



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



JOYCE BEZERRA GUEDES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E
ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO
ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Eugenia gracillima* KIAERSK.**

Recife
2021

JOYCE BEZERRA GUEDES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E
ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO
ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Eugenia gracillima* KIAERSK.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas

Área de concentração: Sistemas Biológicos

Orientador (a): Prof^a Dra. Maria Tereza dos Santos Correia

Coorientador (a): Prof. Dr. Alisson Macário de Oliveira

Recife

2021

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB4/1788

Guedes, Joyce Bezerra

Composição química e avaliação da toxicidade aguda e atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial de *Eugenia gracillima* Kiaersk / Joyce Bezerra Guedes. – 2022.

63 f. : il.

Orientador: Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia.

Coorientadora: Prof. Dr. Alisson Macário de Oliveira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Plantas medicinais. 2. Plantas da Caatinga. 3. Eugenia (Planta). I. Correia, Maria Tereza dos Santos (orientadora). II. Oliveira, Alisson Macário de (coorientadora). III. Título.

581.634

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022-225

JOYCE BEZERRA GUEDES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E
ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO
ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Eugenia gracillima* KIAERSK.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 31/08/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Thiago Henrique Napoleão (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Alisson Macário de Oliveira (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco

Aos meus pais (Francisca Eliana e Josimar),
por tudo que sempre fizeram e fazem por mim.

AGRADECIMENTOS

Agradecer significa reconhecer o quanto precisamos dos que nos rodeiam; admitir que ninguém se faz sozinho. Agradeço a DEUS, meu grande mentor e consumidor de minha fé por todas as graças, luz e harmonia dispostas no meu caminho, mesmo quando eu não entendia os teus propósitos, pela saúde e coragem para concluir mais essa jornada.

Agradeço imensamente a minha orientadora, Prof^a Dra. Maria Tereza dos Santos Correia, pela confiança em aceitar me orientar nesse trabalho, por me acolher tão bem, por compartilhar seus conhecimentos me proporcionando tanto aprendizado no decorrer dessa pesquisa e por suas contribuições valorosas para a melhor construção desse trabalho. Muito obrigada por contribuir tanto para a minha formação profissional! À senhora toda minha gratidão e admiração.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Alisson Macário, agradeço imensamente pelo empenho e paciência na condução dessa pesquisa, obrigada pela confiança, pelo acolhimento e amizade que teve comigo desde o início, sem sua ajuda e contribuição não seria possível a conclusão desse trabalho. Você é uma pessoa incrível! Obrigada por tudo!

Agradeço de forma especial aos meus pais Josimar e Eliana, pois sei que mesmo em meio a tantas dificuldades, sempre lutam e fazem todo possível para que eu conquiste tudo que almejo. A vocês Pai e Mãe o mais sincero obrigado por todo amor, pela doação integral e desmedida, pelo exemplo de vida, pela coragem imensurável e pela força que nos sustenta e mesmo em meio a tantas dificuldades que nos cercaram durante esse período, nunca me deixaram desistir, e por sempre acreditarem no meu potencial de ir cada vez mais longe. Obrigado por serem os melhores pais que eu poderia ter. Essa conquista é por vocês. Amo imensamente vocês!

Aos meus irmãos Jocivan e Geiciane, não apenas agradeço, mas também compartilho esse momento importante de minha vida! Obrigada pela presença constante, pelo incentivo, companheirismo, por todo esforço em fazer com que esse dia chegasse, pela amizade e confiança, por todo amor e cuidado e por serem meu porto seguro. Amo muito vocês!

Agradeço de forma especial a Andreza Larissa, minha pessoa no mundo, obrigada pela companhia indispensável, por dividir comigo mais essa etapa de nossas

vidas, por ser parceira na construção desse trabalho, por compartilhar comigo os melhores e os mais difíceis momentos durante essa caminhada, por estar presente e me apoiar sempre, por ser minha família. Enfim, obrigada por fazer parte da minha vida e por me deixar fazer parte da sua. Amo você!

Aos professores que compõe a banca examinadora, Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão e Prof. Dr. Alisson Macário, obrigado por terem aceitado o convite, por suas valiosas observações e contribuições sobre esse trabalho no intuito de torná-lo cada vez melhor.

Agradeço ao meu querido amigo Wêndeo Costa, por ter me acolhido tão bem quando cheguei à Universidade, pela dedicação e paciência que teve ao me ensinar as metodologias necessárias a conclusão dessa pesquisa, por sua imensa contribuição na execução de todo esse trabalho. Gratidão por toda sua colaboração e principalmente pela sua amizade!

Agradeço a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), por me proporcionar uma bolsa que me permitiu concluir o curso de mestrado, esse apoio financeiro foi indispensável para a execução dessa pesquisa.

Agradeço à Universidade Federal de Pernambuco por dispor de infraestrutura física adequada para o desenvolvimento dessa pesquisa, e a todos os professores da Pós-graduação em Ciências Biológicas pelo empenho e elevada qualidade no ensino ofertado.

Ao Núcleo de Bioprospecção da Caatinga (Nbiocaat) e em especial à Prof^a. Dr^a. Márcia Vanusa da Silva sou grata por todas as experiências e conhecimentos compartilhados.

Enfim, à todos aqueles que contribuíram para a chegada desse momento, os meus sinceros agradecimentos, sem vocês essa conquista não seria possível. Muito obrigada!

RESUMO

As plantas medicinais se apresentam como importantes agentes no tratamento e/ou cura de diversas enfermidades, sendo amplamente utilizadas pela população em geral. Muitas das suas propriedades farmacológicas relatadas são comprovadas em estudos científicos. Dentre essas plantas com potencial medicinal, evidenciamos a *Eugenia gracillima*, que é amplamente utilizada pela população na amenização e cura de diversas enfermidades, apesar de possuir muito poucos relatos na literatura a respeito do seu potencial medicinal. Dessa forma, para obtenção do óleo essencial (OEEg), suas folhas foram submetidas ao método de hidrodestilação, sendo realizada a identificação da sua composição química, sendo posteriormente avaliado quanto a sua toxicidade aguda e sobre suas atividades anti-inflamatória e antinociceptiva, bem como o seu possível efeito no comportamento dos camundongos. A análise feita por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas evidenciou o *germacrene-D* como composto majoritário (16,10%). Nas concentrações avaliadas para toxicidade aguda (2000 mg/kg e 5000 mg/kg), não foram observadas mortes nem alterações comportamentais, bem como o peso e consumo de água e ração também não foram alterados na concentração de 2000 mg/kg, na concentração de 5000 mg/kg houve uma redução do peso em 53,96% e consumo de ração em 38,82%. A DL_{50} foi acima de 5000 mg/kg sendo classificado como atóxico ou pouco tóxico. Quando submetido ao teste de hemólise, o óleo apresentou taxas entre 0,79 a 1,91%, não demonstrando atividade hemolítica. Nos parâmetros hematológicos e bioquímicos avaliados não foram observadas alterações, exceto na concentração de 5000 mg/kg, que houve um aumento nos níveis de alanine aminotransferase e aspartate aminotransferase nos parâmetros bioquímicos. Na avaliação histopatológica, os órgãos internos dos animais não apresentaram alterações. Em relação ao potencial

antinociceptivo, as concentrações de OEEg submetidas aos testes de contorção abdominal apresentaram redução de 78,82 a 84,75%. No teste de formalina, na primeira fase houve redução da dor de 24,71 a 62,17% e na segunda fase essa redução foi de 81,19, 60,80 e 40,36%. No teste de movimento de cauda os resultados também foram positivos na diminuição da dor. Na avaliação da atividade anti-inflamatória, no teste de edema de pata as concentrações testadas inibiram a inflamação em 98,13 a 98,20%. No teste de peritonite houve diminuição na migração do número de leucócitos de 82,71, 76,54 e 64,19% e neutrófilos de 69,81, 66,03 e 54,71%. Os animais tratados com OEEg e submetidos aos testes comportamentais de campo aberto e labirinto em cruz elevado não demonstraram efeitos depressores na função motora e atividade exploratória desses animais. Dessa forma, conclui-se que o uso do OEEg é seguro, uma vez que não causa efeitos toxicológicos, hemolíticos nem comportamentais, e apresenta atividades farmacológicas antinociceptiva e anti-inflamatória.

Palavras-chave: Caatinga; Eugenia; plantas medicinais; inflamação; nocicepção.

ABSTRACT

Medicinal plants are important agents in the treatment and/or cure of various diseases, being widely used by the general population. Many of its reported pharmacological properties are proven in scientific studies. Among these plants with medicinal potential, we highlight *Eugenia gracillima*, which is widely used by the population in the alleviation and cure of various diseases, despite having very few reports in the literature regarding its medicinal potential, and there is also a single report on its composition. chemistry of the essential oil extracted from its leaves. Thus, to obtain the essential oil (EgEO), its leaves were subjected to the hydrodistillation method, with the identification of its chemical composition being carried out, and subsequently evaluated for its acute toxicity and its anti-inflammatory and antinociceptive activities, as well as its possible effect on the behavior of mice. The analysis performed by gas chromatography coupled to the mass spectrometer showed germacrene-D as the major compound (16.10%). In the concentrations evaluated for acute toxicity, no deaths or behavioral changes were observed, as well as the weight and consumption of water and feed were also not altered at the concentration of 2000 mg/kg. When submitted to the hemolysis test, the oil did not demonstrate hemolytic activity. In the hematological and biochemical parameters evaluated, no changes were observed, except at the concentration of 5000 mg/kg, which showed an increase in the levels of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in the biochemical parameters. In the histopathological evaluation, the internal organs of the animals did not show alterations. Regarding the antinociceptive potential, EgEO concentrations submitted to abdominal writhing, formalin and tail movement tests showed positive results in reducing pain. As in the evaluation of anti-inflammatory activity, in which the concentrations tested reduced inflammation in the paw edema tests and decreased the migration of the number of leukocytes and neutrophils in the peritonitis test. Animals treated with EgEO and submitted to behavioral tests in the open field and elevated plus-maze did not demonstrate depressive effects on the motor function and exploratory activity of these animals. Thus, it is concluded that the use of EgEO is safe, since it does not cause toxicological, genetic, hemolytic or behavioral effects, and has antinociceptive and anti-inflammatory pharmacological activities.

Keywords: Caatinga; *Eugenia*; medicinal plants; inflammation; nociceptive.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>E. gracillima</i>	25
Figura 2 - Fotomicrografias representativas dos fígados, rim, baço, pulmão e coração de camundongos fêmeas dos grupos controle e tratados com 2,000 ou 5,000 mg/kg de OEEg.....	45
Figura 3 - Efeito do óleo essencial de <i>E. gracillima</i> (OEEg) na contorção abdominal induzida por ácido acético	46
Figura 4 – Efeito do óleo essencial de <i>E. gracillima</i> (OEEg) em ambas as fases do ensaio de formalina.....	47
Figura 5 – Efeito do óleo essencial de <i>E. gracillima</i> (OEEg) no ensaio de imersão de cauda.....	48
Figura 6 – Investigação dos mecanismos de atividade antinociceptiva do óleo essencial de <i>E. gracillima</i> (OEEg) no teste da formalina.....	49
Figura 7 – Respostas de diferentes concentrações de óleo essencial de <i>E. gracillima</i> (OEEg) ao edema de pata induzido por carragenina.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial obtido das folhas de <i>E. gracillima</i> (EOEg).....	39
Tabela 2 – Avaliação do consumo de comida e água e ganho de peso dos animais do controle e tratados com o óleo essencial de <i>E. gracillima</i> (EOEg).....	41
Tabela 3 – Parâmetros hematológicos de camundongos tratados com óleo essencial de <i>E. gracillima</i> (OEEg).....	42
Tabela 4 – Parâmetros bioquímicos de sangue de camundongos tratados com óleo essencial de <i>E. gracillima</i> (OEEg).....	43
Tabela 5 – Efeito do óleo essencial de <i>E. gracillima</i> (OEEg) na migração de leucócitos e migração de neutrófilos na exsudação peritoneal em induzida por carragenina	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SNC	Sistema Nervoso Central
MS	Ministério da Saúde
PNPIC	Política de Práticas Interativas e Complementares no SUS
AINEs	Anti-inflamatórios esteroidais
COX	Ciclo-oxigenase
PEUFR	Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
OEEg	Óleo essencial de <i>Eugenia gracillima</i>
OE	Óleo Essencial
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
LCE	Labirinto em Cruz Elevado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	GERAL	16
2.2	ESPECÍFICOS.....	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1.	CAATINGA	17
3.2.	PLANTAS MEDICINAIS.....	19
3.3.	MYRTACEAE	23
3.4.	<i>EUGENIA</i>	24
3.5.	NOCICEPÇÃO	26
3.6.	INFLAMAÇÃO	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5	CONCLUSÕES	56
6	SÚMULA CURRICULAR	57
	REFERÊNCIAS	58

1 INTRODUÇÃO

As plantas desde muito tempo, são utilizadas como recurso médico pelas populações das mais diferentes origens e culturas (JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018a). Seu uso é praticado desde a antiguidade, podendo até serem consideradas a origem da medicina moderna, os compostos obtidos das plantas foram e ainda são uma importante fonte na produção de medicamentos (SALMERÓN-MANZANO; GARRIDO-CARDENAS; MANZANO-AGUGLIARO, 2020).

A sabedoria popular a respeito dos efeitos benéficos à saúde que algumas plantas possuem, para muitos, é o único meio de tratamento para enfermidades. Essa prática integra a medicina popular, constituindo saberes baseados em culturas antepassadas, onde as pessoas utilizam essas plantas como uma primeira alternativa para o tratamento de doenças, bem como também, para complementar tratamentos baseados no uso de fármacos (RODRIGUES, 2006). Dessa forma, as plantas medicinais se apresentam como importantes agentes no tratamento e/ou cura de diversas enfermidades, sendo amplamente utilizadas pela população em geral.

O domínio fitogeográfico da Caatinga representa uma importante fonte de plantas com características medicinais, compreende diferentes tipos de vegetação ocorrentes na região semiárida que se estende pela maioria dos estados nordestinos e pequenas porções de Minas Gerais (DE QUEIROZ et al., 2018). Apesar das condições adversas, apresenta uma enorme diversidade florística, essa diversidade permite que a vegetação nativa seja utilizada para diversos fins, além de ser amplamente utilizado na medicina popular (SILVINO; VIGLIO; FERREIRA, 2016).

Atualmente existe uma incessante busca por novas opções terapêuticas para tratar os mais diferentes tipos de enfermidades, uma vez que a maioria dos fármacos utilizados trazem consigo uma gama de efeitos adversos, que prejudicam o organismo daqueles que necessitam utilizá-los, somando-se a isso, muitos tem sua eficácia comprometida devido ao uso contínuo e excessivo, esses fatos evidenciam a necessidade pela descoberta de novas e eficazes alternativas para tratamento e cura das mais diversas doenças que afetam a população (PEREIRA; DE FREITAS, 2008). Dentro dessa problemática, estão os analgésicos e anti-inflamatórios, que são amplamente utilizados pela população no tratamento de dor e inflamação. São inúmeros os prejuízos que esses medicamentos têm provocado no organismo, desde problemas renais, hepáticos, sanguíneos e distúrbios gastrointestinais (RANG et al.,

2016).

Nesse sentido, os estudos etnofarmacológicos tem demonstrado uma enorme importância nesse campo, evidenciando o potencial farmacológico que as plantas possuem, e apresentando essas como alternativas promissoras na descoberta de novos fármacos (SALES; SARTOR; GENTILLI, 2015). O uso popular crescente dessas plantas, tem chamado atenção e despertado cada vez mais o interesse pela descoberta de seus potenciais farmacológicos, um exemplo é a família Myrtaceae, pertencente as Angiospermas, que vem ganhando destaque por apresentar uma enorme variedade de espécies, distribuídas em todas as regiões do Brasil, sendo amplamente utilizadas pela população para diversos fins, inclusive no campo medicinal, onde muitas de suas espécies são usadas para tratamento e cura de várias doenças (SILVA; RABELO; ENOQUE, 2015).

Dentre as espécies que constituem essa família, a maioria são pertencentes ao gênero *Eugenia*, esse, por sua vez, dispõe de mais de 1000 espécies, sendo que a maioria delas é amplamente utilizada pela população para fins medicinais, devido à presença de compostos que possuem potencial terapêutico (DE SOUZA et al., 2018). Esse gênero por sua vez, possui enorme relevância medicinal, sendo muito comum a utilização de suas plantas como óleo essencial. Esses óleos são constituídos por metabólitos secundários, que são referidos por apresentar atividades farmacológicas como, anti-inflamatório, antialérgico, antinociceptivo, dentre outras (CUNHA et al., 2016).

Dessa forma, objetivou-se nesse estudo, avaliar a toxicidade aguda em camundongos tratados com óleo essencial de *Eugenia gracillima* Kiaersk, determinar sua taxa hemolítica e avaliar as suas atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e determinar se seu óleo apresenta efeitos sobre a atividade comportamental.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar o potencial toxicológico, antinociceptivo, anti-inflamatório e atividade comportamental do óleo essencial das folhas de *E. gracillima*.

2.2 ESPECÍFICOS

- Extrair o óleo essencial das folhas de *E. gracillima*, através da técnica de hidrodestilação;
- Quantificar e identificar os componentes químicos do óleo essencial utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/MS);
- Avaliar a toxicidade aguda do óleo essencial de *E. gracillima*.
- Determinar a atividade antinociceptiva do óleo essencial de *E. gracillima in vivo*;
- Investigar a atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *E. gracillima in vivo*.
- Investigar as atividades comportamentais do óleo essencial de *E. gracillima*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. CAATINGA

O Brasil é amplamente conhecido por sua vasta biodiversidade, com uma extensão de 8,5 milhões de quilômetros quadrados, apresenta zonas biogeográficas distintas conhecidas como biomas e esses estão divididos em seis: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal, onde cada um deles apresentam características distintas (MMA, 2012). Dentre esses biomas, a Caatinga se destaca, por ser único e exclusivamente brasileiro, localizada inteiramente no semiárido nordestino, apresenta em sua composição uma ampla diversidade de fauna e flora (FERNANDES; CARDOSO; DE QUEIROZ, 2020). Está distribuída em sua maioria nos estados que compõe a região nordeste, Piauí, Ceará, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Bahia, Sergipe e Alagoas, e apresenta uma pequena parte na região sudeste do país, no estado de Minas Gerais.

Marcada pela ausência de chuva na maior parte do ano, apresenta um clima quente e é denominada de semiárido brasileiro. O solo apresenta inúmeras diferenças e variações de salinidade, profundidade, constituição mineralógica (RODAL et al., 1992). Na flora estão presentes inúmeras espécies que se adaptaram as condições adversas da região, clima, déficit hídrico, solo, dentre outras. Essas espécies adquiriram adaptações na sua anatomia e fisiologia, o que permitiu uma melhor adaptação ao ambiente semiárido predominante na região.

Possui uma vegetação caracterizada como florestas arbustiva-arbórea, com folhas caducas no verão, dotadas de espinhos, com presença de cactáceas e bromeliáceas, essas características permitem a sobrevivência das espécies nas condições do semiárido nordestino (ANDRADE-LIMA, 1981). Representa a quarta maior formação vegetacional do Brasil, cobrindo cerca de 60% do território do Nordeste (CASTELLETTI et al., 2005).

A Caatinga é um bioma caracterizado por possuir poucos tipos de vegetação, que sofrem uma enorme influência humana, transformando grandes áreas em terras agrícolas, áreas de pastagem e uma intensa exploração de madeira, principalmente para utilizar como fontes de energia (SILVA et al., 2011). Essas ações exploratórias tornam a vegetação degradada, fator que dificulta a visualização do real potencial que a Caatinga possui. Outro fator é que, essa região apresenta um período de estiagem,

onde a irregularidade das chuvas e as temperaturas elevadas são predominantes, e explicam o ambiente com paisagem semiárida, em que a vegetação perde as folhas e apresenta um aspecto seco e sem vida. No entanto, estudos realizados vêm demonstrando que, independente do que aparenta, a Caatinga revela um enorme potencial no que diz respeito a biodiversidade (RAMALHO, 2013).

Há vários estudos que demonstram diversas espécies vegetais endêmicas da Caatinga que apresentam enorme potencial econômico, podendo ser utilizadas na alimentação humana e animal, na produção de cosméticos e como fonte de compostos medicinais. Porém esse ecossistema se encontra ameaçado, devido ao desmatamento, uso irracional do solo, o que dificulta a sustentabilidade dos recursos florestais, sendo necessário ações prioritárias nessa região, visando a conservação da biodiversidade, pelo fato de abrigar uma flora com espécies endêmicas que apresentam um grande potencial medicinal, que beneficia não só as pessoas que residem na região, mas toda a população (DE ALMEIDA et al., 2005).

O estudo e conservação da diversidade biológica da Caatinga é um grande desafio para a ciência. Dentre as regiões naturais, essa é a menos estudada, sendo conseqüentemente a menos protegida, o que leva a um extenso processo de deterioração do ambiente, levando a uma alta perda de espécies e a formação de extensas áreas de desertificação em vários pontos da região (LEAL; TABARELLI; SILVA, 2003). Ocupa cerca de 11% do país, sendo o principal ecossistema da região Nordeste, possui uma alta diversidade florística. Os altos níveis de escassez de chuvas na região não prejudicam a sua riqueza, uma vez que, diversas espécies de frutas e plantas medicinais, têm seus centros de diversidade genética neste bioma (MAGALHÃES, 2019).

De acordo com Tabarelli (2003), ainda que a diversidade de plantas e animais seja menor nos ambientes semiáridos, do que nas florestas tropicais, eles dispõem de plantas e animais adaptados as suas condições, o que faz deles, ambientes com altas taxas de endemismos de fauna e flora. Existe uma visão errônea de que as regiões da Caatinga são extremamente secas e pobres em biodiversidade. No entanto, a Caatinga é, na verdade, um ecossistema único, pois está presente apenas no Nordeste do Brasil, característica que permite a existência de vegetais e animais, também únicos, uma vez que só sobrevivem nela. Nesse sentido, sua conservação é essencial para manter padrões climáticos, disponibilidade de água, solos férteis e produtivos, que influenciam não só na manutenção da biodiversidade local, mas

também do planeta (MMA, 2012).

A quantidade de estudos com plantas dessa região vem aumentando progressivamente, e diversas espécies já foram relatadas com grande potencial farmacológico, podendo ser usadas para diversos fins medicinais, revelando a riqueza de diversidade que está presente nessa região (ALBUQUERQUE et al., 2007). No entanto, toda a riqueza já revelada, ainda não tem sido suficiente para garantir a proteção dessa região. O bioma está entre os três do país com menor quantidade de áreas protegidas, dado que o leva a ser um dos mais ameaçados e alterados pela ação humana, principalmente em ações de desmatamento, o que coloca em risco toda essa riqueza que está sendo descoberta nas mais diversas espécies de plantas que compõe a sua vegetação (MMA, 2011). Essa problemática evidencia que é cada vez mais importante a realização de estudos que comprovem potenciais biológicos da Caatinga, e dessa forma, contribuam para uma maior ação no que diz respeito a proteção desse bioma.

Diversos estudos vêm demonstrando que a Caatinga é uma enorme fonte de espécies vegetais com elevado potencial econômico, pelo fato de estarem expostas a condições climáticas diferenciadas, essas plantas desenvolvem características químicas peculiares, que as tornam fontes de diversos compostos com ação farmacológica (JUVIK et al., 2017; SANTOS et al., 2018c; CERAVOLO et al., 2018).

3.2. PLANTAS MEDICINAIS

Registros arqueológicos comprovam que a utilização de plantas medicinais pela população para tratar e curar doenças é feito desde a pré-história (GURIB-FAKIM, 2006). Civilizações antigas, como a africana e indiana tinham bastante conhecimento sobre a localização e efeitos terapêuticos que as plantas possuem (GURIB-FAKIM, 2006; PHILLIPSON, 2001). De acordo com a Organização Mundial da Saúde, planta medicinal é definida como qualquer material vegetal, que possui em um ou mais órgãos, substâncias que possam ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos. Segundo a OMS também, cerca de 80% da população mundial, inclusive as pertencentes a países em desenvolvimento, fazem uso de plantas medicinais para cuidados primários com a saúde (OMS, 2005).

O conhecimento sobre potenciais efeitos terapêutico de plantas representa, na

maioria das vezes, o único recurso de tratamento de muitas comunidades. Mesmo em dias atuais, em regiões consideradas mais pobres, o comércio de plantas medicinais é praticado, sendo que grande parte das pessoas cultivam esse tipo de planta em seus próprios quintais residenciais (MACIEL et. al., 2002).

De acordo com Machado (2005), toda planta que possua em sua composição, substâncias químicas biologicamente sintetizadas (a partir de nutrientes, água e luz), que possam provocar no organismo humano e animal, reações que podem variar entre a cura e o abrandamento de doenças, através da ação de princípios ativos, pode ser considerada uma planta medicinal. Segundo Yunes e Calixto (2001) e Simões et. al., (2002), as plantas são uma importante fonte de produtos naturais biologicamente ativos, estes, portanto, se constituem como modelos para sintetizar um grande número de fármacos. Essa eficácia e segurança do uso terapêutico que tais medicamentos à base de plantas medicinais apresentam, são confirmadas através de estudos científicos que comprovam esses efeitos positivos.

A flora brasileira é muito diversificada, são inúmeras espécies de plantas, que representam excelentes fontes de diversidade química na busca por novos compostos com propriedades farmacológicas. Grande parte dos fármacos atuais estão relacionados com plantas medicinais, seja estabelecendo uma ligação direta, por meio do isolamento de moléculas de fonte natural, ou uma ligação indireta, tendo como resultado uma síntese a partir de moléculas protótipos observados nas plantas (DEVIENCE; RADDI; PZETTI, 2004).

Os conhecimentos e informações a respeito das plantas medicinais, são desde muito tempo, transmitidas gradualmente de geração em geração. Quase todas as culturas fazem uso delas como recurso médico, nesse sentido, estudá-las para garantir sua segurança, qualidade e eficácia, tornou-se atualmente, uma prioridade nos países industrializados e em desenvolvimento, uma vez que os medicamentos fitoterápicos, derivados de compostos ativos de plantas, podem auxiliar no surgimento de uma nova era no sistema de saúde para tratar doenças humanas (JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018b).

As plantas são fábricas químicas para a biossíntese de uma enorme diversidade de metabólitos secundários, e são eles que constituem a base de muitos medicamentos farmacêuticos comerciais e fitoterápicos. Os diferentes constituintes químicos das plantas medicinais, como alcaloides, terpenoides e fenilpropanoides, possuem atividades biológicas, que podem ser utilizadas no desenvolvimento de

medicamentos, para melhorar a saúde humana (LI et al., 2020).

Esses metabólitos secundários possuem diversas funções, dentre elas, estrutura, sinalização, efeitos estimuladores e inibitórios sobre as enzimas, atividade catalítica, defesa e interação com microorganismos. A evolução da importância comercial desses metabólitos nos últimos anos, resultou em um grande interesse por essas substâncias. Eles são uma ampla variedade de compostos ativos biossinteticamente derivados de metabólitos primários, variam em qualidade e quantidade para determinadas espécies de plantas. As plantas medicinais são ricas em metabólitos secundários, um enorme grupo de substâncias químicas que têm sido amplamente utilizados na indústria farmacêutica (CHITRA JAIN; SHIVANI KHATANA; REKHA VIJAYVERGIA, 2019).

Esses metabólitos são classificados de acordo com as vias biossintéticas, divididos em quatro famílias de moléculas, alcaloides, flavonoides e esteroides. Os alcaloides constituem a maior classe única de metabólitos secundários, são conhecidos por possuir efeitos farmacológicos e são utilizados em medicamentos como drogas recreativas, demonstrando também possuir sobre vários vírus (MALLIKHARJUNA; SEETHARAM, 2009). Os flavonoides possuem forte presença nas frutas, sementes, caules e folhas, são conhecidos também por possuírem importantes propriedades medicinais, sendo descritos como potentes antioxidantes e eliminadores de radicais livres, possuindo também forte atividade anticâncer (MACHADO et al., 2008). Os fitoesteróis possuem funções estruturais, como constituintes de membrana, são o matéria de partida para a biossíntese de plantas, evidências apontam que eles possuem atividade antioxidante, anti-inflamatória e anticâncer, o que faz dos esteróis vegetais, fontes químicas industrialmente importantes (PACHECO BORGES; AMORIM, 2020).

O Brasil é o país com maior diversidade vegetal do mundo, porém, apenas 8% dessas espécies foram estudadas em busca de compostos bioativos. Boa parte da flora brasileira, incluindo principalmente plantas nativas, ainda são desconhecidas nos quesitos fitoquímicos e farmacológicos. Diversas espécies são usadas de forma empírica, e sem respaldo científico a respeito da sua segurança e eficácia, fatos que revelam o descaso dos líderes em lidar com o vasto celeiro de moléculas a serem descobertas, que é a flora brasileira (SIMÕES *et al.*, 2002).

Em vários municípios brasileiros, a fitoterapia é a principal opção medicamentosa, que se adequa as necessidades de atendimento primário a saúde

das populações locais (MARQUES et al., 2019). De maneira geral, a expansão da utilização da fitoterapia como opção medicamentosa, está relacionada a diversos fatores, que incluem, efeitos adversos de medicamentos sintéticos, comprovação científica de propriedades farmacológicas de diversas espécies vegetais, o que permitiu uma maior preferência de consumidores por tratamentos de origem natural e relativamente de baixo custo, e o desenvolvimento de novos métodos de análise desses compostos para controle de (MELO et al., 2021).

Muitas das preparações que tem como base as plantas medicinais, necessitam da realização de mais e mais estudos detalhados e completos, que incluam uma padronização clínica, que incluam testes biológicos *in vitro* e *in vivo* com modelos animais, além de uma avaliação clínica rica em detalhes de informações a respeito dos benefícios e possíveis riscos que essas preparações podem conter (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010a). No Brasil, em 2004, foi aprovada a Resolução nº 48, que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e, entre outros pontos, abrange as etapas de controle de qualidade da droga vegetal, do produto acabado e da importação de produtos fitoterápicos (Anvisa, 2004).

Algumas diretrizes das quais dispõe o decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006, sobre a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, incluem a garantia e promoção de segurança e eficácia das plantas medicinais utilizadas como fitoterápicos, promover e reconhecer as práticas populares de uso das mesmas, que incluem a produção de remédios caseiros, bem como proporcionar uma prática correta de cultivo e manipulação dessas plantas, não só no seu uso caseiro, mas também na produção de fitoterápicos, através da existência de uma legislação específica nesse quesito (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010a)

Atualmente ainda existem certas resistências em relação ao uso de medicamentos provenientes de plantas, esse fato tem relação com a origem extrativa de boa parte dessas plantas medicinais que são comercializadas no Brasil, seja proveniente da Mata Atlântica, da Amazônia, Caatinga ou Cerrado, a extração é feita, em boa parte das vezes, de forma incorreta, expondo essas espécies a riscos de extinção e sustentabilidade, além de fraude e contaminação do material. Outro fator que contribui para essa resistência ao uso, é a falta de uma padronização dos extratos obtidos, que podem conter ou não o princípio ativo ou compostos tóxicos na quantidade aceitável, o que interfere na qualidade dos fitoterápicos (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010b)

A falta de metodologias adequadas de avaliação, por vezes é o motivo pelo qual dados de eficácia e segurança não serem suficientes para dar suporte ao uso dessas plantas. E, em se tratando da composição, muitas vezes não se tem estabelecido o princípio ativo ou tóxico, sua concentração e seu conhecimento farmacológico e toxicológico (Barata, 2005; Springfield et al., 2005). Nesse sentido, visando diminuir a resistência da prescrição de fitoterápicos, e com a finalidade de aumentar a possibilidade de adesão da população ao tratamento, é de extrema importância, não só o controle de qualidade desde o cultivo da droga vegetal até o produto final, mas também o estudo fitoquímico das plantas, farmacológico e toxicológico (Melo et al., 2007).

3.3. MYRTACEAE

As Myrtaceae são plantas ricas em bioativos, destacando-se os taninos os flavonoides, terpenoides e os óleos voláteis (CELAJ et al., 2021). Está inserida na ordem Myrtales compreende cerca de 150 gêneros e 3600 espécies, distribuída em zonas tropicais, sendo a terceira com maior riqueza de espécies (BEECH et al., 2017).

As plantas dessas famílias são lenhosas, arbustivas ou arbóreas com folhas inteiras, opostas alternadas e suas flores a maioria das vezes são brancas em poucos casos são coloridas em sua maioria bissexuais, apresentando sépalas livres, seus frutos são uma capsula loculicida, indeiscente ou do tipo baga carnuda (WILSON, 2011). O potencial econômico desta família recebe muita visibilidade, plantas desta família, são utilizadas como alimentos e remédios naturais (LOURENÇO et al., 2012).

É considerada uma das mais importantes famílias pertencente as Angiospermas, sendo a melhor representada no Brasil, as Myrtaceae dispõem de uma ampla variedade de espécies que estão distribuídas em todos os biomas brasileiros, sendo muito utilizadas pela população local para diversos fins, desde farmacológicos até alimentício (MORAIS; CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014).

Os gêneros com maior número de espécies são *Malaleuca*, *Eucalyptus*, *Myrcia*, *Syzygium*, *Psidium* e *Eugenia* (LOURENÇO et al., 2012). No campo medicinal, diferentes espécies pertencentes a essa família são popularmente utilizadas como antimicrobianos, antidiarreicos, anti-inflamatórios e antioxidantes (CONSOLINI; BALDINI; AMAT, 1999; OGUNWANDE et al., 2005). Dentro das angiospermas, as Myrtaceae recebem grande destaque, estando presente nos mais diferentes

territórios brasileiros, sendo muito utilizada na medicina popular (CRUZ; KAPLAN, 2012).

3.4. *EUGENIA*

Praticamente um terço das espécies que constituem essa família, são pertencentes ao gênero *Eugenia*. As plantas que representam esse gênero, geralmente são árvores ou arbustos perenes, que apresentam folhas opostas, seus frutos são em grande maioria comestíveis, e possuem atributos específicos, como cor e odor característicos (FLORA DO BRASIL, 2020). Possuem inflorescência axilares ou laterais com flores tetrâmeras, com cerca de 1009 espécies, sendo descrita cerca de 400 no território brasileiro (GOVAERTS et al., 2008). onde são encontradas duas *Eugenia*s nativas *E. copacabanensis* (DE CARVALHO MARTINS et al., 2021) e *E. marambaiensis* (DA COSTA SOUZA; MORIM, 2008). Muitas espécies desse gênero são utilizadas dentro e fora do Brasil na medicina popular, por apresentar diversos compostos com potencial terapêutico, (QUEIROZ et al., 2015), podendo ser usado o caule, folhas, cascas, frutos, flores e sementes (USMAN; CHOUBEY, 2017).

Dentre as espécies utilizadas podemos citar: *E. Brejoensis* (WENG KONG et al., 2020) *E. singampattiana* (JOHN et al., 2014), *E. jambolana* (PON PREEJA; GEETHA, 2020), *E. caryophyllus* (CHAVAN; KALSHETTI; NAVINDGIKAR, 2020), *E. malaccensis* (FIGUEIRÔA et al., 2013) *E. pyriformis* (DURAZZINI et al., 2019), *E. brasiliensis* (SIEBERT et al., 2020), *E. dysenterica* (DONADO-PESTANA et al., 2018), *E. involucrata* (VECHI et al., 2018), *E. uniflora* (DE SOUZA et al., 2018), *E. umbelliflora* (DEMARCHI et al., 2020), sendo descritas diversas atividades biológicas já comprovadas cientificamente, anti-inflamatórias, antibacterianas, antifúngica, antinociceptiva, antioxidante, dentre outras (GU et al., 2001; ABOUTABL et al., 2011; SOUZA et al., 2018; PEREIRA et al. 2017).

A *Eugenia gracilima* Kiaersk, (figura 1), espécie foco do estudo, é uma Myrtaceae endêmica da região da Caatinga, de vegetação de floresta subcauducifolia, sendo muito pouco estudada, e conseqüentemente existem poucos relatos na literatura a respeito do seu potencial de aplicação biotecnológica. Um desses é o estudo de Sampaio et al., (2019), que apresenta dados sobre o potencial antioxidante e antiprotozoário do óleo essencial extraído das folhas de *E. gracillima* (GOMES VIDAL SAMPAIO et al., 2019).

Figura 1: *Eugenia gracillima* Kiaersk



Fonte: Autora (2020)

Os óleos essenciais são constituídos a partir da mistura de substâncias voláteis e naturais, possuem como principal característica, a presença de odor forte e apresentam uma enorme variedade de aplicações, tendo importância comercial nas indústrias farmacêutica, alimentícia, de cosméticos e perfumaria (DE CÁSSIA DA SILVEIRA E SÁ; ANDRADE; DE SOUSA, 2013). São derivados de fenilpropanoides ou compostos terpênicos encontrados nas diferentes partes das plantas, podendo ser extraído por diferentes métodos e sendo amplamente utilizados pela população em geral, como medicamento de origem natural (LOPES et al., 2017). Estudos como esse aqui proposto, a respeito de propriedades biológicas de óleos essenciais, associando sua aplicação no tratamento de dores, inflamações, doenças virais, câncer, dentre outras, tem aumentado cada vez mais, evidenciando os potenciais de aplicação desses óleos e sua importância farmacológica para a população que deles fazem uso (CUNHA et al., 2016). Nesse sentido, estudos como esse são de extrema importância,

uma vez que comprovam a ação desses compostos e trazem segurança as pessoas que fazem uso dessas substâncias naturais para tratar enfermidades.

3.5. NOCICEPÇÃO

De acordo com a Associação Internacional para Estudos da Dor (IASP, 2018), a dor é definida como uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial, ou descrita nos termos de tal lesão.

A dor é uma experiência subjetiva, e, portanto, difícil de defini-la exatamente. É um processo fisiológico e protetor, uma vez que é por meio dela que pode se perceber sinais de alerta para situações que ofereçam perigo ao organismo, e a partir daí, agir no intuito de protegê-lo. E sua intensidade envolve diversos fatores, além do estímulo que a provoca.

O termo nocicepção, é utilizado para designar dor, e está relacionado ao processo de reconhecer os sinais de dor através do sistema nervoso, que é o responsável por formular as informações que estão relacionadas a uma determinada lesão (KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008). Expor o corpo a ações ou estímulos potencialmente nocivos, desencadeia sensações desagradáveis, sinalizando para o indivíduo que é uma situação de real ou potencial perigo, que pode colocar em risco a sua integridade física, o processamento dessa informação pode ser distinguido como dor fisiológica ou patológica (FANTONI e MASTROCINQUE, 2002; ALMEIDA et al., 2006).

De acordo com sua origem, a dor pode ser definida como nociceptiva, que é aquela que resulta de uma ativação direta dos nociceptores que estão localizados na pele e outros tecidos, desencadeando uma resposta a uma lesão tecidual, geralmente vem acompanhada de uma inflamação, e a neuropática que acontece quando há uma lesão em nervos periféricos, ou no sistema nervoso central (ALEIXO et al., 2016).

Em relação ao tempo e duração, as dores podem ser agudas ou crônicas. A dor aguda é resultado da ativação dos nociceptores locais, e age como uma resposta fisiológica a um estímulo que pode ser químico, térmico ou mecânico, desempenha um importante papel no que diz respeito a alertar acerca de um possível problema que exija maior investigação e cuidado, geralmente dura poucos dias, uma vez que, tende a desaparecer quando inicia-se o tratamento (COHEN; JANGRO; NEFF, 2018). Já a dor crônica, geralmente é mais duradoura, chegando a durar de 3 meses ou mais, não

regredindo no início do tratamento, sendo referida como uma dor intratável (BRODIN; MALIN; LEIF, 2016). É considerada mais uma doença do que um sintoma referente a outro problema, apesar da dificuldade de tratamento, na maioria dos casos, as pessoas que apresentam esse tipo de dor, são tratadas com os chamados opioides (ANWAR, 2016).

O ópio é uma substância extraída da papoula, nome popular do *Papaver somniferum*, espécie pertencente a família *Papaveraceae*. Essa substância é a base dos chamados opioides, termo utilizado para designar todas as substâncias naturais, semi-sintéticas ou sintéticas que reagem com os receptores opioides (DUARTE, 2005). Os opioides dispõem de receptores espalhados em todo o sistema nervoso central, isso permite com que eles apresentem diferentes efeitos de acordo com o tipo de receptor ativado ou inibido, fato que lhe permite possuir efeitos, desde analgésicos a depressores do sistema nervoso central (MELO et al., 2020). Devido ao seu alto efeito analgésico, são amplamente utilizados no tratamento de dores agudas e principalmente crônicas, porém, essas propriedades poderosas podem rapidamente levar o usuário ao vício, desenvolvendo tolerância e dependência (MELO et al., 2020). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2014), cerca de 70 mil mortes de pessoas por ano, são ocasionadas por overdose de opioides.

A intensidade da dor depende de muitos fatores, além do estímulo que a provoca, e clinicamente inúmeros analgésicos, principalmente os derivados de opioides, são eficazes no controle significativo do sofrimento associado a dor. No entanto, apesar desses medicamentos demonstrarem uma alta eficácia, como recompensa trazem consigo também inúmeros efeitos adversos prejudiciais a saúde do indivíduo, entre eles, o alto comprometimento do sistema nervoso central (PEREIRA et al., 2015).

Dessa forma, se faz necessária a busca por novas drogas eficazes no tratamento da dor, que apresentem pouco ou nenhum efeito adverso, garantindo dessa forma, a segurança e bem-estar dos indivíduos que necessitam fazer uso desses medicamentos. Nesse sentido, o uso de plantas medicinais apresenta-se como uma importante alternativa nesse campo, uma vez que algumas espécies têm demonstrando uma enorme eficácia e segurança comprovada nesse campo (PIMENTEL et al., 2015).

3.6. INFLAMAÇÃO

O processo inflamatório é a forma do organismo responder a um determinado dano ou lesão em um tecido. A inflamação é um importante mecanismo de defesa, uma vez que atua como uma resposta do sistema imunológico acerca de estímulos nocivos ao organismo, como por exemplo, a presença de patógenos, células danificadas, compostos tóxicos, entre outros casos (CHEN et al., 2018). A nível de tecido, as inflamações apresentam algumas características específicas, como, dor, vermelhidão, inchaço, calor, perda de função do tecido, são esses sintomas que desencadeiam respostas das células imunológicas e inflamatórias à lesão ou infecção (TAKEUCHI; AKIRA, 2010)

O processo inflamatório é resposta de várias doenças crônicas, como por exemplo, câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, dentre outras (LIBBY, 2007). Essa resposta inflamatória é o resultado da ativação de vias sinalizadoras que atuam regulando os níveis de mediadores inflamatórios nas células dos tecidos e inflamatórias presentes no sangue (LAWRENCE, 2009). Apesar desse processo depender principalmente da localização no corpo e do estímulo inicial, todos compartilham do mesmo mecanismo, que consiste basicamente, no reconhecimento dos estímulos danosos por parte dos receptores da superfície celular, ativação das vias inflamatórias, em seguida há a liberação dos marcadores inflamatórios e por último as células inflamatórias são recrutadas (CHEN et al., 2018).

São muitas a quantidade de células e mediadores químicos que participam do processo inflamatório. Esses chamados mediadores inflamatórios exercem várias funções na manutenção ou resolução da inflamação, pode possuir origem tecidual ou plasmática, suas ações estão envolvidas na formação do edema e surgimento da dor, e tem o intuito de corrigir os prejuízos causados pelos agentes agressores (COSTA et al., 2012).

Com base no seu tempo de duração, a resposta inflamatória pode ser dividida em dois estágios, a inflamação aguda e a crônica. A inflamação aguda é considerada o estágio inicial da inflamação, pois sua resposta ocorre de imediato ao dano, há a presença dos sinais inflamatórios e geralmente dura apenas por um curto período de tempo, sendo benéfica ao hospedeiro. Porém, se essa resposta inflamatória persiste por um período mais longo, a inflamação crônica se instala havendo a manutenção do agente agressor, o que pode levar o hospedeiro a desenvolver diversas doenças

inamatórias crônicas (COSTA et al., 2012); (DA SILVA et al., 2014).

Os sinais da inflamação, como aumento do fluxo sanguíneo, elevação do metabolismo celular, vasodilatação, dentre outros, e os mecanismos que tem relação com o processo inflamatório, são comuns, independente de qual fator é responsável por causar a inflamação (FERRERO-MILIANI et al., 2007). Quando o agente inflamatório se apresenta, a fosfolipase A₂ é ativada através das membranas celulares, e em seguida atuam liberando os mediadores inflamatórios que vão agir aumentando a permeabilidade e facilitando o processo migratório dos leucócitos até o local atingido pela inflamação (FALCÃO et al., 2005).

Uma enorme parcela da população é acometida por algum distúrbio relacionado a inflamação, inclusive, a sua presença é responsável pela manifestação de diversas doenças crônicas. Embora apresente grande ocorrência, o tratamento das doenças inflamatórias crônicas ainda é encarado como um desafio, pois ainda que vários agentes sejam de fácil acesso, a falta de medicamentos que apresentem eficácia e segurança no seu uso ainda é um problema, assim como também os sérios efeitos adversos que seu uso prolongado pode trazer (KULKARNI; ACHAI AH; NARAHARI SASTRY, 2006). Atualmente, as abordagens terapêuticas utilizadas para tratar as doenças inflamatórias, são baseadas nas enzimas pró-inflamatórias da ciclooxigenase (COX-1 e 2). Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs), são medicamentos utilizados na redução das consequências da inflamação, eles atuam inibindo as etapas iniciais da biossíntese das prostaglandinas por meio da ciclooxigenase (COX) (PATIL et al., 2019). No entanto, seu uso está relacionado a inúmeros efeitos adversos indesejáveis como, toxicidades cardiovasculares, gastrointestinais e renais (SOFIDIYA et al., 2014).

Nesse sentido, considerando as várias limitações que os anti-inflamatórios atuais apresentam, torna-se urgente a busca por desenvolver novos e eficazes fármacos para tratar esse tipo de enfermidades. Encontrar medicamentos seguros e eficazes para tratar a inflamação tem sido considerado um enorme desafio, a principal estratégia para vencer esse desafio, tem se pautado na utilização de fitoquímicos ou fitoconstituintes, moléculas derivadas de plantas ou produtos naturais, que estão se apresentando como a principal fonte de drogas que podem apresentar ação anti-inflamatória (PATIL et al., 2019). Os produtos naturais se apresentam como opções seguras, eficaz e de baixo custo para tratar os diversos tipos de doenças inflamatórias (RAKIB et al., 2020). Dessa forma, eles são considerados a estratégia mais racional

e produtiva para atuar na cura dessas doenças (SOFIDIYA et al., 2014).

Inúmeros estudos científicos têm demonstrado o potencial que as plantas possuem no tratamento de enfermidades inflamatórias (NAGORI et al., 2010). Como exemplo, podemos citar o estudo de Sobeh et al., (2019), em que o extrato metanólico das folhas de *Eugenia uniflora* apresentou atividade anti-inflamatória frente aos testes submetidos (SOBEH et al., 2019). No estudo realizado por Costa et al., (2020), o óleo essencial obtido das folhas de *Eugenia stipitata* também apresentou propriedades anti-inflamatórias frente aos modelos utilizados (COSTA et al., 2020). E outro exemplo é o estudo de Basting et al., (2014), em que o extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia punicifolia* apresentaram importante potencial anti-inflamatório (BASTING et al., 2014). Portanto, esses e outros estudos que demonstram o potencial anti-inflamatório das plantas, fazem delas uma importante e promissora fonte de compostos que possam ser utilizados no desenvolvimento de novos e eficazes fármacos com ação anti-inflamatória.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dessa dissertação estão apresentados na forma de artigo.

O óleo essencial de *Eugenia gracillima* Kiaersk alivia a dor e a inflamação sem causar toxicidade oral em camundongos

Joyce Bezerra Guedes^{a*}, Andreza Larissa do Nascimento^a, Wêndeo Kennedy Costa^a, Bruno Oliveira de Veras^c, Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de Aguiar^b, Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro^b, Thiago Henrique Napoleão^a, Márcia Vanusa da Silva^a, Alisson Macário de Oliveira^a and Maria Tereza dos Santos Correia^a

¹*Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.*

²*Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-540, Recife, Pernambuco, Brasil.*

³*Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil*

Resumo

Compostos a base de plantas tem sido relatado na literatura como potenciais substitutos terapêuticos no tratamento de diversos tipos de enfermidades. O gênero *Eugenia*, pertencente à família Mytaceae, tem ganhado destaque por apresentar importantes atividades biológicas. Nesse estudo, o óleo essencial extraído das folhas de *Eugenia gracillima* foi avaliado, quanto a sua toxicidade aguda, atividade anti-inflamatória e antinociceptiva e quanto ao seu possível efeito na função motora em camundongos. O óleo essencial foi obtido pelo método de hidrodestilação, e a análise feita por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas, apresentando o *germacrene-D* como composto em maior quantidade. Não foram observadas nenhuma morte, nem alterações comportamentais de camundongos, nas concentrações avaliadas para a toxicidade oral. O consumo de água e ração e o peso dos animais não foram alterados na concentração de 2000 mg/kg. O óleo não apresentou atividade hemolítica e não danificou as membranas das células. Os

parâmetros hematológicos avaliados não foram alterados após o tratamento. Na análise dos parâmetros bioquímicos evidenciou-se, na concentração de 5,000 mg/kg um aumento nos níveis de alanine aminotransferase e aspartate aminotransferase. Já na avaliação histopatológica, os órgãos internos dos animais apresentaram textura, cor e aparência sem alterações, entretanto, o tratamento com 5,000 mg/kg apresentou discreto infiltrado leucocitário ao redor da veia centrolobular. A atividade antinociceptiva foi comprovada através dos testes de contorção induzida por ácido acético, formalina e movimento de cauda. Na avaliação da atividade anti-inflamatória, foi observada redução da inflamação no teste de edema de pata e diminuição na migração do número de leucócitos e neutrófilos no teste de peritonite. Os testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado demonstraram que o óleo não afetou a função motora e a atividade exploratória dos animais. Assim sendo, conclui-se que o óleo essencial de *Eugenia gracillima* apresenta atividades farmacológicas antinociceptiva e anti-inflamatória, sendo o seu uso seguro, uma vez que, não causa danos toxicológicos, genéticos, hemolíticos ou comportamentais.

Palavras-chave: Caatinga; Eugenia; antinociceptivo; anti-inflamatório; germacrene D.

Introdução

A dor é caracterizada como uma sensação desagradável que sinaliza a presença ou desenvolvimento de lesões reais ou potenciais. Uma das formas de classifica é em relação ao tempo e suas características, podendo ser aguda ou leve, constante ou intermitente, geralmente tratada com analgésicos e/ou anti-inflamatórios (LIMA; TRAD, 2007).

Assim, a grande parte das situações dolorosas podem estar ligadas a processos inflamatórios que são gerados por uma reação de defesa do organismo frente a uma agressão, podendo vir de agentes físicos, químicos e biológicos (WONGRAKPANICH et al., 2018). No entanto, tanto os analgésicos opioides, como os anti-inflamatórios, trazem consigo vários efeitos adversos que causam prejuízos à saúde, tais como: efeitos deletérios no sistema nervoso central (Vella-Brincat e Macleod, 2007), efeitos adversos imediatos como náusea, tontura; além de associação a complicações mais sérias como, overdose, intoxicação e dependência (LADOUCEUR, 2011). Nesse sentido, compostos a base de plantas tem sido relatado

na literatura como potenciais substitutos terapêuticos no tratamento da dor (BASTING et al., 2014), e inflamação (COSTA et al., 2016).

As plantas medicinais apresentam em sua composição agentes importantes, capazes de auxiliar no tratamento e cura de diversas doenças, contribuindo para a melhoria da saúde humana. Essas plantas produzem substâncias que as tornam uma ótima fonte, na busca por novos compostos terapêuticos (Wurtzel e Kutchan, 2016). Nessa perspectiva, a região Nordeste do Brasil se destaca, por apresentar em sua rica flora, produtos naturais com propriedades medicinais de grande importância. Tendo como destaque o domínio fitogeográfico da Caatinga, onde o uso de plantas medicinais como forma de tratamento e/ou cura de diversas doenças vem crescendo exponencialmente e em virtude da pouca quantidade de espécies estudadas, caracteriza-se como um vasto celeiro de moléculas a serem descobertas (SARAIVA et al., 2015), dentre estas espécies destaca-se a família botânica Myrtaceae.

Existem diversos relatos na literatura de óleos essenciais, extraídos de espécies do gênero *Eugenia*, pertencente a essa família, que apresentam potencial anti-inflamatório (Costa et. al., 2016), antimicrobiano (Santos et. al., 2020; Rodrigues et. al., 2017), antinociceptivo (Basting et. al., 2014), dentre outras atividades. A *Eugenia gracilima* Kiaersk, é endêmica da Caatinga, de vegetação de floresta subcauducifolia, podendo ser encontrada no município de Exu, no estado de Pernambuco. Existem relatos na literatura a respeito do potencial de aplicação biotecnológica do seu óleo essencial, apresentando resultados satisfatórios como antioxidante e antiprotozoária contra algumas formas de promastigotas (GOMES VIDAL SAMPAIO et al., 2019), no entanto, até o momento há poucos relatos a respeito da sua atividade terapêutica. Desse modo, considera-se importante e necessária a realização de estudos que avaliem um possível efeito de toxicidade que essa planta pode apresentar, bem como avaliar a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial extraído de suas folhas.

Materiais e métodos

Extração de material botânico e óleo essencial

Folhas de *Eugenia gracillima* foram coletadas no município de Exu, Pernambuco, Brasil (7 ° 21'16.3 "S 39 ° 53'15.5" W), região do bioma Caatinga. A

exsiccata foi identificada com o voucher número 91.440, e depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA / PE). As folhas coletadas foram imediatamente lavadas em água destilada e secas à temperatura ambiente (27 ° C). Em seguida, o material vegetal foi submetido ao processo de hidrodestilação por 4 h em dispositivo tipo clewenger para obtenção do óleo essencial.

Caracterização química do óleo essencial de *E. gracillima*

A identificação dos compostos presentes no EgEO foi feita por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa (GC-MS), utilizando-se instrumento quadripolar Agilent 5975C GC / MSD, equipado com coluna capilar de sílica fundida DB-5 não polida Agilent J; W (filme de 30 m × 0,25 mm: espessura: 0,25 µm). Para isso, 1 µL de EgEO foi injetado em modo dividido (50: 1) em um fluxo de 1 ml / min mantido a uma pressão constante de 7,0 psi em temperaturas quadripolares de 230 ° C e 150 ° C. Os espectros de massa foram realizados a 70 e V (no modo EI) com uma velocidade de varredura de 1,0 varreduras de 35-350 m / z. Os componentes individuais foram identificados por comparação com os valores de índice de retenção relatados anteriormente, adquiridos por co-injeção de amostras de EgEO em hidrocarbonetos lineares C9-C30, calculados de acordo com a equação de V den Dool e Kratz (1963). Em seguida, utilizando as mesmas condições acima, os componentes presentes no EgEO foram quantificados por Cromatografia Gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID) com base na área do pico de cada composto no cromatograma. Os dados de MS adquiridos para cada componente foram comparados com os dados disponíveis na biblioteca espectral de massa do sistema GC-MS (MassFinder 4, Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburgo, Alemanha); NIST08 Mass Spectral Library (ChemSW Inc. Fairfield, CA, EUA); Wiley Registry TM de Mass Spectral Data 9ª Edição (Wiley, Hoboken, NJ, EUA) e com outros dados espectrais de massa publicada (Adams, 2007). As análises foram realizadas em triplicata.

Condições do biotério e aprovação ética

As abordagens experimentais in vivo deste estudo têm parecer favorável do Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pernambuco (nº

0067/2021) seguindo as recomendações da legislação brasileira para experimentação animal. Foram utilizados camundongos albinos suíços, machos e fêmeas, pesando entre 30 e 35g, com idade entre 50-55 dias, do Laboratório de Imunopatologia Keizo Assami (LIKA). Sendo mantidos em condições padrão (ciclo claro / escuro de 12 horas, 22 ± 2 ° C e umidade de 50–55%) com espécies devidamente alimentadas com ração padrão (Purina) e com água fornecida ad libitum. Antes dos protocolos experimentais, os animais foram aclimatados e jejuados por 6 horas.

Avaliação de segurança por testes de toxicidade

Potencial hemolítico

O teste foi baseado no protocolo estabelecido por Jimenez et al. (2003). Os eritrócitos de camundongos foram previamente centrifugados (10 min, 3800 rpm) e uma suspensão a 2% foi incubada em placas de 96 poços com uma solução de NaCl a 0,85% e EgEO (156,25-5.000 mg / mL) por 30 min a 27C. Em seguida, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante removido para dosagem da hemoglobina liberada em leitor de espectrofotômetro a 540 nm de absorbância.

Toxicidade oral aguda em camundongos

Grupos de camundongos fêmeas (n = 5) foram separados aleatoriamente e receberam os seguintes tratamentos: EgEO (2.000 mg / kg ou 5.000 mg / kg) ou NaCl 0,9% (Controle). Imediatamente e por até 4 horas, os camundongos foram observados individualmente quanto à sensibilidade ao toque e som, alterações na pele, olhos e membranas mucosas, mobilidade e comportamento agressivo. Posteriormente, os animais foram alocados em seus respectivos grupos e monitorados diariamente por 14 dias, quanto ao consumo de ração, água e peso corporal (OECD, 2001). Ao final do teste (15º dia), os animais foram anestesiados com solução de cetamina 90 mg / kg / ip e xilazina 5 mg / kg / ip para coleta de sangue na veia cava inferior para análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos. Em seguida, foi realizada a luxação cervical e realizada laparotomia exploradora para visualização dos vísceros e seguida da retirada dos rins, fígado, pulmão, baço e coração para processamento histopatológico (Oliveira et al, 2019).

Análise hematológica

Ao final do experimento (15º dia) uma parte do sangue foi homogeneizada em tubo contendo anticoagulante (EDTA) e submetida a analisador hematológico automático e avaliação dos seguintes parâmetros: hemácias totais, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM) , hemoglobina corpuscular média (MCH), concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC), glóbulos brancos, segmentados, linfócitos, monócitos.

Análise bioquímica

Uma segunda parte do sangue foi transferida para tubo com gel separador e submetida à centrifugação (3.000 rpm por 10 min) para obtenção do soro. Em seguida, foram avaliados os seguintes parâmetros: albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, proteína total, creatinina, bilirrubina, colesterol total, triglicerídeos. As determinações foram feitas de acordo com as instruções do kit do fabricante (Labtest).

Investigações de atividade biológica

Para cada teste os camundongos machos foram separados em seis grupos (n = 6) e receberam os tratamentos: EgEO (25, 50 ou 100 mg / kg / por via oral), solução salina (0,9% por via oral), morfina (10 mg / kg ip) ou indometacina (20 mg / kg ip). EgEO e solução salina foram administrados 1 hora antes do início dos testes, enquanto os fármacos, morfina e indometacina foram administrados 30 minutos antes.

Atividade antinociceptiva

Teste de contorção abdominal induzida por ácido acético

Nesse teste, os camundongos receberam injeção intraperitoneal de ácido acético (0,85% v / v) e foram colocados em uma caixa de polietileno para visualização e registro do número de contorções no intervalo correspondente de 5 a 15 minutos

após a injeção (Oliveira et al. ., 2018).

Teste de formalina

Para avaliação no teste de formalina, os camundongos receberam 20µL de formalina (2,5%, v / v) na região subplantar da pata traseira direita. O tempo gasto pelo animal lambendo a pata foi registrado em dois intervalos de tempo diferentes: 0-5 minutos (primeira fase: dor neurogênica) e 15-30 minutos (segunda fase: dor inflamatória) após a injeção de formalina (Hunskaar e Hole, 1987).

Movimento da cauda

Inicialmente, 30 camundongos foram pré-selecionados 24 horas antes do teste, após imersão das caudas em água morna (55 ± 1 ° C) e aqueles que retiraram as caudas imersos antes de 5 s foram selecionados em cachos (n = 6). No dia do teste, os camundongos receberam tratamentos com EgEO, solução salina e morfina e tiveram suas caudas imersas em água morna nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 após o tratamento e o tempo de latência (limitado a 20 s) para uma reação de desconforto foi registrados (Khatun et al., 2015).

Investigação de possíveis mecanismos envolvidos na atividade antinociceptiva

Os camundongos (n = 6) foram pré-tratados intraperitonealmente com naloxona 2 mg / kg (antagonista do receptor opioide não seletivo) e após 30 min foram tratados com EgEO (100 mg / kg por os), solução salina (0,9% vo) ou morfina (10 mg / kg ip) e foram submetidos ao teste da formalina, conforme descrito anteriormente.

Atividade anti-inflamatória

Edema de pata induzido por carragenina

Inicialmente, os grupos de animais receberam seus respectivos tratamentos e 1h ou 30 min após o edema foi induzido por injeção intraplantar de carragenina 2% (15 µL) ou solução salina (grupo controle). O volume da pata foi avaliado nos tempos

0, 1, 2, 3 e 4 horas e o percentual de edema foi determinado, seguindo a fórmula: $\text{Porcentagem} = ((\text{Volume final da pata} - \text{Volume inicial da pata}) / (\text{Volume inicial da pata})) \times 100$ (Winter, 1962).

Indução de peritonite por carragenina

Os métodos experimentais foram realizados segundo Oliveira et al., 2016. Os camundongos receberam seus respectivos tratamentos e uma injeção intraperitoneal de carragenina 1% (0,1 mL / 10g / pc) foi aplicada após os tempos pré-estabelecidos para cada substância. Após 4 horas da injeção, os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical e imediatamente e 2 mL de PBS heparinizado foram injetados na cavidade peritoneal e, em seguida, o exsudato foi coletado. Foi realizada a contagem de leucócitos e a quantificação dos níveis de citocinas (TNF- α e IL-1 β) da lavagem peritoneal (Winter, 1962).

Avaliação da atividade exploratória e ansiedade

Para cada teste, os camundongos machos foram separados em seis grupos (n = 6) e receberam os tratamentos: EgEO (25, 50 ou 100 mg / kg por via oral), solução salina (0,9% por via oral) ou Diazepan (10 mg / kg ip). A solução salina e o óleo essencial foram administrados 1 hora antes do início dos testes, enquanto o Diazepan foi administrado 30 minutos antes.

Teste de campo aberto

Os animais foram colocados individualmente em campo aberto por um período de 5 minutos, com exploração horizontal (número de cruzamentos), comportamentos de autolimpeza (“grooming”) e exploração vertical (“criação”) sendo registrados (Archer, 1973).

Teste de labirinto em cruz elevado

Os camundongos foram colocados individualmente no ponto central da plataforma e imediatamente por 5 minutos, o número de entradas e o tempo gasto nos

braços abertos e fechados foram registrados. Em seguida, o índice de ansiedade foi determinado: $AI = 1 - [\{ (\text{tempo gasto nos braços abertos} / \text{tempo total no labirinto}) + (\text{número de entradas nos braços abertos} / \text{entradas totais no labirinto}) \} / 2]$. Os valores do índice de ansiedade variam de 0 a 1, e o aumento do índice expressa comportamento semelhante ao da ansiedade (Kraeuter, et. Al., 2019).

Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados no GraphPad Prism® versão 8.0 e expressos em valores médios com desvio padrão (\pm DP). As diferenças estatisticamente significativas foram calculadas usando a análise de variância unilateral (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni ou Dunnett (quando necessário). Os valores foram considerados significativamente diferentes em $p < 0,05$ para avaliação de toxicidade e $p < 0,001$ para testes antioceptivos e antiinflamatórios.

Resultados e discussão

A caracterização química do EgEO por GC-MS identificou a presença de 45 compostos totalizando 99,68% do óleo. Dentre todos os compostos identificados, os majoritários foram *germacrene-D* (16,10%), *γ -muurolene-g* (15,60%) e *bicyclogermacrene* (8,53%), de acordo como mostra a tabela 1.

Tabela 1: Composição química do óleo essencial obtido das folhas de *E. gracillima gracillima* (OEEg).

Compound	RI ^a	RI ^b	%	Compound	RI ^a	RI ^b	%
Δ -Elemene	924	926	6.06	Zonarene	1374	1376	0.93
Sativene	932	932	0.21	α -Muurolene	1387	1385	0.73
α -ylangene	946	945	0.50	Cyclohexane	1389	1392	0.61
Copaene	961	952	0.60	α -gurjunene	1417	1420	4.03
Guaia-6,9-diene	974	974	0.68	γ Muurolene-g	1430	1433	15.60
β -boubonene	988	991	0.71	Δ -cadiene	1461	1458	6.23
β -cubene	1002	1003	0.11	(+)- β -guaiene	1471	1470	0.84
Cyclohexane	1014	1015	1.41	α -cadiene	1480	1482	2.33
α -cubene	1026	1030	0.12	Selina-3,7(11)-diene	1500	1497	0.15
Bicyclo	1032	1038	4.89	Germacrene B	1513	1515	7.43
β -copaene	1044	1048	0.31	(-)-Spathulenol	1522	1525	0.67
γ -elemene	1054	1058	0.73	2- β -pirene	1533	1533	0.29

α -guaiene	1086	1087	1.80	Gobulol	1537	1539	1.03
Cadina-3,5-diene	1095	1100	0.26	Cyclopropeazulenol	1544	1544	1.01
Alloaromadendrene	1114	1112	0.90	Cubenol	1548	1550	3.58
α -humulene	1123	1225	1.64	Viridiflorol	1577	1579	0.42
Transcaryophyllene	1135	1236	0.40	(+)-spathulenol	1582	1585	1.12
γ -amorphene	1160	1162	1.77	Isospathulenol	1592	1593	0.13
Cyclohexene	1174	1176	0.27	Cadin-4-en-10-ol	1600	1599	0.67
γ -muurolene	1186	1190	1.37	Torreyol	1602	1605	0.60
Germacrene D	1195	1195	16.10	α -cadinol	1622	1621	0.45
Naphthalene	1204	1209	0.16				
(-)-isolekene	1324	1326	1.30				
bicyclogermacrene	1348	1350	8.53				
Total				99,68			

R_{1a} = Taxa de retenção determinada; R_{1b} = Literatura especializada do índice de retenção; % = área de composto em relação ao EOEG.

Existe outro relato de composição química do óleo essencial de folhas de *Eugenia gracillima*, (GOMES VIDAL SAMPAIO et al., 2019), em ambos a composição foi dominada por hidrocarbonetos sesquiterpenos. O OEEg apresentou uma composição semelhante com outros óleos de espécies de mesma família e gênero. A predominância de hidrocarbonetos sesquiterpênicos é comum em plantas pertencentes ao gênero *Eugenia*, como pode-se observar em *E. beaurepaireana* (Magina et al., 2009), *E. dysenterica* (Costa e Col., 2000) *E. uniflora* (Chang et al., 2011), *E. stipitata* (Costa et al., 2020). A presença dos compostos *germacrene D* e *bicyclogermacrene*, foram associadas as atividades antibacteriana em *E. beaurepaireana* (Magina et al., 2009) e *E. uniflora* (Chang et al., 2011), antifúngica em *E. dysenterica* (Costa e Col., 2000), e antinociceptiva e anti-inflamatória em *E. stipitata* (Costa et al., 2020).

O germacrene-D é considerado um precursor de muitos hidrocarbonetos sesquiterpênicos (Bülow, 2000). São normalmente produzidos em várias espécies de plantas e é reportado propriedades antimicrobianas e inseticidas (Duarte, 2006). Alguns estudos relatam a presença de atividade analgésica, anti-inflamatória (Del-Vecchio-Vieira et al., 2009) antitumoral, antioxidante e inibitória da α -amilase e acetilcolinesterase (Setzer et al., 2006)

O óleo de *E. involucrata*, que apresenta o germacrene D e o bicyclogermacrene como compostos majoritários, demonstrou importantes atividades antinociceptiva (LD₅₀ 218,6 mg / kg) e antibacteriana (MIC 400 μ g / mL), relatadas em testes realizados

(Costa et al., 2020).

Avaliação de toxicidade

Avaliação fisiológica e comportamental

No teste de hemólise em eritrócitos de camundongo *in vitro*, as taxas de hemólise variaram de 0,79 a 1,91% nas concentrações testadas. Esse resultado demonstrou que OEEg não possui atividade hemolítica e não danificou as membranas das células. Em virtude dessa ausência preliminar de efeitos tóxicos, foi ensaiado o teste toxicidade aguda *in vivo*.

A avaliação de toxicidade aguda foi realizada via oral, nas concentrações de 5,000 e 2,000 mg/kg em dose única não promoveu mortalidade nem alterações comportamentais. Os camundongos tratados com a dose de 5000 mg/kg apresentaram uma redução de 53,96% e 38,82% para o peso e ao consumo de ração respectivamente, em relação ao grupo controle (Tabela 2). Assim, a LD₅₀ foi determinada acima de 5,000 mg/kg, classificando o OEEg como atóxico ou pouco tóxico, sugerindo segurança de uso.

Tabela 2. Avaliação do consumo de comida e água e ganho de peso dos animais do controle e tratados com o óleo essencial de *Eugenia gracillima* (EOEg).

Tratamentos	Parâmetros		
	Ganho de peso	Consumo de comida	Consumo de água
Controle	3.15±0.09	13.42±0.18	40.85±3.11
Dose única 2,000 mg/kg	3.20±0.22	13.05±0.11	38.77±3.79
5,000 mg/kg	1.45±0.11*	8.21±0.20*	39.81±4.01

Os valores representam a média ± SEM (n = 5 / grupo). * Diferenças significativas (p <0,05) foram encontradas em comparação com o controle.

Efeito do OEEg nos parâmetros hematológicos e bioquímicos

Adicionalmente, os resultados hematológicos são sumarizados na tabela 3. Todos os parâmetros hematológicos avaliados: glóbulos vermelhos, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração média de hemoglobina corpuscular (CMHC), glóbulos brancos, segmentados, linfócitos e monócitos, não foram alterados em camundongos machos após o tratamento agudo em ambas as concentrações de OEEg quando comparado com o controle. O sangue é considerado um índice muito importante a respeito do estado fisiológico e patológico no homem e nos animais, onde geralmente os parâmetros medidos são os citados nesse estudo (Adeneye et al., 2006). No entanto, a normalidade desses parâmetros pode ser alterada pela ingestão de algumas plantas tóxicas, o que justifica uma análise hematológica detalhada (Ajagbonna et al., 1999). O efeito do tratamento com OEEg nas necessidades de 2.000 e 5.000 mg / kg não causou diferenças significativas nos níveis de hemácias, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração média de hemoglobina corpuscular (CMHC) , glóbulos brancos, segmentados, linfócitos e monócitos, quando comparados com controles.

Tabela 3: Parâmetros hematológicos de camundongos tratados com óleo essencial de *Eugenia gracillima* (OEEg).

Parâmetro	Controle	OEEg	
		2000 mg/kg	5000 mg/kg
glóbulos vermelhos ($10^6/\text{mm}^3$)	9.23±0.72	9.16±0.22	9.25±0.42
Hematócrito (%)	43.61±2.33	44.35±0.94	43.96±1.21
Hemoglobina (g/dL)	15.61±0.81	15.29±0.44	14.96±0.63
VCM (%)	47.72±2.86	46.12±1.03	45.76±0.97
HCM (%)	16.78±0.82	16.01±0.45	16.77±1.03
CMHC (%)	35.43±1.78	35.78±0.71	36.05±0.47
Glóbulos brancos ($10^3/\text{mm}^3$)	8.23±1.21	8.36±0.74	8.65±1.22
Segmentados (%)	51.43±1.38	49.46±2.16	52.45±3.17
Linfócitos (%)	37.44±0.78	39.42±2.12	38.03±1.76
Monócitos (%)	10.33±0.95	10.35±1.69	10.37±1.19

OEEg: óleo essencial de *Eugenia gracillima*. VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CMHC: concentração média de hemoglobina corpuscular; Os valores representam

a média \pm SEM (n = 5 / grupo). (*) Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação com o controle

O efeito do tratamento com OEEg nas práticas de 2.000 e 5.000 mg / kg em camundongos controlados e tratados estão representados na tabela 4. O tratamento com OEEg não causou semelhanças nos níveis de albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina, gama-glutamyltransferase, proteína total, creatinina, bilirrubina, colesterol total e triglicerídeos, quando comparados com controles. Entretanto no tratamento com 5.000 mg / kg de OEEg observou-se um aumento nos níveis das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) (Tabela 4). Diversos compostos tóxicos de plantas acumulam-se no fígado, onde são desintoxicados, portanto, testes que avaliam a função hepática são bastante úteis na avaliação de efeitos tóxicos de plantas medicinais. Dentre esses testes, a determinação de AST e ALT são considerados os principais, pois qualquer necrose das células do fígado leva um aumento significativo dessas enzimas (Adeneye et al., 2006). Dessa forma, esses resultados podem indicar algum tipo de lesão hepática ocasionada pelo OEEg.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de sangue de camundongos tratados com óleo essencial de *Eugenia gracillima* (OEEg).

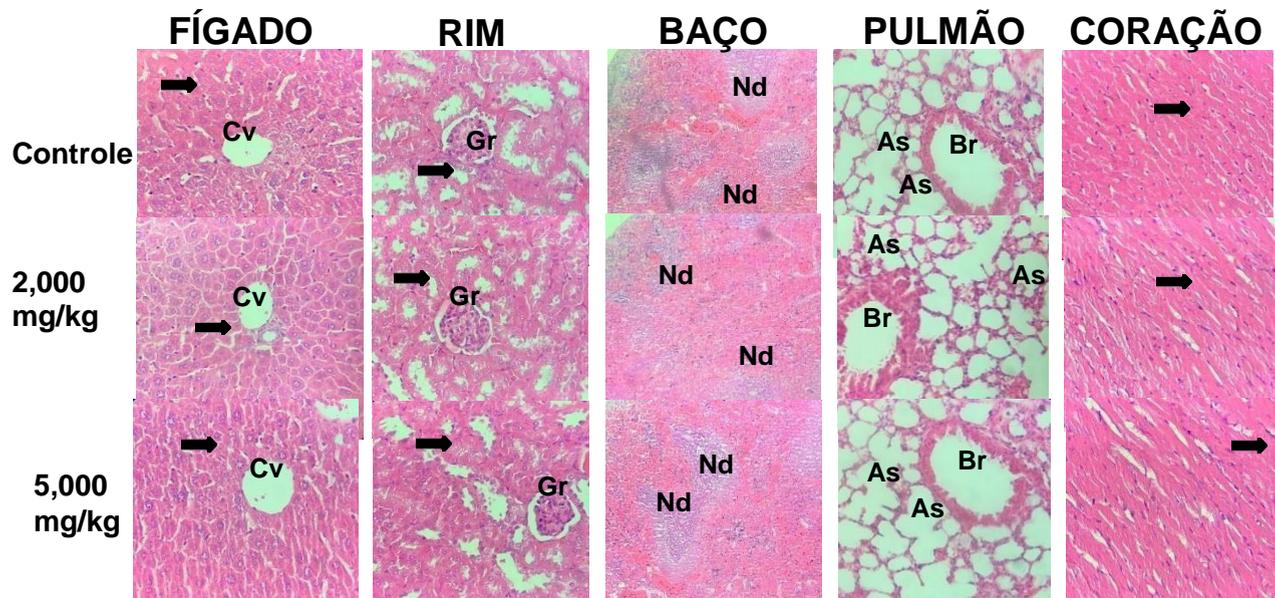
Parâmetro	Controle	OEEg	
		2000 mg/kg	5000 mg/kg
Albumina (g/dL)	4.77 \pm 0.27	4.76 \pm 0.96	4.55 \pm 0.53
Alanine aminotransferase (U/L)	67.9 \pm 2.33	71.2 \pm 5.44	89.9 \pm 0.61*
Aspartato aminotransferase (U/L)	102.3 \pm 2.93	108.2 \pm 3.92	143.5 \pm 0.73*
Alkaline fosfatase (U/L)	13.2 \pm 0.86	13.2 \pm 1.51	13.6 \pm 1.44
Gamma-glutamyl transferase	10.39 \pm 1.32	10.1 \pm 1.41	11.3 \pm 1.72
Proteína total (g/dL)	5.21 \pm 0.72	5.79 \pm 1.29	5.71 \pm 0.53
Nitrogênio da ureia no sangue (mg/dL)	36.6 \pm 0.52	37.7 \pm 0.76	37.7 \pm 0.71
Creatinina (mg/dL)	0.29 \pm 0.11	0.28 \pm 0.67	0.28 \pm 0.43
Bilirrubina (mg/dL)	0.17 \pm 0.01	0.19 \pm 0.13	0.19 \pm 0.32
Colesterol total (mg/dL)	113.4 \pm 1.97	111.3 \pm 2.38	114.6 \pm 2.93
Triglicerídeos (mg/dL)	132.5 \pm 3.95	130.9 \pm 2.89	127.8 \pm 3.26

OEEg: óleo essencial de *Eugenia gracillima*. Os valores representam a média \pm SEM (n = 5 / grupo).

(*) indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação com o controle.

Peso do órgão e histopatologia

Os órgãos internos dos animais tratados e controle apresentaram textura, cor e aparência sem alterações. Na avaliação do peso de fígado, rim, baço, pulmão e coração de animais tratados com OEEg não apresentaram diferenças significativas ($p > 0.05$) em comparação ao controle. A figura 1 mostra os resultados histopatológicos de órgãos internos de camundongos controle e tratados com OEEg nas concentrações de 2,000 e 5,000 mg/kg. Os camundongos tratados com 2,000 mg/kg de OEEg e controle apresentaram o tecido hepático com arquitetura preservada de veias centrolobulares, cordões de hepatócitos e espaço de Disse. Entretanto o tratamento com 5,000 mg/kg apresentou discreto infiltrado leucocitário ao redor da veia centrolobular. Tal fato, pode ser corroborado com as alterações evidenciadas nas transaminases ALT e AST. O tecido renal apresentou glomérulo e túbulos contorcidos dentro da normalidade. Nos animais tratados com OEEg o baço apresentou nódulos linfáticos bem delimitados com discreta ativação quando comparado ao grupo tratado com salina. Os pulmões apresentaram os bronquíolos e sacos alveolares dentro da normalidade para todos os tratamentos. As fibras do miocárdio estavam evidenciadas em todos os grupos de camundongos sem alteração.



Legenda: Fotomicrografias representativas dos fígados, rim, baço, pulmão e coração de camundongos fêmeas dos grupos controle e tratados com 2,000 ou 5,000 mg/kg de OEEg. Fígados: a veia centrolobular (cv) é vista em todas as imagens assim como o espaço de Disse (seta). Rins: Glomérulos renais (Gr) e os tubos contorcidos pontas de seta são preservados e ordenados. Baço: Os linfonodos (Nd) são bem definidos nos grupos de controle e tratados. Pulmão: Apresenta Bronquíolos (Br) e sacos alveolares (As) em sua morfologia normal em todos os grupos. Coração: Fibras musculares (seta) sem alterações em todos os grupos. Foi utilizada coloração com hematoxilina e eosina. Ampliação: 400x para fígado e rim. Ampliação

O conjunto de resultados da avaliação da toxicidade revelam que o uso oral em dose única de OEEg não apresentou efeito tóxico em camundongos, podendo assim, ser explorado em estudos de atividade farmacológica aguda.

Atividade antinociceptiva

Teste de contorção abdominal induzida por ácido acético

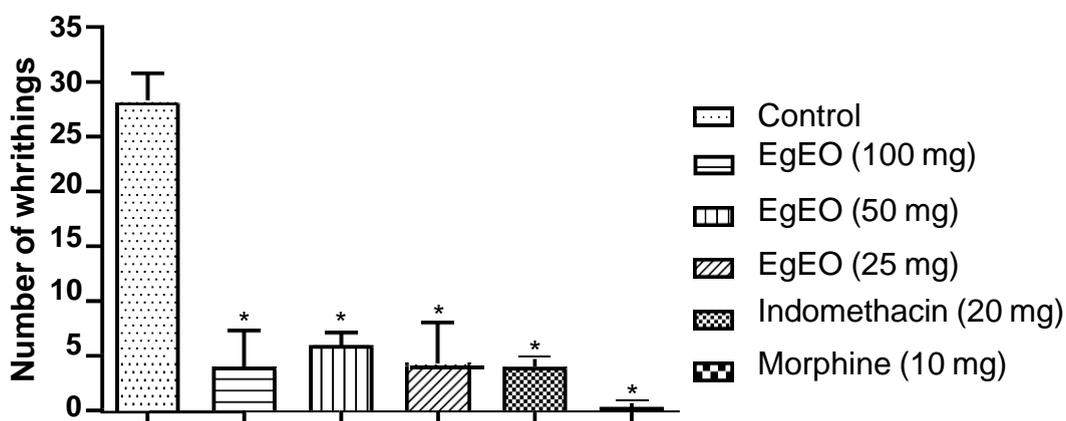
O teste de contorções abdominais, induz irritação e lesões no abdômen do camundongo, provocando os espasmos chamados de contorções (Almeida Junior, 2019) além de estimulação de nociceptores e consequentes reações comportamentais (Oliveira et al., 2018).

As diferentes concentrações de OEEg testadas reduziram o número de contorções abdominais em 78,82-84,75% (Figura 2). Os grupos tratados com as drogas de referência, indometacina e morfina, demonstraram redução de 85,88 e 98,83%, respectivamente, quando comparados ao controle.

Foi reportado que o tratamento com o óleo essencial de *E. caryophyllata*

demonstrou que nas concentrações de 50, 75 e 100 mg/kg, reduziram em 61,6, 64,8 e 88,3% respectivamente, o número de contrações induzidas por ácido acético, em comparação com o grupo controle (Daniel et al., 2009). Da mesma forma, um óleo essencial de *E. stipitata*, apresentou resultados positivos quando testado nas concentrações de 40, 100 e 250 mg/kg, exibindo uma redução de 54,1- 56,6% no número de contorções (Costa et al., 2020). No estudo realizado por Sobeh et al., (2019), utilizando as concentrações de 100 e 200 mg/kg, demonstrou que o óleo essencial de *E. uniflora* reduziu em 60 e 74% respectivamente, as contorções induzidas por ácido acético.

Figura 3: Efeito do óleo essencial de *Eugenia gracillima* (OEEg) na contorção abdominal induzida por ácido acético.



OEEg: óleo essencial de *Eugenia gracillima*. Os valores representam a média \pm SEM. * $p < 0,001$ em comparação com o controle, ANOVA unilateral seguida pelo teste de Dunnett.

Apesar dos resultados positivos apresentados pelo tratamento de OEEg na redução de contorções, ainda assim considera-se como um teste de baixa especificidade e inadequado para diferenciar os mecanismos analgésicos central e periféricos (Vogel and Vogel, 1997). Assim exigiu-se a necessidade de teste complementares, tais como formalina e movimento de cauda.

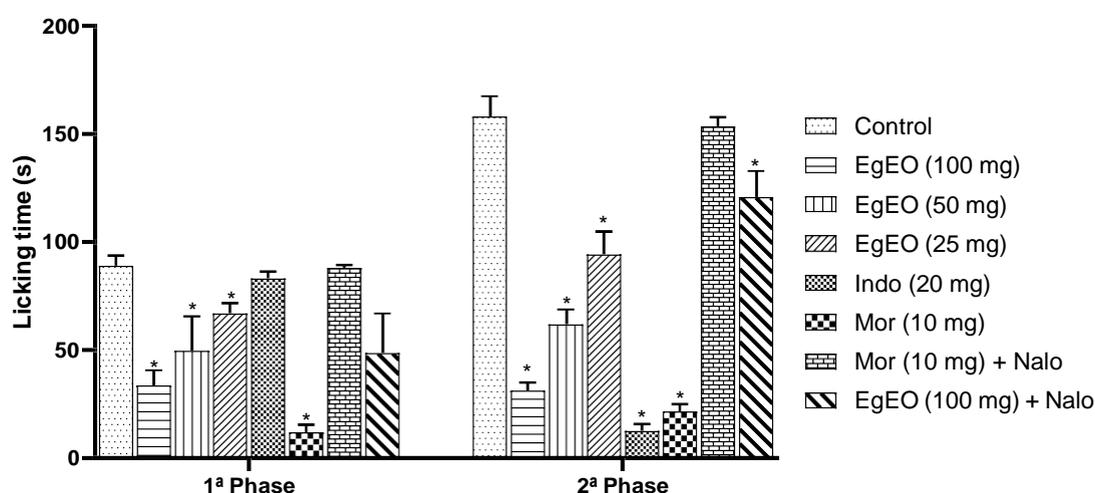
Lambda de pata induzida por formalina em camundongos

A administração oral de OEEg apresentou atividade antinociceptiva no teste de

formalina nas fases neurogênica como na inflamatória (Figura 3). Na primeira fase, o tratamento com OEEg reduziu o tempo de lambedura da pata de 24,71- 62,17% quando comparados ao grupo controle. Na segunda fase (inflamatória), as diferentes concentrações de EgEO (100, 50 e 25 mg/kg) apresentaram redução significativa de 81,19, 60,80 e 40,36% respectivamente, no tempo de lambedura da pata. A morfina (10 mg/kg) foi ativa em ambas as fases e a indometacina suprimiu a resposta na segunda fase.

Guimarães *et al.*, (2009), relataram que o tratamento oral com 100 mg/kg de óleo essencial de *Eugenia candolleana* DC., reduziu em 55,6 e 87,8% o tempo de lambida na primeira e segunda fase respectivamente quando comparado ao controle. Os resultados obtidos em nosso estudo, indicam que o OEEg apresenta atividade em ambas as fases do teste, tanto no alívio da dor neurogênica, quanto da dor inflamatória. Para fins de confirmação de envolvimento central na analgesia, foi realizado o teste de movimento de cauda.

Figura 4: Efeito do óleo essencial de *Eugenia gracillima* (OEEg) em ambas as fases do ensaio de formalina.



Os valores representam a média \pm SEM. * $p < 0,001$ em comparação com o controle, ANOVA unilateral seguida pelo teste de Dunnett.

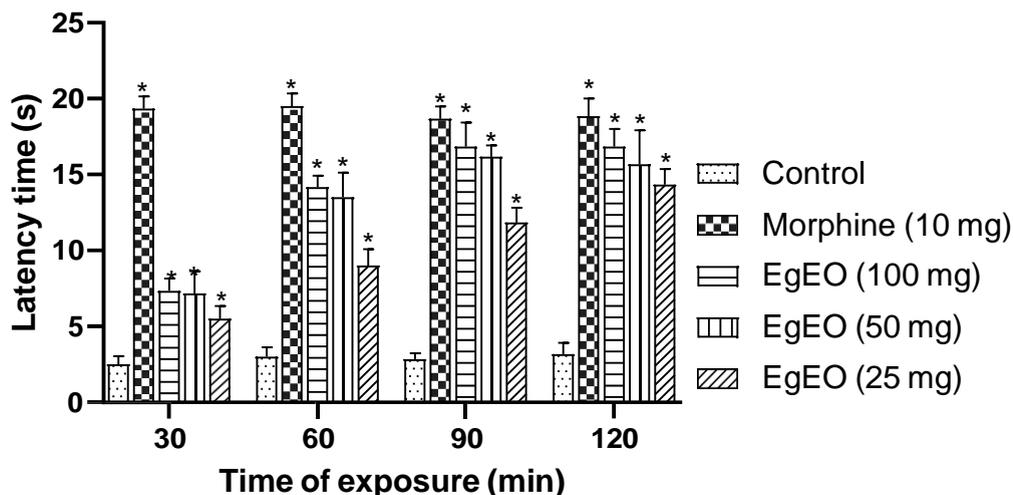
Movimento de cauda

Os resultados do teste de movimento de cauda mostraram que o tempo de latência dos animais tratados com OEEg e morfina foi significativamente aumentado

($p < 0.001$) após 30 minutos de tratamento, quando comparado ao grupo controle (Figura 4). No tempo de 60 minutos, os tratamentos com OEEg apresentaram eficácia de 45-70,8%. Já no tempo de 90 minutos, atingiu o máximo de eficiência com eficácia de até 84,15%. O tratamento com morfina, apresentou eficácia de 91,65-96,65% no intervalo de 30-120 minutos após o tratamento.

A reação de remoção de cauda é controlada por um reflexo espinhal e diversos medicamentos podem agir produzindo uma analgesia periférica através de fibras sensoriais espinhais (Scholz e Wolf, 2002). Dessa forma, com base nos resultados obtidos nesse teste, pode-se concluir que o OEEg apresenta atividade antinociceptiva com mecanismo central semelhante a morfina.

Figura 5: Efeito do óleo essencial de *Eugenia gracillima* (OEEg) no ensaio de imersão na cauda



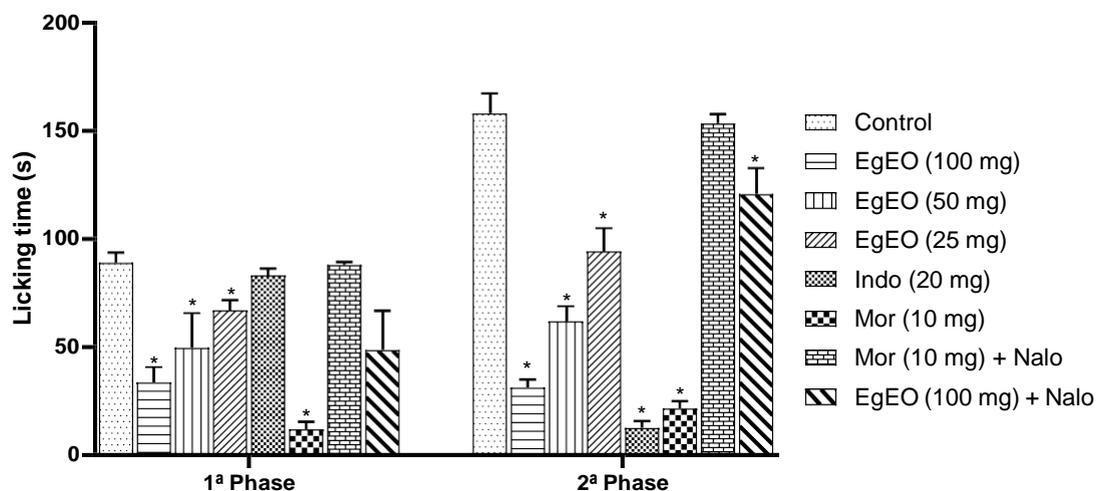
Os valores representam a média \pm SEM. * $p < 0,001$ em comparação com o controle, ANOVA unilateral seguida pelo teste de Dunnett.

Possíveis mecanismos envolvidos na atividade antinociceptiva

Buscando avaliar o possível mecanismo de ação antinociceptivo do OEEg, um grupo de camundongos foram pré-tratados, com naloxona 2 mg/kg/ip, (antagonista opioide), em seguida foi administrado o OEEg na concentração de 100 mg/kg e posteriormente os animais foram submetidos ao teste da formalina. Na figura 6, mostra que a administração de naloxona antes dos tratamentos com o OEEg, promoveu uma

inibitória parcial do efeito antinociceptivo do óleo, reduzindo a atividade para 45,32 e 23,60% para primeira e segunda fases. Tais resultados sugerem que a ação antinociceptiva de OEEg envolve, em parte, o sistema opioidérgico. Resultados semelhantes foram observados em estudo realizado por (SANTOS et al., 2020), utilizando extratos obtidos das cascas de *Myrciaria floribunda*, planta pertencente à mesma família de *E. gracillima*, onde os resultados demonstraram que, na primeira fase do teste da formalina, o efeito analgésico do extrato, na concentração de 100 mg / kg, foi mediado pela ação sobre os receptores opioides, visto que a naloxona reverteu o seu efeito.

Figura 6: Investigação dos mecanismos de atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Eugenia gracillima* (OEEg) no teste da formalina.



Os valores representam a média \pm SEM. * $p < 0,001$ em comparação com o controle, ANOVA unilateral seguida pelo teste de Dunnett.

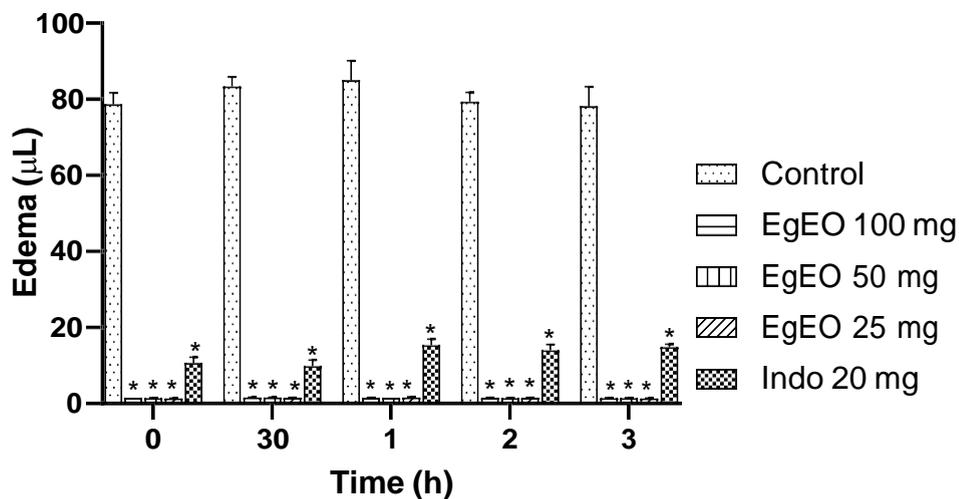
Atividade anti-inflamatória

Edema de pata induzido por carragenina

O modelo de edema de pata induzido por carragenina disponibiliza uma resposta bifásica, o que permite detectar agentes anti-inflamatórios ativos, que possuem ação contra mediadores de inflamação aguda (Costa et al., 2020). A Figura 7 apresenta os resultados do efeito anti-inflamatório do OEEg no edema de pata induzido por carragenina. Todos os grupos tratados com óleo reduziram

significativamente o volume do edema de pata com inibição de 98,13- 98,20%, quando comparados ao grupo controle. O tratamento com indometacina reduziu o volume do edema de 81,02%. A atividade do OEEg e da Indometacina se mantiveram constante durante todo o teste. Resultados semelhantes foram observados em testes com o óleo essencial de *E. stipitata*, onde o mesmo apresentou redução significativa no volume de edema de pata, exibindo uma inibição de 88,66%, 91,3% e 96,94%, nas concentrações de 40, 100 e 250 mg/kg respectivamente (Costa et al., 2020).

Figura 7: Respostas de diferentes concentrações de óleo essencial de *Eugenia gracillima* (OEEg) ao edema de pata induzido por carragenina.



Os valores representam a média \pm SEM. * $p < 0,001$ em comparação com o controle, ANOVA unilateral seguida pelo teste de Dunnett.

Peritonite

No tratamento de camundongos com OEEg nas concentrações de 100, 50 e 25 mg/kg demonstraram uma diminuição na migração do número de leucócitos (82,71, 76,54 e 64,19%, respectivamente), neutrófilos (69,81, 66,03 e 54,71%, respectivamente). Já o grupo tratado com indometacina apresentou redução da migração de leucócitos de 79,01% e neutrófilos de 71,69% (Tabela 7). Em estudos realizado por (Costa et al., 2020), utilizando óleo essencial de *E. stipitata*, espécie pertencente também à família Myrtaceae, foram observados resultados semelhantes para esse mesmo teste, onde o óleo nas concentrações de 40, 100 e 250 mg/kg

apresentou uma diminuição significativa na migração do número de leucócitos (76,9%, 81,7% e 86,5%, respectivamente) e neutrófilos (74,5%, 79,6% e 77,9%, respectivamente), quando comparados ao controle que apresentaram uma inibição da migração de leucócitos de 71,9% e 67,7% de neutrófilos. Outro resultado satisfatório para esse teste foi elucidado no estudo de (SOBEH et al., 2019), onde os animais tratados com o extrato das folhas de *E. uniflora* 100 mg/kg, po, demonstraram uma redução de $4,84 \pm 1,97$ leucócitos $\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$), quando comparados com os não tratados que apresentaram um resultado de $(10,04 \pm 2,64$ leucócitos $\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$). Os números indicados pelo extrato foram semelhantes ao diclofenaco (10 mg / kg, po), medicamento de referência utilizado, que apresentou redução de $(4,02 \pm 0,82$ leucócitos $\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$).

Tabela 5. Efeito do óleo essencial de *Eugenia gracillima* (OEEg) na migração de leucócitos e migração de neutrófilos na exsudação peritoneal em induzida por carragenina.

	Dose (mg/kg)	Leucocitos ($10^5/\text{ml}$)	Inibição (%)	Neutrofilos ($10^5/\text{ml}$)	Inibição (%)
Veículo	-	8.1 ± 0.9	-	5.3 ± 0.5	-
Indometacina	20 mg/kg	$1.7 \pm 0.6^*$	79.01	$1.5 \pm 0.3^*$	71.69
OEEg	100 mg/kg	$1.4 \pm 0.3^*$	82.71	$1.6 \pm 0.1^*$	69.81
	50 mg/kg	$1.9 \pm 0.4^*$	76.54	$1.8 \pm 0.3^*$	66.03
	25 mg/kg	$2.9 \pm 0.4^*$	64.19	$2.4 \pm 0.3^*$	54.71

Os valores representam a média \pm SEM. * $p < 0,001$ em comparação com o controle, ANOVA unilateral seguida pelo teste de Dunnett.

Avaliação comportamental: campo aberto e labirinto em cruz elevado

A classe de analgésicos em geral, apresentam como efeitos colaterais comuns, uma ação sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) ocasionando reações como, sonolência, alteração da consciência, alterações emocionais e até gerar redução da coordenação motora (Prut e Belzung, 2003). Dessa forma, com o intuito de investigar possíveis reações desse tipo para OEEg, foram realizados testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado, utilizando uma dose de 1000 mg/kg do óleo.

Os resultados obtidos para o tratamento com OEEg no campo aberto não foram

significativos para rearings 11 ± 2 e crossings 79 ± 9 . Já o diazepam, droga controle utilizada, que demonstrou uma redução rearings (8 ± 1) e crossing (37 ± 6), no comportamento exploratório dos animais.

Na avaliação de labirinto em cruz elevado os animais tratados com OEEg apresentaram um índice de ansiedade de 0.54, valor não significativo em comparação ao controle, que apresentou índice de ansiedade de 0,41. O grupo tratado com diazepam apresentou índice de ansiedade de 0.9, ocasionando ansiedade nos animais e comprovando sua ação neurológica.

Dessa forma, os resultados obtidos revelam que, o tratamento com OEEg não causa nenhum efeito depreciativo do SNC desses animais, uma vez que nem a atividade exploratória, nem emocional foram afetadas nos testes realizados, tornando então, o OEEg uma boa opção no tratamento de dor e inflamação.

CONCLUSÃO

O óleo essencial das folhas de *Eugenia gracillima* não apresentou toxicidade nas concentrações testadas, também não foram observadas alterações comportamentais, bem como seu potencial hemolítico não foi significativo, assegurando dessa forma, o seu uso. O OEEg demonstrou atividade biológica apresentando mecanismo antinociceptivo e anti-inflamatório, inibindo de forma satisfatória a dor e a inflamação. De acordo com relatos na literatura, a presença dos compostos majoritários germacrene D e bicyclogermacrene, estão associados a presença dessas atividades biológicas.

Referências

- ADAMS, R., Sparkman, O., 2007. Review of Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* v. 18.
- ADENEYE, A. A., Ajagbonna, O. P., Adeleke, T. I., Bello, S. O., 2006. **Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of *Musanga cecropioides* in rats** *J. Ethnopharmacology*, 105, pp. 374-379.
- AJAGBONNA, O. P., Onifade, K. I., Suleiman, U., 1999. **Hematological and Biochemical changes in rats given extract of *Calotropis procera***: *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 1 (1999), pp. 36-42.
- ALMEIDA JUNIOR, S. de. (2019). In vivo methods for the evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive potential. *Brazilian Journal Of Pain*, 2(4). <https://doi.org/10.5935/2595-0118.20190070>
- ARCHER, J., 1973. Tests for emotionality in rats and mice: A review. *Anim. Behav.* 21, 205–235. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(73\)80065-X](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(73)80065-X)
- BASTING, R.T., et al., 2014. Antinociceptive, anti-inflammatory and gastroprotective effects of a hydroalcoholic extract from the leaves of *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 157, 257–67. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.09.041>
- BÜLOW, N., AKÖNIG, W. 2000. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. *Phytochemistry*, **V.55, Issue 2**, September 2000, Pages 141-168.
- CHANG, R. et al., 2011. **A new approach for quantifying furanodiene and curzerene: a case study on the essential oils of *Eugenia uniflora* L. Myrtaceae (pitangueira) leaves** *Rev. Bras. Farmacognosia*, 21, pp. 392-396.
- COSTA, J. S. et al., 2020. Óleos essenciais das espécies brasileiras de *eugenia* e *syzygium* e suas atividades biológicas. *Biomolecules* 2020, 10 (8), 1155; <https://doi.org/10.3390/biom10081155>.
- COSTA, W.K., et al., 2020. Essential oil from *Eugenia stipitata* McVaugh leaves has antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities without showing toxicity in mice. **Ind. Crops Prod.** 144, 112059. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112059>
- COSTA, T. R. et al., 2000. **Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil** *J. Ethnopharmacol.*, 72, pp. 111-117.
- DANIEL, A. N., et al., (2009). Anti-inflammatory and antinociceptive activities of eugenol essential oil in experimental animal models. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19(1 B). <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200006>
- DUARTE, M.C.T. 2006. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. *MultiCiência*, v.7, p.1-16, Out.
- G. DEL-VECHIO-VIEIRA, O.V., et al., 2009. **Analgesic and anti-inflammatory properties of essential oil from *Ageratum fastigiatum***. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 52 (5): 1115–112.
- GUIMARÃES, A.G., et al., 2009. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Eugenia candolleana* DC., Myrtaceae, on mice. **Rev. Bras. Farmacogn.** 19,

883–887. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000600016>

HAYASHI, M., 2016. The micronucleus test—most widely used in vivo genotoxicity test—. *Genes Environ.* 38, 18. <https://doi.org/10.1186/s41021-016-0044-x>

HAYASHI, M., et al., 1990. The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutat. Res. Lett.* 245, 245–249. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(90\)90153-B](https://doi.org/10.1016/0165-7992(90)90153-B)

HUNSKAAR, S., HOLE, K., 1987. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain* 30, 103–114. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(87\)90088-1](https://doi.org/10.1016/0304-3959(87)90088-1)

JIMENEZ, P.C., et al., 2003. Biological activity in extracts of ascidians (Tunicata, Ascidiacea) from the northeastern Brazilian coast. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 287, 93–101. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(02\)00499-9](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(02)00499-9)

KHATUN, A., Imam, M. Z., & Rana, M. S. (2015). Antinociceptive effect of methanol extract of leaves of *Persicaria hydropiper* in mice. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 63.

KRAEUTER, A.-K., Guest, P.C., Sarnyai, Z., 2019. The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents, in: **Humana Press (Ed.), Methods Mol Biol** . New York, NY, pp. 69–74. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_4

LEE, W., et al., 2021. Botanical formulation, TADIOS, alleviates lipopolysaccharide (LPS)-Induced acute lung injury in mice via modulation of the Nrf2-HO-1 signaling pathway. *J. Ethnopharmacol.* 270, 113795. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113795>

LISTER, R.G. 1987. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*; 92: 180-5.

MAGINA, M. D. A. et al., 2009. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species. *J. Nat. Med.*, 63, pp. 345.

OGUNWANDE, L. A., 2005. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. *Int. J. Aromather.*, 15, pp. 147-152

OLIVEIRA, A. M., et al., (2019). Assessment of 28-day oral toxicity and antipyretic activity of the saline extract from *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) stem in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 234, 96-105.

OLIVEIRA, A. M., et al., (2018). Saline extract of *Pilosocereus gounellei* stem has antinociceptive effect in mice without showing acute toxicity and altering motor coordination. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 95, 289-297.

OLIVEIRA, A. M., et al., (2016). Evaluation of acute toxicity, genotoxicity and inhibitory effect on acute inflammation of an ethanol extract of *Morus alba* L. (Moraceae) in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 194, 162-168. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.09.004>

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT, (2001) OECD Guideline for Testing of Chemicals. Guideline: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method Organization for Economic Cooperation and Development, Paris.

PRUT, L., BELZUNG, C., 2003. The open field as a paradigm to measure the effects of

drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur. J. Pharmacol.* 463, 3–33.
[https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X)

SANTOS, I.B. da S., et al., 2020. Antioxidant Action and In Vivo Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activities of Myrciaria floribunda Fruit Peels: Possible Involvement of Opioidergic System. *Adv. Pharmacol. Pharm. Sci.* 2020, 1–11.
<https://doi.org/10.1155/2020/1258707>

SCHOLZ, J., WOLF, C. J. 2002. Podemos vencer a dor. *Nat. Neurosci.*, 5, pp. 1062 – 1067

SETZER, W. N., et al., 2006. Leaf oil compositions and bioactivities of abaco bush medicines. *Pharmacologyonline*, 3, pp. 794-802

SOBEH, M., et al., 2019. Chemical profiling of secondary metabolites of *Eugenia uniflora* and their antioxidant, anti-inflammatory, pain killing and anti-diabetic activities: A comprehensive approach. *J. Ethnopharmacol.* 240, 111939. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111939>

TJOLSEN, A., et al., 1992. O teste de formalina: uma avaliação do método. *Pain* 51: 5-17, 1992.

VELLA-BRINCAT, J., MACLEOD, A. D., 2007. Adverse effects of opioids on the central nervous systems of palliative care patients. *J. Pain Palliat. Care Pharmacother.*, 21, pp. 15-25.

VOGEL, H. G., & VOGEL, W. H. (1997). Analgesic, anti-inflammatory, and antipyretic activity. In *Drug discovery and evaluation* (pp. 360-420). Springer, Berlin, Heidelberg.

WINTER, C. A., RISLEY, E. A., & NUSS, G. W. (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, 111(3), 544-547.

WURTZEL, E. T., & KUTCHAN, T. M. (2016). Plant metabolism, the diverse chemistry set of the future. *Science*, 353(6305), 1232-1236

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados nesse estudo, podemos afirmar que o óleo essencial de *E. gracillima*, apresenta atividade biológica, e apresenta capacidade de inibir a nocicepção, com ação semelhante a expressada pelos opioides. Além disso, OEEg apresentou baixa toxicidade e baixo potencial hemolítico, demonstrando a segurança do seu uso e apresentou atividade anti-inflamatória promissora sem causar nenhum efeito deletério ao SNC.

6 SÚMULA CURRICULAR

- Organização do IX workshop potencial biotecnológico da Caatinga.
- Escrita de revisão sobre antivirais
- Participação no projeto de pesquisa “Avaliação da atividade antinoceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* DC.”

REFERÊNCIAS

- ALEIXO, G. A. S. et al. Tratamento da dor em pequenos animais: Fisiopatologia e reconhecimento da dor (revisão de literatura: parte i). **Medicina Veterinaria (Brazil)**, v. 10, n. 1–4, 2016.
- ANWAR, K. **Pathophysiology of painDisease-a-Month**, 2016.
- BASTING, R. T. et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and gastroprotective effects of a hydroalcoholic extract from the leaves of *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. in rodents. **Journal of ethnopharmacology**, v. 157, p. 257–67, nov. 2014.
- BEECH, E. et al. GlobalTreeSearch: The first complete global database of tree species and country distributions. **Journal of Sustainable Forestry**, v. 36, n. 5, 2017.
- BRODIN, E.; MALIN, E.; LEIF, O. Neurobiology: General considerations - from acute to chronic pain. **Nor Tannlegeforen Tid**, v. 126, n. 1, 2016.
- CELAJ, O. et al. **Phloroglucinols from Myrtaceae: attractive targets for structural characterization, biological properties and synthetic proceduresPhytochemistry Reviews**, 2021.
- CHAVAN, P.; KALSHETTI, M.; NAVINDGIKAR, N. Formulation and evaluation of polyherbal cream. **International Journal of Current Pharmaceutical Research**, 2020.
- CHEN, L. et al. **Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organsOncotargetImpact Journals LLC**, , 2018.
- CHITRA JAIN; SHIVANI KHATANA; REKHA VIJAYVERGIA. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: A review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 2, p. 494–504, 2019.
- COHEN, M. J.; JANGRO, W. C.; NEFF, D. Pathophysiology of Pain. In: **Challenging Neuropathic Pain Syndromes: Evaluation and Evidence-Based Treatment**. [s.l: s.n.].
- COSTA, G. et al. Intracellular Signaling Pathways Modulated by Phenolic Compounds: Application for New Anti-Inflammatory Drugs Discovery. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 18, 2012.
- COSTA, W. K. et al. Essential oil from *Eugenia stipitata* McVaugh leaves has antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities without showing toxicity in mice. **Industrial Crops and Products**, v. 144, 2020.
- CRUZ, A.; KAPLAN, M. USO MEDICINAL DE ESPÉCIES DAS FAMÍLIAS MYRTACEAE E MELASTOMATACEAE NO BRASIL. **Floresta e Ambiente**, v. 11, n. 1, 2012.

CUNHA, A. L. et al. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 2, 2016.

DA COSTA SOUZA, M.; MORIM, M. P. A new species of *Eugenia* (Myrtaceae) from south-eastern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 158, n. 2, 2008.

DA SILVA, A. O. et al. Evaluation of anti-inflammatory and mechanism of action of extract of *Macrosiphonia longiflora* (Desf.) Müll. Arg. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 154, n. 2, 2014.

DE ALMEIDA, C. F. C. B. R. et al. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **Journal of Arid Environments**, v. 62, n. 1, 2005.

DE CARVALHO MARTINS, V. et al. Determination of the Phytochemical Composition and Antioxidant Potential of *Eugenia copacabanensis* and *Myrciaria tenella* Leaves (Myrtaceae) Using a *Saccharomyces cerevisiae* Model. **Chemistry and Biodiversity**, v. 18, n. 6, 2021.

DE CÁSSIA DA SILVEIRA E SÁ, R.; ANDRADE, L. N.; DE SOUSA, D. P. **A review on anti-inflammatory activity of monoterpenesMolecules**, jan. 2013.

DE QUEIROZ, L. P. et al. Diversity and evolution of flowering plants of the Caatinga Domain. In: **Caatinga: The Largest Tropical Dry Forest Region in South America**. [s.l: s.n.].

DE SOUZA, A. et al. Traditional Uses, Phytochemistry, and Antimicrobial Activities of *Eugenia* Species – A Review. **Planta Medica**, v. 84, n. 17, p. 1232–1248, nov. 2018.

DEMARCHI, C. A. et al. *Eugenia umbelliflora* mediated reduction of silver nanoparticles incorporated into O-carboxymethylchitosan/ γ -Fe₂O₃: Synthesis, antimicrobial activity and toxicity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 155, 2020.

DONADO-PESTANA, C. M. et al. Cagaita fruit (*Eugenia dysenterica* DC.) and obesity: Role of polyphenols on already established obesity. **Food Research International**, v. 103, p. 40–47, jan. 2018.

DUARTE, D. F. Uma breve história do ópio e dos opióides. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 55, n. 1, fev. 2005.

DURAZZINI, A. M. S. et al. Chemical Composition and Effect of Hydrodistillation Times on the Yield of Essential Oil from *Eugenia pyriformis* Leaves. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 11, n. 5, p. 334–338, out. 2019.

FALCÃO, H. DE S. et al. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, 2005.

FERNANDES, M. F.; CARDOSO, D.; DE QUEIROZ, L. P. An updated plant checklist of the Brazilian Caatinga seasonally dry forests and woodlands reveals high species

richness and endemism. **Journal of Arid Environments**, v. 174, 1 mar. 2020.

FERRERO-MILIANI, L. et al. Chronic inflammation: Importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 147, n. 2, p. 227–235, 2007.

FIGUEIRÔA, E. D. O. et al. Evaluation of antioxidant, immunomodulatory, and cytotoxic action of fractions from eugenia uniflora L. and eugenia malaccensis L.: Correlation with polyphenol and flavanoid content. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.

GOMES VIDAL SAMPAIO, M. et al. Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of Eugenia gracillima Kiaersk. leaves essential oil . **Natural Product Research**, 2019.

GOVAERTS, R. et al. **World Checklist of Myrtaceae**. [s.l: s.n.].

JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z.; AMINI-KHOEI, H. **Medicinal plants: Past history and future perspective** **Journal of HerbMed Pharmacology**, 2018a.

JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z.; AMINI-KHOEI, H. **Medicinal plants: Past history and future perspective** **Journal of HerbMed Pharmacology** Nickan Research Institute, , 2018b.

JOHN, K. M. M. et al. Metabolic Variations, Antioxidant Potential, and Antiviral Activity of Different Extracts of Eugenia singampattiana (an Endangered Medicinal Plant Used by Kani Tribals, Tamil Nadu, India) Leaf. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n. 1, p. 1–12, 2008.

KULKARNI, R.; ACHAIHAH, G.; NARAHARI SASTRY, G. Novel Targets for Antiinflammatory and Antiarthritic Agents. **Current Pharmaceutical Design**, v. 12, n. 19, 2006.

LAWRENCE, T. **The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation**. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, 2009.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. DA. Ecologia e Conservação da Caatinga. **Ecologia e Conservação da Caatinga Recife: Ed. Universitária da UFPE**, v. 1, n. 2. ed., 2003.

LI, Y. et al. **The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants** **Plant Physiology and Biochemistry** Elsevier Masson SAS, , 1 mar. 2020.

LIBBY, P. Inflammatory Mechanisms: The Molecular Basis of Inflammation and Disease. **Nutrition Reviews**, v. 65, n. SUPPL.3, 2007.

- LOPES, R. P. et al. Caracterização química de óleos essenciais de plantas medicinais. **Revista Univap**, v. 22, n. 40, p. 271, 10 jan. 2017.
- MACHADO, H. et al. Flavonóides e seu potencial terapêutico: [revisão]. **Bol. Centro Biol. Reprod**, p. 39–33, 2008.
- MALLIKHARJUNA, P. B.; SEETHARAM, Y. N. In vitro antimicrobial screening of alkaloid fractions from strychnos potatorum. **E-Journal of Chemistry**, v. 6, n. 4, 2009.
- MARQUES, P. A. et al. Prescrição farmacêutica de medicamentos fitoterápicos. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 2, n. 1, 2019.
- MELO, A. P. DE et al. Retirada de opioides: uma revisão bibliográfica / Opioid withdrawal: a literature review. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, 2020.
- MELO, D. B. DE et al. Intoxicação por plantas no Brasil: uma abordagem cienciométrica / Plant intoxication cases in Brazil: a scientometric approach. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, 2021.
- MORAIS, L. M. F. DE; CONCEIÇÃO, G. M. DA; NASCIMENTO, J. DE M. Família Myrtaceae: Análise Morfológica E Distribuição Geográfica. **Agrarian academy**, v. 1, n. 1, p. 317–346, 2014.
- NAGORI, K. et al. Anti-inflammatory activity and chemo profile of plants used in traditional medicine: A review. **J. Chem. Pharm. Res**, v. 2, n. 5, 2010.
- PACHECO BORGES, L.; AMORIM, V. A. Metabólitos Secundários De Plantas Secondary Plant Metabolites. **Revista Agrotecnologia, Ipameri**, n. 11, p. 54–67, 2020.
- 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 SciencesMDPI AG, , 1 set. 2019.
- PEREIRA, D. T. DE S. et al. Therapeutic conducts used in pain management in oncology. **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online**, v. 7, n. 1, 2015.
- PEREIRA, L. R. L.; DE FREITAS, O. The evolution of pharmaceutical care and the prospect for the Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, 2008.
- PIMENTEL, V. et al. Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança? **Revista do BNDES**, n. 43, 2015.
- PON PREEJA, R.; GEETHA, R. V. In vitro anti-inflammatory activity of Eugenia Jambolana extract using membrane stabilization assay. **Drug Invention Today**, v. 14, n. 3, 2020.

QUEIROZ, J. M. G. et al. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. **Revista Fitos**, v. 9, n. 2, 2015.

RAKIB, A. et al. Pharmacological studies on the antinociceptive, anxiolytic and antidepressant activity of *Tinospora crispa*. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 11, 2020.

RANG, H. P. et al. Rang y Dale: Farmacología: octava edición. In: **Elsevier**. [s.l: s.n.].

RODRIGUES, R. **ANEXO Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. [s.l: s.n.].

SALES, M.; SARTOR, E.; GENTILLI, R. Etnobotânica e etnofarmacologia: medicina tradicional e bioprospecção de fitoterápicos. **Revista Salus**, v. 1, n. 1, 2015.

SALMERÓN-MANZANO, E.; GARRIDO-CARDENAS, J. A.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Worldwide research trends on medicinal plants. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 10, 2 maio 2020.

SIEBERT, D. A. et al. Anti-inflammatory activity of the epicuticular wax and its isolated compounds catechin and gallocatechin from *Eugenia brasiliensis* Lam. (*Myrtaceae*) leaves. **Natural Product Research**, 2020.

SILVA, A. F.; RABELO, M. F. R.; ENOQUE, M. M. Angiosperm diversity and medicinal species of Cerrado area. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, 2015.

SILVA, M. I. G. et al. **Bioactivity and potential therapeutic benefits of some medicinal plants from the Caatinga (semi-arid) vegetation of Northeast Brazil: A review of the literature** *Revista Brasileira de Farmacognosia* Sociedade Brasileira de Farmacognosia, , 2011.

SILVINO, A. S.; VIGLIO, J. E.; FERREIRA, L. D. C. A conservação da Caatinga em diferentes arenas do Semiárido brasileiro. **Sustentabilidade em Debate**, v. 7, 2016.

SOBEH, M. et al. Chemical profiling of secondary metabolites of *Eugenia uniflora* and their antioxidant, anti-inflammatory, pain killing and anti-diabetic activities: A comprehensive approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 240, 2019.

SOFIDIYA, M. O. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of ethanolic extract of *Alafia barberi*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 3, 2014.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C. L. R. Divulgação O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. v. 20, n. November 2008, p. 435–440, 2010a.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, 2010b.

TAKEUCHI, O.; AKIRA, S. **Pattern Recognition Receptors and Inflammation Cell**, 2010.

USMAN, M. R. . M.; CHOUBEY, N. Medicinal importance and pharmacological significance of *Eugenia jambolana* lam. **Journal of Pharmacy Research**, v. 11, n. 2, 2017.

VECHI, G. et al. Analyses of chemical composition and gastroprotective and antinociceptive properties of *Eugenia involucrate* DC. leaves. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 8, n. 4, 2018.

WENG KONG, K. et al. Antimicrobial and Antivirulence Action of *Eugenia brejoensis* Essential Oil in vitro and in vivo Invertebrate Models. 2020.

WILSON, P. G. **The families and genera of vascular plants. Flowering plants eudicots, Sapandales, Cucurbitales, Myrtaceae. Vol X.** [s.l: s.n.].