



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
BACHARELADO EM FARMÁCIA**

DAYWISON SILVA RODRIGUES GAMBÔA

**POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE
Indigofera suffruticosa Miller**

RECIFE

2023

DAYWISON SILVA RODRIGUES GAMBÔA

**POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE
Indigofera suffruticosa Miller**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Farmácia da Universidade Federal de
Pernambuco como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em Farmácia

Orientador: Profa. Dra. Vera Lúcia de
Menezes Lima

Coorientador: Dr. João Ricardhis Saturnino
de Oliveira

Recife

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Gambôa, Daywison Silva Rodrigues.

Potencial anti-inflamatório do extrato aquoso das folhas de *Indigofera suffruticosa* Miller / Daywison Silva Rodrigues Gambôa. - Recife, 2023.
49 p. : il., tab.

Orientador(a): Vera Lúcia de Menezes Lima

Cooorientador(a): João Ricardhis Saturnino de Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2023.

Inclui referências, anexos.

1. *Indigofera suffruticosa*. 2. anti-inflamatório. 3. contorção abdominal. 4. edema. 5. antiartrite. I. Lima, Vera Lúcia de Menezes. (Orientação). II. Oliveira, João Ricardhis Saturnino de. (Cooorientação). III. Título.

570 CDD (22.ed.)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
BACHARELADO EM FARMÁCIA

Aprovado em: 04/05/2023

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares (Presidente e Examinador)
Universidade Federal de Pernambuco

Mestra Rebeca Xavier da Cunha (Examinadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Mestra Laysa Fernanda Gomes Bezerra (Suplente)
Universidade Federal de Pernambuco

Aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda minha família. Especialmente aos meus pais, Sônia Maria e Jonas Rodrigues, e minha irmã, Lidiane Vanessa, por todo o apoio incondicional, por sempre estarem ao meu lado, me incentivarem nos momentos difíceis e moldarem quem eu sou hoje. Não tenho palavras para agradecer por tudo.

À toda equipe do LAB-DPN, incluindo: MSc. Rebeca Xavier, Dra. Ana Paula, Albérico Real, Dr. Weber Melo, MSc. Álvaro Nóbrega, MSc Layza Fernanda, MSc. Mateus Domingues, Vyctor Mateus, Cassia Rebeca, Suellen Casado, à minha orientadora Profa. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima, ao meu coorientador Dr. João Ricardhis Sarturnino de Oliveira e a todos os outros que fizeram parte dessa jornada, por todos os ensinamentos, conhecimentos compartilhados e por terem sido a melhor equipe de pesquisa que eu poderia ter desejado fazer parte.

Aos amigos de classe, em especial à Bruna, Emilly, Amanda, Cauanny, Alberto, Ítala, Priscila e Jamille, por todas as conversas e momentos compartilhados ao longo do tempo desse curso, por terem tornado tudo mais leve.

A todos os preceptores, colegas e amigos de estágios, em especial aos preceptores Josimar Monteiro, Carla Almeida, Kleodoaldo, Carlos Alberto, Madi Diniz, Dyego Revorêdo, Mônica Lima e Vanessa Fernanda.

A todos os meus professores. Em especial ao meu professor de música, Ivanildo Nascimento, pois a cobrança por disciplina, constância e dedicação com os estudos não é aplicável apenas na música, mas em todas áreas da vida, e definitivamente foi de grande ajuda para a elaboração deste trabalho.

À todas as pessoas que trabalham com diferentes modalidades de artes, bem como com entretenimento de forma geral, onde ficou muito claro a importância dessa área durante o isolamento social na pandemia da COVID-19. Em especial aos streamers da twitch Rafael Lange (Cellbit), Alan Ferreira (Alanzoka), Thiago Elias (Calango), Gabriela Cattuzzo (Bagi), Luisa Martins (TatiLusa), Patrícia Muraoka (Patê), Beatriz Parizotto (TrizPariz), Jacqueline (Chibijacque), João Miranda (livesdojao), Matheus (MatheusVPS), Arissa Horiye e Leonardo Antoniassi (LeoSanti), por me ajudarem a não enlouquecer.

A todos que me ajudaram direta ou indiretamente. Obrigado!

“Palavras são, na minha nada humilde
opinião, nossa inesgotável fonte de magia”

Albus P. W. B. Dumbledore

RESUMO

Os medicamentos anti-inflamatórios e analgésicos atualmente disponíveis no mercado apresentam limitações quanto ao uso. Assim, a *Indigofera suffruticosa* se apresenta como potencial fonte de prospecção de novos compostos biologicamente ativos. Devido a grande diversidade química de substâncias presentes nessa espécie vegetal, algum ativo da *I. suffruticosa* pode vir a apresentar um melhor perfil de toxicidade e eficácia que os fármacos atualmente utilizados na clínica. O extrato aquoso de *I. suffruticosa* (EAls) foi obtido por maceração dinâmica das folhas secas trituras com água destilada. A atividade anti-inflamatória foi avaliada pela inibição do edema de pata induzido por carragenina e pela inibição da desnaturação proteica, enquanto a atividade antinociceptiva foi avaliada pela inibição das contorções abdominais induzidas por ácido acético e pelo teste da formalina. O EAls, na dose de 20 mg/kg, apresentou inibições do edema superiores a 90% nos intervalos amostrados entre 1 e 4h, e 84% em 5h. Na dose de 0,5 mg/mL o EAls apresentou inibição da desnaturação proteica semelhante a indometacina, no entanto, não apresentou um comportamento de dose dependência. Além disso, o EAls foi capaz de inibir o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético em 58,17%, além de promover uma inibição estatisticamente igual a indometacina do tempo de lambida na segunda fase do teste da formalina (fase inflamatória). Assim, o presente estudo mostrou a presença de atividade anti-inflamatória no EAls. Espera-se em pesquisas futuras que as substâncias responsáveis por essa atividade farmacológicas sejam isoladas e que os mecanismos de ação dessas atividades sejam elucidados.

Palavras-chave: *Indigofera suffruticosa*; anti-inflamatório; contorção abdominal; edema; artrose.

ABSTRACT

Anti-inflammatory and analgesic drugs currently available for human use have limitations in their use. Thus, *Indigofera suffruticosa* is a potential source for prospecting new biologically active compounds that may have a better toxicity and efficacy profile. Aqueous extract of *I. suffruticosa* (EAls) was obtained by dynamic maceration of crushed dried leaves with distilled water. Anti-inflammatory activity was evaluated by inhibition of carrageenan-induced paw edema and inhibition of protein denaturation, while the antinociceptive activity was evaluated by inhibition of acetic acid-induced abdominal contortions and the formalin test. EAls, at a dose of 20 mg/kg, showed edema inhibition greater than 90% in the intervals sampled between 1 and 4h, and 84% in 5h. At a dose of 0.5 mg/mL, EAls showed protein denaturation inhibition similar to indomethacin, however, it was not dose-dependent. Additionally, EAls was able to inhibit the number of acetic acid-induced abdominal contortions by 58.17%, and promote statistically equal inhibition to indomethacin of the licking time in the second phase of the formalin test (inflammatory phase). Thus, the present study showed presence of anti-inflammatory activity in EAls. It is expected that in future research, the substances responsible for these pharmacological activities will be isolated and the mechanisms of action of these activities will be elucidated.

Keywords: *Indigofera suffruticosa*; anti-inflammatory; writhing; edema; antiarthritis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Classificação da dor em relação ao mecanismo neurofisiológico...	20
Figura 2 –	Vias da dor.....	21
Figura 3 –	Mecanismo de ação dos AINEs.....	23
Figura 4 –	Vias de síntese dos metabólitos secundários.....	26
Figura 5 –	<i>Indigofera suffruticosa</i> Miller.....	28
Figura 6 –	Inibição do edema de pata induzido por carragenina.....	34
Figura 7 –	Teste da formalina.....	37
Figura 8 –	Inibição da desnaturação proteica.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Comparativo entre inflamação aguda e crônica.....	17
Tabela 2 -	Ação fisiológica dos prostanoídes em diferentes sistemas.....	23
Tabela 3 -	Inibição do edema de pata por carragenina em diferentes espécies de <i>Indigofera</i>	35
Tabela 4 -	Inibição do número de contorções induzida por ácido acético.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AINEs - Anti-inflamatórios não esteroides
- BSA - Albumina sérica bovina
- CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais
- COX - Cicloxigenase
- DAMPs - Padrões moleculares associadas ao perigo
- EAIspi - Extrato aquoso de *Indigofera spicata*
- EAI su - Extrato aquoso de *Indigofera suffruticosa*
- EElar - Extrato etanólico de *Indigofera argentea*
- EElco - Extrato etanólico de *Indigofera cordifolia*
- EElgla - Extrato etanólico de *Indigofera glandulosa*
- EEltri - Extrato etanólico de *Indigofera trita*
- EMllin - Extrato metanólico de *Indigofera linnaei*
- EMIs pi - Extrato metanólico de *Indigofera spicata*
- HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência
- IASP - Associação Internacional Para o Estudo da Dor
- ICAM - Molécula de adesão intercelular
- IL - Interleucina
- LOX - Lipoxigenase
- LIKA - Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
- LT - Leucotrieno
- NLR - Receptores do tipo NOD
- PAMPs - Padrões moleculares associados a patógenos
- PG - Prostaglandinas
- RNS - Espécies reativas de nitrogênio
- ROS - Espécies reativas de oxigênio
- SisGen - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Associado
- TGI - Trato gastrointestinal
- TLR - Receptores do tipo Toll

TNF - Fator de necrose tumoral

TxA2 - Tromboxano A2

UFPE - Universidade Federal de Pernambuco

VCAM - Molécula de adesão de célula vascular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1. O processo inflamatório	17
2.2. Nocicepção	19
2.3. Terapia anti-inflamatória e analgésica	22
2.4. Plantas medicinais	25
2.5. <i>Indigofera suffruticosa</i>	27
3. OBJETIVOS	29
3.1. Objetivo geral	29
3.2. Objetivos específicos	29
4. METODOLOGIA	30
4.1. Obtenção do material vegetal	30
4.2. Animais utilizados	30
4.3. Preparação do extrato	30
4.4. Edema de pata induzido por carragenina	31
4.5. Dor abdominal induzida por ácido acético	31
4.6. Teste da formalina	32
4.7. Inibição da desnaturação proteica	32
4.6. Análise estatística	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	42
ANEXO A – CARTA DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	49
ANEXO B – CARTA DO SISGEN	50

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são espécies vegetais utilizadas com finalidades curativas, por conta de substâncias presentes nas mesmas que possuem propriedades farmacológicas. Os responsáveis por essas atividades são os metabólitos secundários, que são substâncias do metabolismo vegetal que auxiliam na adaptação das plantas ao ambiente, mas que não são essenciais para a sobrevivência das mesmas (AHAMMED et al., 2023; BEDNAREK et al., 2012).

Os metabólitos secundários são categorizados em várias classes químicas, podendo ser citado como exemplo os terpenos, esteroides, saponinas, antraquinonas, alcaloides e os flavonoides (SIMÕES et al., 2016). Assim, as plantas medicinais constituem uma vasta biblioteca de moléculas com potencial atividade farmacológica a serem exploradas para o futuro desenvolvimento de novos medicamentos para tratar doenças em que as terapias atualmente disponíveis apresentem eficácia limitada ou um elevado perfil de toxicidade.

Podendo atingir entre 1 e 2 metros de altura, *Indigofera suffruticosa* Miller é uma planta medicinal que se distribui por todo o território brasileiro, sendo comum encontrá-la em terrenos baldios e pastos (MATOS et al., 2011; LORENZI, 2000). Conhecida popularmente como anileira, é utilizada para tratar diversas condições clínicas na medicina popular, como dor e febre, existindo evidências na literatura que a mesma possa estar associada a atividade anti-inflamatória e analgésica (HASTINGS, 1990; LEITE et al., 2003).

A inflamação constitui uma das primeiras linhas de defesa do organismo frente a um dano tecidual ou agente infeccioso, sendo uma resposta fundamentalmente protetora com o objetivo de eliminar a causa inicial da injúria e restabelecer a homeostase (SUGIMOTO et al., 2019; ALESSANDRI et al., 2013). Apesar de ter o objetivo de proteger o organismo, em situações onde a inflamação é mal regulada, mal direcionada ou ocorre contra substâncias inócuas, a inflamação passa a ser causa de doenças (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2015). De forma semelhante, a dor também exerce uma função de proteção para o organismo ao alertar sobre condições nocivas, mas existem condições onde a dor exacerbada passa a ser algo prejudicial para o indivíduo (LEE; NEUMEISTER, 2020).

A inflamação e a dor estão presentes em diversas condições clínicas, muitas vezes sendo necessário realizar o manejo das mesmas através de medicamentos, e os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) constituem os medicamentos mais utilizados para tratar as afecções inflamatórias e dolorosas (HIJOS-MALLADA; SOSTRES; GOMOLLÓN, 2022; BATLOUNI, 2010). Os efeitos farmacológicos dessa classe são explicados principalmente pela inibição da síntese de prostanoídes ao inibir enzimas cicloxigenases (COX-1 e COX-2) (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2017). Entretanto, a utilização desses medicamentos, especialmente quando por tempo prolongado, em altas doses e em pessoas idosas, estão associados a efeitos adversos como úlcera péptica e insuficiência renal (HIJOS-MALLADA; SOSTRES; GOMOLLÓN, 2022; BENSMAN, 2020). Opióides, uma outra classe de medicamentos utilizadas para tratar afecções dolorosas, também apresentam uma limitação quanto a sua utilização clínica em decorrência do seu perfil de reações adversas, que incluem risco de depressão respiratória, adicção e dependência (LABIANCA et al., 2012).

Assim, existe uma limitação dos medicamentos atualmente disponíveis no mercado para o tratamento da dor e inflamação, havendo a necessidade da busca de novas alternativas terapêuticas para essas condições. Nesse sentido, a *I. suffruticosa* se apresenta como um potencial fonte de novas substâncias com atividades farmacológicas que podem apresentar um melhor perfil de eficácia e toxicidade do que os atualmente disponíveis no mercado.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. O processo inflamatório

Integrando importante parte da imunidade inata e adaptativa, a resposta inflamatória constitui uma das primeiras linhas de defesas do organismo frente a um dano tecidual ou à presença de um agente infeccioso, com o objetivo de eliminar a causa inicial da injúria, possibilitar o reparo tecidual e restaurar a homeostasia (SUGIMOTO et al., 2019; ALESSANDRI et al., 2013). É uma resposta complexa que envolve vários componentes, incluindo células do sistema imune, proteínas plasmáticas, mediadores químicos e os vasos sanguíneos (WIDGEROW, 2012).

De modo geral, a resposta inflamatória é iniciada quando células sentinelas, como os macrófagos residentes, detectam a presença de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) através de receptores, tais como receptores do tipo Toll (TLRs) e receptores do tipo NOD (NLRs), com a subsequente liberação de diversos mediadores inflamatórios, como interleucinas (IL), fator de necrose tumoral (TNF) e eicosanoides, como as prostaglandinas (PG) (CEN; LIU; CHENG, 2018; CHEN; ICHINOHE, 2015; NORRIS et al., 2011). Além de detectar PAMPs, os TLRs também reconhecem moléculas endógenas que são liberadas das células lesionadas, conhecidas como padrões moleculares associadas ao perigo (DAMPs) (CEN; LIU; CHENG, 2018; KONO; ROCK; 2008).

Os mediadores químicos liberados vão conduzir diferentes etapas da inflamação. A histamina, tal qual outros mediadores, como leucotrienos (LT) e bradicinina, promovem a retração das junções entre as células endoteliais, aumentando assim a permeabilidade vascular com subsequente formação de edema (LOTUFO et al., 2006). A migração de leucócitos para o exterior dos vasos sanguíneos é intermediada por fatores inflamatórios como o TNF e IL-1, que induzem células do endotélio a expressar moléculas de adesão, como E-selectinas, molécula de adesão de célula vascular 1 (VCAM-1) e molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), que interagem com as seus ligantes expressos nas membranas dos leucócitos, possibilitando posteriormente a diapedese (MEAGER, 1999). O efeito quimiotático de mediadores como IL-8, fragmento C5a do complemento e LTB₄, promovem o

deslocamento dos leucócitos até a região lesada, seguindo o gradiente de concentração dessas moléculas (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2015).

Em uma resposta inflamatória aguda bem sucedida, o agente desencadeador da inflamação é eliminado e a resposta inflamatória se encerra (SUGIMOTO et al., 2019; BUCKLEY et al., 2013). No entanto, se for mal sucedida e o agente desencadeador persistir, uma resposta inflamatória crônica será instaurada, apresentando características distintas da resposta aguda (Tabela 1). O predomínio de células mononucleares (macrófagos e linfócitos), angiogênese e fibrose são exemplos de características da inflamação crônica. Além disso, os cinco sinais cardinais da inflamação (elevação da temperatura, eritema, algesia, edema e perda de função), tipicamente presentes nos processos inflamatórios agudos, podem não ser tão evidentes na inflamação crônica, com exceção do último (MEDZHITOV 2010; FERGURSON, 2010; FUJIWARA; KOBAYASHI, 2005).

Tabela 1 - Comparativo entre inflamação aguda e crônica

Inflamação Aguda	Inflamação Crônica
início repentino	início insidioso
curta duração	longa duração
infecções, traumas, queimaduras	infecções persistentes, doenças autoimunes
leucócitos polimorfonucleares	leucócitos mononucleares
sinais cardinais da inflamação aparentes	fibrose, angiogênese

Fonte: O AUTOR (2023)

Apesar de ser uma resposta que essencialmente objetiva proteger o organismo de danos teciduais e agentes infecciosos, quando é deflagrada contra substâncias inócuas, como ocorre nas reações alérgicas, quando mal regulada ou mal direcionada, a inflamação passar a ser causa de doenças (SUGIMOTO et al., 2019; KUMAR; ABBAS; ASTER, 2015). A inflamação desempenha um importante papel na fisiopatologia de muitas condições clínicas, como no diabetes mellitus (OGUNTIBEJU, 2019; TSALAMANDRIS et al., 2019), insuficiência cardíaca (ADAMO et al., 2020),

Alzheimer (TAO et al., 2018; TUBLIN et al., 2019), osteoartrite (CHOW; CHIN, 2020) e câncer (GRETEN; GRIVENNIKOV, 2019).

A resposta inflamatória exacerbada pode promover lesão tecidual por diferentes mecanismos, incluindo a produção elevada de radicais livres e de outras espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS), liberação de enzimas proteolíticas e pela ação do sistema complemento (TIWARI; MARTINEAU, 2023; CHAKRABORTY; BHATTACHARYYA 2013; COOK; BOTTO, 2006; ARUMUGAM et al., 2004). Além disso, uma inflamação muito prolongada que causa lesões repetitivas pode desregular o processo normal de cicatrização, levando a ativação de fibroblastos locais com uma deposição excessiva de componentes da matriz extracelular (como colágeno e fibronectina) e subsequente formação de fibrose (HENDERSON; RIEDER; WYNN, 2020; DUFFIELD et al., 2013). A substituição permanente do parênquima tecidual por fibrose pode levar a redução de função tecidual e, em casos mais graves, a falência do órgão (HENDERSON; RIEDER; WYNN, 2020; KISSELEVA; BRENNER, 2008).

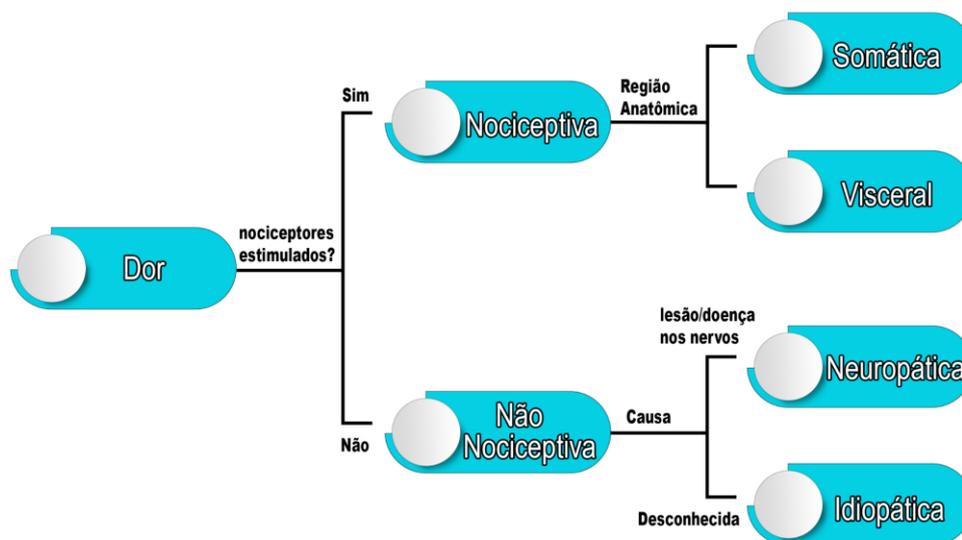
Além dos danos teciduais, a inflamação está associada à dor em diversas afecções. Mediadores inflamatórios, como a interleucina IL-1 β , IL-6, TNF- α , prostaglandinas, H⁺ e bradicinina, interagem com receptores de neurônios nociceptores, alterando o funcionamento de circuitos neurais envolvidos na percepção da dor, desencadeando dor exagerada por estímulo lesivo (hiperalgesia) e dor a partir de estímulos não lesivos (alodinia) (JI et al., 2011; ZHANG; AN, 2007).

2.2. Nocicepção

Atualmente a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) define a dor como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou potencial” (RAJA et al., 2020). Desse modo, dor não é entendida como um sinônimo de nocicepção, uma vez que a nocicepção se limita a atividade de neurônios sensoriais, enquanto a dor também leva em consideração o estado psicológico de sofrimento e desconforto do indivíduo (RAJA et al., 2020; SNEDDON 2019).

Uma das possibilidades de classificação da dor é em relação ao mecanismo neurofisiológico, podendo ser nociceptiva ou não-nociceptiva (Figura 1). A dor nociceptiva refere-se à estimulação dos neurônios nociceptores em situações de dano tecidual real ou potencial, com subsequente transdução e transmissão do sinal pelas vias ascendentes da dor (ANWAR, 2016; BERRY et al., 2001). Pode ser subdividida em dor visceral e somática, que diferem uma da outra não apenas pela região anatômica, mas também por algumas das características neurobiológicas e clínicas. Como exemplo, a dor visceral é mais mal localizada e difusa que a dor somática, e cada uma ativam algumas regiões do córtex cerebral com intensidades distintas (GRUNDY et al., 2019; DUNCLEY et al., 2005). Por sua vez, a dor não-nociceptiva pode ser subdividida em dor neuropática, que ocorre de forma subsequente à lesão ou doença do sistema nervoso somatossensorial, e em dor idiopática, que engloba um amplo espectro de dores ainda mal compreendidas (FINNERUP 2021; ANWAR, 2016).

Figura 1 - Classificação da dor em relação ao mecanismo neurofisiológico

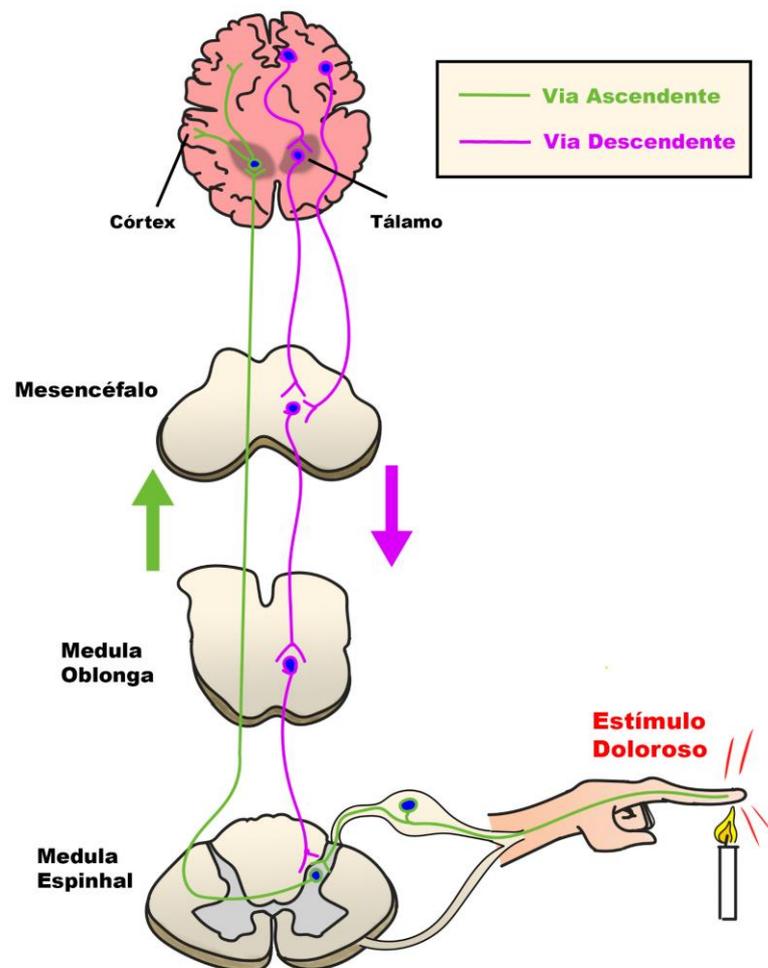


Fonte: O AUTOR (2023)

De modo geral existem duas vias da dor, uma ascendente e uma descendente (Figura 2). A via ascendente inicia-se quando neurônios sensoriais primários, os

nociceptores, sofrem um estímulo térmico, mecânico ou químico intenso o suficiente (potencialmente lesivo) para promover um influxo de íons, com subsequente despolarização da membrana e geração de um potencial de ação (ELLISON, 2017; GOLAN et al, 2014). Esse sinal se propaga até o terminal axonal, promovendo a liberação de mediadores químicos que irão deflagrar o potencial de ação nos neurônios secundários da via ascendente, localizados no corno dorsal da medula espinhal (STEEDS, 2009). O potencial de ação se propaga para o tálamo e é então direcionado para o córtex somatossensorial, responsável pelo processamento do estímulo e fornecimento de informações sobre sua localização e intensidade (YAM et al., 2018).

Figura 2 - Vias da dor



Fonte: O AUTOR (2023)

Na via descendente os nervos partem do cérebro para a medula espinhal e exercem uma importante função na modulação da dor transmitida pela via ascendente (ANWAR, 2016). Essa modulação pode reduzir a percepção da dor através de diferentes neurotransmissores, como opioides endógenos, norepinefrina e serotonina, que atuam por mecanismos distintos (YAM et al., 2018). Por exemplo, opioides endógenos ao interagirem com os receptores opioides μ , δ , κ , limitam a propagação do impulso nervoso ao bloquearem a liberação de neurotransmissores dos nociceptores pela redução do influxo de cálcio, bem como ao hiperpolarizar os neurônios secundários pelo aumento do efluxo de potássio, atuando dessa forma tanto em nível pré-sináptico quanto pós-sináptico (ELLISON, 2017; KWON et al., 2014).

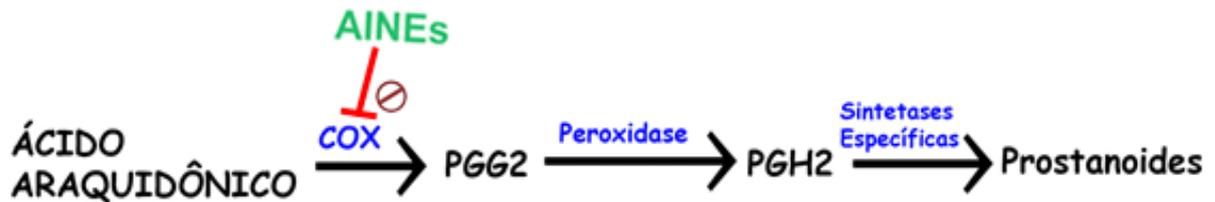
Embora a dor fisiológica tenha a importante função de alertar sobre condições nocivas e, assim, proteger o organismo de possíveis lesões físicas, em situações em que a dor se torna exacerbada ela passa a ser algo prejudicial para o indivíduo (LEE; NEUMEISTER, 2020). A exemplo de dores agudas que se enquadram nessa situação, podemos citar dores associada ao trauma, ao pós-operatório, e cefaleia aguda (SMALL; LAYCOCK, 2020; KARAMCHANDANI et al., 2019; HAINER; MATHESON, 2013). Apesar de não existir uma delimitação muito clara do momento em que um processo doloroso agudo se torna crônico, é aceita como crônica a dor que persiste por mais de 3 meses (TREEDE et al., 2019). Muitas doenças, como osteoartrite, fibromialgia, diabetes, cefaleia tensional crônica e câncer, apresentam dor crônica como uma de suas manifestações clínicas. Os pacientes afetados por essas doenças frequentemente necessitam de um tratamento adequado para obter uma melhor qualidade de vida (SILVA et al., 2020; KRISTOFFERSEN; FAIZ; WINSVOLD, 2019; BENNET et al., 2019; MÄNTYSELKÄ et al., 2008; VIERCK JR, 2006).

2.3. Terapia anti-inflamatória e analgésica

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) são uma classe de medicamento amplamente utilizados para tratar afecções inflamatórias e dolorosas, sendo uma das classes de medicamentos mais prescritas em todo o mundo (HIJOS-MALLADA; SOSTRES; GOMOLLÓN, 2022; BATLOUNI, 2010). Os principais efeitos

farmacológicos desta classe de medicamentos são decorrentes da inibição das isoformas das enzimas cicloxigenase (COX-1 e COX-2), bloqueando a síntese de prostanoídes (Figura 3) (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2017).

Figura 3 - Mecanismo de ação dos AINEs



Fonte: O AUTOR (2023).

A COX-1 é expressa constitutivamente em muitos tecidos, exercendo importante papel na manutenção da homeostase (Tabela 2), incluindo proteção do trato gastrointestinal (TGI), função renal e ativação plaquetária (GÓMEZ-LUQUE, 2005). Por esse motivo os AINEs, principalmente quando utilizado por tempo muito prolongado, altas doses e por pessoas de idade avançada, estão associados a efeitos adversos como úlcera péptica e insuficiência renal (HIJOS-MALLADA; SOSTRES; GOMOLLÓN, 2022; BENSMAN, 2020).

Tabela 2 - Ação fisiológica dos prostanoídes em diferentes sistemas

	Prostanoide	Efeito Fisiológico
Trato GI	PGE2 ^a /PGI2 ^b	Citoproteção
Sistema Circulatório	TxA2 ^c	Vasoconstrição; Agregação Plaquetária
Sistema Circulatório	PGI2/PGE2/PGD2 ^d	Vasodilatação; Antiagregante
Rins	PGE2/PGI2	Fluxo sanguíneo normal
Útero	PGE2	Contração

Fonte: Adaptado de BRUNTON, HILAL-DANDAN e KNOLLMANN (2018). ^aProstaglandina E2;

^bProstaciclina; ^cTramboxano A2; ^dProstaglandina D2

Décadas atrás, como pode ser visto no trabalho de VANE e BOTTING (1998), acreditava-se que a COX-2 era expressa exclusivamente em processos inflamatórios, sendo a COX-1 a única que exercia atividade fisiológica e, desse modo, o seu bloqueio era o responsável pelas reações adversas dos AINEs. Em uma tentativa de reduzir as

reações adversas dos AINES, em especial os efeitos deletérios ao TGI, foram desenvolvidos AINEs que apresentam uma maior seletividade para COX-2, os coxibes. Representantes dessa classe, como o celecoxibe e o etoricoxibe, de fato apresentam uma menor incidência de efeitos adversos ao TGI (LANA, 2016). Entretanto, deve-se evitar o uso desses medicamentos em pacientes com histórico de doenças cardiovasculares, uma vez que a produção de prostaciclina (PGI₂, que exerce atividade vasodilatadora e anti-agregante) depende da COX-2 endotelial e a produção de Tromboxano A₂ (TxA₂, que estimula a agregação plaquetária) depende da COX-1 plaquetária, o bloqueio seletivo da COX-2 aumenta a razão TxA₂/PGI podendo trazer risco de complicações cardiovasculares (BRUNTON, HILAL-DANDAN, KNOLLMANN, 2018; GROSSER et al., 2006; CHAN et al., 2009). De fato, coxibes muito seletivos para COX-2, como o rofecoxibe, foram retirados do mercado devido a alta incidência de eventos adversos cardiovasculares graves, como infarto agudo do miocárdio e morte cardíaca súbita (HORTON, 2004). Importante ressaltar que alguns AINEs clássicos, como o diclofenaco, embora não tenha sido intencionalmente desenvolvido para ser um inibidor com maior seletividade para a COX-2, apresenta essa propriedade (STILLER; HJEMDAHL, 2022; BRUNTON, HILAL-DANDAN, KNOLLMANN, 2018; LANA, 2016). Além dos efeitos adversos decorrentes da inibição das COX, também deve-se levar em conta a possibilidade de reações alérgicas aos AINEs. Estudo realizado por AUN et al. (2014) mostrou que, dentre 117 pacientes admitidos em um hospital universitário por anafilaxia causada pelo uso de medicamentos, a maior parte das admissões (48,7%) foram decorrentes do uso de AINEs.

Uma outra limitação dos AINES são as situações clínicas em que eles, isoladamente, podem ser ineficazes para controlar a dor, como ocorre na dor neuropática, fibromialgia e na enxaqueca crônica (BECKER, 2017; COLLOCA et al.; KOGURE et al., 2007). Os opioides são uma alternativa terapêutica para promover analgesia nessas situações, constituindo a principal classe farmacológica utilizada para tratar a dor moderada e intensa. As atividades analgésicas dos opioides decorrem da ligação dos mesmos aos receptores μ , suprimindo a liberação de neurotransmissores pré-sinápticos e hiper polarizando os neurônios pós sinápticos da via ascendente da dor, dificultando dessa forma a condução do impulso nervoso (GOLAN et al., 2014). Um fator limitante para a utilização de opioides no tratamento

das dores crônicas, além da tolerância, são as suas possíveis reações adversas, que incluem o risco de depressão respiratória, náuseas, constipação e dependência (LABIANCA et al., 2012).

Dado as limitações do uso dos medicamentos atualmente disponíveis no mercado, existe uma necessidade do desenvolvimento de novos medicamentos anti-inflamatórios e analgésicos. Diante disso, as plantas medicinais apresentam-se como uma grande fonte de novas moléculas bioativas que podem ser exploradas na busca de ativos que apresentem um melhor perfil de toxicidade e eficácia que os atualmente disponíveis no mercado.

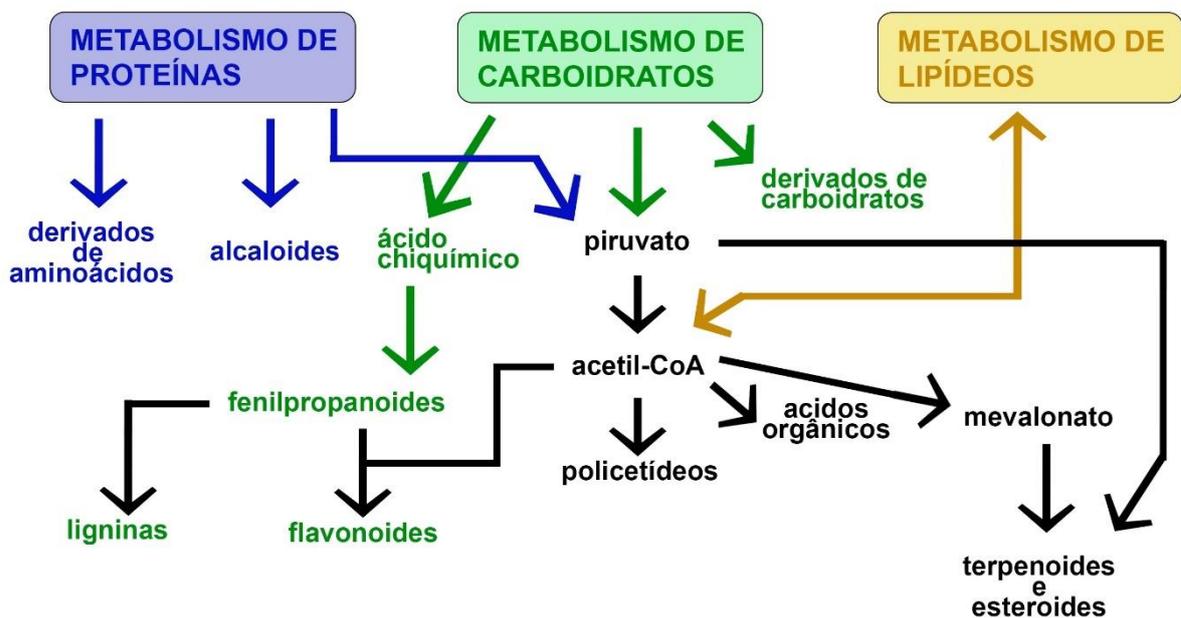
2.4. Plantas medicinais

O uso de plantas medicinais é uma das formas mais antigas de tratamento de doenças, sendo utilizadas por diversas culturas e de diferentes formas, desde tratamento para doenças físicas até para rituais espirituais (ROCHA et al., 2021; FERREIRA et al., 2021). Dentre as escrituras que relatam a utilização de plantas medicinais na antiguidade, podem ser citados o papiro de Ebers (Egito), datado do século XVI a.C, que relata 700 substâncias de origem vegetal, animal e mineral no Egito que exercem atividades farmacológicas (KLEIN, 1905), bem como a Susrata-samhiita (Índia), do ano 600 a.C., que cataloga 700 plantas medicinais (SHAH, 2018). A utilização de plantas medicinais continua presente na atualidade, onde as terapias tradicionais, com destaque para as plantas medicinais, são utilizadas por cerca de 80% da população dos países em desenvolvimento (RANA et al., 2021)

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no Brasil plantas medicinais são definidas como “espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos” (ANVISA, 2014). O que proporciona essa propriedade terapêutica é a presença de metabólitos secundários, moléculas não essenciais para a sobrevivência da planta, mas que facilitam a adaptação da mesma ao meio ambiente por mecanismos que incluem proteção contra o estresse oxidativo e modulação da imunidade vegetal (AHAMMED et al., 2023; BEDNAREK et al., 2012). Essas moléculas são biossintetizadas por diversas vias metabólicas (Figura 4), como a via do chiquimato que promove a síntese de fenilpropanoides e ligninas, a via do

mevalonato que promove a produção de terpenoides e esteroides, além dos metabólitos de vias mistas, como os flavonoides que são sintetizados por uma via mista do chiquimato e acetato (SIMÕES et al., 2016). Importante ressaltar que fatores ambientais como a luz, temperatura e água do solo podem afetar a produção desses compostos bioativos (YANG et al., 2018).

Figura 4 - Vias de síntese dos metabólitos secundários



Fonte: O AUTOR (2023)

Na literatura científica está muito bem documentado a atividade anti-inflamatória de diferentes classes de metabólitos secundários de espécies vegetais, como flavonoides (MOLČANOVÁ et al., 2022; PENG et al., 2022), taninos (EBRAHIM et al., 2022), lignanas (HU et al., 2022; MOU et al., 2020) e alcaloides (WANG et al., 2023; TENG et al., 2023). Eles podem exercer essa atividade por diferentes mecanismos, desde a redução da expressão gênica de mediadores inflamatórios como TNF- α e IL-6, inibição de enzimas como a COX e a lipoxigenase (LOX), até a modulação negativa da explosão oxidativa em fagócitos (AL-ATTAS et al., 2015; HU et al., 2019; ERUKAINURE et al., 2017).

Apesar de muitas plantas medicinais serem utilizadas há séculos, nem todas foram completamente estudadas em relação à sua segurança e eficácia (YANG et al.,

2018). Assim, é necessário realizar pesquisas mais aprofundadas sobre essas espécies vegetais para identificar as substâncias ativas e seus efeitos farmacológicos.

2.5. *Indigofera suffruticosa*

Apresentando 19.500 espécies de plantas classificadas em cerca de 751 gêneros, a família Fabaceae, também denominada Leguminosae, apresenta-se como a maior família da flora brasileira em termos de número de espécies, bem como a terceira maior família de angiospermas do mundo (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023; CHRISTENHUZ; BYNG, 2016). Excluindo a Antártida, os integrantes dessa família estão distribuídos em todos os continentes e estão presentes em diferentes condições climáticas e ambientais (BURLEY; EVANS; YOUNGQUIST, 2004). Dentre os principais gêneros que constituem essa família, podem ser citados o gênero *Astragalus*, *Acacia* e *Indigofera* (AHMAD et al., 2016).

Indigofera é o terceiro maior gênero da família Fabaceae, com cerca de 750 espécies vegetais, composto principalmente por ervas e arbustos (RAHMAN et al., 2018; KAUSHIK et al., 2017). Na literatura científica está documentado vários metabólitos secundários, de diferentes classes, que foram isolados de espécies do gênero *Indigofera*. É possível mencionar flavonoides isolados de *I. spicata* e de *I. hebeptala*; esteróides de *I. pseudotinctoria* e de *I. kirilowi*; alcalóides de *I. tinctoria* e terpenóides de *I. hetrantha* (GEROMETTA et al., 2020; RAHMAN et al., 2018).

Popularmente conhecida como anileira, *Indigofera suffruticosa* Miller é uma planta perene, de porte ereto, com ramos pubescentes que pode atingir entre 1 e 2 metros de altura (Figura 5) (LORENZI, 2000). Folículos de formato alongado constituem as suas folhas, seus frutos são vagens que contêm por volta de 8 sementes, e suas flores são pequenas e apresentam uma coloração rosada. Está distribuída por todo o Brasil, sendo comum em terrenos baldios e pastos (MATOS et al., 2011).

Figura 5 – *Indigofera suffruticosa* Miller

Fonte: O AUTOR (2023).

Na medicina popular a *I. suffruticosa* é historicamente utilizada para tratar diversas condições clínicas, como epilepsia, constipação intestinal, febre e dor (HASTINGS, 1990). Na literatura podem ser encontrados várias classes de metabólitos secundários presentes nessa espécie, incluindo alcaloides, triterpenoides, flavonoides e outros compostos fenólicos. Dentre os flavonoides na forma de heterosídeos que foram isolados do extrato metanólico das folhas de *I. suffruticosa*, podem ser citados a quercetina 7-O- β -d-glicopiranosídeo e a quercetina 3-O-[β -d-xilopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -d-galactopiranosídeo] (CALVO, 2007; CAMPOS et al., 2018). Esses metabólitos secundários podem ser os responsáveis pelas atividades farmacológicas associadas a essa espécie vegetal, o que na literatura inclui atividade antitumoral, hepatoprotetora, antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória (CALVO et al., 2011; LIMA et al., 2014; LEITE et al., 2003; SANTOS et al., 2015; ARRIAGA et al., 2013).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito anti-inflamatório e analgésico *in vivo* e *in vitro* do extrato aquoso de folhas de *Indigofera suffruticosa*

3.2. Objetivos específicos

- Preparar o extrato aquoso de folhas de *I. suffruticosa*;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória *in vivo* do extrato;
- Avaliar a atividade analgésica *in vivo* do extrato;
- Verificar a atividade antiartrite *in vitro* por método que se baseia na inibição da desnaturação proteica.

4. METODOLOGIA

4.1. Obtenção do material vegetal

Foram coletadas folhas de *I. suffruticosa* em São Caitano (08°19'3"S, 36°04'21"O), região agreste de Pernambuco. A amostra foi encaminhada ao herbário HFP Geraldo Mariz, onde a Dra. Marlene Carvalho de Alencar Barbosa, do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), realizou sua identificação. O número de depósito atribuído à amostra é 45.217. Além disso, a amostra também foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Associado (SisGen), com o código de identificação A149769.

4.2. Animais utilizados

Foram adquiridos camundongos albinos suíços, machos, com idades variando entre 2 e 4 meses, provenientes do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE, para o desenvolvimento do projeto. Esses animais foram alojados no Biotério do Departamento de Bioquímica, onde ficaram em um ambiente com temperatura de 22°C e ciclos de iluminação de 12h-ligado/12h-desligado, com comida (Presence) e bebida *ad libitum*, por um período de adaptação de 7 dias. Os experimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE, com o número de processo 23076.042305/2017-67.

4.3. Preparação do extrato

As folhas de *I. suffruticosa* foram submetidas à secagem em estufa a 38°C por um período de 72 horas e, em seguida, trituradas em um liquidificador industrial (Vithory) até que se obtivesse um pó. Utilizando 50g do material triturado, foi realizada a extração a frio com cerca de 200 mL de água destilada (25% m/v), mantendo o material sob agitação durante um intervalo de tempo de 15 horas. O extrato foi então

filtrado, e o resíduo sólido da filtração foi submetido a uma segunda extração utilizando 100 mL de água destilada, com mais 15 horas de agitação. Após este período, o extrato da segunda extração foi filtrado usando papel filtro (Unifil, qualitativo, 80 g/m²) e adicionado ao extrato da primeira extração. O extrato aquoso de *I. suffruticosa* (EAlsú) foi liofilizado (Liofilizador Liotop, L101) e armazenado em tubos de 50 mL a -22°C. O rendimento obtido foi de 10,64% (m/m).

4.4. Edema de pata induzido por carragenina

O teste foi realizado de acordo com a metodologia de WINTER, RISLEY e NUSS (1962). Randomicamente foram divididos três grupos de seis camundongos cada. Antes do início do teste os animais passaram por um jejum de 6h. Cada grupo recebeu um tratamento distinto: EAlsú (20 mg/kg), indometacina (20 mg/kg) e veículo (grupo controle negativo), todos por via oral. O edema de pata foi induzido pela administração subplantar de 15µL de carragenina 2% (m/v) na pata direita e, para controle, foi administrado 15 µL de solução salina na pata esquerda. O volume das patas direita e esquerda de cada animal foram medidas nos intervalos de tempo de 30min, 1, 2, 3, 4 e 5h após a administração da carragenina, utilizando um paquímetro digital (Stainless Hardened). O edema em cada grupo teste (EGT) e o edema no grupo controle negativo (EGC) foi cálculo pela diferença de volume entre a pata direita e esquerda. O percentual de inibição dos edemas foi calculado por $(100 \cdot (EGC - EGT) / EGC) - 100$.

4.5. Dor abdominal induzida por ácido acético

O teste foi realizado de acordo com a metodologia de Collier et al. (1998). Randomicamente foram divididos três grupos de seis camundongos cada. Um tratamento distinto foi destinado a cada grupo: EAlsú (20 mg/kg), indometacina (20 mg/kg) e 100µL do veículo (grupo controle negativo), todos por via oral. A dor abdominal foi induzida uma hora após os grupos receberem os tratamentos por via oral, pela administração intraperitoneal de ácido acético dissolvido em água destilada até a concentração de 0,8% (v/v) na dose de 0,1 mL/10g. Foi contabilizado o número

de contorções abdominais no intervalo entre 5 e 15 minutos após a administração do ácido acético (QUEIROZ et al., 2010). A porcentagem de inibição de dor abdominal foi calculada pela comparação entre o número de contorções dos grupos tratados com o grupo controle negativo.

4.6. Teste da formalina

O teste foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Hunskaar e Hole (1987). Os camundongos foram randomicamente divididos em quatro grupos, cada grupo contendo seis animais. Cada grupo recebeu um tratamento distinto: EAlsu (20 mg/kg), indometacina (20 mg/kg), morfina (10 mg/kg) e 100 µL do veículo (grupo controle negativo), todos por via oral. Após 1h, 20µL de solução de formalina (2,5% em solução salina 0,9%) foi administrada por via subplantar na pata posterior direita (QUEIROZ et al., 2010). A resposta (tempo que os camundongos despenderam lambendo a pata) foi avaliada durante 5 minutos (primeira fase, correspondendo à dor neurogênica) e entre 15-30 minutos após administração da formalina (segunda fase, correspondendo à dor inflamatória).

4.7. Inibição da desnaturação proteica

O teste foi realizado de acordo com a metodologia de GHOSH et al. (2015), com modificações. Foram adicionados 50 µL de diluições seriadas do EAlsu, com concentrações variando de 2 a 0,5 mg/mL, à 450 µL de uma solução aquosa de albumina sérica bovina (BSA) a 5% (m/v). Como controles, foram utilizados 50µL de água destilada (correspondente a 100% de desnaturação) e 50 µL de diluições seriadas de indometacina (2-0,5 mg/mL), adicionados à 450 µL de BSA 5%. Além disso, foram adicionados 50µL das diluições seriadas do EAlsu e da indometacina a 450 mL de água destilada, para se ter o controle da absorvância inerente a cada um dos tratamentos. Todas as amostras foram incubadas a 37°C em banho-maria por 20 minutos e, em seguida, foram aquecidas a 57°C por 3 minutos. Em cada amostra,

após o resfriamento, foi adicionada 2,5 mL de tampão fosfato salina (PBS) 0,2 M, pH 6,3. As absorbâncias foram medidas por espectrofotometria a 255nm.

4.6. Análise estatística

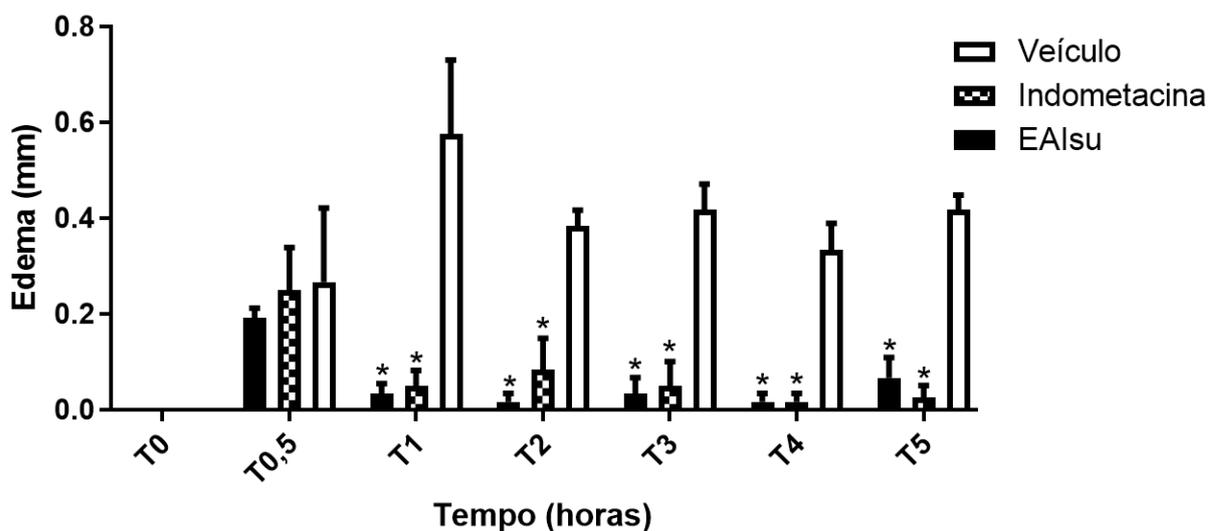
Para o teste de edema de pata induzido por carragenina, as diferenças entre os grupos de tratamento foram determinadas utilizando two-way ANOVA, enquanto no teste da formalina e na dor abdominal induzida por ácido acético utilizou-se one-way ANOVA. GraphPad Prism 9 foi utilizado como software estatístico para realizar esse tratamento de dados. Para todos estes foram considerados significativos os resultados a partir de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sendo um dos sinais cardinais da inflamação, o acúmulo de plasma e leucócitos em uma região que sofreu algum dano tecidual é denominado edema inflamatório. No estudo experimental da inflamação *in vivo*, uma forma de induzir o edema inflamatório local é pela administração de carragenina, método que é amplamente utilizado em modelos animais com camundongos e ratos. O trabalho de MYERS, DEEVER e LEWANDOWSKI (2019) demonstra que a carragenina inicia a resposta inflamatória predominantemente pela ativação de receptores TLR2/6 e TLR4/6.

Neste estudo o EAls, na dose de 20 mg/kg, demonstrou possuir atividade antiedematogênica em camundongos, sendo capaz de reduzir significativamente o edema de pata induzido por carragenina em diferentes intervalos de tempo quando comparado ao grupo controle, apresentando uma inibição estatisticamente igual a promovida pela dose de 20 mg/kg controle positivo (indometacina) em todos os intervalos de tempo amostrados. Os resultados desse ensaio estão apresentados na Figura 6.

Figura 6 - Inibição do edema de pata induzido por carragenina.



Fonte: O AUTOR (2023). * $p < 0,01$ two-way ANOVA.

Diversos estudos têm investigado a atividade antiedematosa dos extratos de espécies vegetais pertencentes ao gênero *Indigofera*, podendo ser citado os extratos etanólicos de *I. cordifolia* (EEIco) (KARUNAKAR, 2022), *I. glandulosa* (EEIgl) (KARUNAKAR, 2022), *I. trita* (EEItri) (KUMAR et al., 2009) e *I. argentea* (EEIar) (JAVED et al., 2020), além do extrato aquoso (EAlsu) e metanólico (EMIsu) de *I. spicata* (BIRHANE; SHIBESHI; ASRES, 2014). Nas medições realizadas 3 horas após a administração subplantar de carragenina, os extratos EAlsu, EEIgl, EAlsu, EEItri, EMIsu, EEIco e EEIar, apresentaram, respectivamente, inibições de 92,00; 64,29; 59,33; 52,00; 48,50; 42,86 e 18,72% da formação de edema de pata induzida por carragenina, nas respectivas doses de 20, 400, 400, 400, 400, 400 e 300 mg/kg. De forma geral, o EAlsu apresentou uma maior porcentagem de inibição do edema nos diferentes intervalos de tempo, mesmo com dose muito abaixo dos demais extratos do mesmo gênero, como pode ser observado na Tabela 3. Importante levar em consideração que nessa comparação muitas das espécies vegetais utilizaram solventes diferente de água, bem como diferentes partes da planta e métodos de extração, e todos esses fatores influenciam a composição química final do extrato e, conseqüentemente, suas atividades farmacológicas.

Tabela 3 - Inibição do edema de pata por carragenina em diferentes espécies de *Indigofera*

Tratamento	Dose (mg/kg)	% de inibição do edema					
		30min	1h	2h	3h	4h	5h
EAlsu ^a	20	28,12	94,20	95,65	92,00	95,00	84,00
EEIco ^b	400	*	40,91	25,93	42,86	82,05	*
EEIgl ^c	400	*	50,00	51,85	64,29	71,79	*
EAlsu ^d	400	*	18,89	62,27	59,33	57,27	33,76
EMIsu ^e	400	*	13,70	44,22	48,50	38,22	29,42
EEItri ^f	400	*	36,36	41,38	52,00	*	*
EEIar ^g	300	*	6,10	9,11	18,72	20,12	*

Fonte: Autor, 2023; Karunakar, 2022; Kumar et al., 2009; Javed et al., 2020; Birhane; Shibeshi; Asres, 2014. *não amostrado; ^aExtrato aquoso de *Indigofera suffruticosa*; ^bExtrato etanólico de *Indigofera cordifolia*; ^cExtrato etanólico de *Indigofera glandulosa*; ^dExtrato aquoso de *Indigofera spicata*; ^eExtrato metanólico de *Indigofera spicata*; ^fExtrato etanólico de *Indigofera trita*; ^gExtrato etanólico de *Indigofera argentea*.

A inibição da formação de edema (induzido por carragenina) pela ação do extrato aquoso de folhas de *I. suffruticosa* em camundongos já havia sido analisada anteriormente por Leite et al. (2003). Entretanto esse estudo utilizou uma dose de 250 mg/kg (12,5 vezes maior que a dose utilizada no presente trabalho) administrada por

via intraperitoneal e a inibição do edema, após 4 horas, foi de apenas 45%, menos da metade do valor que encontramos para esse mesmo intervalo de tempo. É importante ressaltar que a metodologia utilizada por Leite et al. (2003) para quantificar o edema de pata, diferentemente da utilizada nesse trabalho, baseou-se na pesagem das patas. Desse modo, a diferença de sensibilidade entre os dois métodos pode ter contribuído para a discrepância entre os resultados, bem como a metodologia utilizada para a extração, onde no trabalho de Leite et al. (2003) foi realizado uma sequência de infusões em ordem crescente de polaridade, podendo alguns compostos responsáveis pela atividade anti-inflamatória terem sido extraída nas outras frações. Como a via de administração utilizada no presente estudo foi oral, evidenciamos que as substâncias responsáveis pela atividade anti-inflamatória do EAlsu são resistentes ao metabolismo de primeira passagem em camundongos.

Os resultados do ensaio de dor abdominal induzida por ácido acético podem ser observados na Tabela 4. O grupo controle negativo, que não recebeu nenhum tratamento por via oral além do veículo, apresentou um valor médio de 34,67 contorções, correspondente a 100% das contorções. Estatisticamente a inibição do número de contorções promovido pelo EAlsu (58,17%) e pela indometacina no grupo controle positivo (76,43%) não apresentaram diferença, as duas demonstrando ser capaz de reduzir significativamente o número de contorções quando comparadas ao grupo controle negativo com $p < 0,05$. Comparando esses resultados com outras espécies de *Indigofera*, o EEIar (300 mg/kg), EAlspi (100 mg/kg), EMIspi (100 mg/kg) e o extrato metanólico de *I. linnaei* (EMlin, 200 mg/kg) (Kumar et al., 2016) apresentaram inibição no número das contorções de 52,8%, 61,29%, 50,64% e 36,75%, respectivamente. Apenas o EAlspi apresentou um percentual de inibição levemente maior que a do EAlsu, porém a dose utilizada foi cinco vezes maior que a do EAlsu. Os demais extratos apresentaram atividade inferior mesmo com doses muito maiores.

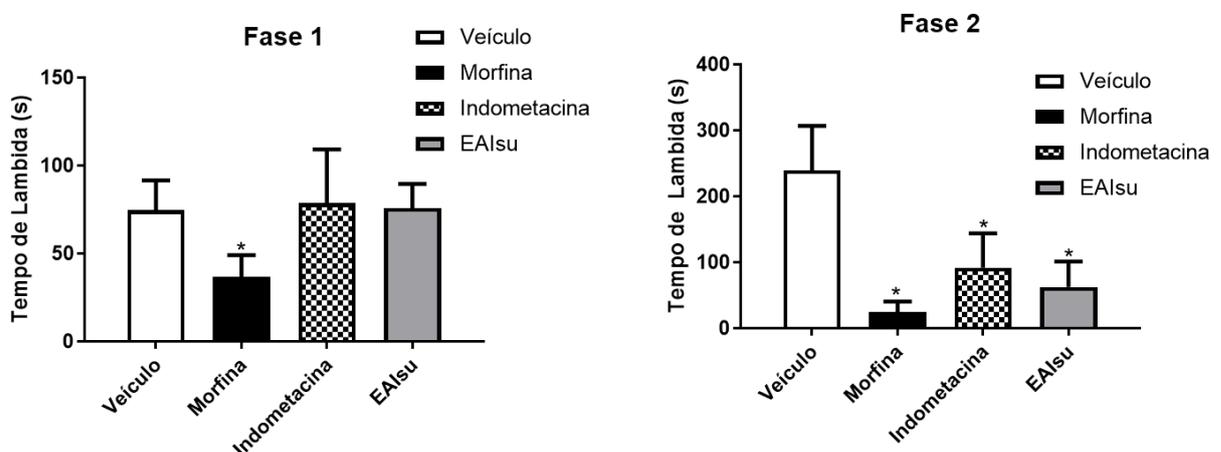
Tabela 4 - Inibição do número de contorções induzida por ácido acético

Tratamento	Número de contorções (Percentual de inibição)
Veículo	34,67
EAlsu (20 mg/kg)	14,50* (58,17%)
Indometacina (20 mg/kg)	8,17* (76,43%)

Fonte: O AUTOR (2023). * $p < 0,05$ one-way ANOVA.

O teste da formalina possibilita avaliar a presença de atividade analgésica, e diferenciar se essa analgesia ocorre por mecanismos de ação neurogênicos ou anti-inflamatórios. Como pode ser observado na Figura 7, o EAlsu não apresentou uma redução significativamente estatística do tempo de lambida da primeira fase do teste da formalina quando comparado ao controle negativo, indicando que o extrato não exerce ações analgésicas por mecanismos neurogênicos. Entretanto, corroborando com os achados nos outros ensaios, o EAlsu apresentou uma redução significativa do tempo na segunda fase do teste quando comparado ao controle negativo, indicando que o extrato, na dose de 20 mg/kg, apresenta atividade analgésica decorrente de sua ação anti-inflamatória. Comparado aos controles positivos na segunda fase do teste, a atividade do EAlsu foi estatisticamente inferior à morfina, mas a redução do tempo de lambida não apresentou diferença estatística quando comparado à indometacina.

Figura 7 - Teste da formalina



Fonte: O AUTOR (2023). * $p < 0,05$ one-way ANOVA.

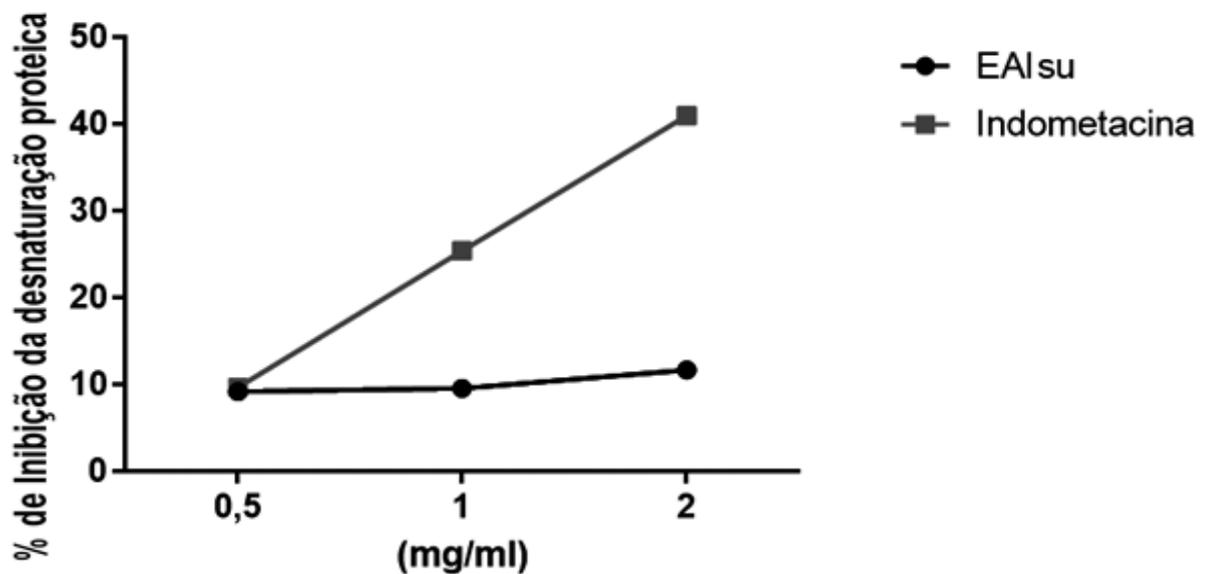
Outras espécies do gênero indigofera, como a *I. argentea* (JAVE et al., 2020) e a *I. spicata* (BIRHANE et al., 2014), quando avaliadas pelo teste da formalina, apresentaram atividade analgésica tanto na segunda fase do teste como na primeira, indicando assim uma atividade analgésica neurogênica. Diferente das outras espécies, a *I. suffruticosa* pode não ter apresentado essa atividade por diversos motivos, o que inclui desde a mesma não expressar metabólitos secundários associados a essa atividade, bem como o procedimento de maceração dinâmica com água pode ter sido ineficiente em extrair as substâncias associadas a essa atividade. Além disso, deve-se considerar que o farmacógeno utilizado também pode influenciar no perfil fitoquímico do extrato, uma vez que foram utilizadas raízes para a *I. spicata* e a planta inteira para a *I. argentea*.

A inibição da desnaturação proteica está associada a atividade anti-inflamatória, onde esse comportamento já foi observado em alguns AINEs (SASO et al., 2001). Essa atividade possui correlação com a atividade em algumas doenças inflamatórias crônicas, como a artrite. Uma possível explicação para essa associação é que, durante a inflamação, os mediadores inflamatórios podem induzir a liberação de proteases, que causam desnaturação de proteínas presentes nas articulações (GONZAL et al, 2020). A Figura 8 apresenta os resultados encontrados para o ensaio de desnaturação proteica do EAls. Na menor concentração (0,5 mg/mL) as inibições da desnaturação proteica promovida pelo EAls e pela indometacina apresentaram valores próximos. No entanto, nas demais concentrações o EAls não demonstrou um comportamento de dose dependência, sendo assim a sua atividade visualmente inferior à da indometacina.

A inibição da desnaturação proteica foi baixa quando comparada aos resultados apresentados por outros extratos de plantas. Algumas plantas, como a *Moringa oleifera* (SALEEM; SALEEM; AKHTAR, 2020), *Ochna schweinfurthiana* (DJOVA et al, 2019) e *Ribes orientale* (UTTRA et al, 2019), apresentaram expressiva inibição da desnaturação de BSA mesmo em concentrações muito baixas, na ordem de µg/mL. Pela baixa inibição da desnaturação da BSA, possa ser que os constituintes do EAls apresentem fracamente essa atividade, no entanto, é possível as substâncias responsáveis por essa atividade representem uma baixa porcentagem da composição do EAls. No trabalho de QAMAR et al. (2022) foi observado uma

elevação da inibição da desnaturação proteica do extrato hidrometanólico de *Grewia asiatica*, onde o extrato hidrometanólico exibia uma inibição de 65% da desnaturação, ao passar por partições líquido-líquido, a fração de aquosa passou a apresentar uma inibição de 70%, e após ser fracionado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) a inibição aumentou para 75%. Dessa forma, possa ser que com frações mais purificadas do EAlsú possa ser observada um aumento em sua capacidade de inibir a desnaturação proteica.

Figura 8 - Inibição da desnaturação proteica



Fonte: O AUTOR (2023).

A atividade anti-inflamatória de *I. suffruticosa* pode tentar ser correlacionada com o seu perfil fitoquímico. Calvo (2007) identificou a presença dos flavonoides rutina, ácido gálico e quercetina. A atividade anti-inflamatória desses metabólitos está muito bem documentado na literatura (WU et al., 2023; TIAN et al., 2021; OJEABURU; ORIAKHI, 2021), podendo serem responsáveis pela atividade anti-inflamatória observada na *Indigofera suffruticosa*. Eles atuam por diversos mecanismos de ação, o que inclui a redução do estresse oxidativo (ZENG et al, 2020), supressão da expressão gênica de mediadores inflamatórios (OJEABURU; ORIAKHI, 2021), e a inibição da expressão de enzimas COXs (PANDURANGAN et al., 2015; RAMYAA et al., 2014). De fato, Chen et al (2013), após administrar extratos de *I. suffruticosa* em

camundongos, conseguiu detectar quantidades significativas de ácido salicílico no plasma sanguíneo desses animais, uma substância sabidamente anti-inflamatória, com capacidade inibir as enzimas COXs, sendo está a substância bioativa responsável pela atividade anti-inflamatória do pró-fármaco ácido acetilsalicílico, um AINE disponível para uso humano (CHUNG; FERREIRA, 1999). Além disso, foi observado que extratos de *I. suffruticosa* apresentam, *in vitro*, capacidade de reduzir significativamente a expressão de mediadores pró-inflamatórios em macrófagos RAW 264.7 estimulados por lipopolissacarídeos, incluindo óxido nítrico, TNF-alfa e a pró-IL-1b, onde esse efeito também pode ser responsável pela atividade anti-inflamatória *in vivo* (CHEN et al., 2013).

6. CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou a atividade anti-inflamatória do EAlsú, sendo este capaz de reduzir significativamente, em camundongos, o edema de pata induzido por carragenina, o número de contorções abdominais induzido por ácido acético e o tempo de lambida na segunda fase do teste da formalina. Além disso, o EAlsú também apresentou atividade antiartrite limitada *in vitro* na menor dose testada, porém a atividade não demonstrou ser dose dependente no ensaio realizado. Espera-se em pesquisas futuras que as substâncias responsáveis por essas atividades farmacológicas sejam isoladas e que os mecanismos de ação dessas atividades sejam elucidados.

REFERÊNCIAS

- ADAMO, L. et al. Reappraising the role of inflammation in heart failure. **Nature Reviews Cardiology**, v. 17, n. 5, p. 269-285, 2020.
- AHAMMED, G. J. et al. Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG): A unique secondary metabolite with diverse roles in plant-environment interaction. **Environmental and Experimental Botany**, p. 105299, 2023.
- AL-ATTAS, A. A. et al. Anti-inflammatory sesquiterpenes from *Costus speciosus* rhizomes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 176, p. 365-374, 2015.
- ALESSANDRI, A. L. et al. Resolution of inflammation: mechanisms and opportunity for drug development. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 139, n. 2, p. 189-212, 2013.
- ANVISA. **Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26**, de 13 de maio de 2014.
- ANWAR, K. Pathophysiology of pain. **Disease-a-Month**, v. 9, n. 62, p. 324-329, 2016.
- ARRIAGA, A. M. et al. Chemical composition and antioxidant activity of *Indigofera suffruticosa*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 49, p. 150-151, 2013.
- ARUMUGAM, T. V. et al. The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. **Shock**, v. 21, n. 5, p. 401-409, 2004.
- AUN, M. V. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs are major causes of drug-induced anaphylaxis. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, v. 2, n. 4, p. 414-420, 2014.
- BECKER, W. J. The diagnosis and management of chronic migraine in primary care. **Headache: The Journal of Head and Face Pain**, v. 57, n. 9, p. 1471-1481, 2017.
- BEDNAREK, P. Chemical warfare or modulators of defence responses—the function of secondary metabolites in plant immunity. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 15, n. 4, p. 407-414, 2012.
- BENNETT, M. I. et al. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic cancer-related pain. **Pain**, v. 160, n. 1, p. 38-44, 2019.
- BENSMAN, A. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) systemic use: the risk of renal failure. **Frontiers in Pediatrics**, v. 7, p. 517, 2020.
- BERRY, P. H. et al. Pain: current understanding of assessment, management, and treatments. **National Pharmaceutical Council and the Joint Commission for the Accreditation of Healthcare Organizations**, VA, USA, p. b44, 2001.
- BIRHANE, S. W.; ASRES, K. Evaluation of analgesic and Antiinflammatory activities of the root extracts of *Indigofera spicata* F. in mice. **Ethiopian Pharm J**, v. 30, p. 65-76, 2014.
- BRUNTON, L. L.; HILAL-DANDAN, R.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 13. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2018.
- BUCKLEY, C. D. et al. The resolution of inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 13, n. 1, p. 59-66, 2013.
- BURLEY, J.; EVANS, J.; YOUNGQUIST, J. A. **Encyclopedia of Forest Sciences**. 1. ed. Academic Press, 2004.

CALVO, T. R. **Uso sustentável de biodiversidade brasileira - prospecção químico-farmacológica em plantas superiores: *Alchornea glandulosa*, *Alchornea atriplinervia* (Euphorbiaceae), *Indigofera truxillensis* e *Indigofera suffruticosa* (Fabaceae).** Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2007.

CALVO, T. R. et al. Mutagenic activity of *Indigofera truxillensis* and *I. suffruticosa* aerial parts. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2011.

CAMPOS, J. K. L. et al. *Indigofera suffruticosa* Mill.(Anil): Plant profile, phytochemistry, and pharmacology review. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, v. 2018, 2018.

CEN, X.; LIU, S.; CHENG, K. The role of toll-like receptor in inflammation and tumor immunity. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 878, 2018.

CHAKRABORTY, K.; BHATTACHARYYA, A. Role of proteases in inflammatory lung diseases. **Proteases in Health and Disease**, p. 361-385, 2013.

CHAN, C. C. et al. Do COX-2 inhibitors raise blood pressure more than nonselective NSAIDs and placebo? An updated meta-analysis. **Journal of Hypertension**, v. 27, n. 12, p. 2332-2341, 2009.

CHOW, Y. Y.; CHIN, K. The role of inflammation in the pathogenesis of osteoarthritis. **Mediators of Inflammation**, 2020.

CHRISTENHUSZ, M. J. M.; BYNG, J. W. The number of known plants species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, v. 261, n. 3, p. 201–217-201–217, 2016.

CHUNG, M. C.; FERREIRA, E. I. O processo de latenciação no planejamento de fármacos. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 75-84, 1999.

COLLOCA, L. et al. Neuropathic pain. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1-19, 2017.

COOK, H. T.; BOTTO, M. Mechanisms of disease: the complement system and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. **Nature Clinical Practice Rheumatology**, v. 2, n. 6, p. 330-337, 2006.

DJOVA, S. V. et al. Phytochemical study of aqueous extract of *Ochna schweinfurthiana* F. Hoffm powder bark and evaluation of their anti-inflammatory, cytotoxic, and Genotoxic properties. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, 2019.

DUFFIELD, J. S. et al. Host responses in tissue repair and fibrosis. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 8, p. 241-276, 2013.

DUNCKLEY, P. et al. Cortical processing of visceral and somatic stimulation: differentiating pain intensity from unpleasantness. **Neuroscience**, v. 133, n. 2, p. 533-542, 2005.

EBRAHIM, H. Y. et al. *Melaleuca rugulosa* (Link) Craven Tannins: Appraisal of anti-inflammatory, radical scavenging activities, and molecular modeling studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 298, p. 115596, 2022.

ELLISON, D. L. Physiology of pain. **Critical Care Nursing Clinics**, v. 29, n. 4, p. 397-406, 2017.

ERUKAINURE, O. L. et al. Pectolarigenin from the leaves of *Clerodendrum volubile* shows potent immunomodulatory activity by inhibiting T– cell proliferation and modulating respiratory oxidative burst in phagocytes. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 93, p. 529-535, 2017.

FERREIRA, M. E. A. et al. Plantas medicinais utilizadas em rituais de umbanda: estudo de caso no sul do Brasil. **Ethnoscintia-Brazilian Journal of Ethnobiology and Ethnoecology**, v. 6, n. 3, p. 1-14, 2021.

FINNERUP, N. B.; KUNER, R.; JENSEN, T. S. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment. **Physiological Reviews**, v. 101, n. 1, p. 259-301, 2021.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. **Fabaceae in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB115>>. Acesso em: 30 mar. 2023

FUJIWARA, N.; KOBAYASHI, K. N. Macrophages in inflammation. **Current Drug Targets-Inflammation & Allergy**, v. 4, n. 3, p. 281-286, 2005.

GEROMETTA, E. et al. A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Indigofera*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 253, p. 112608, 2020.

GOLAN, D. E. et al. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 3. ed. Rio Grande do Sul: Guanabara koogan, 2014.

GÓMEZ-LUQUE, A. Inhibidores de la COX ¿hacia dónde vamos?. **Revista de la Sociedad Española del Dolor**, v. 12, n. 6, p. 321-325, 2005.

GONZAL, T. E. et al. In vitro anti-inflammatory, anti-oxidant and in vivo anti-arthritic properties of stem bark extracts from *Nauclea pobeguinii* (Rubiaceae) in rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 10, n. 2, p. 65, 2020.

GRETEN, F. R.; GRIVENNIKOV, Sergei I. Inflammation and cancer: triggers, mechanisms, and consequences. **Immunity**, v. 51, n. 1, p. 27-41, 2019.

GROSSER, T. et al. Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 1, p. 4-15, 2006.

GRUNDY, L. et al. Visceral pain. **Annual Review of Physiology**, v. 81, n. 1, p. 261-284, 2019.

HAINER, B. L.; MATHESON, E. M. Approach to acute headache in adults. **American Family Physician**, v. 87, n. 10, p. 682-687, 2013.

HENDERSON, N. C.; RIEDER, F.; WYNN, T. A. Fibrosis: from mechanisms to medicines. **Nature**, v. 587, n. 7835, p. 555-566, 2020.

HORTON, R. Vioxx, the implosion of Merck, and aftershocks at the FDA. **The Lancet**, v. 364, n. 9450, p. 1995-1996, 2004.

HU, T. et al. Anti-inflammation action of xanthenes from *Swertia chirayita* by regulating COX-2/NF- κ B/MAPKs/Akt signaling pathways in RAW 264.7 macrophage cells. **Phytomedicine**, v. 55, p. 214-221, 2019.

HU, X. et al. Isolation, structure elucidation and in-vitro evaluation of new trisubstituted Tetrahydrofuran Lignans from *Rabdosia lophanthoides* var. *gerardiana* as anti-inflammatory agents. **Phytochemistry Letters**, v. 52, p. 76-81, 2022.

JAVED, F. et al. Pharmacological evaluation of analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of ethanolic extract of *Indigofera argentea* Burm. f. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 259, p. 112966, 2020.

JI, R. et al. Emerging roles of resolvins in the resolution of inflammation and pain. **Trends in Neurosciences**, v. 34, n. 11, p. 599-609, 2011.

KARAMCHANDANI, K. et al. Pain management in trauma patients affected by the opioid epidemic: a narrative review. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**, v. 87, n. 2, p. 430-439, 2019.

KARUNAKAR, S. et al. In-vivo anti-inflammatory activity of ethanolic extract of indigofera species. **NeuroQuantology**, v. 20, n. 10, p. 9995-10001, 2022.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia Básica e Clínica**. 13. ed. Porto Alegre: AMGH, 2017.

KAUSHIK, N. K.; GUHA, R.; THOMAS, B. M. Antiviral potential and mode of action of Indigofera heterantha against HSV-2 by targeting the early stages of infection. **Antiviral Therapy**, v. 22, n. 5, p. 381-391, 2017.

KLEIN, C. H. V. The medical features of the Papyrus Ebers. **Journal of the American Medical Association**, v. 45, n. 26, p. 1928-1935, 1905.

KOGURE, T. et al. Two Cases of Fibromyalgia Syndrome Successfully Treated with Kampo Medicine. **Kampo Medicine**, p. 61-68, 2007.

KUMAR, R. S. et al. Anti-inflammatory and analgesic activities of ethanol extract of Indigofera trita Linn. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 278-289, 2009.

KUMAR, R. S. et al. Beneficial effects of methanolic extract of Indigofera linnaei Ali. on the inflammatory and nociceptive responses in rodent models. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, p. 113-123, 2016.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. **Robbins & Cotran patologia - bases patológicas das doenças**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

KWON, M. et al. The role of descending inhibitory pathways on chronic pain modulation and clinical implications. **Pain Practice**, v. 14, n. 7, p. 656-667, 2014.

LABIANCA, R. et al. Adverse effects associated with non-opioid and opioid treatment in patients with chronic pain. **Clinical Drug Investigation**, v. 32, p. 53-63, 2012.

LANAS, A. **NSAIDs and aspirin: recent advances and implications for clinical management**. Zaragoza: Springer, 2016

LEE, G. I.; NEUMEISTER, M. W. Pain: pathways and physiology. **Clinics in Plastic Surgery**, v. 47, n. 2, p. 173-180, 2020.

LEITE, S. P. et al. Atividade Antiinflamatória do extrato de Indigofera suffruticosa. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 7, n. 1, p. 47-52, 2003.

LIMA, I. R. et al. Indican from Añil (Indigofera suffruticosa Miller) as an herbal protective agent to the liver. **Analytical and Quantitative Cytopathology and Histopathology**, v. 36, n. 1, p. 41-45, 2014.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000.

LOTUFO, C. M. C. et al. Melatonin effect on endothelial cells reduces vascular permeability increase induced by leukotriene B4. **European Journal of Pharmacology**, v. 534, n. 1-3, p. 258-263, 2006.

MÄNTYSELKÄ, P. et al. Chronic pain, impaired glucose tolerance and diabetes: a community-based study. **Pain**, v. 137, n. 1, p. 34-40, 2008.

MATOS, F. J. A. et al. **Plantas tóxicas: estudo de fitotoxicologia química de plantas brasileiras**. Nova Odessa, São Paulo: Insituto Plantarum de Estudos da Flora, 2011.

MEAGER, A. Cytokine regulation of cellular adhesion molecule expression in inflammation. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 10, n. 1, p. 27-39, 1999.

- MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771-776, 2010.
- MOLČANOVÁ, L. et al. C-geranylated flavonoids from *Paulownia tomentosa* Steud. fruit as potential anti-inflammatory agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 296, p. 115509, 2022.
- MYERS, M. J.; DEEVER, C. M.; LEWANDOWSKI, A. J. Molecular mechanism of action responsible for carrageenan-induced inflammatory response. **Molecular Immunology**, v. 109, p. 38-42, 2019.
- NORRIS, P. C. et al. Specificity of eicosanoid production depends on the TLR-4-stimulated macrophage phenotype. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 90, n. 3, p. 563-574, 2011.
- OGUNTIBEJU, O. O. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. **International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology**, v. 11, n. 3, p. 45, 2019.
- OJEABURU, S. I.; ORIAKHI, K. Hepatoprotective, antioxidant and, anti-inflammatory potentials of gallic acid in carbon tetrachloride-induced hepatic damage in Wistar rats. **Toxicology Reports**, v. 8, p. 177-185, 2021.
- PANDURANGAN, A. K. et al. Gallic acid suppresses inflammation in dextran sodium sulfate-induced colitis in mice: Possible mechanisms. **International Immunopharmacology**, v. 28, n. 2, p. 1034-1043, 2015.
- PENG, F. et al. Anti-inflammatory effect of flavonoids from chestnut flowers in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages and acute lung injury in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 290, p. 115086, 2022.
- PINTO, A. C. G. et al. Reações adversas a medicamentos como causa de admissão em um hospital universitário de Belém - Pará. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 5, n. 2, 2014.
- QAMAR, M. et al. Antiinflammatory and Anticancer Properties of *Grewia asiatica* Crude Extracts and Fractions: A Bioassay-Guided Approach. **BioMed Research International**, v. 2022, 2022.
- RAJA, S. N. et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: Concepts, challenges, and compromises. **Pain**, V. 00, n. 00., p. 1-7, 2020.
- RAHMAN, T. U. et al. Phytochemistry and pharmacology of genus *indigofera*: A review. **Records of Natural Products**, v. 12, n. 1, p. 1-13, 2018.
- RAMYAA, P. et al. Quercetin modulates OTA-induced oxidative stress and redox signalling in HepG2 cells—up regulation of Nrf2 expression and down regulation of NF-κB and COX-2. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1840, n. 1, p. 681-692, 2014.
- RANA, D. et al. Use of medicinal plants for treating different ailments by the indigenous people of Churah subdivision of district Chamba, Himachal Pradesh, India. **Environment, Development and Sustainability**, v. 23, n. 2, p. 1162-1241, 2021.
- ROCHA, L. P. B. et al. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e44101018282-e44101018282, 2021.
- SALEEM, A.; SALEEM, M.; AKHTAR, M. F. Antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic potential of *Moringa oleifera* Lam: An ethnomedicinal plant of Moringaceae family. **South African Journal of Botany**, v. 128, p. 246-256, 2020.
- SANTOS, A. T. B. et al. Organic extracts from *Indigofera suffruticosa* leaves have antimicrobial and synergic actions with erythromycin against *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 13, 2015.

- SASO, L. et al. Inhibition of heat-induced denaturation of albumin by nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs): Pharmacological implications. **Archives of Pharmacal Research**, v. 24, p. 150-158, 2001.
- SHAH, S. et al. Ophthalmology in ancient time—the Sushruta Samhita. **Journal of Clinical Ophthalmology and Research**, v. 6, n. 3, p. 117, 2018.
- SILVA, N. C. O. V. et al. Dor, incapacidade e catastrofização em indivíduos com osteoartrite do joelho. **Brazilian Journal of Pain (BrJP)**, v. 3, p. 322-327, 2020.
- SIMÕES, C. M. Oliveira et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2016.
- SNEDDON, L. U. Evolution of nociception and pain: evidence from fish models. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 374, n. 1785, 2019.
- STILLER, C.; HJEMDAHL, P. Lessons from 20 years with COX-2 inhibitors: Importance of dose–response considerations and fair play in comparative trials. **Journal of Internal Medicine**, v. 292, n. 4, p. 557-574, 2022.
- SUGIMOTO, M. A. et al. Mediators of the resolution of the inflammatory response. **Trends in Immunology**, v. 40, n. 3, p. 212-227, 2019.
- TALAPATRA, S. K.; TALAPATRA, B. **Chemistry of plant natural products: stereochemistry, conformation, synthesis, biology, and medicine**. 1. ed. Heidelberg: Springer, 2015.
- TAO, Q. et al. Association of chronic low-grade inflammation with risk of Alzheimer disease in ApoE4 carriers. **JAMA Network Open**, v. 1, n. 6, p. e183597-e183597, 2018.
- TENG, S. et al. A molecular networking-based isolation of gardneria alkaloids from *Gardneria distincta* and their anti-inflammatory activity. **Phytochemistry**, p. 113639, 2023.
- TIAN, C. et al. Investigation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin. **South African Journal of Botany**, v. 137, p. 257-264, 2021.
- TIWARI, D.; MARTINEAU, A. R. Inflammation-mediated tissue damage in pulmonary tuberculosis and host-directed therapeutic strategies. In: Seminars in Immunology. **Academic Press**, 2023. p. 101672.
- TREUDE, R. et al. Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). **Pain**, v. 160, n. 1, p. 19-27, 2019.
- TSALAMANDRIS, S. et al. The role of inflammation in diabetes: current concepts and future perspectives. **European cardiology review**, v. 14, n. 1, p. 50, 2019.
- TUBLIN, J. M. et al. Getting to the heart of Alzheimer disease. **Circulation research**, v. 124, n. 1, p. 142-149, 2019.
- UTTRA, A. M. et al. Ribes orientale: A novel therapeutic approach targeting rheumatoid arthritis with reference to pro-inflammatory cytokines, inflammatory enzymes and anti-inflammatory cytokines. **Journal of ethnopharmacology**, v. 237, p. 92-107, 2019.
- VANE, J. R.; BOTTING, Regina M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The American Journal of Medicine**, v. 104, n. 3S1, p. 2S-8S, 1998.
- VIERCK C. J. J. Mechanisms underlying development of spatially distributed chronic pain (fibromyalgia). **Pain**, v. 124, n. 3, p. 242-263, 2006.
- WANG, S. et al. Steroidal alkaloids from the bulbs of *Fritillaria unibracteata* var. *wabuensis* and their anti-inflammatory activities. **Phytochemistry**, p. 113640, 2023.
- WIDGEROW, A. D. Cellular resolution of inflammation—catabasis. **Wound Repair and Regeneration**, v. 20, n. 1, p. 2-7, 2012.

WU, H. et al. Rutin ameliorates gout via reducing XOD activity, inhibiting ROS production and NLRP3 inflammasome activation in quail. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 158, p. 114175, 2023.

YANG, L. et al. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 762, 2018.

ZENG, Y. et al. Comparison of in vitro and in vivo antioxidant activities of six flavonoids with similar structures. **Antioxidants**, v. 9, n. 8, p. 732, 2020.

ZHANG, J.; AN, J. Cytokines, inflammation and pain. **International Anesthesiology Clinics**, v. 45, n. 2, p. 27, 2007.

ANEXO A – CARTA DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones 2126 8840 | 2126 8351
www.ccb.ufpe.br

Recife, 07 de março de 2018.

Ofício nº 08/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.ª Vera Lucia Menezes Lima**

Departamento de Bioquímica

Centro de Biociências

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº **23076.042305/2017-67**

Certificamos que a proposta intitulada “**Efeito Biológico de Extrato Aquoso, Óleo essencial e Proteína de Folhas de Indigofera suffruticosa,**”. Registrada com o nº **23076.042305/2017-67** sob a responsabilidade de **Prof.ª Vera Lucia Menezes Lima** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 07/03/2018.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/10/2017 a 30/09/2018
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogênico/ Mus musculus
Nº de animais	180
Peso/Idade	30-35g/ 08-14 semanas
Sexo	Macho
Origem	Biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami(LIKA)

Atenciosamente,

Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
SIAPE 1801584

ANEXO B – CARTA DO SISGEN



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº A149769

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A149769**
 Usuário: **Universidade Federal de Pernambuco**
 CPF/CNPJ: **24.134.488/0001-08**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso:
 Pesquisa Científica **Bioprospecção** **Desenvolvimento Tecnológico**

Espécie

Plinia cauliflora

Título da Atividade: **Isolamento e caracterização de biomoléculas e avaliação da potencial atividade em doenças crônicas e/ou agudas.**

Equipe

Vera Lúcia de Menezes Lima	Universidade Federal de Pernambuco
Regina Célia Bressan Queiroz Gigueiredo	Universidade Federal de Pernambuco
Maria Tereza dos Santos Correia	Universidade Federal de Pernambuco
Patricia Maria Guedes Paiva	Universidade Federal de Pernambuco

Data do Cadastro: **06/11/2018 23:51:22**
 Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **22:05** de **07/11/2018**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**