). Em medicina veterinária, a meia-vida de uma mesma droga pode ser diferente nas diferentes de espécie de animais em função das diferentes vias de biotransformação. Por esse motivo, várias formulações de AINEs são utilizadas e adequadas a espécies distintas. O que diferencia as formulações são: a potência de inibição do processo inflamatório e sua ação sobre os diversos mediadores químicos (SPINOSA, GÓRNIK e BERNARDI, 2017).

2.5 Fitoterápicos em medicina veterinária

Na medicina veterinária, as práticas e saberes populares são ocasionalmente utilizados por médicos veterinários e proprietários de animais com o objetivo de encontrar novos meios para prevenir e tratar doenças tanto em animais de estimação, como em animais de produção. O uso dessas crenças populares relacionadas à saúde do animal na prática, juntamente com uma investigação teórica sistemática, recebe o nome de etnoveterinária (BATISTA et al., 2017).

O mercado de medicina veterinária alternativa vem crescendo, isso se dá ao fato de que a demanda por produtos ecologicamente corretos, principalmente pensando no bem-estar animal, também está aumentando. Outro fator que influencia no alto mercado de fitoterápicos é a baixa renda de pequenos produtores rurais que, muitas vezes, não têm condições financeiras de oferecer um outro tipo de tratamento mais caro aos seus animais (BARBOSA, 2011).

A prescrição de fitoterápicos por médicos veterinários é muito menor em relação à prescrição de medicamentos alopáticos, e isso se dá à falta de conhecimento e escassez de disseminação de pesquisas clínicas e informação a respeito de ervas medicinais. (BATISTA et al., 2017).

No Brasil, há uma lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos onde é possível encontrar todas as informações dos fitoterápicos com uso estabelecido (BARBOSA, 2011). Em 2006, foi publicada a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) com o propósito de aumentar o desenvolvimento de estudos com plantas e o uso sustentável da biodiversidade brasileira, determinando diretrizes de atuação nessa área (SILVA, et al., 2015).

3 JUSTIFICATIVA

A inflamação é uma resposta de defesa do organismo animal a estímulos nocivos químicos, mecânicos, físicos ou biológicos. Entretanto, o processo inflamatório pode gerar danos ao próprio organismo por meio da ação não seletiva de vários mediadores inflamatórios (FALCÃO et al., 2018).

Assim, a intervenção farmacológica com drogas anti-inflamatórias reduz esses efeitos deletérios. Entretanto, a maioria dos anti-inflamatórios não esteroidais e esteroidais, atualmente disponíveis, causam importantes efeitos adversos ao organismo, incluindo o trato gastrointestinal, sistema renal e cardiovascular. Desse modo, a pesquisa de novas drogas com potencial efeito anti-inflamatório e menos efeitos adversos é bastante relevante (FALCÃO et al., 2018).

A espécie *Eugenia dysenterica*, conhecida no Brasil como cagaita, faz parte da família Myrtaceae, e foram identificados vários compostos bioativos na referida espécie, tais como flavonoides. Os flavonoides são compostos polifenólicos aos quais foram atribuídas várias ações anti-inflamatórias, tais como, inibição da formação de espécies reativas de oxigênio; inibição de enzimas responsáveis pela transdução de sinais nas células inflamatórias; diminuição da biossíntese de citocinas pró-inflamatórias; inibição da expressão das enzimas óxido nítrico sintase induzível, ciclooxigenase e lipooxigenase responsáveis, respectivamente, pela produção de óxido nítrico, prostanóides e leucotrieno (FALCÃO et al., 2018).

Diante do exposto, e considerando dados da literatura, os quais referem diversos efeitos farmacológicos para a espécie *E. Dysenterica*, justificou-se investigar possível ação anti-inflamatória do extrato aquoso das folhas da *E. dysenterica*.

4 OBJETIVOS

4.1 *Objetivo geral*

Avaliar ação anti-inflamatória do extrato aquoso liofilizado das folhas da espécie vegetal *Eugenia dysenterica*, em modelo experimental de inflamação peritoneal.

4.2 *Objetivos específicos*

- Preparar o extrato aquoso da *Eugenia dysenterica*.
- Padronizar o método para indução da inflamação peritoneal.
- Investigar o efeito do extrato aquoso das folhas da *E. dysenterica* na inflamação peritoneal induzida por carragenina.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local de execução

O extrato aquoso da *E. dysenterica* foi preparado no laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Farmacologia Geral, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, na Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e em salas de experimentação animal do REBIR (REDE DE BIOTÉRIOS DE ROEDORES) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

5.2 Material vegetal e obtenção do extrato aquoso

A espécie *E. dysenterica*, a partir da qual foram coletadas as folhas para a preparação do extrato aquoso, foi previamente identificada por biólogo competente e uma exsicata da espécie foi depositada no herbário da Universidade Federal de Uberlândia (Número de Registro: HUFU-45956). Para este estudo, o extrato aquoso foi obtido a partir das folhas da *E. dysenterica* coletadas em campos de vegetação espontânea em novembro/2018, na Fazenda Santa Rita, Lassance, MG e, gentilmente, cedidas pelo Prof. Dr. Hudson Armando Nunes Canabrava. Após a colheita, as folhas foram separadas dos galhos e lavadas em água corrente e em água destilada. Em seguida, as folhas foram colocadas em estufa a 45°C durante 48 horas. Depois de secas, as folhas foram trituradas em liquidificador e colocadas em provetas contendo água destilada na proporção de 20% (m/v) por 48 horas a temperatura ambiente. O extrato foi filtrado em funil contendo algodão e, em seguida, em funil contendo papel de filtro. O extrato obtido foi colocado em tubos falcon de 50 mL e acondicionado à temperatura - 20°C. Após congelamento, o extrato foi liofilizado a - 40°C até a total remoção do conteúdo de água. O material obtido foi pesado e acondicionado em freezer a - 20°C até a data da utilização (PRADO et al., 2014).

5.3 Animais

Os animais foram fornecidos pela Rede de Biotérios de Roedores (REBIR) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Todos os procedimentos foram conduzidos de

acordo com os princípios éticos em pesquisa animal recomendados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), após aprovação da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da UFU (PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 005/18).

Neste estudo, foram utilizados camundongos da linhagem BALB/c machos, com peso médio de 27,58 gramas (desvio padrão de ± 4.135 gramas).

5.4 Avaliação dos efeitos farmacológicos anti-inflamatórios

5.4.1 Inflamação peritoneal induzida por carragenina 1%

Inicialmente, antes da avaliação da ação anti-inflamatória do extrato aquoso da *Eugenia dysenterica* sobre a inflamação peritoneal induzida por carragenina (CGN) 1%, foi padronizado o intervalo de tempo ideal para a coleta do exsudato peritoneal, após a injeção intraperitoneal (i.p.) de CGN 1%.

Para a padronização, foram utilizados camundongos BALB/c divididos em dois grupos (G): G1: n = 5 animais e G2: n = 4. Ambos os grupos foram tratados, por via oral (o volume máximo administrado foi de 1mL/100 g massa corporal) com solução de carboximetilcelulose (CBX) 0,5% (veículo utilizado para a solubilização do extrato) (**Figura 4**).

A administração por via oral foi realizada por meio de cânula de gavagem específica para camundongos, a qual foi introduzida na boca do animal e, gentilmente, conduzida até o estômago (**Figura 2**).



Figura 2. Administração por via oral (gavagem)

Fonte: A autora (2019)

Sessenta minutos após o tratamento com CBX 0,5%, todos os animais receberam injeção i.p. de carragenina 1% solubilizada em solução salina (NaCl 0,9%) estéril (200 μ L), utilizando-se seringas para insulina (1,0 mL) e agulhas 13 x 0,45 mm. Após quatro e seis horas a injeção de CGN 1%, os animais dos grupos 1 e 2, respectivamente, foram anestesiados e mortos por deslocamento cervical. Em seguida, a cavidade peritoneal dos animais foi lavada com 4 mL de solução salina tamponada com fosfatos (PBS: *phosphate buffered saline*), pH 7,2 (**Figura 3**). O abdômen foi gentilmente massageado e as células da cavidade peritoneal foram coletadas por aspiração do lavado peritoneal, utilizando-se seringas de 5 mL e agulhas 25 x 0,70 mm.

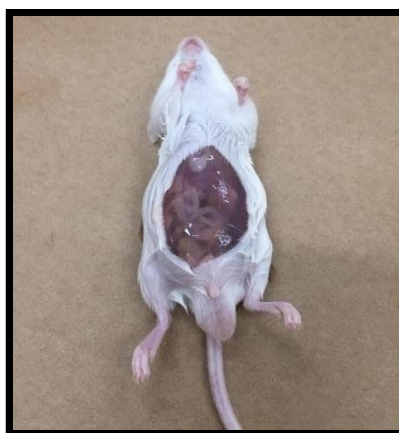


Figura 3. A pele foi previamente lavada com álcool 70% e incidida na linha média do abdômen sem o rompimento do peritônio. Em seguida, foi injetado PBS por via intraperitoneal para a obtenção do lavado peritoneal.

Fonte: A autora (2019)

O lavado peritoneal coletado foi centrifugado (120 g, 4°C, 10 minutos) e lavado (1 vez) com PBS. O sobrenadante (SBN) foi descartado e o sedimento foi diluído (1:100) em líquido de Turk para a contagem de leucócitos totais em câmara de Neubauer.

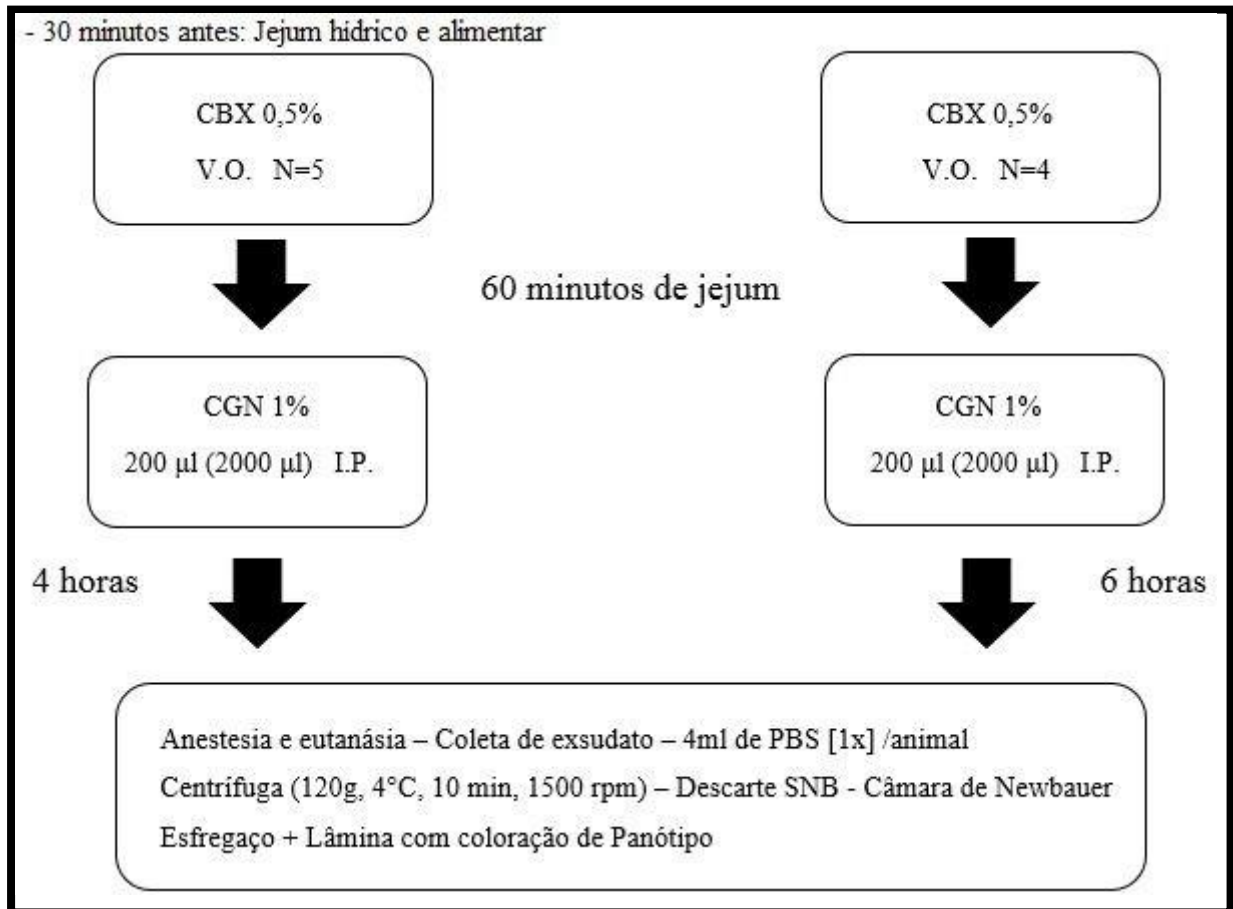


Figura 4. Fluxograma da padronização do tempo para a coleta do lavado peritoneal, após a injeção da carragenina 1% (CBX: carboximetilcelulose; CGN: carragenina; V.O.: via oral; I.P.: intraperitoneal).

Após padronização do tempo para a coleta do lavado peritoneal, após a injeção da CGN 1%, investigamos o potencial anti-inflamatório do extrato aquoso da *Eugenia dysenterica* (Figura 5). Camundongos BALB/c foram divididos em quatro grupos (G1 – G4), com 8 animais por grupo (n = 8), e receberam por via oral: G1: CBX 0,5% (grupo negativo para efeito anti-inflamatório). G 2, 3 e 4: extrato aquoso das folhas da *Eugenia dysenterica* nas concentrações 100, 550, 1000 mg/Kg, respectivamente (grupos experimentais). Decorridos sessenta minutos, todos os animais receberam injeção i.p. de CGN 1%. Quatro horas após a administração da CGN, os animais foram anestesiados e mortos para a coleta do lavado peritoneal. Após a coleta e a centrifugação do lavado peritoneal, os sedimentos foram usados para as contagens global e diferencial de leucócitos. Uma alíquota do sedimento foi diluída (1:100) em líquido de Turk para a contagem de leucócitos totais em câmara de Neubauer, e outra alíquota foi usada para preparar esfregaços em lâmina de vidro e coloração com corante Panótico (Instant Prov, Newprov, código 1319) para posterior contagem diferencial de

leucócitos (CUNHA et al., 1989; ORLANDI et al., 2011; PRADO ET AL, 2014; DE OLIVEIRA et al., 2014).

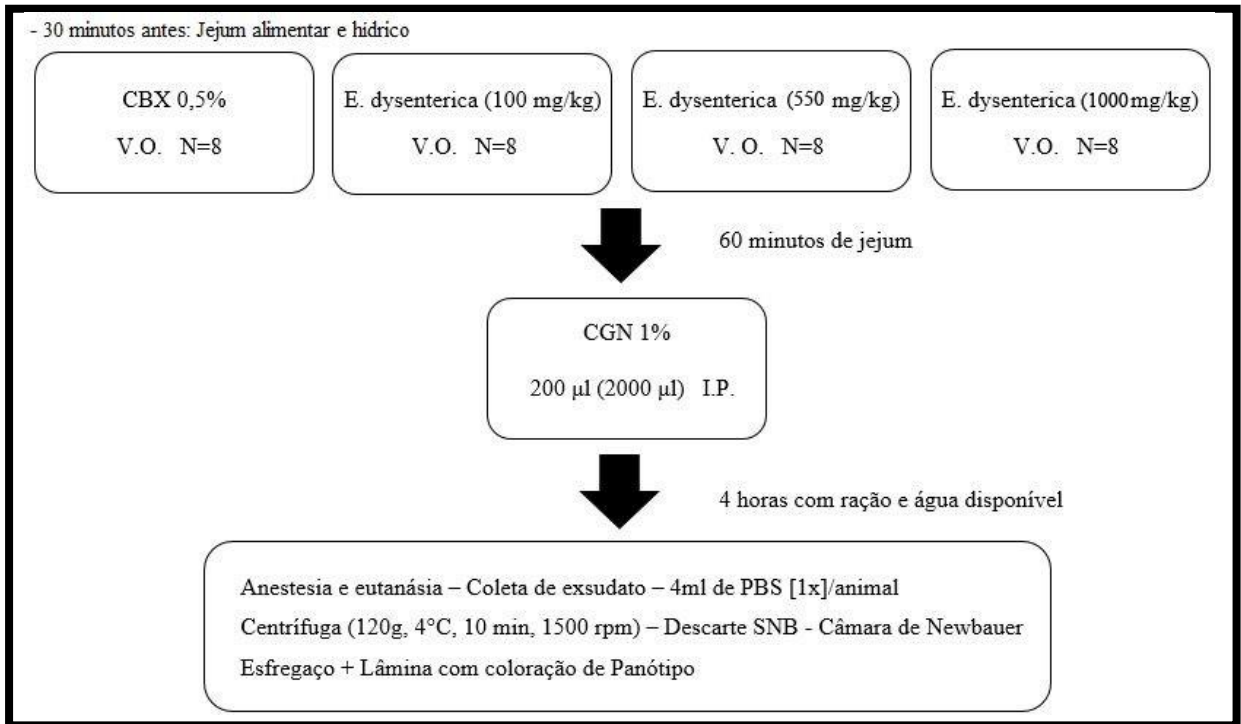


Figura 5. Fluxograma do método utilizado para a contagem de leucócitos em lavado peritoneal de camundongos BALB/c (CBX: carboximetilcelulose; CGN: carragenina; V.O.: via oral; I.P.: intraperitoneal).

5.5 Protocolo de eutanásia

Os animais foram anestesiados com xilazina e cetamina (10 e 100 mg/kg, i.p., respectivamente) e, após a sedação, foram submetidos à eutanásia por meio de deslocamento cervical.

5.6 Análise Estatística

Para todos os cálculos estatísticos e confecção dos gráficos foi utilizado o programa GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, EUA). Os dados foram expressos como a média \pm S.E.M (erro padrão da média) ou média \pm S.D. (desvio padrão). O teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificar se as variáveis exibiam distribuição normal. Foram utilizados o teste *t* de Student ou ANOVA de uma via, seguido pelo pós-teste de Bonferroni. Todos os resultados foram considerados estatisticamente significantes para um nível de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

6.1 Padronização de modelo experimental para avaliação de atividade anti-inflamatória em camundongos BALB/c: método para indução da inflamação peritoneal

Animais tratados com CBX 0,5% (v.o.) e CGN 1% (i.p.) foram submetidos à eutanásia após os intervalos de tempo de 4 e 6 horas. A migração leucocitária para a cavidade peritoneal foi avaliada como um marcador de inflamação peritoneal induzida por CGN 1%. A resposta inflamatória peritoneal foi avaliada por meio da contagem de leucócitos totais no exsudato peritoneal. Ao comparar os intervalos de tempo de 4 e 6 horas, os resultados obtidos mostraram que o número de leucócitos totais no infiltrado leucocitário não foi estatisticamente diferente após 4 e 6 horas (**Figura 6**). Estes resultados possibilitaram a padronização do tempo igual a 4 horas, após a injeção de CGN 1%, para a coleta dos exsudatos/lavados peritoneais ($p < 0,01$).

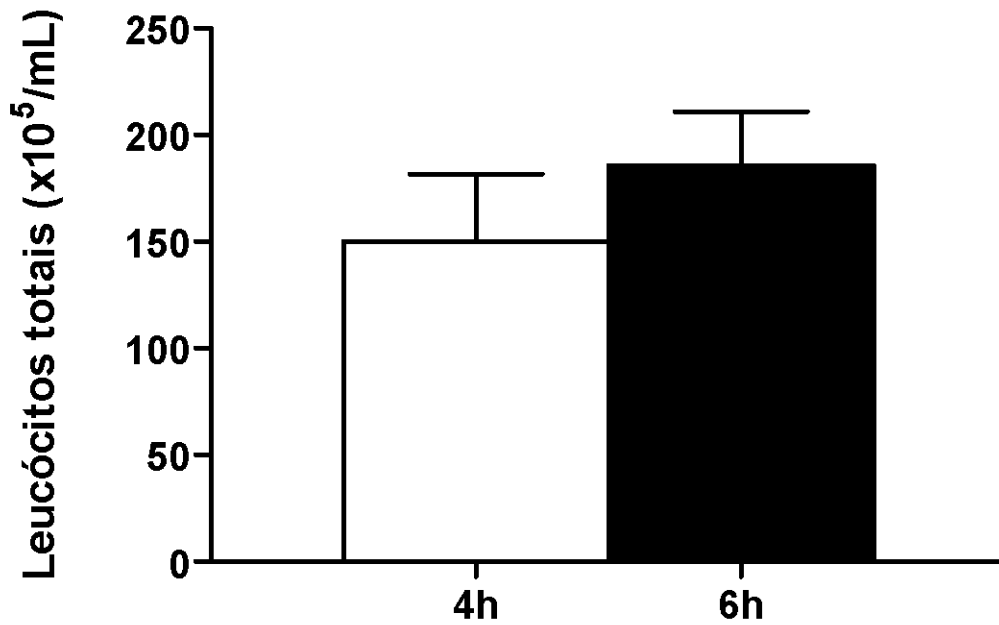


Figura 6. Padronização da inflamação peritoneal induzida por carragenina (CGN) 1%. Camundongos BALB/c foram divididos em 2 grupos (n=2) e tratados por via oral com carboximetilcelulose (CBX) 0,5% (1,0 mL / 100 g). Após sessenta minutos, os animais receberam injeção intraperitoneal (i.p.) de CGN 1% (200 μ L). Os lavados peritoneais foram coletados após 4 e 6 horas e utilizados para a contagem de leucócitos totais em câmara de Neubauer. Os dados estão expressos como média \pm S.E.M. A comparação entre os grupos CGN 1%, em cada intervalo de tempo, 4 e 6 horas, foi analisada pelo teste *t* de Student, ($p > 0,05$).

6.2 Efeito anti-inflamatório do extrato aquoso de *Eugenia dysenterica*

As **Figuras 7 e 8** mostram os resultados obtidos na avaliação do efeito anti-inflamatório do extrato aquoso da *Eugenia dysenterica* em camundongos BALB/c com inflamação peritoneal induzida por CGN 1%.

A **Figura 7** representa a contagem de leucócitos totais no lavado peritoneal dos animais tratados com CBX 0,5% e dos animais experimentais tratados com as diferentes concentrações do extrato. Os dados obtidos mostram que a migração leucocitária foi reduzida nos animais tratados com o extrato aquoso da *Eugenia dysenterica*, em todas as concentrações utilizadas (100, 550, 1000 mg/kg), sendo mais evidente na concentração de 550 mg/kg

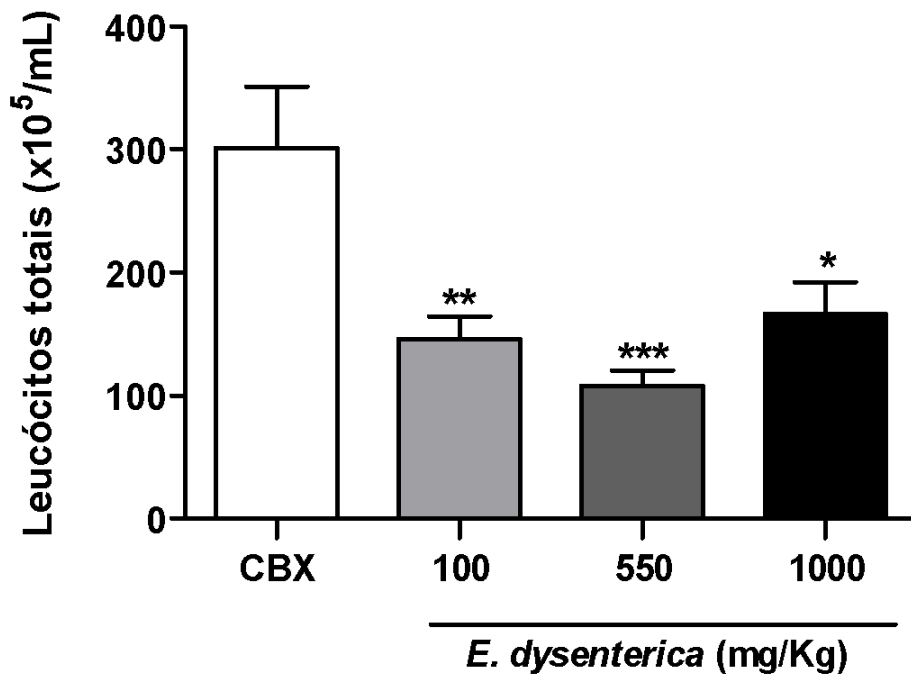


Figura 7. Efeito do extrato aquoso das folhas da *Eugenia dysenterica* sobre a inflamação peritoneal induzida por carragenina. Camundongos BALB/c foram divididos em 4 grupos (n=8) e tratados por via oral com carboximetilcelulose (CBX) 0,5% (1,0 mL / 100 g) ou com o extrato aquoso das folhas da *E. Dysenterica* (100, 550 e 1.000 mg/Kg). Os animais tratados com CBX 0,5% constituíram o grupo controle negativo para efeito anti-inflamatório. Após sessenta minutos, os animais receberam injeção intraperitoneal (i.p.) de CGN 1% (200 µL). Os lavados peritoneais foram coletados após 4 horas os tratamentos por via i.p. e utilizados para a contagem de leucócitos totais. Os dados estão expressos como média ± S.E.M. As comparações entre os grupos CBX e *E. dysenterica* nas diferentes concentrações foram analisadas utilizando-se ANOVA (*one-way analysis of variance*), seguido do teste de Bonferroni para comparações múltiplas ((^{*}p < 0,05; ^{**}p < 0,01; ^{***}p < 0,001).

Uma vez que o extrato reduziu a migração leucocitária em todas as concentrações, analisamos as populações de leucócitos que poderiam estar diminuídas por meio da contagem diferencial de leucócitos (**Figura 8**). Os dados obtidos mostraram que nos animais tratados com o extrato aquoso das folhas da *E. dysenterica*, em todas as concentrações utilizadas, houve diminuição da migração de linfócitos, quando as diferentes populações de células (linfócitos, neutrófilos e monócitos/macrófagos (MΦ)) foram comparadas àquelas dos animais tratados com CBX (grupo controle negativo). Além disto, em cada grupo experimental, independentemente do tratamento, houve predomínio da população de linfócitos em relação a neutrófilos e monócitos/ MΦ.

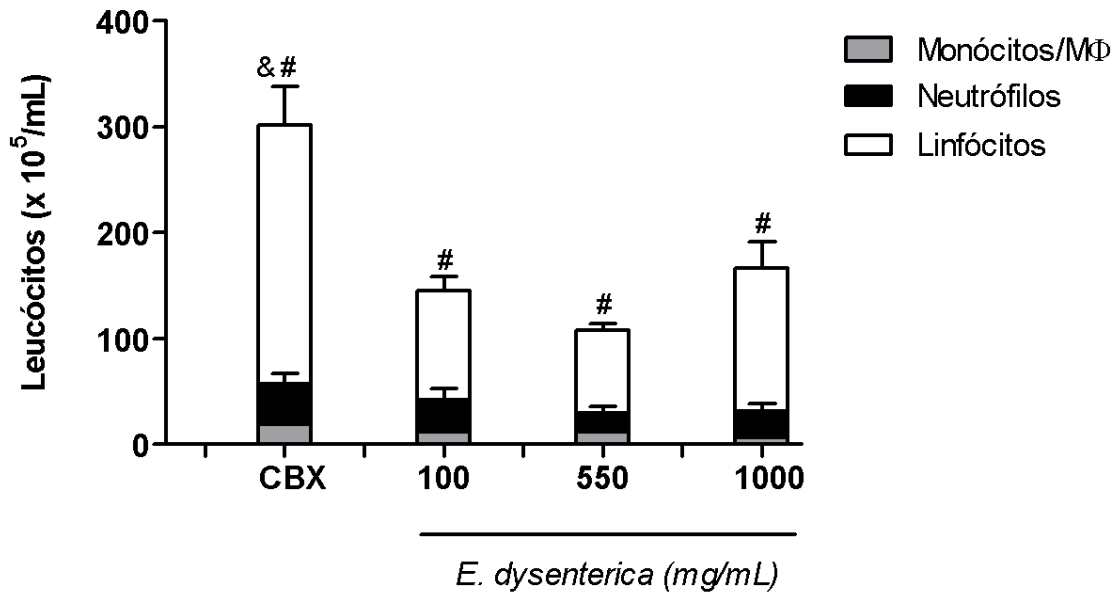


Figura 8. Efeito do extrato aquoso das folhas da *Eugenia dysenterica* sobre a migração diferencial de leucócitos para a cavidade peritoneal na inflamação peritoneal induzida por carragenina. Camundongos BALB/c foram divididos em 4 grupos (n=8) e tratados por via oral com carboximetilcelulose (CBX) 0,5% (1,0 mL / 100 g) ou com o extrato aquoso das folhas da *E. dysenterica* (100, 550 e 1.000 mg/Kg). Os animais tratados com CBX 0,5% constituíram o grupo controle negativo para efeito anti-inflamatório. Após sessenta minutos, os animais receberam injeção intraperitoneal (i.p.) de CGN 1% (200 μ L). Os lavados peritoneais foram coletados após 4 horas os tratamentos por via i.p. e utilizados para a contagem diferencial de leucócitos (linfócitos, neutrófilos e monócitos/macrófagos (Φ)). Os dados estão expressos como média \pm S.E.M. As comparações entre os grupos CBX e *E. dysenterica* nas diferentes concentrações foram analisadas utilizando-se ANOVA (*one-way analysis of variance*), seguido do teste de Bonferroni para comparações múltiplas (#Significância estatística entre Linfócitos e neutrófilos e monócitos/ Φ p < 0,001 em cada condição experimental; &Significância estatística entre linfócitos no grupo controle e nos grupos 100, 550 e 1000 mg/mL, p < 0,01).+

De acordo com os resultados obtidos, o extrato aquoso das folhas da *E. dysenterica* provavelmente possui um potencial anti-inflamatório associado a um efeito de inibição da migração de leucócitos, especialmente linfócitos, para a cavidade peritoneal na inflamação induzida por CGN 1%.

7 DISCUSSÃO

No presente estudo, foi utilizado o modelo de peritonite induzida por carragenina (CGN) 1% para avaliarmos o potencial efeito do extrato aquoso das folhas da espécie *E. dysenterica* na inibição da migração leucocitária e, assim, demonstrarmos se haveria ou não ação anti-inflamatória.

A peritonite induzida por CGN em camundongos para avaliar possíveis ações anti-inflamatórias é comumente utilizada em estudos (FALCÃO et al., 2018; PIRES et al., 2019; SANTOS et al., 2019; SOBEHA et al., 2019;). A CGN é uma substância indutora de inflamação e promove síntese e liberação de prostaglandinas por células inflamatórias, o que consequentemente leva à migração de leucócitos para o sítio de inflamação. (DA SILVA et al., 2016).

Em estudo que analisou o efeito da lectina *Lonchocarpus*, foi utilizada a técnica de indução da inflamação peritoneal por meio da injeção intraperitoneal de CGN em ratos. Da mesma forma que o presente estudo, após 4 horas a administração de CGN, os animais foram mortos e o lavado peritoneal foi colhido para contagens de leucócitos totais e diferencial (PIRES et al., 2019). Em outro modelo experimental foram avaliados os efeitos anti-inflamatórias do extrato aquoso de *Ipomoea asarifolia*, também utilizando-se o método de peritonite induzida por CGN e, do mesmo modo, os animais foram mortos após 4 horas a injeção de CGN para lavagem peritoneal com solução salina estéril gelada e posterior coleta do lavado peritoneal (FURTADO et al., 2016). Portanto, os resultados obtidos neste estudo acerca da padronização do método de indução da peritonite por CGN 1% em camundongos, especialmente, o tempo necessário para a coleta do lavado peritoneal, após a indução da inflamação peritoneal, corroboram com as metodologias descritas em outros trabalhos da literatura.

O processo inflamatório faz parte do sistema imune e tem a função de defender o organismo de agentes agressores. Leucócitos, principalmente neutrófilos, monócitos e linfócitos, são células importantes nessa ação de defesa e são capazes de migrar rapidamente para o foco de inflamação com o objetivo de eliminar agentes nocivos, como, por exemplo, substâncias irritantes e patógenos, por meio da fagocitose, bem como da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), enzimas proteolíticas e proteínas antimicrobianas (COUTINHO et al., 2009; SANTOS, 2010).

Neste estudo, os resultados obtidos mostraram que o pré-tratamento (v.o) dos animais com o extrato aquoso das folhas da *E. dysenterica*, seguido da indução de inflamação peritoneal por meio da injeção de CGN 1%, reduziu significativamente a migração leucocitária, especialmente de linfócitos, para a cavidade peritoneal. Desta maneira, podemos sugerir uma possível ação anti-inflamatória, atribuída ao derivado vegetal utilizado. A referida ação pode estar relacionada aos compostos bioativos presentes nas folhas da cagaita, já descritos na literatura. Estudos que utilizaram o extrato etanólico das folhas da *E. dysenterica* (CECÍLIO et al., 2012), ou as folhas pulverizadas para a preparação de vários derivados vegetais, a partir de solventes distintos (COUTO et al., 2009), indicaram a presença de taninos, flavonoides, terpenos e saponinas nas folhas da planta, sendo taninos e flavonoides os compostos responsáveis pela maior parte dos compostos fenólicos totais. Em outros estudos, utilizando o extrato aquoso das folhas da cagaita, também foram encontrados catequinas, epicatequinas e ácido elágico (SOUZA et. al., 2012; ZORZIN, 2014).

Os flavonoides possuem ações anti-inflamatórias por meio de vários mecanismos. Estes compostos influenciam na ativação de células imunes, como os linfócitos T e B e neutrófilos; além disso, inibem a produção de citocinas pró-inflamatórias por supressão da atividade de fatores de transcrição como NF-kB e da via das MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinases*), incluindo as enzimas ERK e p38 MAPK (SANTOS, 2010). O flavonoide miricitrina demonstrou inibir (1) a produção de prostaglandinas, incluindo PGE2, (2) a produção de óxido nítrico estimulada por LPS, (3) produção de citocinas, (4) e os níveis de óxido nítrico sintase induzível e da ciclooxigenase-2 (FALCÃO, 2018).

Estudo utilizando extrato metanólico das folhas da espécie *Eugenia supraaxillaris* revelou potencial atividade antioxidante, com redução da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs); inibição da atividade enzimática de ciclooxigenases, principalmente COX-2; e propriedades anti-inflamatórias, demonstradas em ensaios de edema de pata induzido por CGN em rato, e de redução da migração de leucócitos induzida por CGN na cavidade peritoneal. Em camundongos, os mesmos autores mostraram atividades antipiréticas e analgésicas (HEGAZI et al., 2019). Atividades anti-inflamatórias e antioxidantes também foram observadas com outra espécie do gênero *Eugenia*, a *Eugenia uniflora*. Extrato bruto obtido a partir das folhas da *E. uniflora*, utilizando-se acetona e água como solventes (7:3, v/v) e uma fração etil-acetato foram utilizadas para tratamento de camundongos submetidos aos modelos de peritonite induzida por carragenina para avaliação da migração leucocitária no

lavado peritoneal, o qual também foi utilizado para determinação da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) e do conteúdo de glutathione total. Os resultados obtidos indicaram que ambos, o extrato bruto e a fração etil-acetato, reduziram a migração de leucócitos, especialmente neutrófilos, e apresentaram atividade antioxidante (FALCÃO et al., 2018). Considerando que semelhanças fitoquímicas e atividades biológicas possam ser compartilhadas entre espécies vegetais do mesmo gênero, os resultados encontrados em nosso estudo corroboram, pelo menos em parte, com aqueles obtidos nos estudos supracitados; e isso reforça a necessidade de continuarmos investigando possíveis ações anti-inflamatórias, bem como analgésicas, utilizando o extrato aquoso das folhas da *E. dysenterica*.

Os dados obtidos em nosso estudo permitem sugerir que a *E. dysenterica* possa ser um candidato promissor no tratamento de desordens inflamatórias. Contudo, novos estudos deverão ser realizados para a consolidação do potencial anti-inflamatório do extrato aquoso das folhas da *E. dysenterica*, bem como os possíveis mecanismos envolvidos.

8 CONCLUSÕES

- Na padronização do método de inflamação peritoneal induzida por carragenina, ambos os intervalos de tempo, 4 e 6 horas, foram adequados para a coleta do lavado peritoneal. Contudo, foi padronizado o tempo de 4 horas para a realização dos experimentos.
- A migração de leucócitos totais foi reduzida nos animais tratados com o extrato aquoso da *Eugenia dysenterica*, em todas as concentrações utilizadas (100, 550, 1000 mg/kg).
- Linfócitos foi a população de leucócitos cuja migração para a cavidade peritoneal foi significativamente reduzida em comparação ao grupo controle.
- A espécie *Eugenia dysenterica* provavelmente possui ação anti-inflamatória, pelo menos em condições de peritonite induzida por carragenina.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies vegetais úteis, 1ª. ed., **EMBRAPA-CPAC**, Planaltina, 1998.
- ALENCAR, N. L.; ALBUQUERQUE, U. P. Farmacopéias Tradicionais – O papel das plantas medicinais na sua constituição, formação e manutenção em comunidades da Caatinga. **Universidade Federal Rural de Pernambuco**, 2012.
- ANDRADE, S.F. Manual de Terapêutica Veterinária. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. Cap. 7.
- BARBOSA, J. M. M. M. Uma abordagem da Fitoterapia na medicina veterinária. **Universidade Federal de Campina Grande**, Centro de saúde e tecnologia rural, 2011.
- BATISTA, F. T.; LACERDA, G. D.; SILVA, J. R. S.; RODRIGUES, L. P. T.; FEITOSA, T. P.; MUSTAFA, V. S. O uso de plantas medicinais na medicina veterinária – Riscos e Benefícios. **Revista Científica do curso de medicina veterinária – FACIPLAC**. v.4, n.2, Nov 2017.
- BELLIK, Y.; BOUKRAÁ, L.; ALZHRANI, H. A.; BAKHOTMAH, B. A.; ABDELLAH, F.; HAMMOUDI, S. M.; IGUER-OUADA, M. Molecular mechanism underlying anti-inflammatory and anti-allergic activities of phytochemicals: an update. **Molecules**, v. 18, p. 322-353, 2013.
- BEZERRA, J. C. B.; SILVA, I. A.; FERREIRA, H. D.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**, 2002.
- CARDOSO, L. M.; DUARTE, H. S. M.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) of the cerrado of Minas Gerais, Brasil: physical and chemical characterization, carotenoides and vitamins, **Food Research International**, v. 44, p. 2151-2154, 2011.
- CAZAROLLI, L. H.; ZANATTA, L.; ALBERTON, E. H.; FIGUEIREDO, M. S. R. B. REIS, M. S.; FOLADOR, P.; DAMAZIO, R. G.; PIZZOLATTI, M. G.; SILVA, F. R. M. B. Flavonoids: prospective drug candidates. **Mini Reviews em Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 13, p. 1429-1440, 2008.
- CECÍLIO, A. B.; FARIA, D. B.; OLIVEIRA, P. C.; CALDAS, S.; OLIVEIRA, D. A.; SOBRAL, M. E. G. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. **J Ethnopharmacol**, 2012.
- COSTA, T. R.; FERNANDES, O. F. L.; SANTOS, S. C.; OLIVEIRA, C. M. A.; LIÃO, L. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; FERREIRA, H. D.; SALES, B. H. N.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 111–117, 2000.
- COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: Potenciais agentes

terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química** 1 (3), 241-256, 2009.

COUTO, R. O.; VALGAS, A. B.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R. Caracterização físico-química do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, p. 59–69, 2009 (In Portuguese).

CUNHA, F. Q.; SOUZA, G. E.; SOUZA, C. A.; CERQUEIRA, B. C.; FERREIRA, S. H. In-vivo blockage of neutrophil migration by LPS is mimicked by a factor released from LPS-stimulated macrophages. **British Journal of Experimental Pathology**, v. 70, p. 1–8, 1989.

DA SILVA, E. R. S.; SALMAZZO, G. R.; ARRIGO, J. S.; OLIVEIRA, R. J.; KASSUYA, C. A. L.; CARDOSO, C. A. L. Anti-inflammatory Evaluation and Toxicological Analysis of *Campomanesia xanthocarpa* Berg. **Inflammation**. Aug;39(4):1462-8, 2016.

ELIAS, F.; ZILS, T.; AGUIAR, F. G. L.; BARROS, E. L. E.; MOLICA, M. E.; MELO, R. F. Toxicological studies on the *Eugenia dysenterica* DC and *Caryocar brasiliense* Cambess leaves in rats [meeting abstract]. **Panta Med**, 2010. DOI: 10.1055/s-0030-1264941.

FALCÃO, T. R.; DE ARAÚJO, A. A.; SOARES, L. A. L.; RAMOS, R. T. M.; BEZERRA, I. C. F.; FERREIRA, M. R. A.; NETO, M. A. S.; MELO, M. C. N.; DE ARAUJO, R. F. Jr.; GUERRA, A. C. V. A.; DE MEDEIROS, J. S.; GUERRA, G. C. B. Crude extract and fractions from *Eugenia dysenterica* uniflora Linn leaves showed anti-inflammatory, antioxidante, and antibacterial activities. **Bio Med Central - The Open Access Publisher**, 2018.

FINCO, F. D. B. A.; SILVA, I. G.; OLIVEIRA, R. B.; Physicochemical characteristics and antioxidant activity of three native fruits from Brazilian savannah (Cerrado). **Alim. Nutr.**, 2012.

FURTADO, A. A.; RÊGO, M. T.; LIMA, M. C. J. S.; BITENCOURT, M. A. O.; ESTRELA, A. B.; DA SILVA, N. S.; SIQUEIRA, E. M. S.; TOMAZ, J. C.; LOPES, N. P.; JÚNIOR, A. A. S.; ZUCOLOTTI, S. M.; PEDROSA, M. F. F. Aqueous extract from *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) leaves and its phenolic compounds have anti-inflammatory activity in murine models of edema, peritonitis and air-pouch inflammation. **Revista: Journal of Ethnopharmacology**, Ribeirão Preto, SP, Brazil, Jul 2016.

GALHEIGO, M. R. U.; PRADO, L. C. S.; MUNDIN, A. M. M.; GOMES, D. O.; CHANG, R.; LIMA, A. M. C.; CANABRAVA, H. A. N.; BISPO-DA-SILVA. Antidiarrhoeic effect of *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) leaf essential oil. **Natural Product Research**, v. 7, p. 1-4, 2015.

GASPAR, A. T.; HENRIQUE, R. G.; ARAUJO, A. H.; AGUIAR, E. G. L.; ZILS, T.; SILVA, B. V.; BARROS, E. L. E.; OLIVEIRA, Q. M. L.; MOLICA, M. E.; MELO, R. F. *Haemonchus contortus* in vivo anthelmintic activity of *Eugenia dysenterica* DC and *Caryocar brasiliense* Cambess leaves in sheep [meeting abstract]. **Planta Med**, 2010. DOI: 10.1055/s-0030-1264934.

GUO, W.; SUN, J.; JIANG, L.; DUAN, L.; HUO, M.; CHEN, N.; ZHONG, W.; WASSY, L.;

YANG, Z.; FENG, H. Imperatorin attenuates LPS-induced inflammation by suppressing NF- κ B and MAPKs activation in RAW 264.7 macrophages. **Inflammation**, v. 35, 1764–1772, 2012.

HEGAZI, N. M.; SOBEH, M.; REZQ, S.; EL-RAEY, M. A.; DMIRIEH, M.; EL-SHAZLY, A. M.; MAHMOUD, M. F.; WINK, M. Characterization of phenolic compounds from *Eugenia supraaxillaris* leaf extract using HPLCPDA-MS/MS and its antioxidant, anti-inflammatory, antipyretic and pain killing activities in vivo. **Revista: Scientific reports**, Jul 2019.

HUR, S.J.; KANG, S. H.; JUNG, H. S.; KIMB, S.C.; JEON, H. S.; KIM, I. H.; LEE, J. D. Review of natural products actions on cytokines in inflammatory bowel disease. **Nutrition Research**, v. 32, p. 801-816, 2012.

LIMA, T. B.; SILVA, O. N.; OLIVEIRA, J. T. A.; VASCONCELOS, I. M.; SCALABRIN, F. B.; ROCHA, T. L.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; SILVA, L. P.; GUADAGNIN, R. V.; QUIRINO, B. F.; CASTRO, C. F. S.; LEONARDECZ, E.; FRANCO, O. L. Identification of *E. dysenterica* laxative peptide: a novel strategy in the treatment of chronic constipation and irritable bowel syndrome. **Peptides**, v. 31, p. 1426-1433, 2010.

MADALOSSO, R. C.; OLIVEIRA, G. C.; MARTINS, M. T.; VIEIRA, A. E.; BARBOSA, J.; CALIARI, M. V.; CASTILHO, R. O.; TAGLIATI, C. A. *Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav. as a gastroprotective agent. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 772-779, 2012.

MARKMAN, B. E. O.; BACCHI, E. M.; KATO, E. T. M. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 55-57, 2004.

MOREIRA, L. C.; ÁVILA, R. I.; VELOSO, D. F. M. C.; PEDROSA, T. N.; LIMA, E. S.; COUTO, R. O.; LIMA, E. M.; BATISTA, A. C.; PAULA, J. R.; VALADARES, M. C. In vitro safety and efficacy evaluations of a complex botanical mixture of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae): Prospects for developing a new dermocosmetics product. **Toxicologia in Vitro**, 2017.

NAVES, R.V. Espécies frutíferas nativas do cerrado de Goiás: caracterização e influências do clima e dos solos. 1999. 206 f. **Tese (Doutorado)**, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1999.

OLIVEIRA, M. E. S.; PANTOJA, L.; DUARTE, W. F.; COLLELA, C. F.; VALARELLI, L. T.; SCHWAN, R. F.; DIAS, D. R. Fruit wine produced from cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) by both free and immobilized yeast cell fermentation. **Food Research International**, v. 44, p. 2391-2400, 2011.

DE OLIVEIRA RG, MAHON CP, ASCÊNCIO PG, ASCÊNCIO SD, BALOGUN SO, DE OLIVEIRA MARTINS DT. Evaluation of anti-inflammatory activity of hydroethanolic extract of *Dilodendron bipinnatum* Radlk. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, p. 387-395, 2014.

ORLANDI, L.; VILELA, F. C.; SANTA-CECÍLIA, F. V.; DIAS, D. F.; ALVES-DA-SILVA, G.; GIUSTI-PAIVA, A. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of the stem bark of *Byrsonima intermedia* A. Juss. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 1469–1476, 2011.

PESTANA, C. M. D.; DONADO, P. R. S.; DAZA, L. D.; BELCHIOR, T.; FESTUCCIA, G. T.; GENOVESE, M. I. Cagaita fruit (*Eugenia dysenterica* DC) and obesity: Role of polyphenols on already established obesity. **Food Research International**, 2017.

PIRES, A. F.; MARQUES, G. F. O.; DE ALENCAR, N. M. N.; MARTINS, M. G. Q.; DA SILVA, M. T. L.; DO NASCIMENTO, K. S.; CAVADA, B. S.; ASSREUY, A. M. S. Inhibitory effect of *Lonchocarpus araripensis* lectin in rat acute models of inflammation. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Fortaleza, CE, Brazil, Jan 2019.

PRADO L. C.; SILVA, D. B.; DE OLIVEIRA-SILVA, G. L.; HIRAKI, K. R.; CANABRAVA, H. A.; BISPO-DA-SILVA, L. B. The gastroprotective effects of *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) leaf extract: the possible role of condensed tannins. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 37, p. 722-730, 2014.

QANDIL, A. M. Prodrugs of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDS) more than meets the eye: a critical review. **International Journal Molecular Sciences**, v. 13, p. 17244-17274, 2012.

RIBEIRO, J.F.; PROENÇA, C.E.B.; ALMEIDA, S.P. Potencial frutífero de algumas espécies frutíferas nativas do cerrado. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, 8, 1986, Brasília, Anais v. 2, p. 491-500.

RIBEIRO, J.F.; SILVA, J.A., FONSECA, C.E.L. DA. Espécies frutíferas da região do cerrado. In: DONADIO, L.C. (Coord.) **Fruticultura tropical**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 268p.

SANTOS, E. S.; OLIVEIRA, C. D. M.; MENEZES, I. R. A.; NASCIMENTO, M. P.; CORREIA, D. B.; ALENCAR, C. D. C.; SOUSA, M. F.; LIMA, C. N. F.; MONTEIRO, A. B.; SOUZA, C. P. E.; DELMONDES, G. A.; BEZERRA, D. S.; GARCIA, F. A. O.; BOLIGON, A. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; FELIPE, C. F. B.; KERNTOPF, M. R. Anti-inflammatory activity of herb products from *Licania rigida* Benth. **Revista: Complementary Therapies in Medicine**, Crato, CE, Brazil, Jun 2019.

SERAFINI, M.; PELUSO, I.; RAGUZZINI, A. Antioxidants and immune system Flavonoids as anti-inflammatory agents. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 69, p. 273-278, 2010.

SILVA, S. M. M. Avaliação da atividade antimicrobiana de espécies vegetais do bioma Cerrado. **Universidade de Brasília**, Brasília, DF, 2014.

SILVA, S. M. M.; COSTA, C. R. R.; GELFUSO, G. M.; GUERRA, E. N. S.; NÓBREGA, Y. K. M.; GOMES, S. M.; TAYLOR, A. P.; BAZZO, Y. M. F.; SILVEIRA, D.; MAGALHÃES, P. O. Wound Healing Effect of Essential Oil Extracted from *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) Leaves. **Molecules – Open Access Journal**, 2018.

SOBEHA, J. M.; EL-RAEYB, M.; REZQC, S.; ABDELFATTAHD, M. A. O.; PETRUCHE, G.; OSMANF, S.; EL-SHAZLYG, A. M.; EL-BESHBISHYH, H. A.; MAHMOUDC, M. F.; WINKA, M. Chemical profiling of secondary metabolites of *Eugenia uniflora* and their antioxidant, anti-inflammatory, pain killing and anti-diabetic activities: A comprehensive approach. **Revista: Journal of Ethnopharmacology**, Mai 2019.

SOUZA, P. M.; SALES, P. M.; SIMEONI, L. A.; SILVA, E. C.; SILEVIRA, D.; MAGALHÃES, P. O. Inhibitory activity of α -amylase and α -glucosidase by plant extracts from the Brazilian Cerrado. **Planta Med**, 2012.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. Cap. 21.

TELLES, M. P. C.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; VALVA, F. D. Genetic diversity and population structure of *Eugenia dysenterica* DC (“cagaiteira” – Myrtaceae) in Central Brasil: spatial analysis and implications for conservation and management. **Conservation Genetics**, v. 4, p. 685-695, 2003.

THOMAZ, D. V.; PEIXOTO, L. F.; OLIVEIRA, T. S.; FAJEMIROYE, J. O.; NERI, H. F. S.; XAVIER, C. H.; COSTA, E. A.; SANTOS, F. C. A.; GIL, E. S.; GHEDINI, P. C. Antioxidant and Neuroprotective Properties of *Eugenia dysenterica* Leaves. **Hindawi – Open Access Journal – Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2018.

ZORZIN, F. M.; Avaliação da atividade de inibição de alfa-amilase e padronização do extrato aquoso da folha de *Eugenia dysenterica*. **Brasília**, DF, 2014.