

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**MIRELI MALTA SILVA**

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DA  
GUABIROBA (*Campomanesia xanthocarpa*)**

**UBERLÂNDIA - MG**

**2020**

**MIRELI MALTA SILVA**

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DA  
GUABIROBA (*Campomanesia xanthocarpa*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, Curso de Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II (TCC 2, GMV054).

Orientador: Profa. Dra. Celene Maria de Oliveira Simões Alves

**UBERLÂNDIA - MG**

**2020**

**MIRELI MALTA SILVA**

**ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DA  
GUABIROBA (*Campomanesia xanthocarpa*)**

**Trabalho de Conclusão de Curso aprovado  
para a obtenção do título de Bacharel em  
Medicina Veterinária pela Universidade  
Federal de Uberlândia (MG) pela banca  
examinadora formada por:**

**Uberlândia, 21 de dezembro de 2020**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Celene Maria de Oliveira Simões Alves, UFU/MG**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elisângela Rosa da Silva, UFU/MG**

---

**Prof. Dr. Tarciso Tadeu Miguel, UFU/MG**

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, Élia Garcia e Paulo César, verdadeiros exemplos de dedicação, resiliência, amor e fé que sempre me incentivaram e estiveram presentes em cada etapa da minha vida.

Ao meu irmão mais velho, Breno Malta, verdadeiro líder que sempre esteve ao meu lado e me ensinou desde os pequenos detalhes às grandes coisas da vida.

Ao meu noivo, João Paulo Alves, verdadeiro futuro que sempre me motivou a ir além da minha capacidade e a buscar meus sonhos.

Aos meus avós, Maria Bernadete, Moysés, Maria José e Paulo, verdadeiros sábios que sempre me inspiraram coragem, força, esperança e fé.

Aos meus tios, Fernanda, Eva, Eveli e Tiago, verdadeiros amigos que me motivaram a continuar sempre.

À minha orientadora, Celene Maria, verdadeira mestra que me ajudou com suas precisas e incisivas pontuações.

À equipe do REBIR – Rede de Biotério de Roedores, que com um trabalho sério e comprometido me permitiram realizar os experimentos e a desenvolver esse estudo.

À Pró-Reitoria de Pesquisa de Pós-Graduação (PROPP) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) pelo incentivo e apoio à pesquisa.

A todos os meus amigos, que sempre estiveram rezando e torcendo por mim.

A todas as pessoas que direta e indiretamente colaboraram com o sucesso deste trabalho.

À Deus, Nossa Senhora e São Francisco, que sempre me acompanharam, me deram forças e colocaram pessoas especiais em meu caminho.

## RESUMO

A *Campomanesia xanthocarpa* é uma espécie vegetal típica do cerrado brasileiro, com várias denominações populares, dentre elas gabioba. Análises fitoquímicas de derivados vegetais da referida espécie, têm demonstrado a presença de metabólitos secundários farmacologicamente importantes, tais como os flavonoides e taninos, aos quais têm sido atribuídas ações analgésicas e anti-inflamatórias. Contudo, até o presente momento, ainda não foi investigado o potencial anti-inflamatório do extrato aquoso das folhas da *C. xanthocarpa*. Considerando que, em geral, o uso popular de espécies vegetais para fins terapêuticos baseia-se na utilização de preparações aquosas das folhas, raízes, cascas, sementes ou frutos, torna-se relevante investigar o potencial farmacológico dessas preparações a fim de validar cientificamente o seu uso. Nesse sentido, este estudo objetivou, de modo geral, avaliar possível efeito anti-inflamatório do extrato aquoso liofilizado das folhas da *C. xanthocarpa* (EACX), por meio dos seguintes objetivos específicos (i) padronizar a indução da inflamação peritoneal com carragenina (CGN); (ii) avaliar o efeito anti-inflamatório em modelo experimental *in vivo* de peritonite induzida com CGN em camundongos da linhagem BALB/c. Os animais utilizados neste estudo foram divididos em quatro grupos e tratados por via oral com o veículo carboximetilcelulose (CBX; G1) ou com diferentes concentrações do EACX (100, 550 e 1.000 mg/kg; G2, G3 e G4, respectivamente). Após 60 minutos, os animais receberam injeção intraperitoneal de CGN 1% para indução da inflamação peritoneal. Quatro horas após a injeção de CGN, os animais foram anestesiados e mortos por deslocamento cervical. Em seguida, foi feita uma incisão no abdômen e 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 quando comparamos o número de leucócitos totais entre os grupos G1 (CBX 0,5 %) e aqueles tratados com as diferentes concentrações do EACX (G2, G3 e G4), a migração leucocitária foi significativamente reduzida nos animais tratados com o EACX na dose 550 mg/kg ( $p=0,0163$ ). Nas concentrações 100 e 1000 mg/Kg houve apenas tendência a uma redução no infiltrado de leucócitos. Além disto, a contagem diferencial de leucócitos revelou redução significativa no influxo de neutrófilos no grupo G3 (550 mg/Kg) comparado ao grupo controle (G1). Em conjunto, estes resultados indicam que o EACX apresenta efeito anti-inflamatório, o qual pode estar associado aos compostos bioativos, dentre eles os flavonoides, encontrados nas folhas da *C. xanthocarpa*.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Campomanesia xanthocarpa*; anti-inflamatório; inflamação peritoneal; carragenina.

## ABSTRACT

*Campomanesia xanthocarpa* is a plant species typical of the Brazilian cerrado, with several popular names, among them gabioba. Phytochemical analyzes of plant derivatives of that species, have shown the presence of pharmacologically important secondary metabolites, such as flavonoids and tannins, which analgesic and anti-inflammatory actions have been attributed. However, until now, the anti-inflammatory potential of the aqueous extract of the leaves of *C. xanthocarpa* has not been investigated. Considering that, in general, the popular use of plant species for therapeutic purposes is based on the use of aqueous preparations of leaves, roots, peels, seeds or fruits, it is relevant to investigate the pharmacological potential of these preparations in order to scientifically validate its use. In this sense, this study aimed, in general, to evaluate the possible anti-inflammatory effect of the lyophilized aqueous extract of the leaves of *C. xanthocarpa* (EACX), by means of the following specific objectives (i) to standardize the induction of peritoneal inflammation with carrageenan (CGN); (ii) to evaluate the anti-inflammatory effect in an in vivo experimental model of CGN-induced peritonitis in mice of the BALB / c strain. The animals used in this study were divided into four groups and treated orally with the carboxymethylcellulose vehicle (CBX; G1) or with different concentrations of EACX (100, 550 and 1,000 mg / kg; G2, G3 e G4, respectively). After 60 minutes, the animals received intraperitoneal injection of 1% CGN to induce peritoneal inflammation. Four hours after the CGN injection, the animals were anesthetized and killed by cervical dislocation. Then, an incision was made in the abdomen and 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 when comparing the number of total leukocytes between groups G1 (CBX 0.5%) and those treated with different concentrations of EACX (G2, G3 and G4), leukocyte migration was significantly reduced in animals treated with the EACX at a dose of 550 mg / kg ( $p = 0.0163$ ). At concentrations 100 and 1000 mg / kg, there was only a tendency for a reduction in the leukocyte infiltrate. In addition, the differential leukocyte count revealed a significant reduction in the influx of neutrophils in the G3 group (550 mg / kg) compared to the control group (G1). Together, these results indicate that EACX has an anti-inflammatory effect, which may be associated with bioactive compounds, among them flavonoids, found in the leaves of *C. xanthocarpa*.

**KEY-WORDS:** *Campomanesia xanthocarpa*; anti-inflammatory; peritoneal inflammation; carrageenan.

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema da via do ácido araquidônico na resposta inflamatória	10
<b>Figura 2.</b> Folhas da espécie <i>Campomanesia xanthocarpa</i> .....	21
<b>Figura 3.</b> Fluxograma para avaliação da atividade anti-inflamatória da <i>Campomanesia xanthocarpa</i> .....	25
<b>Figura 4.</b> Padronização do tempo para indução da inflamação peritoneal por carragenina (CGN) .....	26
<b>Figura 5.</b> Efeito do extrato aquoso liofilizado das folhas da <i>C. xanthocarpa</i> na migração leucocitária em modelo <i>in vivo</i> de peritonite induzida por carragenina .....	27
<b>Figura 6.</b> Efeito anti-inflamatório do extrato aquoso das folhas da <i>C. xanthocarpa</i> (EACX) sobre a contagem diferencial de leucócitos em modelo <i>in vivo</i> de peritonite induzida por carragenina .....	28

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Compostos bioativos identificados na espécie <i>Campomanesia xanthocarpa</i> .....	16
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ADP** – Difosfato de adenosina

**AINEs** – Anti-inflamatórios não esteroidais

**AMPc** – Monofosfato de adenosina cíclico

**ANOVA** – *Analysis of variance*

**AVC** – Acidente vascular cerebral

**CBX** - Carboximetilcelulose

**CEUA** – Comissão de Ética na Utilização de Animais

**CGN** – Carragenina

**COX** - Ciclooxigenase

**COX-1** – Ciclooxigenase-1

**COX-2** – Ciclooxigenase-2

**COX-3** – Ciclooxigenase-3

**EACX** – Extrato aquoso liofilizado das folhas da *Campomanesia xanthocarpa*

**ERNS** – Espécies reativas de nitrogênio

**EROS** – Espécies reativas de oxigênio

**ICAM-1** – Moléculas de adesão intercelular-1

**IL-1** – Interleucina-1

**IL-1 $\beta$**  – Interleucina-1 $\beta$

**IL-6** – Interleucina-6

**IL-8** – Interleucina-8

**IL-10** – Interleucina-10

**INF- $\alpha$**  – Interferon alfa

**INF- $\gamma$**  – Interferon gama

**i.p.** – intraperitoneal

**LOX** – Lipoxigenase

**LOX-5** – Lipoxigenase-5

**LPS** – Lipopolissacarídeo

**LTs** – Leucotrienos

**LTB4** – Leucotrieno B4

**MAPKs** – Proteínas quinases ativadas por mitógenos

**MDA** – Composto malondialdeído

**MPO** – Enzima mieloperoxidase

**MTT** – Tetrazólio de Metiltiazol

**NETs** – Armadilhas extracelulares neutrofílicas

**NF-κB** – Fator nuclear kappa B

**NO** – Óxido nítrico

**PBS** – Tampão fosfato de sódio (*Phosphate Buffered Saline*)

**PGE2** – Prostaglandina E2

**PGI2** – Prostaciclina

**REBIR** – Rede de Biotérios de Roedores

**S.E.M.** – Erro padrão da média

**TG** - Tioglicolato

**TNF** – Fator de necrose tumoral

**TNF-α** – Fator de necrose tumoral alfa

**TXA2** - Tromboxanos A2

**V.O.** – via oral

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	5
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	7
2.1	Inflamação e dor .....	7
2.2	Drogas anti-inflamatórias .....	12
2.3	Cerrado brasileiro como fonte de espécies com compostos bioativos .....	14
2.4	Atividades biológicas da <i>Campomanesia xanthocarpa</i> .....	17
3	JUSTIFICATIVA .....	19
4	HIPÓTESES .....	20
5	OBJETIVOS .....	20
5.1	Objetivo Geral .....	20
5.2	Objetivos Específicos .....	20
6	MATERIAL E MÉTODOS .....	20
6.1	Local de execução .....	20
6.2	Material vegetal e obtenção do extrato aquoso da <i>Campomanesia xanthocarpa</i> .....	21
6.3	Animais .....	22
6.4	Avaliação dos efeitos farmacológicos anti-inflamatórios .....	22
6.4.1	Inflamação peritoneal induzida por carragenina .....	22
6.4.2	Obtenção do exsudato peritoneal após inflamação por carragenina .....	23
6.4.3	Análise da inflamação peritoneal induzida por carragenina em animais tratados com o extrato aquoso das folhas da <i>C. xanthocarpa</i> .....	24
6.5	Protocolos de eutanásia .....	24
6.6	Análises Estatísticas .....	24
7	RESULTADOS .....	26
7.1	Padronização do modelo de peritonite induzida por carragenina em camundongos BALB/c para avaliação da atividade anti-inflamatória .....	26
7.2	<i>Campomanesia xanthocarpa</i> possui ação anti-inflamatória .....	27
8	DISCUSSÃO .....	29
9	CONCLUSÃO .....	33
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	34

## 1 INTRODUÇÃO

Sabe-se que o Brasil é um país que possui uma imensa biodiversidade e que ao longo do tempo novas espécies de animais e vegetais são descobertas. Na flora brasileira, são encontradas muitas plantas medicinais, ou seja, plantas de uso tradicional como remédio em uma população ou comunidade. O estudo das plantas medicinais e de seus constituintes, tais como os metabólitos secundários, auxilia na identificação de novos compostos bioativos com potencial aplicação terapêutica na medicina humana e veterinária. Além disto, substâncias farmacologicamente ativas identificadas em plantas medicinais também constituem matérias-primas para a produção de medicamentos ou modelos para a elaboração de compostos farmacologicamente ativos sintéticos (DUTRA et al., 2016; ANVISA, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

No Brasil, 60 mil espécies de plantas já foram cadastradas, contudo, apenas 4.800 espécies foram analisadas fitoquimicamente e 1.100 qualificadas quanto às suas atividades terapêuticas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Esses dados mostram que ainda existe um grande campo de investigação na pesquisa de compostos bioativos derivados de espécies vegetais intrínsecas à cultura brasileira com potencial uso terapêutico na medicina humana e veterinária.

O bioma Cerrado compreende grande diversidade de rochas, formas de relevo, altitudes, solos e clima tipicamente sazonal quanto à pluviosidade (ADÁMOLI et al., 1986; NIMER; BRANDÃO, 1989; IBGE, 2004a), características estas que tornam a vegetação deste bioma uma das mais diversificadas do Brasil, incluindo espécies de valor medicinal (PEREIRA et al., 2011). Contudo, a flora do bioma Cerrado ainda é pouco conhecida (MENDONÇA et al., 1998). *Campomanesia xanthocarpa* Berg conhecida popularmente como gabioba, é uma espécie nativa do Cerrado brasileiro pertencente à família Myrtaceae (SANTOS et al., 2009), rotineiramente cultivada desde os pequenos pomares domésticos até as indústrias alimentícias (KLAFKE et al., 2009).

Em geral as espécies vegetais do gênero *Campomanesia* são usadas popularmente no tratamento de inflamações e afecções urinárias. No Brasil, de modo geral, comunidades utilizam a *Campomanesia xanthocarpa* para tratar: febre, hipercolesterolemia, diabetes, obesidade e problemas urinários (SILVA et al., 2016).

Além dos usos populares de forma empírica, estudos da literatura têm confirmado por meio de evidências científicas várias propriedades terapêuticas do gênero *Campomanesia*. Dentre elas, as atividades anti-inflamatória, anti-hiperalgésica e antidepressiva da espécie *C.*

*adamantium*; bem como a atividade anti-inflamatória da espécie *C. velutina* (SILVA et al., 2016). E por último, mas não menos importante, as atividades antimicrobiana (SANTOS et al., 2009; SOUZA-MOREIRA et al., 2011; DUARTE et al., 2020 ), antidiarreica (SOUZA-MOREIRA et al., 2011), cardioprotetora (SANT'ANNA, 2012), hipotensiva (DUARTE et al., 2020), antiplaquetária, antitrombótica, fibrinolítica (KLAFKE et al., 2011; DUARTE et al., 2020), antiulcerogênica (SANTOS et al 2013; DUARTE et al., 2020), antioxidante (KLAFKE et al., 2009; PEREIRA et al., 2012; DUARTE et al., 2020), antiproliferativa, genotóxica (PASTORI et al., 2013), hipolipemiante (FERNANDES e VARGAS, 2003), antidiabética (SOUSA et al., 2017; DUARTE et al., 2020), antiobesidade (FERNANDES e VARGAS, 2003), anti-inflamatória (KLAFKE et al., 2011; DUARTE et al., 2020) e analgésica (SOUSA et al., 2017) da espécie *C. xanthocarpa*.

Estas ações foram atribuídas à presença de substâncias como compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas, alcaloides, taninos, saponinas e terpenoides em derivados vegetais da *C. xanthocarpa* (PASTORI et al., 2013; DUARTE et al., 2020). Os flavonoides e os terpenoides são metabólitos secundários produzidos pelas plantas que atuam como antioxidantes ao eliminarem radicais livres e íons metálicos quelantes e por isso conferem proteção contra afecções degenerativas e infecções bacterianas ou virais (KUMAR e PANDEY, 2013; KIM et al., 2020). Além disso, ambos atuam como anti-inflamatórios e analgésicos. Os flavonoides (tais como ácido elágico e quercetina) inibem a ação das enzimas ciclooxigenase, fosfolipase A2 e lipoxigenase, dentre outras, na produção de prostanóides, leucotrienos, citocinas, quimiocinas, óxido nítrico e moléculas de adesão (KUMAR e PANDEY, 2013; FARZAEI et al., 2019); e podem impedir a liberação de histamina, fosfodiesterases, proteínas quinases e a ativação da transcriptase (FARZAEI et al., 2019). Os terpenoides inibem os fatores responsáveis pela sinalização, transcrição ou produção de mediadores inflamatórios como o óxido nítrico, interleucinas, prostaglandina 2 e os fatores de necrose tumoral alfa (KIM et al., 2020).

Diante do exposto acima e considerando que há poucos estudos na literatura que tenham utilizado o extrato aquoso das folhas da *C. xanthocarpa* para investigar as suas propriedades farmacológicas, incluindo ações anti-inflamatórias e analgésicas, o objetivo geral deste trabalho é investigar possível efeito anti-inflamatório do extrato aquoso liofilizado das folhas da espécie vegetal *C. xanthocarpa* em modelo experimental *in vivo* de inflamação peritoneal.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Inflamação e dor

Foi durante a era cristã que Celsus (30 a.C.- 36 d.C.) ao explorar os aspectos da inflamação estabeleceu quatro dos cinco sinais cardeais existentes hoje, sendo o calor, o rubor, o tumor e a dor. Posteriormente, já no século XIX, identificaram como o último sinal a perda da função tecidual (BECHARA; SZABÓ, 2006).

A inflamação é um processo fisiológico adaptativo que o tecido desenvolve frente lesões ou infecções (SCOGNAMILLO-SZABÓ; BECHARA, 2001; PEREZ et al., 2014). Nesse sentido, pode ser vista como uma reação imunológica defensiva orquestrada pelo próprio organismo vivo que estimula a regeneração e a cicatrização tecidual, bem como a sua própria resolução (BECHARA; SZABÓ, 2006; PEREZ et al., 2014).

A resposta inflamatória pode ser classificada, quanto à sua evolução, em aguda ou crônica; quanto ao tipo de exsudato inflamatório, este pode ser seroso, mucoso, fibrinoso, hemorrágico, purulento ou misto. Ainda que possa ocorrer localmente, suas consequências podem estender-se sistemicamente e evocar sinais como taquicardia, febre, fibrinólise, leucocitose e mudanças na composição sanguínea (BECHARA; SZABÓ, 2006).

A inflamação aguda é normalmente autolimitante e apresenta curta duração, exsudação de fluídos e proteínas séricas e também migração de leucócitos, principalmente os neutrófilos que são células ágeis capazes de migrar rapidamente para o foco da lesão. É caracteristicamente uniforme, com o envolvimento de mediadores químicos. Já a inflamação crônica é de duração longa e menos constante, com proliferação de vasos e tecido conjuntivo e presença de linfócitos e macrófagos. Esta pode ser resultante de uma inflamação aguda não resolvida e a razão do desenvolvimento de cânceres e de doenças neurodegenerativas e autoimunes (BECHARA; SZABÓ, 2006; PEREZ et al., 2014; SUGIMOTO et al., 2016; LAVOR et al., 2018).

No início, em função da exposição aos fatores químicos, como a adrenalina, tem-se a rápida contração da musculatura lisa vascular. E mais tarde, devido ao reflexo axônico antidrômico ocorre a vasodilatação arteriolar que ao aumentar o fluxo sanguíneo permite o aparecimento dos sinais, rubor e calor. Assim, o rápido aumento do volume de sangue presente nos vasos faz com que a pressão hidrostática local se eleve e expulse o transudato para o espaço extravascular. Além disso, a vasodilatação venular aumenta a permeabilidade vascular, possibilitando o extravasamento do exsudato para o espaço extravascular. Nesse sentido, o

sangue se torna mais viscoso e os vasos de menor calibre agrupam os eritrócitos (BECHARA; SZABÓ, 2006; SUGIMOTO et al., 2016).

À medida que esse processo de estase se estabelece, evidencia-se uma marginação leucocitária. Na qual os leucócitos se fixam ao longo da parede do endotélio vascular, inicialmente, de maneira fugaz e, posteriormente, com maior intensidade. Logo após, em direção ao espaço extravascular através das junções do tipo “gap”, estes leucócitos se deslocam ativamente e as hemácias, passivamente (BECHARA; SZABÓ, 2006; SUGIMOTO et al., 2016).

Após a exsudação, os vasos linfáticos próximos à área inflamada se dilatam e proporcionam a drenagem do fluido e das células presentes no espaço extravascular. É por meio também das junções “gaps” existentes nos vasos linfáticos que o seu conteúdo aumenta tanto em volume quanto em quantidade de proteínas. Nesse sentido, o edema local surge quando a capacidade de drenagem dos vasos linfáticos é menor do que o extravasamento do exsudato dos pequenos vasos sanguíneos (BECHARA; SZABÓ, 2006; SUGIMOTO et al., 2016).

Os mediadores histamina e serotonina são armazenados nos grânulos citoplasmáticos dos mastócitos, basófilos e plaquetas e estão associados ao aumento do fluxo sanguíneo e à vasodilatação capilar. As proteínas C3a e C5a do sistema complemento aumentam a permeabilidade vascular em razão da histamina oriunda dos mastócitos e das plaquetas. Além disso, a C5a em neutrófilos e macrófagos estimula a via da lipoxigenase que produz mediadores químicos e estes, por sua vez, aumentam a permeabilidade vascular (BECHARA; SZABÓ, 2006; SUGIMOTO et al., 2016; PEREZ et al., 2014).

As cininas plasmáticas são geradas na cascata de coagulação sanguínea por meio da ativação do fator XII e levam à formação de bradicinina mediador que estimula a vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular (BECHARA; SZABÓ, 2006; PEREZ et al., 2014).

Os metabólitos do ácido araquidônico são produzidos pela via da cicloxigenase, como a prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e a prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) que promovem a vasodilatação e o tromboxano A<sub>2</sub> que medeia vasoconstrição; por meio da via da lipoxigenase são gerados endoperóxidos e os leucotrienos C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub> e E<sub>4</sub> que causam vasoconstrição e aumento da permeabilidade vascular, e também os leucotrienos B<sub>4</sub> e HHt que também aumentam a permeabilidade vascular (BECHARA; SZABÓ, 2006; PEREZ et al., 2014) (**Figura 1**).

Quando os leucócitos, principalmente neutrófilos e monócitos, são recrutados aumenta-se a captação de oxigênio e, por consequência, ocorre uma maior liberação e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS) e de espécies reativas de nitrogênio (ERNS) no local da lesão. EROS e ERNS aumentam a permeabilidade vascular (BECHARA; SZABÓ, 2006;

PEREZ et al., 2014) e, em condições fisiológicas, são fundamentais para a eliminação e neutralização de patógenos, contudo, quando em maior quantidade que os mecanismos antioxidantes (como superóxido dismutase, glutathiona peroxidase e catalase) resultam em estresse oxidativo que podem danificar o DNA e os componentes celulares (LAVOR et al., 2018) (**Figura 1**).

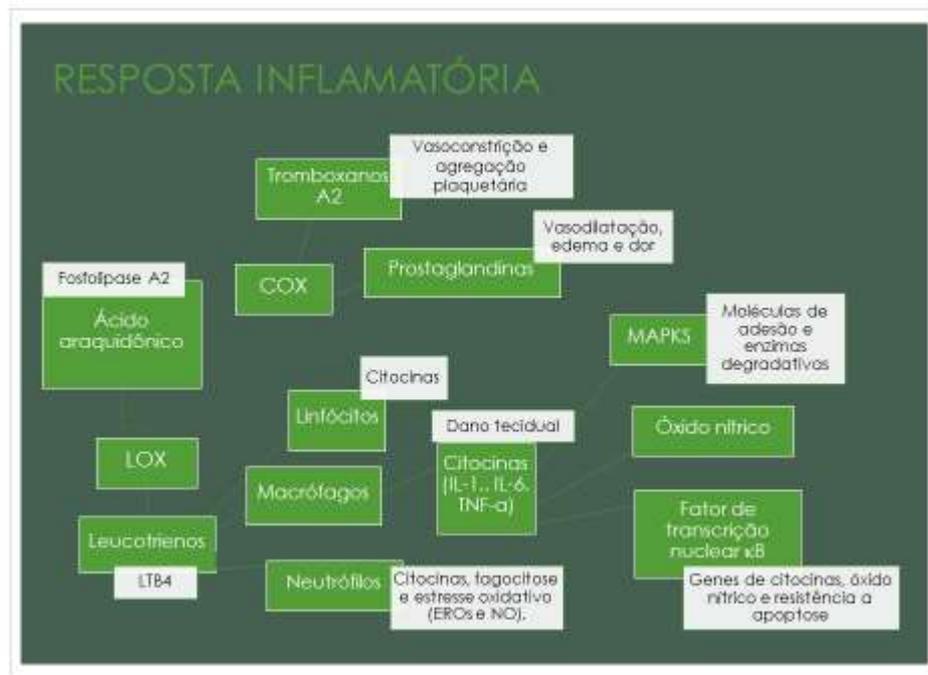
O fator ativador de plaquetas em pequenas concentrações provoca a vasoconstrição, contudo, ao estimular a síntese de prostaglandinas e leucotrienos evoca a vasodilatação, bem como a elevação da permeabilidade vascular. Citocinas, como a interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF), ativam a síntese de PGI<sub>2</sub> por meio de células endoteliais (BECHARA; SZABÓ, 2006; PEREZ et al., 2014).

Os hormônios circulantes também são responsáveis pelas respostas microcirculatórias e modificam o processo inflamatório. Sendo assim, a insulina por um curto período funciona a favor da inflamação ao aumentar a permeabilidade vascular. Cortisol leva a vasoconstrição, e, o glucagon modifica os níveis sanguíneos de corticosteroides, que atuam como substâncias anti-inflamatórias (BECHARA; SZABÓ, 2006; PEREZ et al., 2014).

Quando se elimina o estímulo injuriante, os macrófagos que não morrem retornam ao sistema linfático finalizando a resposta inflamatória aguda. Porém, quando nos referimos às toxinas, aos microrganismos resistentes ou às respostas imunes como estímulos causadores da inflamação, esta persiste. Os macrófagos continuam ativados e o padrão tecidual é alterado. Ou seja, as células de defesa produzem fatores de crescimento e de proliferação e é por meio da regeneração celular que há a substituição do tecido inflamado em tecido de granulação ou em tecido fibroso, com neovascularização e biossíntese de matriz extracelular (ARAÚJO et al., 2013; PEREZ et al., 2014; SUGIMOTO et al., 2016).

Nesse sentido, embora os neutrófilos e macrófagos sejam importantes para a resolução da inflamação, o seu recrutamento exacerbado é deletério aos tecidos do hospedeiro. Portanto, o mecanismo de contra regulação das quimiocinas e citocinas, a inibição das vias de sinalização relacionadas à sobrevivência dos leucócitos, a indução do apoptose e da remoção de leucócitos e o retorno de células não apoptóticas ao sistema linfático são fatores cruciais para a normalização da homeostase tecidual e para o direcionamento de terapêuticas anti-inflamatórias objetivando a redução de inflamações não resolvidas e crônicas (PEREZ et al., 2014; SUGIMOTO et al., 2016; LAVOR et al., 2018) (**Figura 1**).

**Figura 1.** Esquema da via do ácido araquidônico na resposta inflamatória.



Fonte: o autor (2020).

Em geral, a dor acompanha reações inflamatórias e constitui um sinal crucial para a manutenção do bem-estar do indivíduo, cada organismo apresenta um limiar de dor e a demonstra diferentemente. O sistema sensitivo do organismo possui, dentre outros, um conjunto de receptores nociceptivos (nociceptores), os quais após receberem estímulos os conduzem à medula espinha e ao encéfalo. Estes estímulos são denominados de informação sensorial e podem ou não alcançar a consciência. A informação sensorial que chega à consciência é caracterizada de sensação e a compreensão desta é denominada de percepção. Esta, por sua vez, é influenciada pelas emoções, pela personalidade, experiência, adaptação e pelo conhecimento que circunda o indivíduo (JANEIRO, 2017). Neste sentido, de acordo com a IASP (Associação Internacional para o Estudo da Dor), atualmente, define-se como dor, uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a, ou semelhante àquela associada a, dano real ou potencial ao tecido, enquanto que a definição de nocicepção está relacionada somente ao reconhecimento de sinais dolorosos reais ou potenciais pelo sistema nervoso, que geram informações relacionadas à lesão por meio da ativação de nociceptores (TROUVIN e PERROT, 2019; RAJA, 2020). Devido ao componente emocional presente nesse conceito de dor, este termo é mais apropriado a seres humanos do que aos animais; nestes, o termo mais bem aplicado é nocicepção, haja vista a dificuldade de identificarmos nos animais a manifestação da sensação dolorosa.

Existem várias formas para classificação dos diferentes tipos de dor. A dor aguda é também chamada de dor rápida em função da sua curta duração e da imediata delimitação e definição do estímulo que a originou. É de fundamental importância na proteção do organismo de modo especial em lesões, cirurgias ou doenças agudas. Por outro lado, quando não contida pode desenvolver-se para um fenômeno doloroso persistente e crônico. A dor crônica ou lenta apresenta uma duração longa e contínua, mesmo nos casos em que já não há mais lesões. É de laboriosa associação causal e temporal e abrange as diversas áreas da saúde. Diante disso, está relacionada ao dano tecidual e à perda do bem-estar, ao isolamento social e às repercussões psicológicas (JANEIRO, 2017). Portanto, diferentemente da dor aguda, a dor crônica não apresenta vantagens ao organismo.

A dor nociceptiva é aquela que se desenvolve a partir dos nociceptores, que apresentam sensibilidade à vibração, à distensão, à temperatura e aos compostos liberados pelas células e divide-se em dor visceral e em dor somática. A dor visceral é caracterizada pela sua profundidade, pela maneira como é expressa e pelos sinais que a acompanham como suores, náuseas, febre, aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca e desconfortos gástricos e intestinais. Origina nos órgãos internos a partir de inflamações, infecções, neoplasias, isquemia dentre outros. A dor somática origina-se no sistema tegumentar, nos ossos, nos músculos e nas articulações. Esta dor é dividida em superficial e profunda. A primeira é aguda, imediata e se associa a feridas e queimaduras cutâneas ou mucosas. Já a segunda, é silenciosa e se associa a fraturas ósseas e rupturas de tendões, de ligamentos e de vasos sanguíneos (JANEIRO, 2017).

Inflamação e dor estão intimamente associados. Durante uma reação inflamatória são produzidos mediadores inflamatórios, tais como bradicinina, PGE<sub>2</sub>, H<sup>+</sup>, ATP, citocinas e quimiocinas, dentre elas TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CCL2, os quais evocam a dor por meio da ativação direta dos nociceptores. Esta ativação, por sua vez, está associada a uma vasta variedade de receptores e canais iônicos, dentre eles, receptores acoplados a proteínas G, receptores ionotrópicos, receptores tirosina quinases e canais de sódio. Além disso, células imunes e nociceptores comunicam-se por meio de mediadores inflamatórios, incluindo citocinas e quimiocinas. Estas comunicações neuroimunes permitem a regulação do nociceptor, quanto da resposta imune ao estímulo nocivo (MATSUDA et al., 2019).

Assim, diante do exposto no contexto da inflamação e dor, destaca-se a importância de organismo animal ser capaz de abarcar, por meio de mecanismos endógenos, o processo inflamatório, uma vez que sua evolução está associada a doenças crônicas importantes. Quando, porém, essa resolução fisiológica não acontece, faz-se necessário uma intervenção farmacológica. Neste sentido, atualmente, existem disponíveis várias drogas anti-inflamatórias

e analgésicas. Cabe ressaltar que muitas substâncias anti-inflamatórias são capazes de diminuir a produção ou bloquear a ação de mediadores analgésicos, tais como prostaglandinas, histamina, serotonina e bradicinina; portanto, não é incomum possuírem ambas as atividades farmacológicas, anti-inflamatória e analgésica.

## **2.2 Drogas anti-inflamatórias**

O uso de substâncias químicas para melhorar a dor e a inflamação é uma das necessidades mais antigas da humanidade (MOSQUINI et al., 2011). Atualmente, existem várias classes de anti-inflamatórios disponíveis, incluindo anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), glicocorticóides e imunomoduladores (GONZÁLEZ et al., 2015).

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são drogas frequentemente utilizadas em medicina humana e veterinária com o intuito de minimizar as respostas inflamatórias indesejáveis. Dessa forma, são eficazes no controle do edema, febre e dor e são indicados para o tratamento de condições crônicas, como a artrite dentre outras doenças. Sabe-se que o seu efeito terapêutico está relacionado principalmente à inibição da enzima ciclooxigenase (COX), inibindo a síntese de tromboxanos (TXA<sub>2</sub>) e prostaglandinas inflamatórias (PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub> e PGF<sub>2</sub>α), o que contribui para sua ação anti-inflamatória, antipirética e analgésica e, também, para a ocorrência de efeitos adversos (MOSQUINI et al., 2011; LIMA; ALVIN, 2018; FREITAS et al., 2019). Aspirina, ibuprofeno e naproxeno são exemplos de AINEs que se diferenciam significativamente na estrutura, mas compartilham do mesmo mecanismo de ação (GONZÁLEZ et al., 2015).

Existem três isoformas de COX: COX-1, COX-2 e COX-3. A COX-1 é uma enzima constitutivamente expressa em diversos tecidos e mais proeminentemente encontradas em plaquetas, células endoteliais e gastrointestinais; sendo, portanto, relacionada a diversos efeitos fisiológicos. Já a COX-2 é uma enzima específica, induzida e sintetizada pelos macrófagos e células inflamatórias por meio do estímulo de citocinas e fatores de crescimento (MOSQUINI et al., 2011; GONZÁLEZ et al., 2015; FREITAS et al., 2019). A COX-3, descoberta mais recentemente, aparenta predominar as respostas do sistema nervoso central e pode ser identificada também no sistema cardiovascular. Essa enzima é seletivamente inibida por drogas analgésicas e antipiréticas, como paracetamol e dipirona, e é potencialmente inibida por alguns AINEs (MOSQUINI et al., 2011; FREITAS et al., 2019).

De maneira geral, os AINEs apresentam como efeitos adversos: náuseas, dispepsias, dores abdominais, úlceras gástricas, hemorragias gastrointestinais, reações cutâneas eritematosas leves, insuficiência renal aguda, hipertensão arterial, acidentes vasculares

cerebrais (AVC), infarto do miocárdio, distúrbios hepáticos, broncoespasmos e nefropatia quando associados a analgésicos durante um tempo prolongado e em doses elevadas (LIMA; ALVIN, 2018).

Muitos desses efeitos adversos ocorrem como consequência da redução das prostaglandinas que possuem importante papel fisiológico no endotélio, rins e estômago, em virtude da inibição de COX-1. As prostaglandinas atuam na modulação de células imunológicas (como as células dendríticas, os macrófagos, os linfócitos T e B), na manutenção de fluxo sanguíneo e produção de urina nos rins, na formação óssea, na motilidade do trato gastrointestinal, na inibição da secreção de ácido gástrico e na proteção da mucosa estomacal por meio do estímulo à produção de muco (MOSQUINI et al., 2011; GONZÁLEZ et al., 2015).

Assim, as drogas capazes de inibir seletivamente a COX-2, que são coletivamente denominadas coxibes, apresentam menor toxicidade gastrointestinal que os não seletivos. Contudo, estão associadas ao maior risco de desencadear eventos cardiovasculares (GONZÁLEZ et al., 2015; LIMA; ALVIN, 2018).

Além disso, foi demonstrado que vários AINEs como a aspirina, salicilatos, sulindac e sulfassalazina também inibem a ativação de NF- $\kappa$ B (uma proteína que modula os genes de apoptose, as moléculas de adesão celular, as respostas ao estresse e, sobretudo, a transcrição de genes inflamatórios induzidos por uma variedade de estímulos intracelulares e extracelulares) de maneira independente ao bloqueio da COX (GONZÁLEZ et al., 2015).

Os anti-inflamatórios esteroidais ou glicocorticoides são drogas de diversas estruturas apesar de desenvolverem um mecanismo de ação e ação terapêutica igual. E por atuarem no organismo todo evidenciam, porém, muitos efeitos adversos (FREITAS et al., 2019). São indicados para o tratamento de doenças inflamatórias e imunológicas, pois inibem a transcrição de genes pró-inflamatórios (como as moléculas de adesão, citocinas e quimiocinas) ou estimulam a transcrição de genes anti-inflamatórios. Permitem, portanto, a síntese de inibidores da fosfolipase A2, enzima que libera o ácido araquidônico para ser convertido em mediadores lipídicos através das enzimas ciclooxigenase e lipoxigenase. Ou seja, impedem a ação das prostaglandinas e de enzimas na inflamação (LIMA; ALVIN, 2018; FREITAS et al., 2019).

Nesse sentido, a dexametasona, a prednisona e a hidrocortisona são medicamentos eficazes na inibição de reações proliferativas, inflamatórias e cicatriciais. Embora possam também provocar alterações endócrinas, metabólicas e celulares graves, dentre elas, diabetes mellitus tipo 2, osteoporose, sintomas psiquiátricos, ganho de peso, distúrbios de sono, fraqueza muscular, cataratas, lesões de pele e hematomas (GONZÁLEZ et al., 2015; FREITAS et al., 2019).

Além dessas duas classes de drogas anti-inflamatórias, existem outros medicamentos como os anticorpos monoclonais, inibidores de citocinas, antagonistas de receptores específicos e inibidores de quinases. Contudo, esses fármacos apresentam custo elevado e também efeitos deletérios associados ao seu uso contínuo (FREITAS et al., 2019).

Diante do exposto, apesar de haver muitos fármacos disponíveis para o tratamento de processos inflamatórios, ainda existe grande necessidade de se encontrar novos compostos que possam substituir tais drogas por apresentarem eficácia superior ou comparável com menos efeitos adversos. Nesta busca, por novos medicamento anti-inflamatórios, a flora brasileira representa um grande cenário a ser explorado do ponto de vista científico, haja vista a riqueza de substâncias bioativas que podem ser encontradas em diferentes espécies vegetais, as quais, muitas vezes, já têm sido relacionadas aos efeitos terapêuticos de preparações medicamento das utilizadas na medicina popular.

### **2.3 Cerrado brasileiro como fonte de espécies com compostos bioativos**

Um dos continentes que representa a biodiversidade existente no planeta Terra é a América do Sul, com dois grandes biomas, a Amazônia e o Cerrado. O Cerrado é o segundo maior bioma do mundo, com grande heterogeneidade de espécies de plantas e frutos, e pertence, em parte, ao território brasileiro (SOUSA et al., 2017).

Em função do reforço econômico e da facilidade de acesso que os indivíduos do oeste brasileiro encontram no cultivo e na produção dos frutos do Cerrado, é nítida a sua importância no contexto agrário (SOUSA et al., 2017). Entretanto, é justamente pelo seu crescente desenvolvimento nas áreas agrícola, mineração e pecuária que este bioma não apresenta sistemas governamentais de conservação, apesar de ameaçado à extinção. Sabe-se também que a biodiversidade do Cerrado Brasileiro é importante na pesquisa farmacológica de novos compostos bioativos (DUTRA et al., 2016).

Compostos bioativos são substâncias de origem natural (animal ou vegetal) ou sintética com ações metabólicas ou fisiológicas específicas (ANVISA, 2002). E vale ressaltar que, dependendo das condições de cultivo da planta, tais como, estação, solo, disponibilidade de nutrientes e de água, luminosidade, período evolutivo, presença ou não de estímulos físicos, químicos ou biológicos, haverá alterações na composição de compostos bioativos encontrados na espécie vegetal (PASTORI et al., 2013).

Segundo Sousa et al (2017), a família Myrtaceae apresenta 133 gêneros e mais de 400 espécies de plantas. Dentre esses, o gênero *Campomanesia* abrange 30 diferentes espécies e

dentre estas 24 são encontradas no Brasil e são identificadas como frutas cítricas e aromáticas, as quais comparadas às espécies comuns apresentam maior aplicabilidade, devido as suas peculiaridades e aspectos nutritivos (MARINHO et al., 2007). Em 2008, um ranking feito pelo Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF) sobre os maiores produtores de frutas do mundo, coloca o Brasil em terceiro lugar, atrás da China e da Índia com mais de 8% da produção mundial, demonstrando a prosperidade de frutos silvestres que o país apresenta. A família Myrtaceae se sobressai ao produzir frutos, tais como jambo (*Syzygium jambos*), pitanga (*Eugenia uniflora*), uvaia (*Eugenia pyriformis*), araçá (*Psidium cattleianum*), jabuticaba (*Plinia cauliflora*) e cambuí (*Eugenia candolleana*), que assegurariam um mercado de iogurtes, geleias, sucos, doces, licores e barras de cereais (KLAFKE et al., 2009).

Dentre as espécies do gênero *Campomanesia* encontra-se a *Campomanesia xanthocarpa*, popularmente conhecida como gabirobeira, guavirova, guabiroba-miúda e guabirobeira-do-mato. Os principais compostos bioativos identificados na referida espécie estão relacionados na **Tabela 1**.

**Tabela 1:** Compostos bioativos identificados na espécie *Campomanesia xanthocarpa*

<b>COMPOSTOS BIOATIVOS</b>	<b>PARTES DA PLANTA</b>	<b>PROPRIEDADES BIOLÓGICAS</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>
<b>Fenólicos</b>	Folhas, caule e frutos	Analgésica, antidiabética, anti-inflamatória, antiobesidade, antioxidante, cardioprotetora, hipotensiva e neuroprotetora	(PASTORI et al., 2013; DUARTE et al., 2020).
<b>Ácido clorogênico e o ácido gálico</b>	Folhas, caule e frutos	Antioxidante, sensibilização à insulina, redução da hiperglicemia, cardioprotetora e hipotensiva	(PASTORI et al., 2013; DUARTE et al., 2020).
<b>Alcaloides (teobromina)</b>	Folhas	Diurética e hipotensiva	(PASTORI et al., 2013; DUARTE et al., 2020).
<b>Flavonoides (ácido elágico e quercetina)</b>	Folhas e frutos	Antioxidante, mutagênica, anti-inflamatória, antiulcerogênica, antiplaquetária, antitrombótica, fibrinolítica e hipotensiva	(PASTORI et al., 2013; CARDOZO et al., 2018; DUARTE et al., 2020).
<b>Saponinas</b>	Folhas	Antiulcerogênica, antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica	(DUARTE et al., 2020).
<b>Taninos</b>	Folhas	Antiulcerogênica, antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica	(DUARTE et al., 2020).
<b>Terpenoides</b>	Folhas	Antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica	(DUARTE et al., 2020).

Encontrada no Cerrado brasileiro, a *Campomanesia xanthocarpa* é uma árvore de intensa frutificação que se dispersa naturalmente ou artificialmente, por meio do plantio feito pelo homem. Desenvolve-se em solos pouco nutritivos, temperaturas elevadas e de baixa umidade. Portanto, é uma planta de poucas exigências que chega a alcançar 15 metros de comprimento (SANT'ANNA et al., 2017).

A raiz é pivotante, apresenta uma raiz principal que se desenvolve no solo originando diversas raízes secundárias. O caule apresenta fitotaxia verticilada, sendo que em cada nó inserem-se mais de três folhas. Suas folhas são pecioladas, simples, ovaladas, com margens inteiras, ápices e bases agudas, suas nervuras são ramificadas partindo alternadamente de uma nervura principal mais espessa (penínérvea), com superfície lisa e sem pelos (glabras), com uma única coloração e consistência rígida e quebradiça (cartáceas) (LIMA et al., 2006; GOGOSZ et al., 2010). De setembro a outubro, suas folhas de coloração verde escuro começam a aparecer e, de novembro a dezembro, ocorre a floração com flores esbranquiçadas.

O seu fruto ovalado e de cor verde-amarelada, é denominado gabiropa, guabiropa, guabirova, guavirova, gavirova, araçá-congonha ou gabiraba e contém macronutrientes, como proteínas, lipídios e açúcares, e micronutrientes como ferro, cálcio, fósforo, potássio e vitaminas. Sua polpa apresenta palatabilidade adocicada e o seu aroma é cítrico, qualidades estas convenientes para a fabricação de sucos, geleias e sorvetes; além disso, contém elevada porcentagem de pectinas que são substâncias estabilizantes e geleificantes, as quais permitem a sua implementação tanto na indústria alimentícia quanto na indústria farmacêutica (SANT'ANNA et al., 2017).

#### **2.4 Atividades biológicas da *Campomanesia xanthocarpa***

Vários estudos têm sido realizados para investigar possíveis atividades biológicas da *C. xanthocarpa*. Neste sentido, são usadas diferentes preparações de derivados vegetais da referida espécie, tais como, óleos, extratos das folhas, frutos, raízes e cascas do caule.

Extrato hidroalcolico do fruto da *Campomanesia xanthocarpa* revelou atividade antimicrobiana contra alguns microrganismos, dentre eles: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella setubal*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (SOUZA-MOREIRA et al., 2011).

Atividade antidiarreica do extrato hidroalcolico da fruta foi avaliada analisando-se a motilidade intestinal em camundongos fêmeas. Contudo, na concentração utilizada, o extrato não foi capaz de reduzir a motilidade intestinal (SOUZA-MOREIRA et al., 2011). Em outro estudo, todavia, extratos aquosos e hidroalcolicos, preparados a partir da geleia do fruto

gabirola, mostraram atividades antioxidante e antiulcerogênica. Estas ações foram atribuídas ao conteúdo de flavonoides, taninos e saponinas (SANTOS et al., 2013).

Em um estudo prévio, moldado a partir da crença popular de que o extrato de *Campomanesia xanthocarpa* controlaria uma série de condições associadas a doenças cardiovasculares, foi demonstrado que o extrato aquoso das folhas tem efeito protetor na trombose, com atividades antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica em camundongos. Os resultados evidenciam que saponinas, taninos e terpenos, bem como flavonoides, estão associados ao bloqueio da agregação plaquetária promovida pelo ADP (difosfato de adenosina) e sugerem que as atividades antitrombóticas estão também relacionadas à inibição da agregação plaquetária (KLAFKE et al., 2011). A proteção ao sistema cardiovascular mediada pela gabirola está também relacionada ao efeito antioxidante das vitaminas C e E que aumentam a regeneração celular (PEREIRA et al., 2012). Ainda com relação aos efeitos sobre o sistema cardiovascular, estudo indica que o ácido clorogênico e a quercetina atuam como antagonistas do receptor AT1 para angiotensina II, sugerindo a utilização dessa espécie como agente hipotensivo (PASTORI et al., 2013). Segundo FERNANDES; VARGAS (2003), indivíduos hipercolesterolêmicos do sul do país utilizam os extratos aquosos das folhas da gabirola para reduzir os níveis do colesterol sanguíneo. Além disso, ratos submetidos à dieta hipercalórica e tratados com o extrato aquoso das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* exibiram notável redução no ganho de peso e dos níveis glicêmicos. Assim, a *Campomanesia xanthocarpa* parece exercer efeito hipolipemiante, o qual parece relacionado a ações antioxidantes e anti-HMGR (3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoAredutase) (AUHAREK et al., 2013), enzima chave na biossíntese do colesterol (CARDOZO et al., 2018). Além disso, o tratamento de camundongos hipercolesterolêmicos com o extrato aquoso das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* reduziu os níveis séricos dos marcadores pró-inflamatórios IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$  e os níveis de oxLDL e anti-oxLDL; enquanto aumentou os níveis séricos de IL-10 e mostrou-se superior ao tratamento com ácido acetilsalicílico no que se refere às suas atividades anti-inflamatória e antioxidante, pois a dose utilizada do extrato não apresentou ação ulcerogênica (KLAFKE et al., 2015).

Em estudos com modelos experimentais de diabetes mellito, induzido por estreptozotocina em ratos, o tratamento dos animais durante 3 semanas com o extrato aquoso mostrou reduzir em 26% a glicemia, comparado ao grupo controle tratado com placebo. Assim, foi sugerido que o extrato das folhas da gabirola possui potencial uso como agente hipoglicemiante (CARDOZO et al., 2018).

Os compostos bioativos 20, 60-dihidroxi-30-metil-40-metoxicalcona e 20, 40-dihidroxi-30,50-dimetil-60-metoxicalcona foram isolados a partir do extrato hidroalcólico das folhas da gabiroba e mostraram atividade anti-inflamatória ao inibir o edema de pata induzido por carragenina, bem como reduzir a migração de leucócitos para a cavidade pleural de ratos tratados com esses compostos (CARDOZO et al., 2018).

Outro estudo, investigou se a função reprodutiva de ratas seria prejudicada pelo uso do extrato aquoso foliar da *Campomanesia xanthocarpa*. Os resultados mostraram redução dos efeitos colaterais da prenhez, aumento do peso da placenta e do número de fetos vivos, sugerindo que o seu uso não interrompe o progresso do embrião ou o desenvolvimento fetal (SOUZA-MOREIRA et al., 2011).

Em face do exposto, é notável a coleção de trabalhos disponíveis na literatura acerca de possíveis ações biológicas e potencial terapêutico de derivados vegetais da *Campomanesia xanthocarpa*. Não obstante, ainda poucos são os estudos que utilizaram o extrato aquoso das folhas dessa espécie para investigar diretamente possíveis ações anti-inflamatória e/ou analgésica, proposta esta que constitui o objetivo geral deste trabalho.

### 3 JUSTIFICATIVA

Flavonoides e taninos apresentam atividades anti-inflamatórias e muitas espécies vegetais são capazes de produzir esses metabólitos secundários, como, por exemplo, a *Campomanesia xanthocarpa*. Contudo, não existem trabalhos que tenham avaliado o potencial anti-inflamatório agudo dessa importante espécie do Cerrado brasileiro utilizando o extrato aquoso das folhas. Assim, a presente proposta objetivou investigar possível efeito anti-inflamatório do extrato aquoso liofilizado das folhas da *Campomanesia xanthocarpa* utilizando um modelo experimental *in vivo*.

Este estudo tem potencial para contribuir com o desenvolvimento da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovada por meio do Decreto Nº 5.813, de 22 de junho de 2006, cujas ações visam, dentre outras: (i) promover pesquisa, desenvolvimento de tecnologias e inovações em plantas medicinais e fitoterápicos; (ii) incentivar a formação e capacitação de recursos humanos para o desenvolvimento de pesquisas, tecnologias e inovação em plantas medicinais e fitoterápicos; (iii) fomentar pesquisa, desenvolvimento tecnológico e inovação com base na biodiversidade brasileira, incluindo espécies vegetais nativas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

## 4 HIPÓTESES

Considerando que derivados vegetais da espécie *Campomanesia xanthocarpa* demonstraram, por meio de análise fitoquímica, conter substâncias polifenóis, flavonoides e taninos e que estudos da literatura têm demonstrado que tais compostos apresentam atividade anti-inflamatória, inferimos as seguintes hipóteses para o desenvolvimento deste trabalho:

**H0:** o extrato aquoso liofilizado das folhas da *Campomanesia xanthocarpa* não apresentará atividades anti-inflamatórias em modelo experimental *in vivo*.

**H1:** o extrato aquoso liofilizado das folhas da *Campomanesia xanthocarpa* apresentará atividades anti-inflamatórias em modelo experimental *in vivo*.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo geral

Investigar possível efeito anti-inflamatório do extrato aquoso liofilizado das folhas da espécie vegetal *Campomanesia xanthocarpa*.

### 5.2 Objetivos Específicos

- Padronizar o método para indução da inflamação peritoneal com carragenina;
- Avaliar possível ação anti-inflamatória do extrato aquoso liofilizado das folhas da *C. xanthocarpa* sobre a peritonite induzida por carragenina em camundongos BALB/c.

## 6 MATERIAL E MÉTODOS

### 6.1 Local de execução

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Farmacologia Geral, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, na Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e nos Laboratórios de Experimentação Animal do Biotério Central da Rede de Biotérios de Roedores da UFU (REBIR-UFU).

## 6.2 Material vegetal e obtenção do extrato aquoso da *Campomanesia xanthocarpa*

No momento, da realização deste trabalho, o laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais dispunha do extrato aquoso das folhas da *C. xanthocarpa*. A espécie a partir da qual foram coletadas as folhas para a preparação do extrato aquoso, foi previamente identificada por biólogo competente e uma exsicata foi depositada no herbário da Universidade Federal de Uberlândia (Número de Registro HUFU 65525).

Neste estudo, as folhas da *Campomanesia xanthocarpa* foram coletadas em campos de vegetação espontânea em outubro/2018, no Sítio Primavera, Distrito Cruzeiro dos Peixotos, Uberlândia, MG (Coordenadas geográficas: 18°43'46,1'' S; 48°22'07,00'' W; Fonte: Google maps), e, gentilmente, cedidas pelo Prof. Dr. João Batista, da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia. Posteriormente, as folhas foram transportadas para o Laboratório de Farmacologia Geral. Algumas características das folhas foram observadas durante a sua seleção: as folhas da *C. xanthocarpa* eram pecioladas, simples (limbo formado por apenas uma lâmina), cartáceas (finas, rígidas e quebradiças), ovaladas (parte mais larga próximo à base), nervadas, glabras (desprovidas de tricomas) e lisas, concolores (uma única cor: verde claro), ainda pequenas (folhas jovens) (**Figura 2**).

**Figura 2.** *Campomanesia xanthocarpa*. Origem: Sítio Primavera, Distrito Cruzeiro dos Peixotos, Uberlândia, MG. Coordenadas geográficas: Coordenadas geográficas: 18°43'46,1'' S; 48°22'07,00'' W (Google maps). Fonte própria (2018).



Para a preparação do extrato aquoso, após a coleta, as folhas da *C. xanthocarpa* foram separadas dos galhos, destacadas dos pecíolos, e selecionadas apenas aquelas que, macroscopicamente, não apresentavam indicativos de contaminação por microrganismos. Em seguida, as folhas foram duplamente lavadas em água corrente e em água destilada. Após esse procedimento, as folhas foram colocadas em estufa a 45 °C durante 48 horas para secagem. Depois de secas, as folhas foram trituradas em liquidificador e, em seguida, colocadas em proveta contendo água destilada na proporção de 10% (m/v). A extração foi realizada à temperatura ambiente, aproximadamente 25° C, durante 48 horas. Posteriormente, o extrato foi filtrado, inicialmente 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 o congelamento, o extrato foi liofilizado à -40 °C até a total remoção do conteúdo de água. O extrato aquoso liofilizado das folhas da *C. xanthocarpa* (EACX) foi pesado e acondicionado em freezer a -20 °C até a data da utilização.

### **6.3 Animais**

Neste estudo, foram utilizados camundongos da linhagem BALB/c machos (n = 29) de aproximadamente 5 semanas de idade, pesando entre 12 a 26g. Os animais foram fornecidos pela Rede de Biotérios de Roedores da UFU (REBIR-UFU) e mantidos sob condições padrão em gaiolas de polipropileno com temperatura controlada ( $25 \pm 2$  °C) e ciclos de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, com água e ração *ad libitum*. E considerando que são animais coletivos, foram acomodados em grupos de 2 a 5 animais por gaiola. No entanto, quando brigavam entre si eram separados e acomodados um animal por gaiola. Vale ressaltar que foram excluídos dos experimentos os animais que apresentassem sinais de estresse ou lesões corporais decorrentes de brigas.

Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com os princípios éticos em pesquisa animal recomendados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, após aprovação da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 097/17).

### **6.4 Avaliação dos efeitos farmacológicos anti-inflamatórios**

#### 6.4.1 Inflamação peritoneal induzida por carragenina

A carragenina (CGN; Sigma) é um agente inflamatório que induz a ativação do sistema complemento e a liberação de mediadores inflamatórios (DUTRA et al., 2006; PATIL et al., 2019). Dessa maneira, a injeção de carragenina provoca uma reação inflamatória aguda devido à indução da produção de agentes pró-inflamatórios e da migração de leucócitos, principalmente neutrófilos, para o local de administração (RIBEIRO et al., 2018).

Camundongos Balb/c foram divididos em quatro grupos (G1 a G4). Em cada grupo experimental, os animais foram pesados e a medida da massa corporal de cada animal foi usada para o cálculo da massa média de cada grupo; esta, por sua vez, foi utilizada para o cálculo da dose de cada substância a ser administrada por via oral, considerando-se a dose máxima igual a 1,0 mL/100 g animal. A massa corporal média de cada grupo: G1:  $19,31 \pm 1,59$ g; G2:  $20,87 \pm 0,84$ g; G3:  $22,47 \pm 0,67$ g e G4:  $23,80 \pm 0,72$ g. Antes do início dos experimentos, os animais foram submetidos à restrição hídrica e alimentar por 30 minutos. Em seguida, os animais receberam os seguintes tratamentos por via oral (v.o.): G1: solução de carboximetilcelulose (CBX) 0,5%; G2, G3 e G4: EACX solubilizado em CBX 0,5%, nas concentrações 100, 550 e 1000 mg/Kg, respectivamente. A administração por via oral do veículo ou extrato aquoso de *C. xanthocarpa* aos animais foi realizada por meio de cânula de lavagem específica para camundongos, a qual foi introduzida na boca do animal e gentilmente conduzida até o estômago (o volume máximo administrado foi de 1,0 mL / 100 g animal).

A solução de carboximetilcelulose 0,5% foi utilizada como veículo para solubilização do extrato. Portanto, o grupo tratado somente com CBX 5 % constituiu o controle negativo para o efeito anti-inflamatório na inflamação peritoneal induzida por CGN, como descrito a seguir (KOSTER et al., 1959).

Após sessenta minutos dos tratamentos por v. o., CGN 1% preparada em solução salina (NaCl 0,9%) estéril (CGN 1 % corresponde a 2000  $\mu$ g/mL) foi administrada por via intraperitoneal (i.p.) para indução da inflamação e posterior coleta do exsudato peritoneal (**Figura 3**).

#### 6.4.2 Obtenção do exsudato peritoneal após inflamação induzida por carragenina

Após 4 ou 6 horas a injeção de carragenina 1%, os animais foram mortos e, em seguida, foi coletado o exsudato peritoneal por meio da lavagem da cavidade peritoneal com 4 mL de solução salina tamponada com fosfatos (PBS, Phosphate Buffered Saline, pH 7,2) gelada e aspiração com seringa. O lavado peritoneal coletado foi centrifugado (120 g, 4 °C, 10 minutos)

e os sobrenadantes foram descartados, enquanto os sedimentos foram usados para as contagens global e diferencial de leucócitos (**Figura 3**).

#### **6.4.3 Análise da inflamação peritoneal induzida por carragenina em animais tratados com o extrato aquoso das folhas da *C. xanthocarpa***

Após a obtenção do lavado peritoneal com descrito no item acima (item 6.4.2), uma alíquota do sedimento foi diluída (1:10) em líquido de Turk para causar a hemólise e facilitar a contagem de leucócitos totais em câmara de Neubauer; outra alíquota foi usada para preparar esfregaços em lâmina de vidro, os quais foram corados com corante Panótico (Instant Prov, Newprov, código 1319) para a contagem diferencial de leucócitos (OLIVEIRA et al., 2014; CUNHA et al., 1989; ORLANDI et al., 2011) (**Figura 3**).

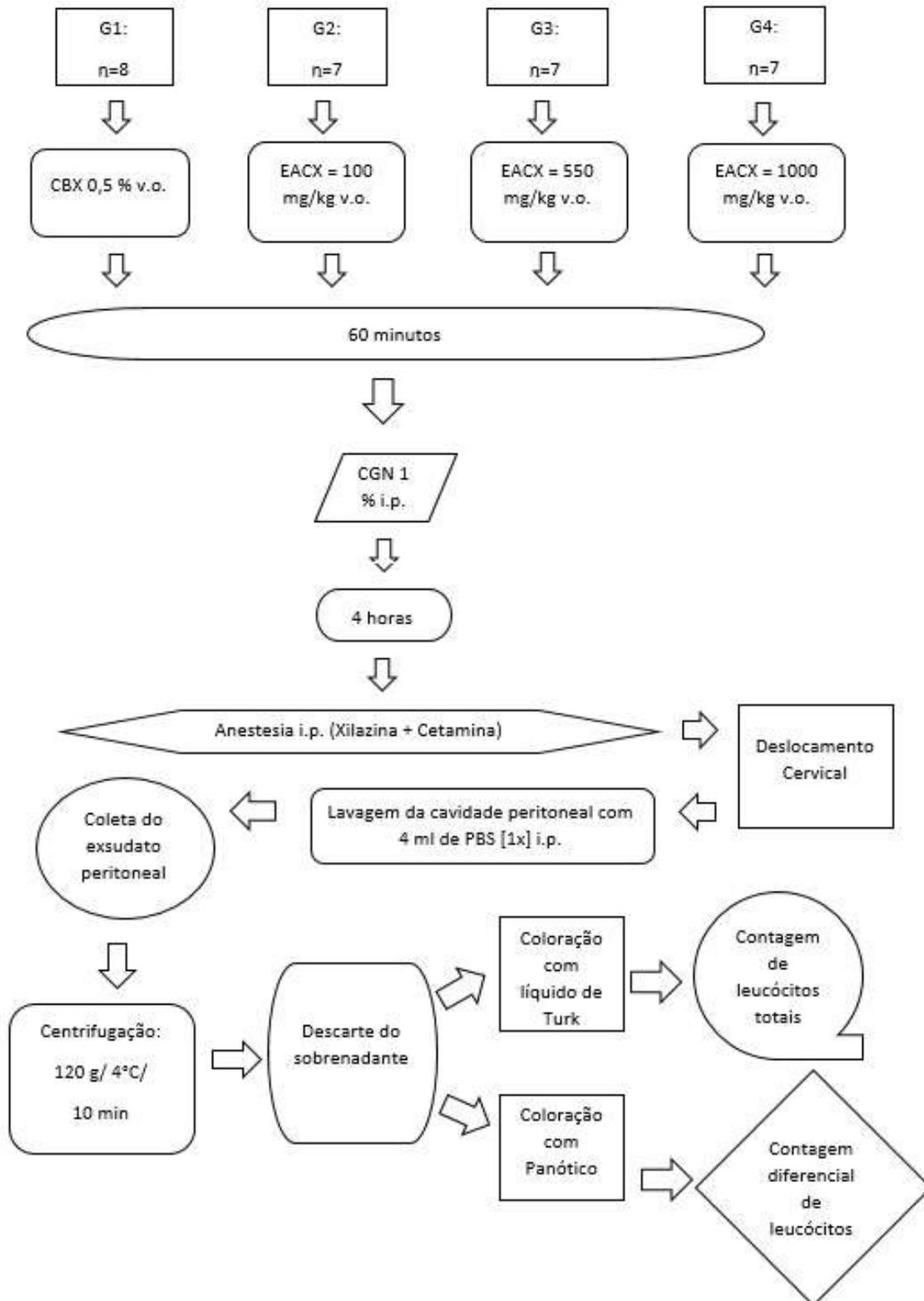
#### **6.5 Protocolos de eutanásia**

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

#### **6.6 Análises Estatísticas**

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). A comparação dos dados obtidos foi analisada por testes paramétricos, após a verificação pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov que as variáveis exibiam distribuição normal. Foi utilizado o teste ANOVA, seguido do teste de comparação múltipla de Bonferroni quando apropriado. Quando os dados não seguiram distribuição normal foi utilizado o teste não paramétrico U de Mann-Whitney para comparações entre dois grupos. Todos os resultados foram considerados significativos para um nível de  $p < 0,05$ .

**Figura 3.** Fluxograma para avaliação da atividade anti-inflamatória da *Campomanesia xanthocarpa*.

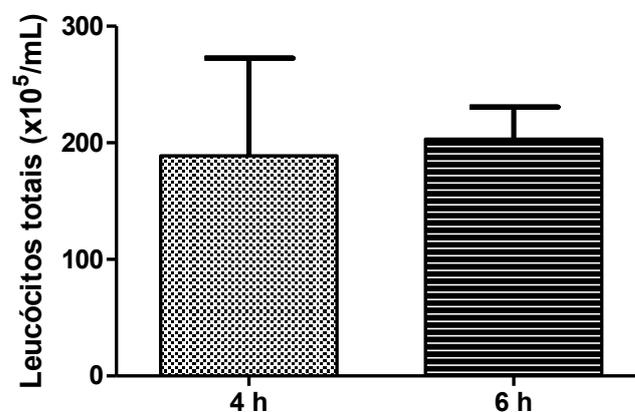


## 7 RESULTADOS

### 7.1 Padronização do modelo de peritonite induzida por carragenina em camundongos BALB/c para avaliação da atividade anti-inflamatória

O tempo para a coleta do exsudato peritoneal foi avaliado em dois grupos de animais (**Figura 4**). Ambos os grupos foram pré tratados apenas com o veículo (CBX 0,5% v.o.) e após 1 hora receberam a injeção peritoneal de CGN 1% (2000  $\mu\text{g}$ / cavidade, 200  $\mu\text{L}$ ). Após 4 horas a injeção de CGN 1 %, os animais de um grupo (G1) foram anestesiados e mortos para a coleta do exsudato peritoneal, enquanto no outro grupo a coleta foi realizada após 6 horas (G2). A resposta inflamatória peritoneal foi avaliada por meio da contagem de leucócitos totais nos exsudatos peritoneais. Os valores médios da contagem total de leucócitos foi:  $188,80 \pm 83,75 \times 10^5$  células/mL e  $203,0 \pm 27,50 \times 10^5$  células/mL, nos grupos G1 e G2, respectivamente. Os resultados obtidos mostraram que não houve diferença estatística significativa na migração leucocitária entre os dois tempos ( $p = 0,8839$ ). Dessa maneira, foi padronizado o tempo de 4 horas após a injeção de CGN 1 % para a coleta do exsudato peritoneal de animais com inflamação peritoneal induzida por CGN.

**Figura 4.** Padronização do tempo para indução da inflamação peritoneal por carragenina (CGN). Camundongos Balb/c foram pré tratados com o veículo (CBX 0,5 %, v. o.) e após 60 minutos, os animais receberam injeção i. p. de carragenina 1 (2000  $\mu\text{g}$ / cavidade, i.p., 200  $\mu\text{L}$  CGN). A contagem de células (número total  $\times 10^5/\text{mL}$ ) foi realizada 4 e 6 horas após a injeção intraperitoneal de CGN 1%. Os dados são expressados pela Média  $\pm$  S.E.M (erro padrão da média) de 2 animais por grupo. A comparação entre os grupos 4 e 6 horas foi analisada pelo Teste U de Mann-Whitney ( $p > 0,05$ ).

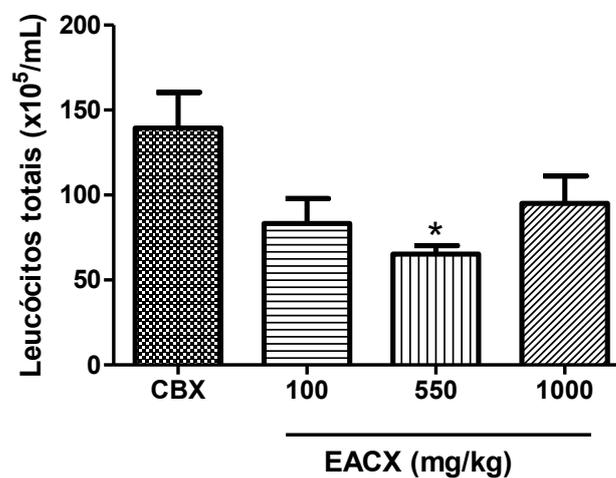


Fonte: o autor (2020).

## 7.2 *Campomanesia xanthocarpa* possui ação anti-inflamatória

O efeito anti-inflamatório do EACX foi avaliado em modelo animal de inflamação peritoneal induzida por CGN 1%. Camundongos Balb/c foram tratados por v. o. com diferentes doses do EACX (100, 550, 1000 mg/kg) e a inflamação peritoneal foi induzida com a injeção i. p. de CGN 1%. Após 4 horas a injeção de CGN 1%, o exsudato peritoneal foi coletado. Os valores médios obtidos na contagem total de leucócitos foram: G1:  $139,40 \pm 21,09 \times 10^5$  células/mL; G2:  $83,32 \pm 14,54 \times 10^5$  células/mL; G3:  $65,21 \pm 5,068 \times 10^5$  células/mL e G4:  $95,07 \pm 16,15 \times 10^5$  células/mL (**Figura 5**). Os dados obtidos mostram que a migração leucocitária foi significativamente reduzida nos animais tratados com o EACX na dose 550 mg/Kg, comparado ao grupo controle G1 (CBX 0,5%) ( $p = 0,0163$ ). Nas doses 100 e 1000 mg/Kg houve apenas tendência à diminuição no infiltrado de leucócitos.

**Figura 5.** Efeito do extrato aquoso liofilizado das folhas da *C. xanthocarpa* (EACX) na migração leucocitária em modelo *in vivo* de peritonite induzida por carragenina. Camundongos Balb/c foram pré tratados com o veículo (CBX 0,5%, v.o.) ou com o EACX nas doses de 100, 550 e 1000 mg/Kg (v. o.). Após 60 minutos, os animais receberam injeção i. p. de carragenina 1% (2000  $\mu$ g/ cavidade, i.p., 200  $\mu$ L). A contagem das células (número total  $\times 10^5$ /mL) foi realizada 4 horas após a injeção intraperitoneal de CGN 1%. As comparações entre os grupos CBX e EACX nas diferentes concentrações foram analisadas utilizando-se ANOVA (*one-way analysis of variance*), seguido do teste Bonferroni para comparações múltiplas ( $*p < 0,05$ ).

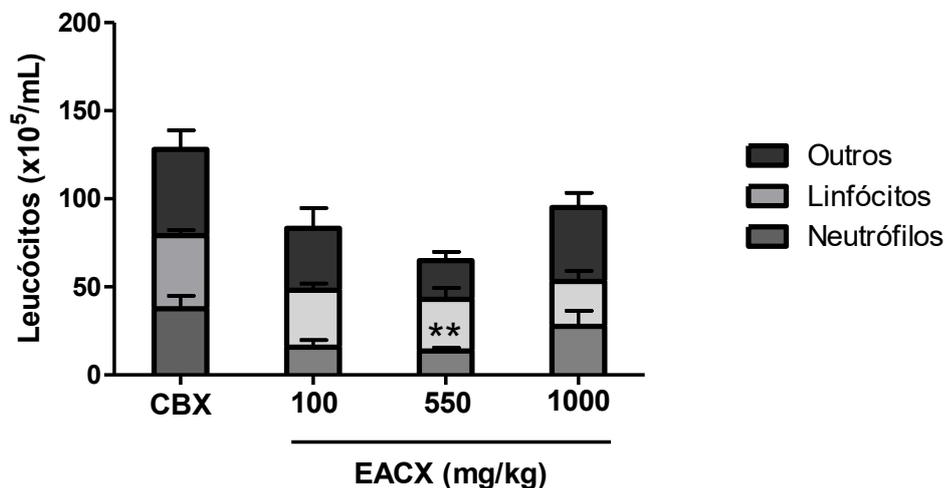


Fonte: o autor (2020).

Em seguida considerando que o EACX reduziu a migração leucocitária em todas as concentrações, foram analisadas as populações de leucócitos (neutrófilos, linfócitos e outros, dentre eles, monócitos) que poderiam estar diminuídas por meio da contagem diferencial de leucócitos (**Figura 6**).

A análise dos dados obtidos mostrou que não houve diferença estatística significativa entre as diferentes populações de leucócitos em cada grupo de animais (G1, G2, G3 e G4), ou seja, os números de neutrófilos, linfócitos e outras células não são diferentes entre si em cada um dos grupos G1, G2, G3 e G4. Todavia, quando comparamos as populações de neutrófilos, linfócitos e outros tipos de células do grupo controle (não tratado com o extrato) (G1) aos grupos pré tratados com o extrato (G2, G3 e G4), evidenciamos que houve diferença estatística entre a população de neutrófilos dos grupos G1 e G3 ( $p = 0,0049$ ). Sendo os dados encontrados: G1:  $37,56 \pm 7,374 \times 10^5$  neutrófilos/mL e G3:  $13,60 \pm 1,824 \times 10^5$  neutrófilos/mL. Portanto, o EACX na dose de 550 mg/Kg inibiu de maneira significativa o influxo de neutrófilos para a cavidade peritoneal inflamada, demonstrando potencial efeito anti-inflamatório.

**Figura 6.** Efeito anti-inflamatório do extrato aquoso liofilizado das folhas da *C. xanthocarpa* (EACX) sobre a contagem diferencial de leucócitos em modelo in vivo de inflamação peritoneal induzida por carragenina. Camundongos Balb/c foram pré tratados com o veículo (CBX 0,5%, v.o.) ou com o EACX nas doses de 100, 550 e 1000 mg/Kg (v. o.). Após 60 minutos, os animais receberam injeção i. p. de carragenina 1% (2000  $\mu$ g/ cavidade, i.p., 200  $\mu$ L CGN). Os dados estão expressos pela Média  $\pm$  S.E.M (erro padrão da média) de 7-8 animais por grupo. As comparações entre as populações de células (neutrófilos, linfócitos e outros) nos grupos CBX e EACX nas diferentes concentrações foram analisadas utilizando-se ANOVA (*one-way analysis of variance*), seguido do teste de Bonferroni para comparações múltiplas (\*\* $p < 0,01$ ).



Fonte: o autor (2020).

## 8 DISCUSSÃO

Sabe-se que as espécies vegetais são bastante reconhecidas por seus usos e efeitos terapêuticos e estão inseridas no uso popular desde o desenvolvimento da humanidade. A exemplo disso, podemos citar o ácido salicílico, obtido a partir da casca do salgueiro (*Salix alba*) e usada como medicamento para o tratamento de dores por milhares de anos, citada por Hipócrates em 400 a.C. (LUZ et al., 2019).

Atualmente, as plantas ainda representam um grande “celeiro” de compostos bioativos com potencial uso na indústria farmacêutica para a produção de medicamentos. Neste sentido, vários estudos têm sido realizados com o intuito de investigar, comprovar e elucidar as aplicações medicinais que extratos do fruto ou das folhas de plantas da família Myrtaceae podem apresentar no tratamento de processos inflamatórios.

Na literatura, existem vários trabalhos publicados nos últimos anos demonstrando a importância do gênero *Campomanesia* como alimento e, especialmente, pelo seu potencial farmacológico. Dentre as espécies dessa família que possuem atividade anti-inflamatória comprovada, estão: *Campomanesia velutina*, *Eucalyptus globulus*, *Eugenia caryophyllus*, *Eugenia puniceifolia*, *Myrtus communis*, *Psidium cattleianum*, *Psidium guianense*, *Psidium friedrichsthalianum*, *Syzygium jambos*, *Syzygium cumini* e *Rhodomyrtus tomentosa* (DEXHEIMER; POZZOBON, 2017). As espécies *C. adamantium*, *C. pubescens*, *C. guazumifolia*, *C. velutina* e *C. xanthocarpa* apresentam componentes bioativos reconhecidos pelos seus efeitos anti-inflamatórios, tais como ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas, taninos e saponinas (DUARTE et al., 2020) e, portanto, torna-se evidente o potencial dessas espécies para o tratamento ou prevenção de diversas doenças inflamatórias. Todavia, para utilizá-las na produção de medicamentos, fitoterápicos ou alopáticos, são necessários estudos que comprovem suas atividades biológicas, eficácia terapêutica e segurança. Diante disso, é nítido que ainda há muito a ser investigado e compreendido a respeito do gênero *Campomanesia*.

A injeção de carragenina em ratos e camundongos causa edema, dor e eritema por provocar uma reação inflamatória com produção de mediadores, tais como bradicinina, histamina, prostaglandinas e espécies reativas de oxigênio, e com a migração de células inflamatórias, por exemplo, neutrófilos, para o local de administração. Por esse motivo, desde sua descoberta, muitos pesquisadores a utilizam em modelos experimentais para indução de edemas de pata ou peritonites para investigação de possíveis efeitos anti-inflamatórios de

diversas substâncias, incluindo extratos de plantas ou seus constituintes isolados (RIBEIRO et al., 2018).

Diante do exposto, neste estudo, investigamos a possível atividade anti-inflamatória do extrato aquoso liofilizado das folhas da *Campomanesia xanthocarpa* (EACX) em modelo experimental *in vivo* de peritonite induzida pela injeção intraperitoneal de carragenina. Os resultados obtidos neste modelo experimental mostraram que o EACX administrado oralmente na dose de 550 mg/kg foi capaz de inibir a migração de leucócitos totais para a cavidade peritoneal, com redução significativa no influxo de neutrófilos. Contudo, o EACX administrado na dose de 100 mg/kg não foi capaz de inibir a migração de leucócitos totais, provavelmente por não conter a concentração necessária de compostos bioativos para produzir o efeito anti-inflamatório. Entretanto, vale destacar que, nas doses de 100 e 1000 mg/kg observou-se uma tendência à redução da migração de leucócitos para a cavidade peritoneal.

Azevedo (2016) ao avaliar o efeito anti-inflamatório da infusão de folhas da espécie *Plinia edulis* em modelo *in vivo* de peritonite induzida por LPS observaram que houve aumento significativo no influxo de leucócitos na maior dose fornecida aos animais e referem que a maior concentração de flavonoides e terpenoides pode ter intensificado a resposta inflamatória e aumentado a liberação de mediadores e enzimas pró-inflamatórios, ao invés de reduzir a migração de leucócitos. Além disso, inferem que a infusão de folhas pode ter ocasionado uma irritação peritoneal ainda maior do que a sua atividade anti-inflamatória, resultando no aumento da resposta inflamatória ao LPS. Nesse sentido, uma vez que *P. edulis* e *C. xanthocarpa* são espécies vegetais pertencentes à mesma família, as referidas explicações citadas no estudo acima poderiam também justificar os resultados obtidos neste estudo com a administração do EACX na maior dose (1000 mg/kg). Embora, nessa condição experimental não tenha sido evidenciado aumento na contagem de leucócitos totais, também não houve diminuição significativa no influxo de leucócitos para o exsudato peritoneal, fenômeno esperado, haja vista que houve redução com a dose intermediária (550 mg/kg).

O efeito anti-inflamatório do EACX evidenciado neste estudo em razão da redução do influxo de leucócitos totais, especialmente neutrófilos, em modelo de inflamação peritoneal induzida por carragenina pode ser atribuído a vários mecanismos.

Um estudo utilizando o extrato de hexano e etil acetato do fruto da espécie *Psidium cattleianum* e o extrato de metano e etanol do fruto da espécie *Eugenia uniflora*, também pertencentes a família Myrtaceae, demonstrou atividade inibitória sobre a enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) e sobre a liberação de interleucina-8 (IL-8). A análise fitoquímica dos extratos revelou a presença de flavonoides e antocianinas, metabólitos cujas ações

justificam a atividade anti-inflamatória evidenciada. Estes inibem a proliferação de linfócitos T e a produção de citocinas, fatores de necrose tumoral e interleucina-1; e, também, ao impedirem que as enzimas fosfolipase A2, ciclooxygenases (COX-1 e COX-2) e lipoxigenase (LOX) exerçam suas funções no processo inflamatório (FERREIRA et al., 2015). Uma vez que estudos também evidenciaram a presença de flavonoides em extratos foliares de *C. xanthocarpa* (PASTORI et al., 2013; DUARTE et al., 2020), podemos sugerir que esses metabólitos possam contribuir para a diminuição do influxo de leucócitos observada neste trabalho. Nesse sentido, outros estudos realizados por autores investigando propriedades anti-inflamatórias de espécies da família Myrtaceae reforçam a ação anti-inflamatória dos flavonoides. Em estudo utilizando o extrato etanólico da *Eugenia selloi*, família Myrtaceae, e sua fração rica em polifenóis observou-se redução na migração de neutrófilos em análises *in vitro* e *in vivo* em modelo de peritonite induzida por carragenina em camundongos. Este efeito foi atribuído à presença de compostos bioativos flavonoides, como ácido elágico e quercetina, visto que eles inibem a ativação ou liberação do fator de necrose tumoral e de interleucinas, além de impedirem o recrutamento de leucócitos e o estresse oxidativo (LAZARINI et al., 2020). Falcão et al. (2018) utilizando o extrato foliar da espécie *Eugenia uniflora* em modelo experimental de peritonite induzida por lipopolissacarídeo (LPS) demonstraram diminuição na migração de leucócitos e nos níveis dos marcadores de estresse oxidativo, tais como a enzima mieloperoxidase (MPO) e os compostos malondialdeído (MDA) e glutathiona, bem como inibição da produção de prostaglandina E2 (PGE2) e atribuíram estas ações à presença do flavonoide miricitrina.

Na literatura, vários autores destacam que a redução nos níveis de MPO é um indicativo de que houve uma diminuição na atividade de neutrófilos, sugerindo a redução da migração neutrofílica e efeito anti-inflamatório. Isto foi observado em diferentes espécies também pertencentes a família Myrtaceae. Magina (2008) relatou o efeito inibitório do extrato hidroalcolólico da *Eugenia brasiliensis* sobre a atividade enzimática da MPO, quando aplicado topicamente no edema de orelha induzido pelo ácido araquidônico em camundongos. Moresco (2014) observou o efeito inibitório do extrato bruto e da fração acetato de etila de ambas as espécies *Myrcia palustres* e *Meyrcia splendens* sobre a migração de neutrófilos no modelo de pleurisia induzida por carragenina em camundongos. E, por fim, Chniguir et al. (2019) relataram o efeito anti-inflamatório do extrato aquoso da *Syzygium aromaticum* *in vitro* sobre a atividade enzimática da MPO e *in vivo* sobre o influxo de neutrófilos em modelo de pneumonia induzida por LPS em camundongos.

Outros estudos também avaliaram o potencial anti-inflamatório de espécies da família Myrtaceae. Os extratos foliar aquoso e metanólico da *Pimenta racemosa* e foliar da *Syzygium*

*aqueum* reduziram a migração de leucócitos para a pata e cavidade peritoneal de ratos em modelo experimental de edema de pata e peritonite induzidos por carragenina, por meio da inativação das enzimas COX-1, COX-2 e LOX, respectivamente (PAULA et al., 2010; SOBEH et al., 2018). A metabolização do ácido araquidônico por meio das enzimas COX-1 e COX-2 ou LOX-5 levando à síntese de prostaglandinas e de leucotrienos (LTs), incluindo o LTB<sub>4</sub>, com ações quimiotáticas está associada ao influxo de células de defesa para um sítio de inflamação (BECHARA; SZABÓ, 2006; PEREZ et al., 2014). Desse modo, a inibição da atividade dessas enzimas pode, pelo menos em parte, explicar a redução da migração leucocitária em modelos de inflamação induzida por carragenina e pode representar um mecanismo para os resultados encontrados no presente estudo, o qual deverá ser investigado futuramente.

Em estudo que avaliou o efeito do extrato foliar da espécie *Mikania levigata*, pertencente à família Asteraceae, no tratamento de peritonite induzida por carragenina em camundongos, observou-se inibição da migração neutrofílica durante o processo inflamatório. Tal efeito foi atribuído à redução das interações neutrófilo-endotélio nos fenômenos de rolamento e adesão durante a diapedese leucocitária, à diminuição da produção de mediadores quimiotáticos de neutrófilos, tais como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , e ao aumento dos níveis de óxido nítrico (NO) avaliado através da quantificação do teor de nitrito no soro desses animais. O NO inibe a migração de neutrófilos por um mecanismo dependente da expressão de moléculas de adesão intercelular-1 (ICAM-1) nos vasos da microcirculação mesentérica desses animais (ASSIS et al., 2009). Em outro estudo, Costa et al. (2016) demonstraram que os extratos hidroetanólicos das folhas das espécies *Eugenia aurata* e *Eugenia punicifolia* reduziram a adesão e a degranulação de neutrófilos, respectivamente, e ambos inibiram a liberação de armadilhas extracelulares neutrofílicas (NETs) *in vitro* e o recrutamento de neutrófilos em modelos de peritonite induzida por tioglicolato (TG) em camundongos sem, contudo, exercerem citotoxicidade celular. Os autores avaliaram ainda a citotoxicidade sobre neutrófilos tratados com diferentes concentrações dos extratos foi indiretamente avaliada por meio do ensaio colorimétrico de MTT (Tetrazólio de Metiltiazol), o qual permite quantificar a atividade enzimática mitocondrial em células viáveis. Embora, neste estudo, não tenhamos investigado o efeito do EACX sobre os fenômenos citados acima, tais mecanismos poderiam explicar a redução da migração neutrofílica na peritonite induzida por carragenina.

Estudo realizado anteriormente em nosso grupo de pesquisa avaliou a citotoxicidade do EACX e o seu efeito sobre a produção do óxido nítrico (NO) em células RAW 264.7 (células *macrophage-like* RAW 264.7) tratadas com diferentes concentrações do extrato. Os resultados obtidos mostraram que o EACX foi citotóxico e induziu a produção de NO somente nas maiores

concentrações utilizadas (250 e 250 µg/mL) (PINTO, 2018). Como base nesses resultados, outra possibilidade para explicar a redução do número total de leucócitos, especialmente neutrófilos, no exsudato peritoneal dos animais com peritonite induzida por carragenina neste trabalho pode estar associada à citotoxicidade de compostos bioativos presentes no EACX e a possíveis efeitos deletérios do NO.

Em suma, o presente trabalho revela que o EACX apresenta um potencial anti-inflamatório dose-dependente em modelo experimental *in vivo* de peritonite induzida por carragenina, cujos mecanismos deverão ser investigados em estudos futuros.

## 9 CONCLUSÃO

O extrato aquoso das folhas da espécie *Campomanesia xanthocarpa* demonstrou efeito anti-inflamatório estatisticamente significativo, ao reduzir a migração de leucócitos, principalmente, neutrófilos, em modelo *in vivo* de peritonite induzida por carragenina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADÂMOLI, J. et al. Caracterização da região dos Cerrados. In: GOEDERT, W.J. Solos dos cerrados: tecnologias e estratégias de manejo. **Embrapa-CPAC**, Brasília, p. 33-74, 1986.
- ANVISA. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. **Saúde.RJ**, 2002. Disponível em: <<https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjI1Mw%2C%2C>>. Acesso em: 25 março 2019.
- ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2010. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/fitoterapicos>>. Acesso em: 25 março 2019.
- ARAÚJO, É. C. C. D.; SANTANA, R. J. D.; ARISAWA, E. A. L. S. Mecanismos da Inflamação: Análise dos Processos Fisiopatológicos. **XVII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XIII Encontro Latino Americano de Pós- Universidade do Vale do Paraíba**, São José dos Campos, 2013.
- ASSIS, I. P. et al. Atividade anti-inflamatória e mecanismos de ação do extrato de *Mikania laevigata* na peritonite induzida por carragenina. **Laboratório de Ciências Farmacêuticas de Uberaba**, 2009.
- AUHAREK, S. A. et al. Reproductive toxicity of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) in female Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, p. 341-343, 2013.
- AZEVEDO, L. F. Evidence of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Plinia edulis* leaf infusion. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 192, p. 178-182, 2016.
- BECHARA, G. H.; SZABÓ, M. P. J. Alterações Vasculares e Mediação Química. **FCAV-Unesp**, 2006. Disponível em: <[http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/GERVASIOHENRIQUEBECHARA/inflam\\_aspectosvasculares2006.pdf](http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/GERVASIOHENRIQUEBECHARA/inflam_aspectosvasculares2006.pdf)>. Acesso em: 25 janeiro 2019.
- CARDOZO, C. M. L. et al. Therapeutic Potential of Brazilian Cerrado *Campomanesia* Species on Metabolic Dysfunctions. **Molecules**, n. 23, p. 1-18, 2018.
- CHNIGUIR, A. *Syzygium aromaticum* aqueous extract inhibits human neutrophils myeloperoxidase and protects mice from LPS-induced lung inflammation. **Pharmaceutical Biology**, v. 57, n. 1, p. 56-64, 2019.
- COSTA, M. F. et al. *Eugenia aurata* e *Eugenia puniceifolia* HBK inhibit inflammatory response by reducing neutrophil adhesion, degranulation and NET release. **BCM Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 403, 2016.

CUNHA, F. Q. et al. In-vivo blockage of neutrophil migration by LPS is mimicked by a factor released from LPS-stimulated macrophages. **British Journal of Experimental Pathology**, n. 70, p.1-8, 1989.

DEXHEIMER, G. M.; POZZOBON, A. Actividad biológica de las plantas de la familia Myrtaceae: una revisión sistemática de los artículos publicados entre 1989 y 2015. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 22, n. 2, 2017.

DUARTE, L. S. et al. *Campomanesia* genus: a literature review of nonvolatile secondary metabolites, phytochemistry, popular use, biological activities, and toxicology. **Eclética Química Journal**, v. 45, n. 2, p. 12-22, 2020.

DUTRA, R. C. et al. Investigação das atividades analgésica e anti-inflamatória do extrato metanólico dos rizomas de *Echinodorus grandiflorus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, n. 16, p. 469-474, 2006.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, Florianópolis, 2016.

FALCÃO, T. R. et al. Crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* Linn leaves showed anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial activities. **BCM Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 84, 2018.

FARZAEI, M. H. et al. Targeting Inflammation by Flavonoids: Novel Therapeutic Strategy for Metabolic Disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, 2019.

FERNANDES, J. B. F.; VARGAS, V. M. F. Mutagenic and Antimutagenic Potential of the Medicinal Plants *M. laevigata* and *C. xanthocarpa*. **Phytotherapy Research**, Porto Alegre, v. 17, p. 269-273, 2003.

FERREIRA, J. J. O. Propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias de frutos da Macaronésia (Madeira e Açores). **Monografia de Conclusão de Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas**, Coimbra, 2015.

FREITAS, P. R. et al. Abordagens terapêuticas nas doenças inflamatórias: Uma revisão. **Interfaces**, v. 7, n. 2, p. 318-324, 2019.

GOGOSZ, A. M. et al. Morfoanatomia da plântula de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae). **Acta bot. bras.**, Curitiba, n. 24, p. 613-623, 2010.

GONZÁLEZ, Y. et al. Marine Diterpenoids as Potential Anti-Inflammatory Agents. **Mediators of Inflammation**, p. 1-14, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Mapa da vegetação do Brasil. **IBGE**, Rio de Janeiro, 2004a.

JANEIRO, I. M. I. Fisiopatologia da Dor. **Dissertação Defendida em Provas Públicas na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**, Lisboa, 2017.

KIM, T. et al. Therapeutic Potential of Volatil Terpenes and Terpenoids from Forests for Inflammatory Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 2187, 2020.

KLAFKE, J. Z. et al. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 1-7, 2009.

KLAFKE, J. Z. et al. Antiplatelet, Antithrombotic, and Fibrinolytic Activities of *Campomanesia xanthocarpa*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-8, 2011.

KLAFKE, J. Z. et al. Study of oxidative and inflammatory parameters in ldlr-ko mice treated with a hypercholesterolemic diet: Comparison between the use of *Campomanesia xanthocarpa* and acetylsalicylic acid. **Phytomedicine**, n. 30, p. 1-8, 2015.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; BEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. **Fed. Proc.**, v.18, p. 412-416, 1959.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. **The Scientific World Journal**, 2013.

LAVOR, E. M. et al. Essential Oils and Their Major Compounds in the Treatment of Chronic Inflammation: A Review of Antioxidant Potential in Preclinical Studies and Molecular Mechanisms. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, 2018. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/omcl/2018/6468593/>>. Acesso em: 18 maio 2019.

LAZARINI, J. G. et al. Anti-inflammatory and antioxidante potencial, in vivo toxicity, and polyphenolic composition of *Eugenia selloi* B.D. Jacks.(pitangatuba), a Brazilian native fruit. **PLOS ONE**, v. 15, n. 6, 2020.

LIMA, A. S.; ALVIM, H. G. D. O. Revisão sobre Anti-inflamatórios Não-Esteroidais: Ácido Acetilsalicílico. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, v.1, p. 169-174, 2018.

LIMA, C. C. A.; SILVA, L. J. D.; CASTRO, W. S. Anatomia Vegetal. **Instituto de Biologia Universidade Federal de Uberlândia**, 2006. Disponível em: <[http://www.anatomiavegetal.ib.ufu.br/recursosdidaticos\\_morfvegetalorga.htm](http://www.anatomiavegetal.ib.ufu.br/recursosdidaticos_morfvegetalorga.htm)>. Acesso em: 25 março 2019.

LUZ, L. T. S. et al. Avaliação e otimização das condições de obtenção do ácido acetilsalicílico para fins didáticos. **Educación Química**, v. 30, n. 2, p. 54-69, 2019.

MAGINA, M. D. A. Estudo fitoquímico e biológico de espécies do gênero *Eugenia*. **Tese de Doutorado em Química**, Florianópolis, 2008.

MARINHO, M. L. et al. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 64-69, 2007.

MATSUDA, M. et al. Roles of inflammation, neurogenic inflammation, and neuroinflammation in pain. **Journal of Anesthesia**, v. 33, n.1, p. 131-139, 2019.

MENDONÇA, R. C. et al. Flora Vascular do Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. Cerrado: ambiente e flora. **Embrapa Cerrados**, Planaltina, p. 287-556, 1998.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. Brasília, p. 21, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Política e Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. Brasília, p. 17, 2016.

MORESCO, H. H. Estudo fitoquímico e biológico de quatro espécies da família Myrtaceae. **Tese de Doutorado em Química**, Florianópolis, 2014.

MOSQUINI, A. F.; ZAPPA, V.; MONTANHA, F. P. Características farmacológicas dos anti-inflamatórios não esteroidais - Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, p. 1-7, 2011.

NIMER, E.; BRANDÃO, A. M. P. M. Balanço hídrico e clima da região dos Cerrados. **IBGE**, Rio de Janeiro, 1989.

OLIVEIRA, T. et al. Effect of *Allium cepa* L. on Lipopolysaccharide-Stimulated Osteoclast Precursor Cell Viability, Count, and Morphology Using 4',6-Diamidino-2-phenylindole Staining. **International Journal of Cell Biology**, 2014.

ORLANDI, Lidiane. Efeito antinociceptivo, anti-inflamatório e antidiarreico do extrato liofilizado da casca do caule de *Byrsonima intermedia* A. Juss (murici-pequeno). **Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas**, Alfenas, p.1-77, 2011.

PASTORI, T. et al. Genotoxic effects of *Campomanesia xanthocarpa* extracts on *Allium cepa* vegetal system. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, p. 1249-1255, 2013.

PATIL, K. R. et al. Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. **International Journal of Molecular Sciences**, n. 20, 2019.

PAULA, J. A. M. et al. Gênero *Pimenta*: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 3, p. 363-379, 2010.

PEREIRA, B. A. S.; VENTUROLI, F.; CARVALHO, F. A. Florestas Estacionais no Cerrado: Uma Visão Geral. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 446-455, 2011.

- PEREIRA, M. C. et al. Characterization and Antioxidant Potential of Brazilian Fruits from the Myrtaceae Family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 60, p. 3061-3067, 2012.
- PEREZ, D. A. et al. Switching Off Key Signaling Survival Molecules to Switch On the Resolution of Inflammation. **Mediators of Inflammation**, 2014. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/mi/2014/829851/>>. Acesso em: 18 maio 2019.
- PINTO, L. N. Citotoxicidade e produção de óxido nítrico em células RAW 264.7 tratadas com o extrato aquoso de *Campomanesia xanthocarpa*. **Monografia de Conclusão do Curso de Biotecnologia**, Uberlândia, 2018.
- RAJA, S. N. et al. The revised international association for the study of pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain: The Journal of the International Association for the Study of Pain**, v. 161, n. 9, p. 1976-1982.
- RIBEIRO, V. P. et al. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 253-268, 2018.
- SANT'ANNA, L. S. Efeitos do extrato da *Campomanesia xanthocarpa* sobre parâmetros cardiovasculares em ratos tratados com frutose. **Dissertação de Mestrado em Bioquímica**, Uruguaiana, p. 1-71, 2012.
- SANT'ANNA, L. S. et al. Chemical Composition and Hypotensive Effect of *Campomanesia xanthocarpa*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-11, 2017.
- SANTOS, M. D. S. et al. Caracterização físico-química, extração e análise de pectinas de frutos de *Campomanesia xanthocarpa* B. (Gabirola). **Semina: Ciências Agrárias**, p. 101-106, 2009.
- SANTOS, M. D. S. et al. Chemical characterization and evaluation of the antioxidant potential of gabirola jam (*Campomanesia xanthocarpa* Berg). **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 1, p. 73-82, 2013.
- SCOGNAMILLO-SZABÓ, M. V. R.; BECHARA, G. H. Acupuntura: Bases Científicas e Aplicações. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, p. 1091-1099, 2001.
- SILVA, E. E. S.; et al. Anti-inflammatory Evaluation and Toxicological Analysis of *Campomanesia xanthocarpa* Berg. **Inflammation**, v. 39, n. 4, p. 1462-1468, 2016.
- SOBEH, M. et al. *Syzygium aqueum*: A polyphenol-rich leaf extract exhibits antioxidant, hepatoprotective, pain-killing and anti-inflammatory activities in animal models. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. 566, 2018.
- SOUSA, I. J. O. et al. A Diversidade da Flora Brasileira no Desenvolvimento de Recursos de Saúde. **Revista UNINGÁ Review**, Piauí, v. 31, n. 1, p. 35-39, 2017.
- SOUZA-MOREIRA, T. M. et al. Antidiarrheal Activity of *Campomanesia xanthocarpa* Fruit. **Journal of Medicinal Food**, Araraquara, v. 14, p. 528-531, 2011.

SUGIMOTO, M. A. et al. Resolution of Inflammation: What Controls Its Onset? **Frontiers in Immunology**, v. 7, n. 160, 2016. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00160/full>>. Acesso em: 18 maio de 2019.

TROUVIN, A. P.; PERROT, S. New concepts of pain. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 33, 2019.