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

BRUNO VINICIUS SOUZA DA SILVA

PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE, TOXICIDADE AGUDA E GENOTOXICIDADE DE EXTRATO AQUOSO FOLHAS DE *Psidium guineense* SW.

Recife
2023

BRUNO VINICIUS SOUZA DA SILVA

PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE, TOXICIDADE AGUDA E GENOTOXICIDADE DE EXTRATO AQUOSO FOLHAS DE *Psidium guineense* SW.

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: Alisson Macário de Oliveira

Coorientador: Wêndeo Kennedy Costa

Recife

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Silva, Bruno Vinicius Souza da
Perfil fitoquímico e avaliação da citotoxicidade, toxidade aguda e genotoxicidade de extrato aquoso folhas de Psidium guineense SW. / Bruno Vinicius Souza da Silva. – 2023.

57f.: il., col.

Orientador: Alisson Macário de Oliveira
Coorientador: Wêndeo Kennedy Costa
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Recife, 2023.
Inclui referências.

1. Química vegetal 2. Plantas venenosas 3. Plantas medicinais 4. Myrtaceae 5. Psidium guineense 6. Genotoxicidade I. Oliveira, Alisson Macário de (orient.) II. Costa, Wêndeo Kennedy (coorient.) III. Título.

572.2 CDD (22.ed.) UFPE/CB – 2023 - 132

Elaborado por Marylu Souza - CRB-4/1564

BRUNO VINICIUS SOUZA DA SILVA

PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE, TOXICIDADE AGUDA E GENOTOXICIDADE DE EXTRATO AQUOSO FOLHAS DE *Psidium guineense* SW.

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

Aprovada em: 14/04/2023

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Alisson Macário de Oliveira (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

_____

Prof. Dr. Robson Raion de Vasconcelos Alves (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª. Drª. Magda Rhayanny Assunção Ferreira (Examinadora Externo)

Universidade Católica de Pernambuco

Dedico a Lucinete (*in memorian*)

e a todas as pessoas que lutam e lutaram contra o câncer.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida, e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos, inclusive um cancer, no processo da realização deste trabalho.

A minha mãe Ursula, que sempre investiu tempo e dedicação para me levar aonde eu nunca imaginei chegar.

A Minha Familia e todos os meus amigos que me incentivaram incondicionalmente nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

Aos meus amigos do laboratorio (NBio😼) que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período em que me dediquei a este trabalho, em especial Paloma, no qual dividimos longas tardes e noites no departamento de bioquimica.

Aos professores, Maria Tereza dos Santos Correia, Marcia Vanusa da Silva, Alisson Macário de Oliveira e Wendeo Kennedy Costa por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado.

Às pessoas com quem convivi ao longo desses anos de curso, que me incentivaram e que certamente tiveram impacto na minha formação acadêmica.

Ao apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pela disponibilidade e estrutura do departamento de Bioquímica e a equipe do PPGCB por toda a assistencia e cuidado.

“A informação me tranquiliza. Ela me dá armas para lutar”.

José de Alencar.

RESUMO

Nativa da América tropical, *Psidium guineense* Sw. (Myrtaceae) é um arbusto ou pequena árvore com propriedades medicinais, incluindo tratamento de infecções, feridas, diarreia e ação diurética. Devido a ausência de estudos de toxicidade de extrato aquoso de folhas de *P. guineense*, o presente estudo teve como objetivo avaliar a segurança de uso em camundongos. Folhas de *P. guineense* foram pulverizadas e homogeneizada com água destilada (1:10 p/v) e obtendo um extrato aquoso a 10% por turbólise (EAPg). O extrato foi caracterizado por cromatografia em camada delgada e por cromatografia líquida de alta eficiência. Eritrócitos murinos foram usados para avaliar a citotoxicidade, enquanto camundongos *Swiss* albinos foram utilizados para avaliar a toxicidade aguda, genotoxicidade (ensaio do cometa) e mutagenicidade (teste do micronúcleo). Com isso, foi evidenciado que o extrato apresenta flavonoides, taninos hidrolisáveis, terpenos, esteroides e açúcares redutores. Os resultados do ensaio de citotoxicidade revelaram a baixa capacidade do EAPg em causar lise celular com uma taxa de hemólise variando de 0,35% a 13% em comparação ao controle (100%). No estudo de toxicidade oral aguda em camundongos, nenhum camundongo apresentou qualquer alteração comportamental ou mortalidade após a administração de 2.000 mg/kg de EAPg por 14 dias. Os parâmetros hematológicos não apresentaram diferença significativa em relação aos animais do grupo controle. Já na avaliação dos parâmetros bioquímicos o tratamento com EAPg promoveu uma redução dos parâmetros lipídicos ($p<0.05$). O teste do micronúcleo e o índice de danos (DI) da avaliação genotóxica não indicou diferença significativa quando comparado ao controle. Porém, foi observada um aumento na frequência de dano (DF) dos animais tratados com 2000 mg/k de EAPg. Na avaliação de toxicidade, o tratamento com 2000 mg/kg de EAPg reduziu parâmetros lipídicos e mostrou-se ser bem tolerado sem apresentar alterações comportamentais, bem como não promoveu dano ao DNA.

Palavras-chave: caatinga; mytaceae; toxicidade, plantas medicinas.

ABSTRACT

Native to tropical America, Psidium guineense Sw. (Myrtaceae) is a shrub or small tree with medicinal properties, including treatment of infections, wounds, diarrhea and diuretic action. Due to the absence of toxicity studies on the aqueous extract of leaves of P. guineense, the present study aimed to evaluate the safety of use in mice. Leaves of P. guineense were pulverized and homogenized with distilled water (1:10 p/v) and obtained a 10% aqueous extract by turbolysis (EAPg). The extract was characterized by thin layer chromatography and high-performance liquid chromatography. Murine erythrocytes were used to assess cytotoxicity, while Swiss albino mice were used to assess acute toxicity, genotoxicity (comet assay) and mutagenicity (micronucleus test). The results of the cytotoxicity assay revealed the low capacity of EAPg to cause cell lysis with a hemolysis rate ranging from 0.35% to 13%. In the acute oral toxicity study in mice, no mice showed any behavioral change or mortality after administration of 2,000 mg/kg of EAPg for 14 days. The hematological parameters did not show significant difference in relation to the animals in the control group. In the evaluation of biochemical parameters, treatment with EAPg promoted a reduction in lipid parameters ($p<0.05$). The micronucleus test and the damage index (DI) of the genotoxic evaluation did not indicate a significant difference when compared to the control. However, an increase in the damage frequency (DF) of animals treated with 2000 mg/kg of EAPg was observed. Thus, it was evidenced that the extract has flavonoids, hydrolyzable tannins, terpenes, steroids and reducing sugars. In the toxicity assessment, treatment with 2000 mg/kg of EAPg reduced lipid parameters and proved to be well tolerated without showing behavioral changes, as well as not promoting DNA damage.

Keywords: caatinga; myrtaceae; toxicity; medicinal plants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Localização do Bioma Caatinga 19

Figura 2 – Distribuição de *Psidium Guineense* 22

Figura 3 – Folhas e Fruto de *Psidium Guineense* 23

Figura 4 – Estrutura Fundamental dos Flavonoides 25

Artigo 1

Figura 1 – Cromatograma evidenciado para a amostra em 270 nm. 37

Figura 2 – Espectro de varredura dos picos evidenciados na amostra 38

Figura 3 – Resultados dos testes de micronúcleos e ensaio do cometa no grupo controle e no grupo tratado com Extrato Aquoso de *Psidium guineense* (EAPg) na concentração de 2.000 mg/kg. 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Condições cromatográficas para identificação do perfil químico por Cromatografia em camada delgada	37
Tabela 2 –	Avaliação do consumo de ração e água e ganho de peso dos animais controle e tratados com o extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg) *per os.*	40
Tabela 3 –	Avaliação do peso relativo dos órgãos de camundongos tratados com o extrato aquoso de *Psidium guineense* na concentração de 2.000 mg/kg.	40
Tabela 4 –	Parâmetros hematológicos de camundongos fêmeas tratados com o extrato aquoso de *Psidium guineense.*	42
Tabela 5 –	Parâmetros bioquímicos do sangue de camundongos tratados com o extrato aquoso de *Psidium guineense*.	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALB	Albumina
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de Variância
AST	Aspartato aminotransferase
BIL	bilirrubina
BOS	Basófilo
CEUA	Comitê de Ética de Uso Animal
CHCM	Concentração Média de Hemoglobina Corpuscular
CRE	Creatinina
CT	Colesterol total
EAPg	Extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense*
EOS	Eosinófilo
et al.	E outro
GGT	Gama-glutamil transferase
HB	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HCT	Hematócrito
HDL	Lipoproteína de alta densidade-colesterol
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade-colesterol
LYM	Linfócitos
MON	Monócitos
PLT	Plaquetas

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PT	Proteína total
RBC	Glóbulos vermelhos
SEG	Segmentado
TG	Triglicerídeos
TGI	Trato gastrointestinal
UR	Uréia sanguínea
VCM	Volume Corpuscular Médio
VLDL	Colesterol de densidade muito baixa
WBC	Glóbulos Brancos

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
<	Menor que
%	Porcentagem
±	Mais ou menos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
2 OBJETIVOS 17
2.1 GERAL 17
2.2 ESPECÍFICOS 17
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA 18
3.1 CAATINGA 18
3.2 PLANTAS MEDICINAIS 19
3.3 FAMILIA MYRTACEAE 20
3.4 *PSIDIUM GUINEENSE* 21
3.5 O USO DE EXTRATOS AQUOSOS 23
3.6 METABOLITOS SECUNDÁRIOS 24
3.7 COMPOSTOS FENOLICOS 24
3.8 FLAVONOIDES 25
3.9 TOXICIDADE 26
3.10 GENOTOXICIDADE 27
3.10.1 Teste do Micronucleo 28
3.10.2 Ensaio Cometa 28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 30
4.1 ARTIGO 1 30
Resumo 30
Introdução 31
Materiais e métodos 31
Resultados e discussão 36
Conclusão 44
Agradecimentos 44
Referências 44
5 CONCLUSÕES 48
6 SÚMULA CURRICULAR 49
REFERÊNCIAS 50
ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA 57

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do mundo e toda essa biodiversidade é de alto valor econômico para diversas finalidades pois produtos naturais são utilizados desde a alimentação até o desenvolvimento de novos tratamentos (SOUZA et al., 2014). Os produtos naturais são considerados uma das principais fontes para o avanço das pesquisas científicas em medicina, elucidar o mecanismo de ação dos princípios ativos tem possibilitado à indústria projetar novos medicamentos, oferecendo novas aplicações, insumos e alternativas. Utilizado no tratamento de diversas patologias (ALVES et al., 2019; KHAN, 2018).

O bioma Caatinga está localizado na região nordeste do Brasil e é dividido em estados (Ceará, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Piauí, Sergipe, Maranhão, Rio Grande do Norte e faixa norte de Minas Gerais), com uma área de aproximadamente 844.453 quilômetros quadrados ou 54,53% da área, rica biodiversidade e clima seco (LEAL, 2003). A vegetação da caatinga é conhecida mundialmente como florestas tropicais sazonalmente secas e arbustos com ricas suculentas e poucas gramíneas (FERNANDES; QUEIROZ, 2018) e se adapta às mudanças climáticas proviniente das secas prolongadas (CORREIA; DO NASCIMENTO; GOUVEIA, 2020).

Segundo Silva (2020), os últimos anos, devido ao potencial farmacológico previamente demonstrado de vários constituintes fitoquímicos, houve um enorme progresso no estudo de compostos presentes em espécies vegetais, o que é um importante pré-requisito para a produção de novos produtos com valor terapêutico. Sabe-se que as espécies vegetais são a primeira escolha para o manejo de doenças devido à sua fácil disponibilidade, sendo mais comum em países menos desenvolvidos ou em desenvolvimento devido às condições socioeconômicas das populações que residem nesses locais (SILVA, 2020). Com base na compreensão etnofarmacológica, vários estudos nos últimos anos apoiam o desenvolvimento de medicamentos com base em produtos vegetais(COSTA et al., 2023a).

Psidium guineense Sw. (Myrtaceae) é um arbusto ou pequena árvore, de 1-6 m de altura, nativa da América tropical, do sul do México ao norte da Argentina e Brasil (NEIRA GONZÁLEZ; RAMIREZ GONZÁLEZ; SÁNCHEZ PINTO, 2005). No Brasil é conhecida como "goiaba-araçá" ou "araçá-do-campo". O fruto é utilizado na preparação de alimentos naturais ou consumido na forma de sobremesas, bebidas, gelados e licores (MANICA, 2000). Na medicina popular, as folhas de *P. guineense*

são usadas para tratar inflamações (FRANZON et al., 2009a), e as raízes e cascas são usadas para tratar distúrbios gastrointestinais ou como diurético (RODRIGUES, 2001).

Estudos sobre a atividade biológica dessa planta demonstraram as propriedades antibacterianas dos extratos das folhas (FERNANDES et al., 2012) e o potencial antioxidante do fruto (DE ARAUJO et al., 2016). A triagem química de extratos de folhas dessa espécie identificou compostos bioativos como: fenólicos, licopeno, vitamina C e flavonoides (RIVERO-MALDONADO et al., 2013). Um estudo de óleos essenciais extraídos de folhas de *P. guineense* coletadas em Boa vista (Brasil) evidenciou que monoterpenos (incluindo limoneno) e sesquiterpenos (β-bisabolol e epi-α-bisabola) predominam (DA SILVA et al., 2003).

No entanto, a diversidade de plantas do Brasil permanece pouco compreendida. Portanto, estima-se que à medida que mais estudos envolvendo diferentes espécies de plantas em diferentes meios de extração forem realizados, novas substâncias biologicamente ativas sejam descobertas e consequentemente novas propriedades de interesse biotecnológico para desenvolvimento de novas drogas.

Assim, dado esse potencial farmacológico, este estudo teve como objetivo traçar o perfil fitoquímico e avaliar a toxicidade aguda, citotoxicidade e genotoxicidade do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense*.

.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Caracterizar o extrato aquoso de folhas de *Psidium guineense* Sw e avaliar a citotoxicidade, toxicidade oral e genotoxicidade em camundongos.

2.2 ESPECÍFICOS

- Obter e caracterizar o perfil fitoquímico do extrato aquoso de folhas de *Psidium guineense* Sw;
- Investigar o potencial citotóxico do extrato aquoso de folhas de *Psidium guineense* Sw em Eritrocitos de camundongos;
- Avaliar a toxicidade oral aguda do extrato aquoso de folhas de *Psidium guineense* Sw em camundongos*;*
- Avaliar a genotoxicidade e mutagenicidade do extrato aquoso de folhas de *Psidium guineense* Sw em camundongos*.*

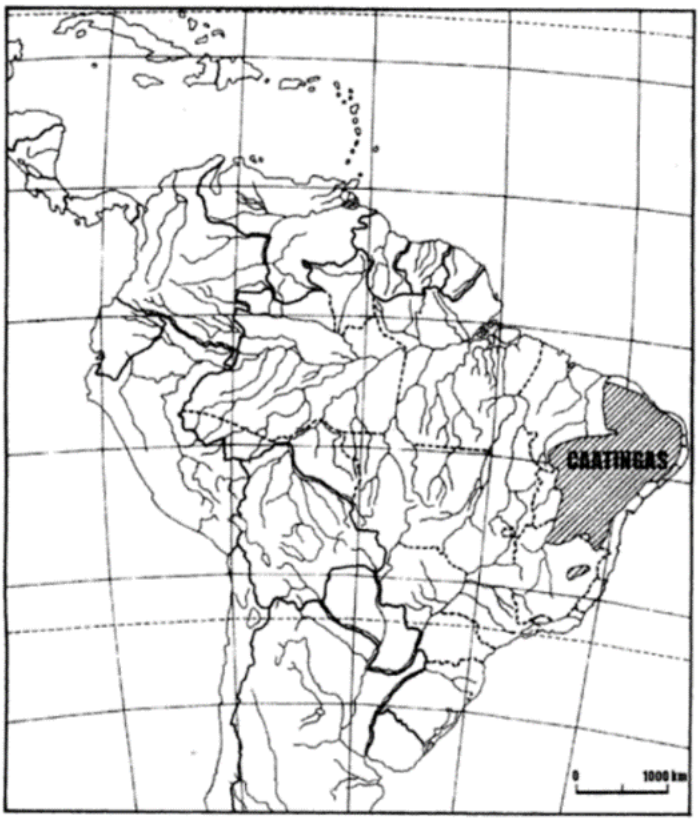
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 CAATINGA

O domínio da Caatinga no nordeste do Brasil (Figura 1.) abriga a maior e mais contínua extensão de floresta tropical sazonalmente seca e bioma florestal (FERNANDES; QUEIROZ, 2018). Esse bioma compreende a vegetação tropical rica em plantas suculentas e pobre em gramíneas, não adaptada à ocorrência regular do fogo natural e que ocorre em regiões com solo fértil e precipitação bimodal (<1800 mm/ano, com períodos de, no mínimo, 5 a 6 meses recebendo menos que 100mm (DE QUEIROZ et al., 2017). No caso específico da Caatinga, essa grande heterogeneidade florística reflete adaptações da flora a condições locais de clima e solo. Análises fitogeográficas têm demonstrado que diferenças no solo exercem um papel fundamental nas diferenças ecológicas e florísticas (TABARELLI et al., 2002).

A maior parte de sua vegetação é composta por matas baixas, principalmente árvores folhosas caducifólias e arbustos, geralmente espinhosos e folhosos, entremeados por suculentas (SILVEIRA et al., 2019). O número de estudos sobre espécies com uso medicinal dessa região tem crescido progressivamente, principalmente as com indicações terapêuticas de uso popular (SILVA et al., 2012). Tendo em vista a notável sazonalidade do bioma Caatinga, muitas espécies vegetais desse bioma desenvolvem mecanismos de adaptação, como alterações na síntese de metabólitos secundários. Tais metabólitos constituem a defesa química das plantas contra intempéries e herbívoros (DA CRUZ et al., 2020).

Figura 1. Localização do Bioma Caatinga



Fonte: (LEAL; TABARELLI, 2003)

3.2 PLANTAS MEDICINAIS

As plantas medicinais são uma fonte permanente e promissora de tratamento para muitas doenças humanas. Atualmente são foco de pesquisas devido a sua enorme diversidade química e biológica e por possuírem uma grande variedade de compostos com atividade biológica (YANG et al., 2017). As principais vantagens de usá-la são baixo custo, acessibilidade e geralmente ter menos efeitos colaterais. A pesquisa realizada com plantas medicinais é importante para confirmar sua segurança e eficácia (BHATTACHARYA, 2017).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 80% da população mundial nos países em desenvolvimento depende de medicamentos tradicionais, principalmente derivados de plantas, para cuidados primários de saúde (OZKAN et al., 2016). O estudo de plantas medicinais é importante porque permite a descoberta de produtos naturais para o desenvolvimento de fármacos. Além de sua eficácia, os produtos naturais em sua maioria não são tóxicos e, portanto, podem ser utilizados como estratégias terapêuticas seguras para aumentar o conhecimento sobre plantas

ou preparações botânicas disponíveis para a comunidade (BOUKANDOU MOUNANGA; MEWONO; ABOUGHE ANGONE, 2015).

A necessidade urgente de novos agentes terapêuticos com maior eficácia e menos efeitos colaterais tem chamado a atenção para plantas medicinais com propriedades anti-inflamatórias (M. LOURENCO; M. FERREIRA; S. BRANCO, 2012). Muitos constituintes de plantas medicinais podem contribuir para a atividade antioxidante e outras propriedades protetoras relacionadas. Principalmente porque compostos como ácidos fenólicos, flavonóides, terpenos, tocoferóis e carotenóides são distribuídos uniformemente em sua estrutura química (ŠKROVÁNKOVÁ; MIŠURCOVÁ; MACHŮ, 2012). Indica a necessidade de ações voltadas para o fortalecimento da pesquisa em produtos naturais, especialmente considerando a rica biodiversidade brasileira (DUTRA et al., 2016).

3.3 FAMILIA MYRTACEAE

Myrtaceae é uma família pantropical (WILSON et al., 2005) com cerca de 132 gêneros e 5760 espécies (GOVAERTS et al., 2013), distribuída preferencialmente em regiões tropicais e subtropicais. É uma das famílias mais importantes da região Neotropical, ocupando o terceiro lugar em riqueza de espécies (BEECH et al., 2017). No Brasil, existem 23 gêneros e 990 espécies (AMORIM, 2021).

De acordo com aspectos genéticos e características botânicas, divide-se nas subfamílias Psiloxyloideae e Myrtoideae, sendo também descrita sua distribuição geográfica. A primeira incluiu as Myrtaceae concentradas na parte sudeste do continente africano, integrando as tribos Psiloxyleae e as Heteropyxideae. A subfamília Myrtoideae é amplamente distribuída em todo o mundo, especialmente na Oceania, África subsaariana, sudeste da Ásia e América Latina (THORNHILL et al., 2015).

As espécies neotropicais pertencem principalmente à subfamília Myrtoideae e podem ser encontradas desde arbustos até árvores com glândulas oleíferas. Seu indumento unicelular possui tricomas simples ou em forma de T. As folhas são opostas e simples com superfície glandular-punctada, e nervuras marginais presentes em toda a margem tambem inteira. Inflorescências são axilares ou terminais sendo: panículas, racemos, dichas ou com flores solitárias. As flores são actinomórficas e bissexuais, apresentando hipanto e fusionadas ao ovário, podendo ou não se estender acima do

ovário. Sépalas 4-5, abrindo em botões ou formando pétalas de abertura regular ou irregular, 4-5 brancas a raramente avermelhadas. Fruto carnoso, com sépalas persistentes ou caducifólias e uma a várias sementes, sem endosperma e embrião diferenciado (SAMPAIO AMORIM, 2011).

No Brasil, a família Myrtaceae é uma das famílias mais importantes, considerada um dos táxons arbóreos dominantes na Mata Atlântica. Além do grande número de espécies desta família, ela desempenha importante papel na sociologia vegetal das florestas do sul e sudeste do Brasil. Para fins comerciais, ocupam o terceiro lugar na família das angiospermas. Espécies da família Myrtaceae também são usadas na medicina tradicional para tratar várias doenças ou condições, para as quais diferentes partes da planta podem ser usadas como folhas, caules, raízes, frutos ou brotos (CRUZ; KAPLAN, 2012). Ela possuem diversas propriedades biológicas e farmacológicas (DEXHEIMER; POZZOBON, 2017; STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011), incluindo atividade antibacteriana (SAMPAIO et al., 2020).

3.4 *PSIDIUM GUINEENSE*

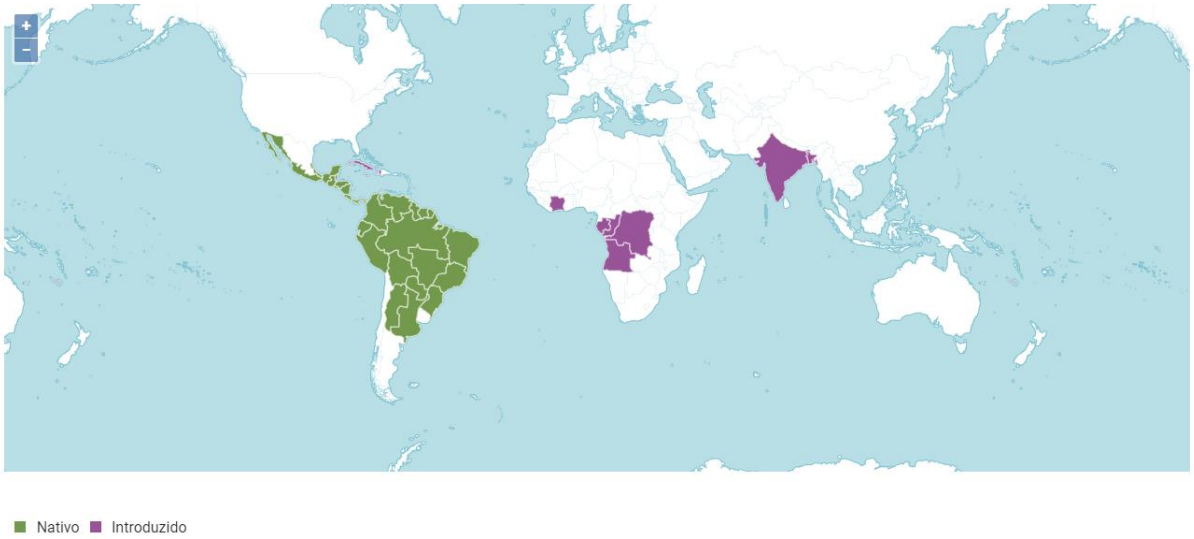
O gênero neotropical *Psidium* L. é o quarto maior representante e é um dos mais relacionados a família Myrtaceae do território nacional. Isso se deve à sua diversidade vegetal, com aproximadamente 65% das espécies do gênero distribuídas por todo o Brasil (PROENCA et al., 2017).

A palavra *Psidium* é derivada da palavra grega "*Psidion*", que significa morder ou triturar, e refere-se ao saboroso fruto produzido pela maioria das espécies desse gênero (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002). Essa propriedade confere importância econômica ao gênero *Psidium* devido ao amplo uso desses frutos pelas indústrias agroindustrial e alimentícia, principalmente para a fabricação de compotas e geleias (RIBEIRO, 2018). Essas plantas são conhecidas como "araçá" no território nacional (DE MELO; SELEGUINI; VELOSO, 2013).

Psidium guineense, popularmente conhecida como "araçá-mirim" ou "goiabinha", distribui-se na América tropical (Figura 2.) desde o sul do México até o norte da Argentina e Brasil (NEIRA GONZÁLEZ; RAMIREZ GONZÁLEZ; SÁNCHEZ PINTO, 2005). *P. guineense* é um arbusto que atinge até 6 metros de altura com tronco de casca lisa e que descama. As flores são de cinco pétalas, de cor branca a creme, podendo ser solitárias, duplas ou trigêmeas da região axial das folhas, com 60

a 320 estames no androceu, e gineceu com ovário ínfero (TULER et al., 2017).

Figura 2. Distribuição de *Psidium Guineense*



Fonte: https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:211886-2#source-KBD

O nome "araçá" vem da palavra tupi "ara'sa", que significa "fruto com olhos voltados para o céu", referindo-se às sépalas remanescentes no fruto (ALVARENGA et al., 2016). Estes frutos são redondos, verdes quando imaturos e amarelos quando maduros, com polpa amarelada e ácida, com 220 a 234 sementes por fruto (Figura 3.). Seu caule possui casca lisa e folhas elípticas e pilosas com bordas levemente onduladas (FERREIRA et al., 2011; NEIRA GONZÁLEZ; RAMIREZ GONZÁLEZ; SÁNCHEZ PINTO, 2005; TULER et al., 2017).

Na medicina popular, infusões de folhas jovens e frescas de *P. Guineense* são utilizadas no tratamento de infecções e feridas (TENE et al., 2007), a raiz é tradicionalmente utilizada no Brasil como antidiarréico e diurético, e a casca é utilizada para preparar curtume devido ao seu alto teor de taninos (FRANZON et al., 2009a). Estudos etnobotânicos mencionam o uso popular do Psidium guineense para o tratamento de distúrbios do TGI (ANESINI; PEREZ, 1993; LEONTI; STICHER; HEINRICH, 2003). O efeito gastroprotetor do extrato aquoso da folha foi demonstrado reduzindo a acidez gástrica e aumentando os níveis basais de muco em camundongos (SOUSA, 2016).

Figura 3. Folhas e Fruto de *Psidium Guineense*

Fonte: D. Zappi, RBG, Kew.

Um estudo de González et al. (2005) demonstraram o potencial antimicrobiano da polpa de *P. guineense* contra a *Streptococcus mutans* e Fernandes et al. (2012) observaram o efeito inibidor do crescimento do extratos de *P. guineense* em cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina devido à ligação a β-lactâmicos, carbapenêmicos e fluoroquinolonas entre antibióticos, apoiando que *P. guineense* exibe atividade antibacteriana sinérgica contra antibióticos. Outro estudo constatou que, além das atividades anti-inflamatória e antioxidante, os óleos essenciais das folhas de *P. guineense* apresentaram efeitos bacteriostáticos contra o *Mycobacterium tuberculosis* (DO NASCIMENTO et al., 2018).

3.5 O USO DE EXTRATOS AQUOSOS

Extratos aquosos de plantas têm sido usados há milhares de anos e têm uma variedade de usos, principalmente seus usos medicinais, como inseticidas naturais,

agentes antifúngicos e antioxidantes. O uso em larga escala e indiscriminado de produtos sintéticos da indústria química tem gerado riscos à saúde humana e animal, bem como ao meio ambiente, sendo notória a busca por suas respectivas alternativas menos nocivas. Portanto, há grande interesse em encontrar substâncias químicas de fontes renováveis com atividades farmacológicas, antifúngicas, inseticidas, entre outras (DE MELO et al., 2020).

3.6 METABOLITOS SECUNDÁRIOS

As plantas produzem uma grande variedade de produtos químicos, que podem ser divididos em metabólitos primários e secundários. Metabólitos primários são compostos produzidos por todas as plantas e diretamente envolvidos no crescimento e desenvolvimento. Eles incluem açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídios e nucleotídeos, e as moléculas maiores sintetizadas a partir deles, como proteínas, polissacarídeos, membranas, DNA e RNA (GARCIA; CARRIL, 2011).

Em contraste, os metabólitos secundários (ou metabólitos especializados) são altamente específicos e desempenham papéis importantes na evolução das plantas e nas interações com os organismos. Geralmente, eles pertencem a uma das três principais classes moleculares: terpenos, compostos nitrogenados e compostos fenólicos. Esses compostos são frequentemente associados à proteção de plantas contra estresses bióticos e abióticos, e são utilizados comercialmente pelas indústrias biofarmacêuticas, corantes e aromatizantes (RASKIN et al., 2002).

3.7 COMPOSTOS FENOLICOS

As plantas produzem uma variedade de produtos secundários contendo grupos fenólicos, grupos hidroxila funcionais em anéis aromáticos. Os fenóis vegetais compreendem um grupo quimicamente isomérico de aproximadamente 10.000 compostos. Alguns desses compostos são solúveis apenas em solventes orgânicos, alguns são ácidos carboxílicos e glicosídeos solúveis em água e alguns são grandes polímeros insolúveis (DE LA ROSA et al., 2019).

O fato dos compostos fenólicos possuírem uma grande diversidade química permite que eles desempenhem uma variedade de funções nas plantas. Taninos, lignina, flavonoides e alguns compostos fenólicos simples protegem contra herbívoros

e patógenos. A lignina também fortalece mecanicamente as paredes celulares, e muitos pigmentos flavonoides são atrativos importantes para polinizadores e dispersores de sementes. Alguns outros compostos fenólicos simples afetam o crescimento das plantas vizinhas e são, portanto, alelopáticos (ÖZEKER, 1999).

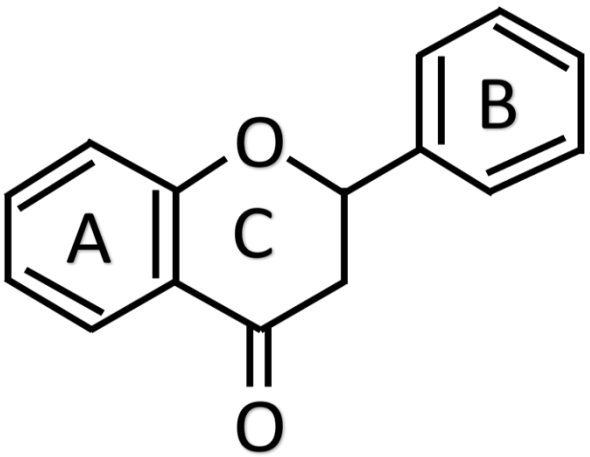
3.8 FLAVONOIDES

Os flavonóides estão entre os compostos fenólicos mais importantes e diversos em produtos de origem natural. Tais compostos são amplamente distribuídos por todo o reino vegetal, e até o momento existem mais de 4.200 flavonoides conhecidos (SIMÕES et al., 2016).

Os flavonoides são relativamente abundantes nos metabólitos secundários das plantas e podem ser divididos em seis categorias: flavonoides, flavanonas, isoflavonas, flavonoides, flavonoides e antocianinas(AHERNE; O'BRIEN, 2002).

Na natureza, os flavonóides podem ser encontrados em diferentes formas estruturais. Quimicamente (Figura 4.), a maioria dos flavonoides é baseada em uma estrutura básica com um esqueleto de 15 átomos de carbono formado por dois anéis benzênicos, ligados por uma cadeia de três carbonos entre eles e o oxigênio como um heteroátomo (SIMÕES et al., 2016).

Figura 4. Estrutura Fundamental dos Flavonoides



Fonte: Autor

Os flavonoides têm múltiplas funções nas plantas. Dentre elas, podemos citar a capacidade de proteger contra os raios UV, proteger contra insetos, fungos, vírus e

bactérias, além de proporcionar atratividade aos animais polinizadores. Além dessas propriedades, muitos desses compostos possuem importantes propriedades farmacológicas como antitumoral, anti-inflamatória, antiviral, antioxidante, etc. (AGRAWAL, 2011; FLAMBÓ, 2013; HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002; MELLOU et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2002; SIMÕES et al., 2016)

3.9 TOXICIDADE

No que diz respeito às plantas medicinais, a toxicidade de seus produtos é até subestimada, e a incidência de reações adversas geralmente é menor do que a dos medicamentos sintéticos (FERREIRA-MACHADO et al., 2004). No entanto, o uso e a pesquisa de plantas medicinais têm mostrado que algumas espécies vegetais são substâncias potencialmente perigosas e, portanto, devem ser usadas levando em conta os riscos toxicológicos (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

O uso de espécies vegetais pelas pessoas é insuficiente para verificar sua segurança e eficácia, pois as instruções geralmente são dadas por leigos e o envenenamento é um resultado comum (RATES, 2001). Os estudos toxicológicos de xenobióticos visam garantir a segurança humana de possíveis efeitos adversos e estabelecer limites de segurança para a aplicabilidade de novas substâncias, facilitando assim o desenvolvimento de novos medicamentos (HODGSON, 2003).

Quando se trata de produtos químicos, a concentração, o tempo de residência e o tempo de exposição determinam os níveis de toxicidade e segurança. Para garantir resultados reprodutíveis, os testes de toxicidade devem seguir protocolos padronizados (SILVEIRA, 2007). Dependendo das características do paciente, como sexo, idade e estado nutricional, as preparações vegetais podem provocar efeitos adversos, além de interações medicamentosas e/ou alimentares (BALBINO; DIAS, 2010).

Os testes toxicológicos são capazes de avaliar diversos parâmetros, como alterações no peso corporal, consumo de ração e água e estado fisiológico dos órgãos por meio de avaliações anatomopatológicas, bioquímicas e hematológicas. Além disso, os efeitos de reprodução também podem ser avaliados (DE MOURA REBOREDO et al., 2007; JAHN; GÜNZEL, 1997).

Os testes de toxicidade medem os efeitos letais de produtos químicos em animais, classificando o nível de toxicidade com base no número de mortes em várias

dosagens. Este teste permite que os cientistas determinem as dosagens ideais para estudos de longo prazo e identifiquem quais partes do corpo podem ser afetadas por certos produtos químicos. Nos experimentos de toxidade aguda, a fase inicial desses estudos, os pesquisadores geralmente administram uma dose de 2.000 mg/kg do produto químico nos sujeitos do teste (QUINTANS JÚNIOR et al., 2011).

O modelo inclui um elemento de avaliação de mortalidade: cadáveres são inspecionados em busca de sinais de morte. Também inclui a avaliação de alterações nos parâmetros orgânicos, bioquímicos e fisiológicos. Além disso, avaliações comportamentais podem fornecer informações sobre questões de segurança em torno de fitonutrientes ou ingredientes. Isso é feito registrando alguns sinais ou mudanças no comportamento do animal. Também permite avaliar a toxicidade de plantas e/ou fitoquímicos dentro de uma certa margem de segurança (QUINTANS JÚNIOR et al., 2011). Isso tem levado à criação de novos modelos de pesquisa que examinam as plantas e seus componentes com vistas a minimizar o risco de lesões ou morte (LIMA et al., 2011).

Ensaios de citotoxicidade tambem são amplamente explorados por sua capacidade de estudar a viabilidade celular. Ensaios comumente usados para determinar se uma substância de interesse exibe efeitos citotóxicos diretos, um indicador essencial para entender o mecanismo de ação de certos genes, proteínas e vias associadas à morte celular após exposição a substâncias tóxicas (ROGERO et al., 2003).

O teste de citotoxicidade é realizado pela exposição direta ou indireta de culturas de células a um agente de interesse e, em seguida, verificando as alterações celulares, sejam quantitativas ou qualitativas. No caso da análise qualitativa, as alterações podem ser verificadas com o auxílio da microscopia, mostrando lise celular ou de membrana. Quando quantificado, o ensaio verifica a morte celular, proliferação ou comportamento diferente do comportamento celular normal (ROGERO et al., 2003).

3.10 GENOTOXICIDADE

No teste de genotoxicidade, o produto é verificado quanto à presença de substâncias genotóxicas que podem afetar negativamente a integridade do material genético das células, danificando o DNA. Embora a capacidade de uma substância de

danificar o DNA não a torne automaticamente um perigo para a saúde, existe a preocupação de que a substância possa ser potencialmente mutagênica e/ou carcinogênica (SMITH, 1996).

3.10.1 Teste do Micronúcleo

A indução de micronúcleos tem sido utilizada para avaliar danos genotóxicos quando submetidos a substâncias mutagênicas e caracteriza-se como mais um método para detecção de aberrações cromossômicas em eucariotos do tipo quebra cromossômica (HEDDLE et al., 1991a) .

A análise de células sanguíneas micronucleadas de camundongos observando a coloração de lâminas pré-coradas com *acridine Orange* é uma técnica na qual as células basais de DNA são coloridas em amarelo e o RNA é colorido em vermelho. Essa técnica permite a caracterização citoplasmática de eritrócitos jovens ricos em RNA ribossômico (policromócitos) e reticulócitos (vermelho), além de micronúcleos amarelos (SILVA; ERDTMANN; HENRIQUES, 2003).

Além disso, esta técnica permite a avaliação de micronúcleos no diagnóstico de doenças do sangue e no monitoramento do potencial mutagênico e antimutagênico de diferentes amostras (SILVA; ERDTMANN; HENRIQUES, 2003).

3.10.2 Ensaio Cometa

O ensaio do cometa é um método de genotoxicidade usado para avaliar danos ao DNA e efeitos de reparo causados por agentes alquilantes, intercaladores e oxidantes. Células com danos aumentados no DNA mostram migração aumentada de DNA cromossômico do núcleo para o ânodo, com aparência de cometa (SPEIT; HARTMANN, 1999).

O princípio do método consiste em colocar uma suspensão celular contida em um gel de agarose em uma lâmina de microscópio, que é transferida para uma solução eletrolítica contendo um detergente para lisar as células com o objetivo de remover o conteúdo citoplasmático e a membrana celular. Posteriormente, a lâmina é imersa em uma solução tampão, o desenrolar das fitas de DNA ocorre por meio do rompimento da estrutura secundária e terciária do núcleo e uma corrente elétrica é aplicada para induzir a migração dos fragmentos de DNA no mesmo direção como a corrente

(HARTMANN et al., 2003; RIBEIRO; MARQUES; SALVADORI, 2003).

A determinação da extensão do dano ao DNA é obtida por microscopia de luz, na qual um total de cem células são cuidadosamente analisadas e classificadas em diferentes graus de dano, que podem variar de zero, indicando ausência de alterações morfológicas nas células, a quatro, que Indica que a fragmentação do DNA está completa (HARTMANN et al., 2003; SILVA; ERDTMANN; HENRIQUES, 2003).

O teste do cometa pode ser considerado um método simples, rápido, sensível e de baixo custo, que pode ser realizado em qualquer organismo eucariótico, necessitando de amostras celulares extremamente pequenas. As principais lesões observadas no DNA são aquelas associadas a quebras simples ou duplas e reparo por excisão, além de lesões álcali-lábeis e crosslinks. No entanto, este método só pode ser usado como um indicador de mutagenicidade e não pode ser usado para detectar mutações porque o dano genômico pode ser reparado por sistemas de reparo intracelular (SCHERER; STROHSCHOEN, 2013) .

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dessa dissertação estão apresentados na forma de artigo.

4.1 ARTIGO 1

Perfil fitoquímico e avaliação da citotoxicidade, toxicidade oral e genotoxicidade no extrato aquoso de folhas de *Psidium guineense* Sw.

Resumo

Psidium guineense Sw. (Myrtaceae) é um arbusto ou pequena árvore, nativa da América tropical, na medicina popular são utilizadas no tratamento de infecções e feridas, a raiz é tradicionalmente utilizada no Brasil como antidiarréico e diurético, no entanto, a segurança do uso ainda não foi avaliada. Este estudo investigou a segurança do uso do extrato aquoso obtido das folhas de *P. guineense* (EAPg) em modelos *in vitro* e *in vivo*. A citotoxicidade foi avaliada em eritrócitos murinos, enquanto os estudos de toxicidade aguda, genotoxicidade (ensaio do cometa) e mutagenicidade (teste do micronúcleo) foram realizados em camundongos albinos Swiss. No ensaio de citotoxicidade, a taxa de hemólise indicou uma baixa capacidade da EAPg de causar lise celular (0,35% a 13%). No estudo de toxicidade oral aguda, os animais tratados com 2.000 mg/kg do EAPg não apresentaram alterações comportamentais e nem óbito em camundongos durante 14 dias. Não foi observada diferença significativa nos parâmetros hematológicos, diferente dos parâmetros bioquímicos do EAPg que promoveu melhora no perfil lipídico, especialmente na redução das taxas de colesterol. No teste de micronúcleo e na avaliação genotóxica quanto o índice de dano (ID) segundo o teste do cometa, não houve diferença significativa, entretanto na frequência de dano (DF) teve diferença significativa, contudo o grupo controle teve mais dano do que o grupo tratado com o EAPg. Aparentemente, o extrato pode ter atividade protetora de DNA. O presente estudo descreve que a EAPg pode ser considerada bem tolerada em exposição aguda em doses de até 2.000 mg/kg.

Palavras-chave: Caatinga. Mytaceae. Toxicidade. Plantas Medicinas.

Introdução

As plantas medicinais são uma fonte sustentável e promissora de tratamento para muitas doenças humanas. Atualmente são alvo de pesquisas devido a sua grande diversidade química e biológica e a grande variedade de compostos com atividade biológica (YANG et al., 2017). As principais vantagens de seu uso são baixo custo, acessibilidade e geralmente menos efeitos colaterais. Pesquisas realizadas com plantas medicinais são importantes para confirmar sua segurança e eficácia(BHATTACHARYA, 2017).

Psidium guineense Sw. (Myrtaceae) é um arbusto ou pequena árvore, de 1-6 m de altura, nativa da América tropical, do sul do México ao norte da Argentina e Brasil (NEIRA GONZÁLEZ; RAMÍREZ GONZÁLEZ; SÁNCHEZ PINTO, 2005). No Brasil é chamado de "goiaba-araçá" ou "araçá-do-campo". A fruta é utilizada na preparação de alimentos naturais ou consumida na forma de sobremesas, bebidas, sorvetes e licores (MANICA, 2000).

Na medicina popular, as folhas jovens e frescas da *P. guineense* são utilizadas no tratamento de infecções e feridas (TENE et al., 2007), a raiz é tradicionalmente utilizada no Brasil como antidiarréico e diurético e a casca é utilizada em curtumes devido ao seu alto teor de taninos (FRANZON et al., 2009b). Estudos etnobotânicos mencionam que é amplamente utilizada no tratamento da doença do TGI (ANESINI; PEREZ, 1993; LEONTI; STICHER; HEINRICH, 2003). O efeito gastroprotetor do extrato aquoso da folha de *P. guineense* foi demonstrado reduzindo a acidez gástrica e aumentando os níveis de muco basal em camundongos .(SOUSA et al., 2016)

Dentre o gênero, a espécie Psidium guineense, vem demonstrando seu potencial farmacológico; no entanto, a segurança ainda é escassa. Assim, neste estudo, o extrato aquoso das folhas de *P. guineense* foi submetido a testes de segurança biológica envolvendo citotoxicidade, toxicidade aguda e genotoxicidade em camundongos.

Materiais e métodos

Material vegetal

Espécimes da *Psidium guineense* foi coletado no Campus da Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil (08°03'39''S 34°56'59''W). A identificação botânica foi realizada por Tianisa Prates Boeira, Número do voucher: 56155 e um espécime foi depositado no PEUFR - Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho, pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Preparação do Extrato

O extrato foi preparado utilizando as folhas de *Psidium guineense*, que foram lavadas em água destilada e secas a 36 °C por 48 h, depois moídas utilizando triturador industrial. O pó de folhas secas foi utilizado para a preparação do extrato aquoso por turbo-extração (3 ciclos de 30 s com intervalo de 4 min) com água destilada. A solução extrativa foi então liofilizada e obtido um extrato seco para utilização de avaliação fitoquimica e

toxicológica.

Perfil fitoquímico

A cromatografia de camada fina (TLC) foi usada para examinar o extrato aquoso das folhas da Espécie *P. guineense* quanto à presença de alcalóides, cumarinas, derivados do ácido cinâmico, flavonóides, taninos, terpenos/esteróides e açúcares. Para análise de cromatografia líquída de alto desempenho (HPLC) o extrato aquoso da *P. guineense* (25 mg) foi dissolvido em 5 mL de metanol de grau de HPLC (Tedia, Fairfield, OH, EUA) e diluído em água ultrapura (Purelab Classic UV, ELGA LabWater, High Wycomb) e foi conduzido em um sistema HPLC Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) acoplado a um Detector de Matriz de Diodo (DAD). O comprimento de onda foi definido para 270 nm para detecção de polifenóis. A análise e o processamento dos dados serão realizados com o Chromeleon versão 6 (Thermo Fisher Scientific).

Experimentação *in vivo*

Foram utilizados camundongos Swiss machos e fêmeas obtidos do Biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), pesando entre 30 e 40g, com idade entre 8 e 10 semanas. Foram mantidos sob condições padrão (ciclo claro/escuro de 12 horas, 22 ± 2 °C e umidade de 50–55%) apropriadamente alimentadas e com água fornecida ad libitum. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética Animal da Universidade Federal de Pernambuco (processo número 106/2022).

Avaliação da atividade hemolítica.

A triagem toxicológica do extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg) foi avaliada no ensaio de atividade hemolítica conforme descrito por Costa et al. (2020). Resumidamente, uma punção cardíaca foi realizada em camundongos machos anestesiados e, em seguida, transferida para um tubo contendo ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) e centrifugado a 3.000 rpm por 10 min. Posteriormente, o pellet celular foi homogeneizado com solução salina até uma concentração de 2% (v/v). Diferentes concentrações de EAPg (3,9 – 2000 mg/mL) foram adicionadas em placas de 96 poços e incubadas por 60 min a 28 ◦C. com a solução de eritrócitos em triplicado. Após o período de incubação, nova centrifugação foi realizada nas mesmas condições mencionadas e o sobrenadante foi coletado para determinação da hemoglobina liberada em espectrofotômetro UV/VIS (Erkin Elmer-Lambda 650) a 540 nm. Para o controle positivo foi utilizado o Triton X.

Ensaio de Toxicidade Aguda.

Para a toxicidade aguda camundongos fêmeas foram separados em dois grupos (n = 5) e receberam via oral os seguintes tratamentos: extrato aquoso das folhas de *P. guineense* (2000 mg/kg) ou NaCl 0,9% (Controle). Após a administração foi realizado o acompanhamento visual durante as primeiras 4 horas, onde foram observadas alterações na pele, olhos e mucosas, sensibilidade ao som e ao toque, mobilidade e comportamento agressivo.

Posteriormente os animais foram acompanhados diariamente durante 14 dias, sendo acompanhado o consumo de água, ração e o peso dos animais (OECD, 2001). No 15º dia os animais foram eutanasiados, e o sangue foi coletado da veia cava inferior para análises dos parâmetros hematológicos e bioquímicos. Rins, fígado e baço também serão coletados para processamentos histopatológicos (DE OLIVEIRA et al., 2018).

Análise hematológica e bioquímica

Ao final do ensaio de toxicidade aguda, o sangue dos animais foi coletado e os seguintes parâmetros bioquímicos foram avaliados: proteína total, albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfato alcalino, gama glutamil transferase (GGT), ureia e creatinina, utilizando kits específicos (Labtest Diagnostica, Lagoa Santa, Brasil) e um analisador COBAS Mira Plus (Roche Diagnostics Systems, Basileia, Suíça). A análise hematológica foi realizada por meio de analisador automático (Animal Blood Counter: ABC Vet, Montpellier, França) e microscopia óptica; os parâmetros avaliados foram: eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e análise total e diferenciada de leucócitos (DE OLIVEIRA et al., 2015).

Testes de genotoxicidade

Sangue periférico de camundongos foram coletados para o ensaio cometa e o teste de micronúcleo (MN). Dois grupos experimentais de cinco camundongos cada foram criados usando camundongos fêmeas. O grupo de tratamento recebeu EAPg a 2000mg/kg de peso corporal por gavagem, enquanto o grupo controle negativo (NC) recebeu 0,5 mL de água deionizada. Os animais receberam cetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) por via intraperitoneal para torná-los inconscientes 6h (ensaio do cometa) e 24 h (MN) após o tratamento, e o sangue foi coletado por punção retro-orbitária. Ao fim das 24 h os animais foram então sacrificados com altas doses de anestésicos (cetamina 300 mg/kg e xilazina 30 mg/kg) (DOS SANTOS SOUZA et al., 2021).

Teste do cometa

O teste do cometa foi utilizado de acordo com Tice et al. (2000) procedimento recomendado para avaliar o dano genético às células sanguíneas nucleadas. A homogeneização inicial de 15 µL de sangue com 100 µL de agarose de baixo ponto de fusão (0,5 por cento LM) foi seguida pelo depósito dessa combinação em lâminas cobertas com agarose convencional a 0,5 por cento. As lâminas foram colocadas a 4 ◦C por 10 min com uma lamínula sobre elas.

As lâminas foram imersas em uma solução de lise (2,5 M de cloreto de sódio [NaCl], 100 mM de ácido etilenodiaminotetracético [EDTA], 10 mM de Tris, 1% de Triton X-100, 10% de DMSO, pH 13) por 48 horas após o resfriamento com as lamínulas removido. As lâminas foram primeiro lisadas e depois colocadas em um tampão de eletroforese alcalina (1 M NaOH e 200 mM EDTA sal dissódico, pH 13), onde foram deixadas por 20 min.

Em seguida, as lâminas foram submetidas à eletroforese em câmara horizontal por 20 min a 300 mA e 32 V. As lâminas foram fixadas por 5 min em etanol 100% após neutralização por 15 min em tampão Tris-HCl 0,4 M pH 7,5. As lâminas foram coradas com 30 µL de solução de brometo de etídio (0,0002% p/v) para tornar os nucleoides visíveis. Utilizando um filtro AlexaFluor 546 e um microscópio fluorescente Zeiss-imager M2 com objetiva de aumento de 40x, os estudos foram realizados. A partir da coleta de sangue, todas as operações foram realizadas em ambiente iluminado. Um total de 100 nucleoides de cada animal foram analisados para quantificar os danos no DNA.

De acordo com a porcentagem de DNA na cauda e na cabeça do cometa, cada núcleo foi dividido em uma das cinco categorias: 0 (sem dano), 1 (dano aparente mínimo), 2 (dano médio), 3 (dano médio alto) e 4 (dano alto) (COLLINS et al., 2008). Cada animal foi avaliado por dois fatores durante o estudo dos 100 nucleoides: o índice de danos (DI) e a frequência de danos (DF). Para cada animal estudado, os valores de DF variaram de 0 a 100, enquanto os valores de DI variaram de 0 (nenhum dano) a 400 (maior dano) (Collins et al., 2008; Sousa Coelho et al., 2018).

Teste do Micronúcleo

No teste de micronúcleo o sangue de cada animal (5 µL) foi colocado em lâminas tratadas com laranja de acridina e depois cobertas com uma lamínula (HEDDLE et al., 1991). Um total de 2000 eritrócitos policromáticos (PCEs) foram examinados em três lâminas preparadas para cada animal para confirmar a presença de micronúcleos. Um microscópio fluorescente (Zeiss-imager, M2) com uma objetiva de ampliação de 40x e um filtro AlexaFluor 488 foi usado para o estudo.

Análises estatísticas

O GraphPad Prism® versão 8.0 foi utilizado para analisar os dados e expressos como valores médios com desvio padrão (±DP). O Teste T e a análise de variância (ANOVA) de uma via foram usados para determinar diferenças estatisticamente significativas, e também o teste de Bonferroni ou Dunnett (quando necessário). Os achados dos testes de dano genético (MN, DI e DF) foram examinados por meio da comparação do teste de Wilcoxon do grupo EAPg e NC. Essa comparação foi realizada para determinar se havia ou não diferença significativa entre os três grupos (software R). O nível de significância estabelecido em todos os testes foi estabelecido em $P < 0,05$.

Resultados e discussão

Caracterização química do extrato aquoso de folhas de Psidium guineense Sw

Após a produção do extrato aquoso, este foi submetido a triagem fitoquímica por cromatografia em camada delgada. Foi evidenciado a presença de flavonoides, taninos hidrolisados, terpenos e esteroides e açúcares redutores; Por outro lado, foi ausente para derivados cinâmicos, taninos condensados, cumarinas, saponinas, antracênicos e alcaloides (Tabela 1). Dados condizentes com o estudo de Rivero-maldonado et al. (2013), no qual a triagem química de extratos aquoso de folhas desta espécie identificou compostos bioativos fenólicos, licopeno, vitamina C e flavonoides.

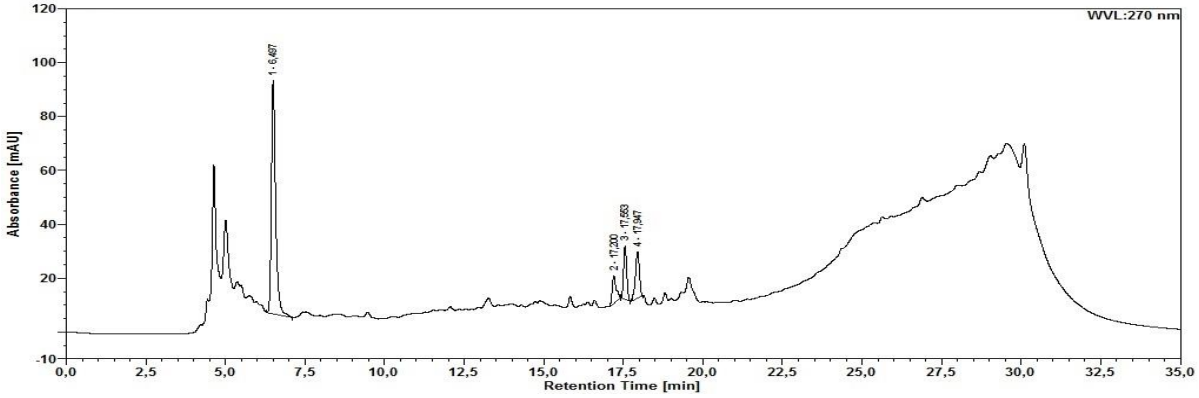
Tabela 1 – Condições cromatográficas para identificação do perfil químico por Cromatografia em camada delgada

Classe de metabólito	**Método**	**Extrato aquoso de *P. guineense***
Derivados Cinâmicos	$AlCl_3$	-
Flavonoides	$AlCl_3$	+
Taninos hidrolisáveis	$FeCl_3$	+
Taninos condensados	Vanilina Clorídrica + Δ	-
Cumarinas	KOH	-
Terpenos/Esteroides	Liebermann-Burchard + Δ	+
Saponinas	Liebermann-Burchard + Δ	-
Antracênicos	HNO_3 + Δ + KOH	-
Açúcares	Timol + H_2SO_4 + Δ	+
Alcaloides	Dragendorff	-

Legenda: AlCl3: Cloreto de alumínio a 5% em metanol; FeCl3: Cloreto férrico; Δ: Aquecimento; KOH: hidróxido de potássio; HNO3: Ácido nítrico; H2SO4: Ácido sulfúrico.

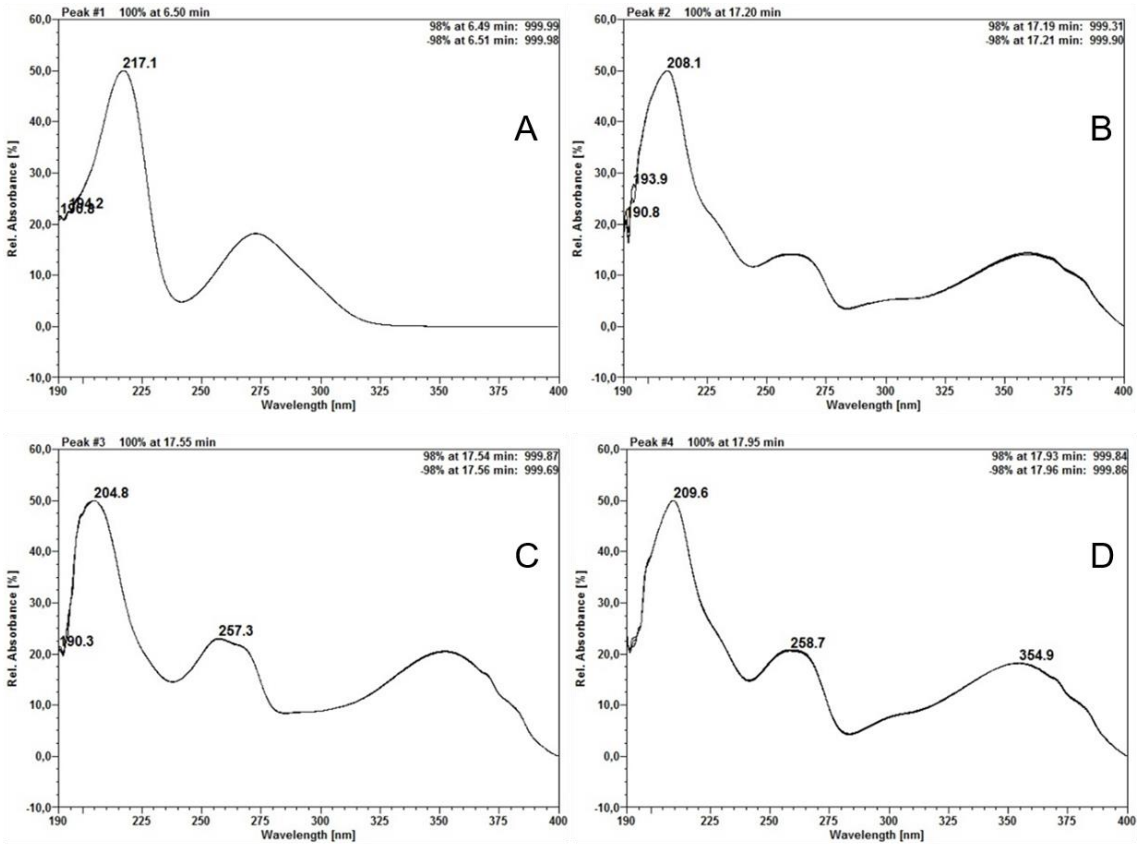
Em seguida, foi realizada uma análise do perfil cromatográfico do extrato aquoso de *P. guineense* por meio da cromatografia líquida de alta eficiência. Diversos picos foram evidencias, no comprimento de 270 nm, conforme figura 1.

Figura 1 – Cromatograma evidenciado para a amostra em 270 nm.



Com o uso do detector DAD foi possível verificar que os picos cujos espectros de varredura UV e tempo de retenção são semelhantes aos padrões de ácido gálico e rutina correspondem respectivamente a presença desses compostos, no tr = 6.50 min com máximos em 217.1/271 nm (A) e tr = 17.55 min com máximos em 204.8/257.3/354 nm (B), além de outros dois flavonoides (C e D), que possuem espectro de varredura semelhantes ao de rutina (Figura 2).

Figura 2 – Espectro de varredura dos picos evidenciados na amostra



Os flavonoides têm múltiplas funções nas plantas. Dentre elas, podemos citar a capacidade de proteger contra os raios UV, proteger contra insetos, fungos, vírus e bactérias, além de proporcionar atratividade aos animais polinizadores. Além dessas propriedades, muitos desses compostos possuem importantes propriedades farmacológicas como antitumoral, anti-inflamatória, antiviral, antioxidante, etc. (AGRAWAL, 2011; FLAMBÓ, 2013; HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002; MELLOU et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2002; SIMÕES et al., 2016). Os taninos, por exemplo, representam compostos polifenólicos heterogêneos, hidrossolúveis e de alto peso molecular, amplamente distribuídos no reino vegetal, e atuam como defesas químicas contra predadores e radiação ultravioleta em concentrações muito distintas. Este grupo de taninos tem aplicações potenciais como prevenção e tratamento de vários tipos de tumores, incluindo câncer de pele (BHATTACHARYA; MUKHOPADHYAY; GIRI, 2011).

Avaliação da toxicidade hemolítica do extrato aquoso de folhas de *Psidium guineense* Sw

A atividade hemolítica do extrato das folhas de *Psidium guineense* Sw induzida nos eritrócitos foi dependente da concentração. No entanto, nas concentrações testadas, extrato das folhas não apresentaram toxicidade significativa para os eritrócitos. A porcentagem hemolítica do extrato variou de 0,35% a 13% nas concentrações 3,9 a 2000 µg/mL respectivamente, indicando a baixa capacidade de hemólise, de acorodo com a ISO 10993-5. A porcentagem hemolítica foi comparada com Triton-X (controle positivo), cuja hemólise foi de 100%. A porcentagem hemolítica é usada com a finalidade de triar novos compostos com atividades biológicas, podendo evidenciar o potencial tóxico de substâncias fornecendo informações da possibilidade de continuidade ou não das avaliações (FERREIRA; DANTAS; CATÃO, 2014).

Avaliação da toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Psidium guineense* Sw *in vivo*

Após a avaliação de ausência de efeito citotóxico em sangue periférico de camundongos, o extrato foi submetido a avaliação da toxicidade oral aguda. Na avaliação, durante o período de 14 dias observado, o EAPg na dose de 2000 mg/kg não causou morte ou alterações nos parâmetros hipocráticos avaliados ou sinais clínicos que indicassem toxicidade. Outras espécies de *Psidium* demonstraram baixa toxicidade no ensaio de toxicidade oral. Felipe do Nascimento et al. (2021) descreveram que na avaliação de 14 dias, o extrato hidrometanólico de *P. guineense* nas doses de 500 e 2000 mg/kg não causou morte ou alterações nos parâmetros hipocráticos ou sinais clínicos que indicassem toxicidade. Da mesma forma. Manekeng et al. (2019) descreve que o tratamento em dose única com 5.000 mg/kg de extrato metanólico de *P. guajavaa* casca não promoveu mortalidade ou sinais de toxicidade nos animais, determinando LD 50 acima de 5000 mg/kg.

O consumo de água e ração, bem como as alterações de peso corporal também são critérios indicativos de toxicidade, mesmo que não ocorra nenhuma morte nos grupos durante o período de avaliação considerado (NGUEGUIM et

al., 2015). Sob esses aspectos, o EAPg demonstrou segurança no uso, pois não houve diferenças significativas entre os grupos tratado com veículo e EAPg na dose de 2.000 mg/kg durante o período de análise de 14 dias. Em relação ao consumo de água e de ração e ao ganho de peso corporal absoluto não se observou diferença significativa (Tabela 2).

Tabela 2. Avaliação do consumo de ração e água e ganho de peso dos animais controle e tratados com o extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg) *per os.*

	Consumo de água (mL)	**Consumo de Ração (g)**	**Ganho de Peso (g)**
Controle	26,0 ± 0,9	40,0 ± 4,0	2,0 ± 0,40
EAPg (2000mg/kg)	24,0 ± 1,7	40,0 ± 5,1	2,0 ± 0,64

Legenda: EAPg: Extrato aquoso de *Psidium guineense*. Os valores representam a média ± SEM (n = 5/grupo). *Indica diferença significativa (p < 0,05) encontrada em comparação com o controle.

Outros parâmetros incluídos na avaliação toxicológica incluem a observação macroscópica e o peso relativo de órgãos cujas alterações de morfologia e coloração podem indicar danos (NGUEGUIM et al., 2015). Na avaliação macroscópica, os órgãos (fígado, rim e baço) não apresentaram alterações, e os pesos absolutos e relativos dos órgãos vitais de cada animal não apresentaram diferenças significativas entre os grupos tratamento e controle (Tabela 3).

Tabela 3. Avaliação do peso relativo dos órgãos de camundongos tratados com o Extrato aquoso de *Psidium guineense* na concentração de 2.000 mg/kg.

	Figado (g)	**Rim (g)**	**Baço (g)**
Controle	1575,10 ± 167,72	234,30 ± 4,79	153,20 ± 22,80
EAPg (2000mg/kg)	1575,10 ± 164,22	230,00 ± 6,26	162,50 ± 10,66

Legenda: EAPg: Extrato aquoso de *Psidium guineense*. Os valores representam a média ± SEM (n = 5/grupo). *Indica diferença significativa (p < 0,05) encontrada em comparação com o controle.

A análise sanguínea de parâmetros bioquímicos e hematológicos pode revelar processos de dano tecidual que ainda não sofreram expressão morfológica em órgãos e, portanto, são parâmetros importantes para medidas

de toxicidade aguda (DAHHAM et al., 2016). Não foi observada diferença significativa nos parâmentros hematologicos do EAPg (Tabela 4.), no qual o extrato metanólico da casca de *Psidium guajava* em ratos altera a quantidade de hemacias e plaquetas(MANEKENG et al., 2019); Entretando nos parâmetros bioquimicos do EAPg (Tabela 5), triglicerídeos; HDL; LDL; VLDL e colesterol total, apresenta diferença significativa, em que, exceto HDL, teve uma redução em compação com o grupo controle.

O EAPg promoveu melhora no perfil lipídico, especialmente na redução das taxas de colesterol totais e de LDL, destacando um possivel efeito antiaterosclerótico (KISS et al., 2006), o que está de acordo com o que aponta Pazzinato e De Souza Cardoso (2019) que diz que outros componentes afetam o perfil lipídico do corpo, como os fitoesteróis, importantes antioxidantes na forma de vegetais na dieta, que cumprem uma função estrutural semelhante ao colesterol nos tecidos animais, diminuindo o colesterol sanguíneo ao competir com a absorção do colesterol no corpo na luz intestinal. Dentre os componentes fenólicos, os flavonoides podem diminuir o efeito da asteroclerose por inibir a oxidação do LDL e efeitos anti-inflamatórios, cardioprotetores, antioxidantes e antitrombóticos (PAZZINATO; DE SOUZA CARDOSO, 2019).

Tabela 4. Parâmetros hematológicos de camundongos fêmeas tratados com o extrato aquoso de *Psidium guineense*.

Tratamentos	Parâmetros												
	RBC	HCT	HB	VCM	HCM	CHCM	PLT	WBC	SEG	LYM	MON	BOS	EOS
Controle	5.70±0.44	38.61±3.05	14.73±0.35	47.10±4.05	18.25±0.22	38.54±3.04	988.60±85.34	7.43±0.69	70.21±5.85	24.86±0.26	3.01±0.30	0.11±0.02	1.32±0.14
Dose única (2,000 mg/kg)	5.50±0.52	39.10±3.17	14.40±0.29	47.18±3.55	18.31±0.25	36.97±3.15	951.73±55.11	7.20±0.44	71.01±4.77	25.03±0.39	3.10±0.34	0.10±0.03	1.46±0.16

Legenda: RBC: glóbulos vermelhos (106/mm3); HCT: Hematócrito (%); HB: Hemoglobina (g/dL); VCM: Volume Corpuscular Médio (%); HCM: Hemoglobina corpuscular média (%); CHCM: Concentração Média de Hemoglobina Corpuscular (%); PLT: Plaquetas (103/mm3); WBC: Glóbulos Brancos (103/mm3); SEG: Segmentado (%); LYM: Linfócitos (%); MON: Monócitos (%); BOS: basófilo; EOS: Eosinófilo. Os valores representam a média ± SEM (n=5/grupo). Não foram encontradas diferenças significativas (p > 0,05) em comparação com o controle.

Tabela 5. Parâmetros bioquímicos do sangue de camundongos tratados com o extrato aquoso de *Psidium guineense*.

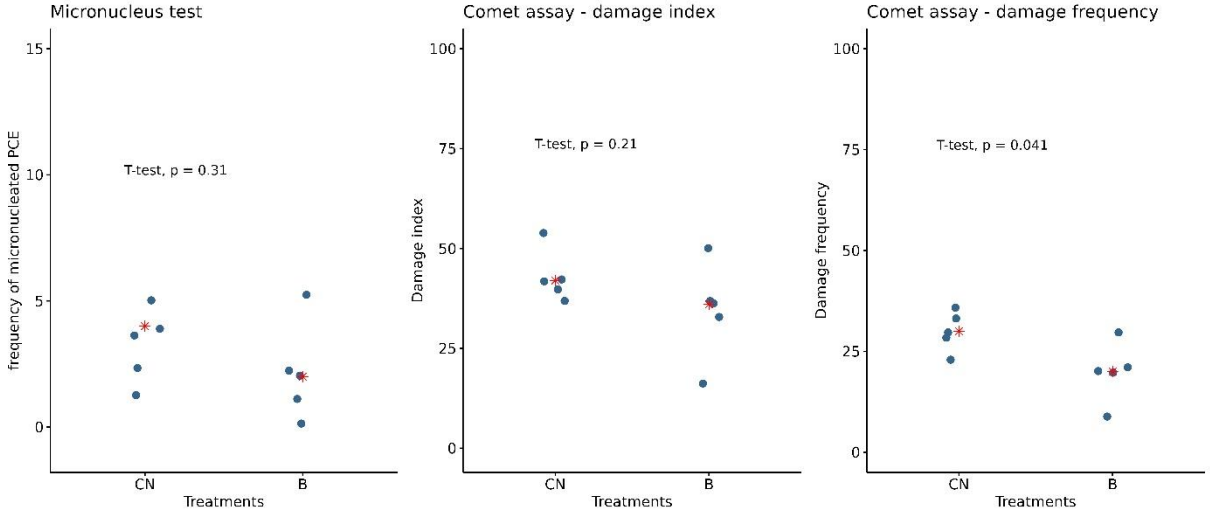
Tratamentos	Parâmetros													
	ALB	ALT	AST	ALP	BIL	GGT	PT	UR	CRE	CT	TG	HDL-c	LDL-c	VLDL
Controle	31.70±3.13	49.72±3.19	66.15±4.13	13.53±0.52	0.32±0.14	14.06±0.33	75.19±5.43	0.32±0.05	4.13±0.44	79.55±4.25	95.70±5.16	37.12±3.15	30.64±2.84	15.24±1.12
Dose única (2,000 mg/kg)	33.12±3.45	47.58±3.75	64.45±4.61	13.89±0.42	0.38±0.09	14.24±0.41	76.14±5.31	0.37±0.07	4.25±0.38	**70.29±4.01***	**80.33±5.04***	**45.12±3.31***	**25.14±2.33***	**13.44±1.18***

Legenda: ALB: albumina (g/dL); ALT: alanina aminotransferase (U/L); AST: aspartato aminotransferase (U/L); ALP: fosfatase alcalina (U/L); BIL: bilirrubina (mg/dL); GGT: gama-glutamil transferase; PT: proteína total (g/dL); UR: uréia sanguínea (mg/dL); CRE: creatinina (mg/dL); CT: colesterol total (mg/dL) TG: triglicerídeos (mg/dL); HDL: lipoproteína de alta densidade-colesterol; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade-colesterol; VLDL: Colesterol de densidade muito baixa. Os valores representam a média ± SEM (n=5/grupo). Diferenças significativas (p < 0,05) foram encontradas em comparação com o controle.

Avaliação da genotoxicidade do extrato aquoso de folhas de *Psidium guineense* Sw *in vivo*

Na avaliação genotóxica de células nucleadas do sangue entre o grupo CN e o grupo tratado com o EAPg (B) na dose de 2000 mg/kg, tanto o teste de micronúcleo (mutagenicidade), quanto o índice de dano (ID) segundo o teste do cometa, não houve diferença significativa, resultado semelhante ao descrito por Costa et al., (2023) com *P. glaziovianum*. Entretanto na frequência de dano (DF) teve diferença significativa, contudo perceba que o grupo CN teve mais dano do que o grupo tratado com o EAPG (B). Aparentemente, o extrato pode ter alguma atividade protetora do DNA, necessitando assim de mais estudo (Figura 3.). De Oliveira Silva et al., (2020) também relatou que o extrato metanólico de *Psidium guineense* induz baixa genotoxicidade em células da mucosa oral.

Figura 3 . Resultados dos testes de micronúcleos e ensaio do cometa no grupo controle e no grupo tratado com Extrato Aquoso de *Psidium guineense* (EAPg) na concentração de 2.000 mg/kg.



Legenda: PCE: eritrócitos policromáticos; CN: controle negativo; B: Extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg) na concentração de 2.000 mg/kg. As estrelas representam os meios; Os valores de p são mostrados em barras apenas quando a comparação foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Esses resultados apresentados validam a ideia de que o EAPg na concentração de 2000 mg/kg é seguro para uso, o que significa que tal composto pode ser explorado para possíveis aplicações farmacológicas. No entanto, mais estudos crônicos devem ser realizados para comprovar a baixa toxicidade referente a produtos isolados da espécie *P. guineense.*

Conclusão

O extrato aquoso de *P. guineense* não promoveu efeitos tóxicos em células sanguíneas de camundongos. Adicionalmente, o tratamento oral com EAPg demonstrou baixa toxicidade aguda, pois não promoveu morte ou alteração dos parâmetros Hematologicos. No entanto, uma redução do colesterol total e de LDL, podem indicar um possível efeito antilipêmico. No ensaio cometa a frequência de dano (DF) teve diferença significativa, contudo o grupo controle obteve maior dano em comparação ao grupo tratado com EAPg. À luz desses achados, é possível que o EAPg, pelo menos dentro da faixa de dosagem utilizada na presente investigação, é seguro para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos tradicionais e fitoterápicos. No entanto, estudos futuros de toxicidade em doses repetidas são essenciais para investigar possível efeito cumulativo do tratamento com *P. guineense*.

Agradecimentos

O financiamento foi fornecido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; Código Financeiro 001) e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

Referências

AGRAWAL, A. D. Pharmacological activities of flavonoids: a review. **Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol**, v. 4, n. 2, p. 1394–1398, 2011.

ANESINI, C.; PEREZ, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. **Journal of ethnopharmacology**, v. 39, n. 2, p. 119–128, 1993.

BHATTACHARYA, S. Medicinal plants and natural products in amelioration of arsenic toxicity: a short review. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 349–354, 2017.

BHATTACHARYA, U.; MUKHOPADHYAY, S.; GIRI, A. K. Comparative antimutagenic and anticancer activity of three fractions of black tea polyphenols thearubigins. **Nutrition and cancer**, v. 63, n. 7, p. 1122–1132, 2011.

COLLINS, A. R. et al. The comet assay: topical issues. **Mutagenesis**, v. 23, n. 3, p. 143–151, 2008.

COSTA, W. K. et al. Cytotoxicity, oral toxicity, genotoxicity, and mutagenicity evaluation of essential oil from Psidium glaziovianum Kiaersk leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 303, p. 115955, 2023.

DAHHAM, S. S. et al. In vivo toxicity and antitumor activity of essential oils extract from agarwood (Aquilaria crassna). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 236, 22 dez. 2016.

DE OLIVEIRA, A. M. et al. Evaluation of toxicity and antimicrobial activity of an ethanolic extract from leaves of Morus alba L.(Moraceae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

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

DE OLIVEIRA SILVA, R. C. M. et al. Potencial Genotóxico do Extrato Metanólico de Psidium guineense Sw (Araçá verdadeiro) em Células da Mucosa Oral. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e214973814–e214973814, 2020.

DOS SANTOS SOUZA, T. G. et al. Biological safety of Syagrus coronata (Mart.) Becc. Fixed oil: Cytotoxicity, acute oral toxicity, and genotoxicity studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 272, p. 113941, 2021.

FELIPE DO NASCIMENTO, K. et al. Chemical analysis and antioxidant, anti-inflammatory and toxicological evaluations of the hydromethanolic extract of Psidium guineense Swartz leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 281, p. 114492, dez. 2021.

FERREIRA, S. B.; DANTAS, I. C.; CATÃO, R. M. R. Evaluation of the antimicrobial activity of the essential oil of sucupira (Pterodon emarginatus). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, p. 225–230, 2014.

FLAMBÓ, D. F. A. L. P. **Atividades biológicas dos flavonoides: Atividade antimicrobiana**. [s.l.] [sn], 2013.

FRANZON, R. C. et al. Araçás do gênero Psidium: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. 2009.

HARTMANN, A. et al. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. **Mutagenesis**, v. 18, n. 1, p. 45–51, 2003.

HEDDLE, J. A. et al. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 18, n. 4, p. 277–291, 1991.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 13, n. 10, p. 572–584, 2002.

KISS, A. C. I. et al. Efeito do extrato aquoso de Allium sativum L. sobre parâmetros bioqu\'\imicos de ratas com diabete induzido por Streptozotocin. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, p. 24–30, 2006.

LEONTI, M.; STICHER, O.; HEINRICH, M. Antiquity of medicinal plant usage in two Macro-Mayan ethnic groups (Mexico). **Journal of ethnopharmacology**, v. 88, n. 2–3, p. 119–124, 2003.

MANEKENG, H. T. et al. Evaluation of acute and subacute toxicities of Psidium guajava methanolic bark extract: a botanical with in vitro antiproliferative potential. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, 2019.

MANICA, I. Frutas nativas, silvestres e exóticas 1. **Porto Alegre: Cinco Continentes**, p. 91–129, 2000.

MELLOU, F. et al. Biocatalytic preparation of acylated derivatives of flavonoid glycosides enhances their antioxidant and antimicrobial activity. **Journal of Biotechnology**, v. 116, n. 3, p. 295–304, 2005.

NEIRA GONZÁLEZ, A. M.; RAMÍREZ GONZÁLEZ, M. B.; SÁNCHEZ PINTO, N. L. Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de Psidium guineense Sw (choba) frente a Streptococcus mutans, agente causal de caries dentales. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 10, n. 3–4, p. 0–0, 2005.

NGUEGUIM, T. F. et al. Acute and sub-acute toxicity of a lyophilised aqueous extract of the aerial part of Spilanthes africana Delile in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 172, p. 145–154, ago. 2015.

OLIVEIRA, T. T. DE et al. Efeito de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. **Revista de Nutrição**, v. 15, p. 45–51, 2002.

PAZZINATO, K.; DE SOUZA CARDOSO, C. K. Efeitos dos flavonoides do cacau na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares: uma revisão de literatura. **Revista de Ciências Médicas**, v. 28, n. 2, p. 85–98, 2019.

RIBEIRO, L. R.; MARQUES, E. K.; SALVADORI, D. M. F. **Mutagênese ambiental**. [s.l.] Editora da ULBRA, 2003.

RIVERO-MALDONADO, G. et al. Flavonoides presentes en especies de Psidium (Myrtaceae) de Venezuela. **Revista de la Facultad de Agronom\'\ia de LUZ**, v. 30, p. 217–241, 2013.

SCHERER, K.; STROHSCHOEN, A. A. G. Padronização do teste cometa para análise de genotoxicidade como atividade de ensino para graduação na área da saúde. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 5, n. 3, 2013.

SIM\~OES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. [s.l.] Artmed Editora, 2016.

SOUSA, A. K. A. DE; OTHERS. Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso das folhas de Psidium guineense Swartz. 2016.

SPEIT, G.; HARTMANN, A. The comet assay (Single-Cell Gel Test) a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. **DNA repair protocols: eukaryotic systems**, p. 203–212, 1999.

TENE, V. et al. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Loja and Zamora-Chinchipe, Ecuador. **Journal of ethnopharmacology**, v. 111, n. 1, p. 63–81, 2007.

TICE, R. R. et al. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 35, n. 3, p. 206–221, 2000.

YANG, R. et al. The anti-inflammatory activity of licorice, a widely used Chinese herb. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 5–18, 2017.

5 CONCLUSÕES

- Foi demonstrada a presença de flavonoides, taninos hidrolisados, terpenos e esteroides e açúcares redutores no extrato aquoso de folhas de *Psidium guineense* Sw (EAPg);
- O ensaio de citotoxicidade revelaram a baixa capacidade do EAPg em causar lise celular com uma taxa de hemólise variando de 0,35% a 13%;
- Na avaliação da toxicidade oral aguda em camundongos, nenhum camundongo apresentou quaisquer alterações comportamentais ou morreu durante os 14 dias após a administração de 2.000 mg/kg de EAPg. Os parâmetros hematológicos não apresentaram diferenças significativas, no entanto, a EAPg promoveu melhorias nos perfis lipídicos, indicadas por reduções nas taxas de colesterol em parâmetros bioquímicos;
- Não houve diferença significativa no teste de micronúcleo e índice de dano (DI) para avaliação de genotoxicidade. No entanto, em relação à frequência de dano (DF), houve diferença significativa, com o grupo controle apresentando mais dano do que o grupo tratado com EAPg. Os extratos podem exibir atividade protetora do DNA.
- O EAPg provou ser bem tolerado em doses de até 2.000 mg/kg, conforme detalhado na pesquisa atual.

6 SÚMULA CURRICULAR

- SILVA, PALOMA MARIA DA ; ROCHA, LUIZ PAULO BEZERRA DA ; ARRUDA, LARISSA GOMES DE ; SILVA, BRUNO VINICIUS SOUZA DA ; SILVA, THIAGO FELIX DA ; COSTA, WÊNDEO KENNEDY ; OLIVEIRA, WESLLEY FELIX DE ; SILVA, VALQUIRIA BRUNA GUIMARÃES ; SILVA, MARCIA VANUSA DA ; CORREIA, MARIA TEREZA DOS SANTOS . Natural products from the Brazilian Caatinga as a sustainable source of phytocosmetics: a review. RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT, v. 11, p. e167111736940, 2022
- SILVA, B. V. S.; SILVA, T. F. . PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS E SUAS PROPRIEDADES MEDICINAIS: UMA REVISÃO DE MOMORDICA CHARANTIA, NOPALEA COCHENILLIFERA E PROSOPIS JULIFLORA. In: Wêndeo Kennedy Costa, Alisson Macário de Oliveira. (Org.). Plantas medicinais e fitoterápicos.. 1.ªed.Campo Grande: Editora Inovar,, 2022, v. 001, p. 116-132.

REFERÊNCIAS

AGRAWAL, A. D. Pharmacological activities of flavonoids: a review. **Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol**, v. 4, n. 2, p. 1394–1398, 2011.

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 75–81, 2002.

ALVARENGA, F. Q. et al. Atividade antimicrobiana in vitro das folhas de araçá (Psidium cattleianum Sabine) contra micro-organismos da mucosa oral. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 45, p. 149–153, 2016.

ALVES, A. S. A. et al. The influence of the exotic Apis mellifera and the related migratory apiculture on the reproductive success of some Brazilian native plant species. **Journal of Arid Environments**, v. 164, p. 1–6, 2019.

AMORIM, G. DOS S. **Myrtaceae Juss. Em uma área de transição do Nordeste brasileiro: riqueza, aspectos taxonômicos e distribuição geográfica potencial**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2021.

ANESINI, C.; PEREZ, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. **Journal of ethnopharmacology**, v. 39, n. 2, p. 119–128, 1993.

BALBINO, E. E.; DIAS, M. F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 992–1000, 2010.

BEECH, E. et al. GlobalTreeSearch: The first complete global database of tree species and country distributions. **Journal of Sustainable Forestry**, v. 36, n. 5, p. 454–489, 4 jul. 2017.

BHATTACHARYA, S. Medicinal plants and natural products in amelioration of arsenic toxicity: a short review. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 349–354, 2017.

BHATTACHARYA, U.; MUKHOPADHYAY, S.; GIRI, A. K. Comparative antimutagenic and anticancer activity of three fractions of black tea polyphenols thearubigins. **Nutrition and cancer**, v. 63, n. 7, p. 1122–1132, 2011.

BOUKANDOU MOUNANGA, M.; MEWONO, L.; ABOUGHE ANGONE, S. Toxicity studies of medicinal plants used in sub-Saharan Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 174, p. 618–627, nov. 2015.

COLLINS, A. R. et al. The comet assay: topical issues. **Mutagenesis**, v. 23, n. 3, p. 143–151, 2008.

CORREIA, I.; DO NASCIMENTO, E. R.; GOUVEIA, S. F. Effects of climate and land-use gradients on avian phylogenetic and functional diversity in a tropical dry forest. **Journal of Arid Environments**, v. 173, p. 104024, 2020.

COSTA, W. K. et al. Cytotoxicity, oral toxicity, genotoxicity, and mutagenicity evaluation of essential oil from Psidium glaziovianum Kiaersk leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 303, p. 115955, 2023a.

COSTA, W. K. et al. Cytotoxicity, oral toxicity, genotoxicity, and mutagenicity evaluation of essential oil from Psidium glaziovianum Kiaersk leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 303, p. 115955, 2023b.

CRUZ, A. V. DE M.; KAPLAN, M. A. C. Uso medicinal de espécies das fam\'\ilias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. **Floresta e ambiente**, v. 11, n. 1, p. 47–52, 2012.

DA CRUZ, R. C. D. et al. Phytochemical and toxicological evaluation of a blend of essential oils of Croton species on Aedes aegypti and Mus musculus. **South African Journal of Botany**, v. 132, p. 188–195, 2020.

DA SILVA, J. D. et al. Essential oils of the leaves and stems of four Psidium spp. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, n. 3, p. 240–243, 2003.

DAHHAM, S. S. et al. In vivo toxicity and antitumor activity of essential oils extract from agarwood (Aquilaria crassna). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 236, 22 dez. 2016.

DAMIANI, C. et al. Antioxidant potential of Psidium guinnensis Sw. jam during storage. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 90–98, 2012.

DE ARAUJO, L. C. A. et al. Profile of Antioxidant Activity of Fruits of the Savana Brazilian. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 100, p. S95, 2016.

DE LA ROSA, L. A. et al. Phenolic compounds. Em: **Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 253–271.

DE MELO, A. P. C.; SELEGUINI, A.; VELOSO, V. DA R. S. Caracterização f\'\isica e qu\'\imica de frutos de araçá (Psidium guineense Swartz). **Comunicata Scientiae**, v. 4, n. 1, p. 91–95, 2013.

DE MELO, R. W. N. et al. Avaliação do perfil metabólico de extratos aquosos e hidroalcoólicos de sementes de Crotalaria spp. 2020.

DE MOURA REBOREDO, M. et al. Avaliação da toxicidade do extrato aquoso de Caesalpinia ferrea em órgãos vitais, no sistema reprodutor e na produção de espermatozóides de ratos Wistar submetidos a tratamento subagudo. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução (Descontinuada)**, v. 26, n. 1/2, 2007.

DE OLIVEIRA, A. M. et al. Evaluation of toxicity and antimicrobial activity of an ethanolic extract from leaves of Morus alba L.(Moraceae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

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

DE OLIVEIRA SILVA, R. C. M. et al. Potencial Genotóxico do Extrato Metanólico de Psidium guineense Sw (Araçá verdadeiro) em Células da Mucosa Oral. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e214973814–e214973814, 2020.

DE QUEIROZ, L. P. et al. Diversity and evolution of flowering plants of the Caatinga domain. **Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America**, p. 23–63, 2017.

DEXHEIMER, G. M.; POZZOBON, A. Atividade biolÃ^3gica de plantas da famÃlia Myrtaceae: revisÃ£ o sistemÃ!` tica de artigos entre 1989 e 2015. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 22, n. 2, 2017.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. [s.l.] Editora Unesp, 2002.

DO NASCIMENTO, K. F. et al. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of Psidium guineense Sw. and spathulenol. **Journal of ethnopharmacology**, v. 210, p. 351–358, 2018.

DOS SANTOS SOUZA, T. G. et al. Biological safety of Syagrus coronata (Mart.) Becc. Fixed oil: Cytotoxicity, acute oral toxicity, and genotoxicity studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 272, p. 113941, 2021.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological research**, v. 112, p. 4–29, 2016.

FELIPE DO NASCIMENTO, K. et al. Chemical analysis and antioxidant, anti-inflammatory and toxicological evaluations of the hydromethanolic extract of Psidium guineense Swartz leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 281, p. 114492, dez. 2021.

FERNANDES, M. F.; QUEIROZ, L. P. DE. Vegetação e flora da Caatinga. **Ciência e cultura**, v. 70, n. 4, p. 51–56, 2018.

FERNANDES, T. G. et al. In vitro synergistic effect of Psidium guineense (Swartz) in combination with antimicrobial agents against methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012.

FERREIRA, P. R. F. et al. Morphoanatomy, histochemistry and phytochemistry of Psidium guineense Sw.(Myrtaceae) leaves. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 4, p. 942–944, 2011.

FERREIRA, S. B.; DANTAS, I. C.; CATÃO, R. M. R. Evaluation of the antimicrobial activity of the essential oil of sucupira (Pterodon emarginatus). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, p. 225–230, 2014.

FERREIRA-MACHADO, S. C. et al. Genotoxic potentiality of aqueous extract prepared from Chrysobalanus icaco L. leaves. **Toxicology Letters**, v. 151, n. 3, p. 481–487, 2004.

FLAMBÓ, D. F. A. L. P. **Atividades biológicas dos flavonoides: Atividade**

antimicrobiana. [s.l.] [sn], 2013.

FRANZON, R. C. et al. Araçás do gênero Psidium: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. 2009.

GARC\'\IA, A. Á.; CARRIL, E. P.-U. Metabolismo secundario de plantas. **Reduca (biolog\'\ia)**, v. 2, n. 3, 2011.

GORDON, A. et al. Phenolic constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the Amazon region. **Journal of agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 14, p. 7688–7699, 2011.

GOVAERTS, R. et al. **World checklist of selected plant families–Myrtaceae. Kew: The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens; 2013**. , [s.d.].

HARTMANN, A. et al. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. **Mutagenesis**, v. 18, n. 1, p. 45–51, 2003.

HEDDLE, J. A. et al. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 18, n. 4, p. 277–291, 1991a.

HEDDLE, J. A. et al. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 18, n. 4, p. 277–291, 1991b.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 13, n. 10, p. 572–584, 2002.

HODGSON, E. In vitro human phase I metabolism of xenobiotics I: pesticides and related compounds used in agriculture and public health, May 2003. **Journal of biochemical and molecular toxicology**, v. 17, n. 4, p. 201–206, 2003.

JAHN, A. I.; GÜNZEL, P. K. The value of spermatology in male reproductive toxicology: do spermatologic examinations in fertility studies provide new and additional information relevant for safety assessment? **Reproductive Toxicology (Elmsford, NY)**, v. 11, n. 2–3, p. 171–178, 1997.

KHAN, R. A. Natural products chemistry: The emerging trends and prospective goals. **Saudi pharmaceutical journal**, v. 26, n. 5, p. 739–753, 2018.

KISS, A. C. I. et al. Efeito do extrato aquoso de Allium sativum L. sobre parâmetros bioqu\'\imicos de ratas com diabete induzido por Streptozotocin. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, p. 24–30, 2006.

LEAL, I. R. **Ecologia e conservação da Caatinga**. [s.l.] Editora Universitária UFPE, 2003.

LEONTI, M.; STICHER, O.; HEINRICH, M. Antiquity of medicinal plant usage in two Macro-Mayan ethnic groups (Mexico). **Journal of ethnopharmacology**, v. 88, n. 2–3, p. 119–124, 2003.

LIMA, C. P. DE et al. Efeito alelopático e toxicidade frente à Artemia salina Leach dos extatos do fruto de Euterpe edulis Martius. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, p. 331–336, 2011.

M. LOURENCO, A.; M. FERREIRA, L.; S. BRANCO, P. Molecules of Natural Origin, Semi-synthesis and Synthesis with Anti-Inflammatory and Anticancer Utilities. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, n. 26, p. 3979–4046, 22 jul. 2012.

MANEKENG, H. T. et al. Evaluation of acute and subacute toxicities of Psidium guajava methanolic bark extract: a botanical with in vitro antiproliferative potential. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, 2019.

MANICA, I. Frutas nativas, silvestres e exóticas 1. **Porto Alegre: Cinco Continentes**, p. 91–129, 2000.

MELLOU, F. et al. Biocatalytic preparation of acylated derivatives of flavonoid glycosides enhances their antioxidant and antimicrobial activity. **Journal of Biotechnology**, v. 116, n. 3, p. 295–304, 2005.

NEIRA GONZÁLEZ, A. M.; RAM\'\IREZ GONZÁLEZ, M. B.; SÁNCHEZ PINTO, N. L. Estudio fitoqu\'\imico y actividad antibacterial de Psidium guineense Sw (choba) frente a Streptococcus mutans, agente causal de caries dentales. **Revista cubana de plantas medicinales**, v. 10, n. 3–4, p. 0, 2005.

NEIRA GONZÁLEZ, A. M.; RAMÍREZ GONZÁLEZ, M. B.; SÁNCHEZ PINTO, N. L. Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de Psidium guineense Sw (choba) frente a Streptococcus mutans, agente causal de caries dentales. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 10, n. 3–4, p. 0–0, 2005.

NGUEGUIM, T. F. et al. Acute and sub-acute toxicity of a lyophilised aqueous extract of the aerial part of Spilanthes africana Delile in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 172, p. 145–154, ago. 2015.

OLIVEIRA, T. T. DE et al. Efeito de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. **Revista de Nutrição**, v. 15, p. 45–51, 2002.

ÖZEKER, E. Phenolic compounds and their importance. **Anadolu Ege Tarmsal Araştrma Enstitüsü Dergisi**, v. 9, n. 2, 1999.

OZKAN, G. et al. Potential use of Turkish medicinal plants in the treatment of various diseases. **Molecules**, v. 21, n. 3, p. 257, 2016.

PAZZINATO, K.; DE SOUZA CARDOSO, C. K. Efeitos dos flavonoides do cacau na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares: uma revisão de literatura. **Revista de Ciências Médicas**, v. 28, n. 2, p. 85–98, 2019.

PROENCA, C. E. B. et al. A new species and a new name in Myrtaceae (Myrteae) from Southeastern Brazil. **Phytotaxa**, v. 308, n. 2, p. 259–266, 2017.

QUINTANS JÚNIOR, L. J. et al. Evaluation of hypoglycemic potential and pre-clinical toxicology of Morus nigra L.(Moraceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 30, 2011.

RASKIN, I. et al. Plants and human health in the twenty-first century. **TRENDS in Biotechnology**, v. 20, n. 12, p. 522–531, 2002.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 603–613, 2001.

RIBEIRO, C. A goiabada vence a crise: gigante brasileira espera crescer 20%. **Globo Rural: Empresas & Negócios**, 2018.

RIBEIRO, L. R.; MARQUES, E. K.; SALVADORI, D. M. F. **Mutagênese ambiental**. [s.l.] Editora da ULBRA, 2003.

RIVERO-MALDONADO, G. et al. Flavonoides presentes en especies de Psidium (Myrtaceae) de Venezuela. **Revista de la Facultad de Agronom\'\ia de LUZ**, v. 30, p. 217–241, 2013.

RODRIGUES, V. E. G. **Plantas medicinais no dom\'\inio dos cerrados**. [s.l.] UFLA, 2001.

ROGERO, S. O. et al. Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, p. 317–320, 2003.

SAMPAIO AMORIM, B. **Myrtaceae na floresta atlântica de terras baixas do Estado de Pernambuco**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2011.

SAMPAIO, T. S. et al. Antifungal activity of essential oils of myrcia ovata chemotypes and their major compounds on phytopathogenic fungi. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 2, p. 364–375, 1 mar. 2020.

SCHERER, K.; STROHSCHOEN, A. A. G. Padronização do teste cometa para análise de genotoxicidade como atividade de ensino para graduação na área da saúde. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 5, n. 3, 2013.

SILVA, A. J. A. Potencialidades medicinais de Jatropha gossypiifolia e Cnidoscolus phyllacanthus. **Cadernos Macambira**, v. 5, n. 1, p. 17–18, 2020.

SILVA, J. DA; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. Genética toxicológica. **Porto Alegre: Alcance**, p. 422, 2003.

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**, v. 22, p. 193–207, 2012.

SILVEIRA, P. F. DA. Perfil de utilização e monitorização de reaç\~oes adversas a fitoterápicos do programa farmácia viva em uma unidade básica de saúde de Fortaleza. 2007.

SILVEIRA, M. H. B. et al. Pleistocene climatic instability drove the historical distribution of forest islands in the northeastern Brazilian Atlantic Forest. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 527, p. 67–76, 2019.

SIM\~OES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. [s.l.] Artmed Editora, 2016.

ŠKROVÁNKOVÁ, S.; MIŠURCOVÁ, L.; MACHŮ, L. Antioxidant Activity and Protecting Health Effects of Common Medicinal Plants. Em: [s.l: s.n.]. p. 75–139.

SMITH, M. T. The mechanism of benzene-induced leukemia: a hypothesis and speculations on the causes of leukemia. **Environmental health perspectives**, v. 104, n. suppl 6, p. 1219–1225, 1996.

SOUSA, A. K. A. DE; OTHERS. Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso das folhas de Psidium guineense Swartz. 2016.

SOUZA, R. K. D. et al. Ethnopharmacology of medicinal plants of carrasco, northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 157, p. 99–104, 2014.

SPEIT, G.; HARTMANN, A. The comet assay (Single-Cell Gel Test) a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. **DNA repair protocols: eukaryotic systems**, p. 203–212, 1999.

STEFANELLO, M. É. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: Chemical diversity and biological properties. **Chemistry and Biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 73–94, jan. 2011.

TABARELLI, M. et al. Lacunas de conhecimento sobre as plantas da Caatinga. **Vegetação e flora da Caatinga. Associação Plantas do Nordeste e Centro Nordestino de Informaç\~oes sobre Plantas. Associação Plantas do Nordeste, Recife**, p. 25–40, 2002.

TENE, V. et al. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Loja and Zamora-Chinchipe, Ecuador. **Journal of ethnopharmacology**, v. 111, n. 1, p. 63–81, 2007.

THORNHILL, A. H. et al. Interpreting the modern distribution of Myrtaceae using a dated molecular phylogeny. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 93, p. 29–43, 2015.

TICE, R. R. et al. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 35, n. 3, p. 206–221, 2000.

TULER, A. C. et al. Flora of Esp\'\irito Santo: Psidium (Myrtaceae). **Rodriguésia**, v. 68, p. 1791–1805, 2017.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Qu\'\imica nova**, v. 28, p. 519–528, 2005.

VIEIRA, T. I. et al. In vitro antibacterial and non-stick activity of extracts from leaves of Psidium guineense Sw. and Syzygium cumini (L.) Skeels on oral microorganisms. **RGO. Revista Gaúcha de Odontologia (Online)**, v. 60, n. 3, p. 359–365, 2012.

WILSON, P. G. et al. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matK phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**, v. 251, n. 1, p. 3–19, mar. 2005.

YANG, R. et al. The anti-inflammatory activity of licorice, a widely used Chinese herb. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 5–18, 2017.

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife – PE – Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 21 de dezembro de 2022

Ofício nº 102/22

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Prof. Marcia Vanusa da Silva
Departamento de Bioquimica
Processo nº106/2022

Certificamos que a proposta intitulada "**Caracterização quimica, avaliação das toxicidades aguda e subaguda e atividade antidiabética do extrato aquoso de *Psidium guineense*Sw.**" Registrado com o **nº106/2022** sob a responsabilidade da Prof. **Marcia Vanusa da Silva** 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 06/12/2022

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	20/12/2022 a 31/08/2023
Espécie/linhagem/raça	Camundongos heterogênicos
Nº de animais	85 animais
Peso/Idade	30 a 40 g / 60 dias
Sexo	(50 machos; 35 fêmeas)
Origem: Biotério de Criação	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Laboratório de Experimentação Animal do Departamento de Bioquímica da UFPE.

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva
Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691
UFPE