

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

THAISE GABRIELE DA SILVA BRITO

APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DE *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel

Recife
2019

THAISE GABRIELE DA SILVA BRITO

APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DE *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel

Tese apresentada para o cumprimento
parcial das exigências para obtenção do
título de Doutor em Ciências Biológicas
pela Universidade Federal de Pernambuco.

Área de Concentração: Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a ^o. Dr^a. Vera Lúcia de Menezes Lima

Coorientador: Prof. Dr. Tiago Ferreira da Silva Araújo

Recife

2019

Catalogação na fonte
Elaine C Barroso (CRB4/1728)

Brito, Thaise Gabriele da Silva

Aplicações biotecnológicas de *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel /
Thaise Gabriele da Silva Brito - 2019.

141 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Vera Lúcia de Menezes Lima
Coorientador: Tiago Ferreira da Silva Araújo
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro
de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas. Recife, 2019.

Inclui referências e anexo

1. Myrtaceae 2. Extrato metanólico 3. Óleo essencial I. Lima, Vera
Lúcia de Menezes (orient.) II. Araújo, Tiago Ferreira da Silva (coorient.)
III. Título

583.765

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-100

THAISE GABRIELE DA SILVA BRITO

APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DE *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel

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

Aprovada em: 21/02/2019

BANCA EXAMINADORA

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

Profa. Dra. Ana Paula Sant'Anna da Silva (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Tiago Ferreira da Silva Araújo (Examinador Externo)
Universidade do Vale de São Francisco

Profa. Dra. Bianka Santana dos Santos (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Janaina Karin de Lima Campos (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

A Deus que foi e é Autor de toda minha história de vida, que esteve comigo nos momentos mais difíceis em que não achava que seria possível a realização deste sonho.

À minha família que proporcionou uma fonte inesgotável de amor, paciência e compreensão em todos os momentos que precisei me ausentar.

AGRADECIMENTOS

A Deus, um imensurável agradecimento por me permitir a realização desse sonho; e por sempre estar do meu lado, dando força para ir além de minha capacidade.

Aos meus pais, Silvan Cleide e Josias Brito, que por muitas vezes, orando e apoiando minha jornada, nunca deixaram de se preocupar com meu bem-estar e estudos. Nos tempos mais difíceis, foram eles que me deram apoio incondicional para seguir em frente na jornada, em busca da realização dos meus objetivos. E acima de tudo por abrirem mão dos seus sonhos para sonharem os meus. Com todo meu carinho e amor, obrigada!

Aos meus familiares, em especial minha vovó Vera Costa, que dedicou muito de seu tempo e paciência durante esse período, dividindo seu amor e experiência sobre a vida.

À minha orientadora Profa. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima, que de braços abertos, acolheu-me no ano de 2012, para que hoje essa conquista fosse possível. Muito obrigada pelos seus ensinamentos e seu exemplo de dedicação à Ciência!

À minha Profa. e amiga Dra. Bianka Santana dos Santos, por sua paciência, zelo, companherismo, conselho, pois sem ela muita coisa não teria amadurecido nesse tempo de luta. Seu exemplo é singular, pois uma pessoa que nunca deixei de seguir como modelo e exemplo para minha vida acadêmica.

Aos meus queridos companheiros e amigos, Janaína Campos e Tiago Araújo, que hoje vejo como irmãos, foram MUITO pacientes com minhas dificuldades de adaptação ao meio científico e, mesmo assim, acreditaram no meu potencial. Vocês serão inesquecíveis! Muito obrigada pelo acolhimento e ensinamentos transmitidos!

Às minhas amigas, Ana Paula e Amanda pela paciência e força no dia a dia nestes 4 anos, você foram essenciais. Lembrem-se de que na dor é que seremos campeãs na vida, Deus abençoe vocês MUITO! Serei grata sempre!

Aos meus companheiros do Laboratório de Lipídios, José Guedes, Albérico Rea Weber Melo, João Ricardhis e Rebeka pela disponibilidade, acolhimento e amizade demonstrada nesses anos de convívio proveitosos e saudáveis. Muito obrigada!

Um agradecimento especial ao Prof. Dr. Nicácio Henrique da Silva, que com seu exemplo de competência e paixão pela ciência, concedeu valorosos momentos de apoio para a execução do projeto.

Ao Sr. João Virgínio, por estar sempre disposto a ajudar; e por toda sua experiência compartilhada, quando mais necessitei. Muito obrigada!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro para elaboração deste projeto de pesquisa. Muito obrigada!

“Quando eu era criança, minha mãe me disse: Se você for soldado, será um general. Se você for padre, vai acabar sendo Papa. Em vez disso, tornei-me pintor e acabei sendo Picasso” (PICASSO, 1937).

RESUMO

Plinia cauliflora (Mart.) Kausel é uma planta nativa do Brasil da Família Myrtaceae, também conhecida como jabuticaba. Este estudo objetivou investigar o potencial biotecnológico das folhas (óleo essencial - OEPC), casca dos frutos (extrato metanólico acidificado - MeOHPC) e casca da árvore (extrato metanólico- MeOHPCB) de *P. cauliflora*. Então, foi investigada a composição química do OEPC por cromatografia gasosa acoplado ao espectômetro de massas (GC/MS) e *in silico* dos majoritários. Nos ensaios foi investigado efeito citotóxico sobre macrófagos peritoneais e células Vero além da ação Leishmanicida contra as formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania braziliensis*. No MeOHPC foram utilizados camundongos para os testes antidiarreicos como também na febre induzida por *Saccharomyces cerevisiae* e de nocicepção. No MeOHPCB investigou-se potencial antioxidante pelo seqüestro do radical DPPH 2,2-difenil-1-picrilhidrazila. Além destes no MeOHPCB foram utilizados camundongos para nocicepção por contorção abdominal, formalina e ação anti-inflamatória (antiedematogênico). OEPC apresentou compostos majoritários: Cariofileno (24,0%), Eudesmol (8,0%) em que na investigação *in silico* não apresentaram toxicidade sistêmica. O efeito citotóxico sobre Macrófagos e células Vero apresentou concentração citotóxica de 50% de 137.4 µg/mL e 143.7 µg/mL. A ação Leishmanicida sobre promastigotas e amastigotas foi IC₅₀ de 5.77 µg/mL e 7.31 µg/mL para *L. amazonensis* e um IC₅₀ de 5.60 µg/mL e IC₅₀ de 7.26 µg/mL para *L. braziliensis*. No potencial antidiarreico o tratamento em 200 mg/kg e 400 mg/kg na diarreia induzida por óleo de rícino, reduziram em 82% e 96,6%, no enteropooling reduziu significativamente em 50% e 63,2%, e na avaliação do transito intestinal apresentou 17,5% e 9,5%, respectivamente, quando comparado ao controle negativo. Para nocicepção com o pré-tratamento de 200 e 400 mg/kg do MeOHPC, apresentou 54,9% e 65% e placa quente demonstrou significante aumento do tempo de latência. Na ação antioxidante sobre DPPH foi de 86,6%. Na nocicepção, apresentou 71% em 200 mg/kg e 81.16% em 400 mg/kg do MeOHPCB. No teste de formalina apresentou ação analgésica sobre a fase neurogênica e inflamatória. No potencial antiedematogênico, o MeOHPCB reduziu 88.10% em 200 mg/kg e 98.37 % em 400 mg/kg. Desta forma, a casca do fruto, folhas e a casca da árvore de *Plinia cauliflora* apresentam aplicações biotecnológicas que podem contribuir para o desenvolvimento futuro de fitoterápicos.

Palavras-chave: Jabuticaba. Atividades Biológicas. Extrato Metanólico. Óleo Essencial.

ABSTRACT

Plinia cauliflora (Mart.) Kausel is a plant native to Brazil of the Myrtaceae Family, also known as jabuticaba. The objective of this study was to investigate the biotechnological potential of the leaves (essential oil - OEPC), fruit peel (acidified methanolic extract - MeOHPC) and tree bark (MeOHPCB extract) of *P. cauliflora*. Then, the chemical composition of the EPO by gas chromatography coupled to the mass spectrometer (GC / MS) and *in silico* of the majorities was investigated. In the assays we investigated the cytotoxic effect on peritoneal macrophages and Vero cells in addition to the Leishmanicidal action against the promastigotes and amastigotes of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis*. MeOH mice were used for antidiarrheal tests as well as for *Saccharomyces cerevisiae* and nociceptive fever. In MeOHPCB antioxidant potential was investigated by the sequestration of the radical DPPH 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. In addition to these in the MeOHPCB mice were used for nociception by abdominal contortion, formalin and anti-inflammatory action (antiedematogenic). OEPC had major compounds: Cariofilene (24.0%), Eudesmol (8.0%) in which in the *in silico* investigation did not present systemic toxicity. The cytotoxic effect on macrophages and Vero cells presented a 50% cytotoxic concentration of 137.4 µg / mL and 143.7 µg / mL. The Leishmanicidal action on promastigotes and amastigotes was IC₅₀ of 5.77 µg / mL and 7.31 µg / mL for *L. amazonensis* and an IC₅₀ of 5.60 µg / mL and IC₅₀ of 7.26 µg / mL for *L. braziliensis*. In the antidiarrheal potential treatment at 200 mg / kg and 400 mg / kg in diarrhea induced by castor oil, reduced in 82% and 96.6%, in the enteropooling reduced significantly by 50% and 63.2%, and in the evaluation of the intestinal transit presented 17.5% and 9.5%, respectively, when compared to the negative control. For nociception with the pretreatment of 200 and 400 mg / kg of MeOHPC, it presented 54.9% and 65% and hot plate showed a significant increase in latency time. The antioxidant action on DPPH was 86.6%. In nociception, it presented 71% in 200 mg / kg and 81.16% in 400 mg / kg of MeOHPCB. In the formalin test it presented analgesic action on the neurogenic and inflammatory phase. In the antiedematogenic potential, MeOHPCB reduced 88.10% at 200 mg / kg and 98.37% at 400 mg / kg. In this way, the fruit bark, leaves and the bark of the *Plinia cauliflora* tree present biotechnological applications that may contribute to the future development of phytotherapies.

Keywords: Jabuticaba. Biological Activities. Metanolic extract. Essential oil.

LISTA DE FIGURAS

Revisão de Literatura

Figura 1 -	Vias essenciais do metabolismo secundário.....	19
Figura 2 -	Espécies de jabuticabeiras destaques no Brasil.....	23
Figura 3 -	Distribuição geográfica da <i>Plinia cauliflora</i> no Brasil.....	24
Figura 4 -	Jabuticabeira - <i>Plinia cauliflora</i> (MART.) Kausel.....	24
Figura 5 -	Folhas da jabuticabeira- <i>Plinia cauliflora</i> (MART.) Kausel.....	25
Figura 6 -	Caule da <i>Plinia cauliflora</i> no período de transição das flores para os Frutos.....	25
Figura 7 -	Manifestações clínicas provocadas pela Leishmaniose.....	29
Figura 8 -	Ciclo infeccioso da Leishmaniose.....	30
Figura 9 -	Mecanismo da transmissão de dor.....	43

Artigo 1

Figura 1 -	Description of the region of collection of the essential oil of <i>Plinia Cauliflora</i>	62
Figura 2 -	Effect on mammalian cells incubated in the ausence or presence of different concentrations of essential oil of <i>Plinia cauliflora</i>	64
Figura 3 -	Effects of essential oil of <i>Plinia cauliflora</i> on <i>Leishmania amazonensis</i> promastigote (A) and amastigota forms (B).....	65
Figura 4 -	Effects of essential oil of <i>Plinia cauliflora</i> on <i>Leishmania brasiliensis</i> promastigote (A) and amastigota forms (B).....	66
Figura 5 -	Effect of the essential of <i>Plinia cauliflora</i> on the induction of nitric oxide by Macrophages.....	68
Figura 6 -	Ultrastructural assay on <i>Leishmania amazonenses</i>	69
Figura 7 -	Ultrastructural assay on <i>Leishmania brasiliensis</i>	70

Artigo 2

Figura 1 -	Effect of MeOHPc in the number of writhes in the model of nociception induced by acetic acid.....	92
Figura 2 -	Effect of MeOHPc in the latency time in the model of nociception by hot plate.....	93

Artigo 3

Figura 1 -	Antioxidant activity of the methanolic extract of the bark of the <i>Plinia Cauliflora</i>	117
Figura 2 -	Reducing Power Activity of extract of the bark of the <i>Plinia cauliflora</i> tree MeOHPc.....	118
Figura 3 -	Effect of extract of the bark of the <i>Plinia cauliflora</i> tree in writhes abdominal induced by acetic acid.....	119
Figura 4 -	Effect of extract of the bark of the <i>Plinia cauliflora</i> tree in writhes abdominal induced by acetic acid.....	120

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1 -	Fitoterápicos da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais.....	17
Tabela 2 -	Composição nutricional por 100g do fruto da jabuticaba.....	25
Tabela 3 -	Aplicação terapêutica da jabuticaba de acordo com o uso popular.....	27
Tabela 4 -	Antioxidantes de importância biológica.....	33

Artigo 1

Tabela 1 -	Chemical composition of the essential oil of <i>Plinia cauliflora</i> leaves.....	63
Tabela 2 -	Index of selectivity of the essential oil of <i>Plinia cauliflora</i> on <i>Leishmania amazonensis</i> and <i>Leishmania braziliensis</i>	67
Tabela 3 -	ADMET and prediction of the toxicity profile of the main compounds of the essential oil of <i>Plinia cauliflora</i>	71

Artigo 2

Tabela 1 -	Phytochemical screening of extract MeOHPc.....	88
Tabela 2 -	Effect of MeOHPc (200 and 400 mg/kg) on castor oil induced diarrhea.....	89
Tabela 3 -	Effect of MeOHPc (200 and 400 mg/kg) on small intestinal transit in mice.....	90
Tabela 4 -	Effect of MeOHPc (200 and 400 mg/kg) on body temperature in yeast induced pyrexia.....	91

Artigo 3

Tabela 1 -	Phytochemical analysis do methanolic extract of the bark of <i>Plinia cauliflora</i> Tree.....	121
Tabela 2 -	Effect of the methanolic extract of the bark of the <i>Plinia cauliflora</i> tree on the biochemical parameters of the acute oral toxicity test.....	122
Tabela 3 -	Effect of extract of the bark of the <i>Plinia cauliflora</i> tree in Anti-inflammatory Activity.....	123

LISTA DE ABREVIACES

H ₂ O	- gua
CO ₂	- Dixido de caborno
DN	- Doenças Negligenciadas
MSF	- Médicos Sem Fronteiras
Camp	- Adenosina Monofosfato Cclico
IL-1 β	- Interleucina- 1 β
IL-6	- Interleucina -6
TNF- α	- Fator de Necrose Tumoral alfa
AIEs	- Anti-inflamatórios esteroidais
AINEs	- Anti-inflamatórios não esteroidais
AAS	- cido acetil salicílico
COX	- Ciclooxygenase
PAF	- Fator de ativação plaquetária
GABA	- cido gama aminobutírico
SUS	- Sistema nico de Saúde
OE	- leos essenciais
GC/MS	- Cromatógrafo Gasoso Acoplado Ao Espectômetro De Massas
IR	- ndice De Retenção
OMS	- Organização Mundial de Sude
NADPH	- Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina
BHA	- Butilhidroxianisol
BHT	- Butilhidroxitolueno

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	JUSTIFICATIVA.....	14
1.2	HIPÓTESE.....	15
1.3	OBJETIVOS.....	15
1.3.1	Objetivo geral.....	15
1.3.2	Objetivos específicos.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	PLANTAS MEDICINAIS.....	16
2.1.1	Família <i>Myrtaceae</i> (<i>Plinia cauliflora</i>).....	22
2.1.1.1	Avaliação Leishmanicida.....	28
2.1.1.2	Avaliação Antioxidante.....	32
2.1.1.3	Avaliação Antidiarreica.....	35
2.1.1.4	Avaliação Antipirética.....	37
2.1.1.5	Avaliação Anti-inflamatória.....	38
2.1.1.6	Avaliação Antinociceptiva.....	41
3	RESULTADOS.....	47
3.1	CHEMICAL CHARACTERIZATION LEISHMANICIDE AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF <i>Plinia cauliflora</i> (MART.) KAUSEL FROM THE ATLANTIC MATA OF THE NORTHEAST OF BRAZIL.....	47
3.2	ANTIDIARRHOEAL, ANTIPYRETIC AND ANTINOCICEPTIVE PROPERTIES OF METHANOL ACIDIFICATED EXTRACT OF <i>Plinia cauliflora</i> (MART.) KAUSEL EPICARP.....	73
3.3	ANTIOXIDANTE, ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF METHANOLIC EXTRACT OF <i>Plinia cauliflora</i> TREE BARK.....	94
4	CONCLUSÃO.....	124
	REFERÊNCIAS.....	125
	ANEXO A- CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DE ANIMAIS.....	140

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios, as plantas são usadas na cura e tratamnto das diversas enfermidades, gerando o interesse dos pesquisadores na busca por novos compostos que possam ser usados na terapêutica (ALVES et al., 2014). As diversas partes da planta (flores, frutos, sementes, folhas, caule, raízes, casca) tem desempenhado um papel importante como fontes de moléculas com propriedades farmacológicas, podendo funcionar como agentes medicinais no tratamento de doenças e também como protótipos para síntese de novos medicamentos que apresentem eficácia associada à diminuição do número e da gravidade de efeitos colaterais (ANTONIO et al., 2014). Inclusive, muitas drogas farmacêuticas são derivadas de plantas e inicialmente, foram utilizadas na medicina tradicional. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 25 % dos medicamentos são derivados de espécies vegetais (NICOLETTI et al., 2015).

No Brasil, as plantas medicinais e seus derivados estão entre os principais recursos terapêuticos utilizados, ao longo do tempo, pela população nos seus cuidados com a saúde. Mas, apesar desse fato e da enorme biodiversidade vegetal encontrada em seus biomas, muito do potencial biológico dessas plantas é ainda subaproveitado (WHO, 2014). Até o ano de 2010, apenas dois fitoterápicos eram oferecidos como medicamentos pelo Sistema Único de Saúde (SUS), os derivados do guaco e da espinheira santa; e, posteriormente, a rede pública inseriu apenas mais seis produtos fitoterápicos, que foram os formulados com alcachofra, aroeira, cáscara sagrada, garra do diabo, isoflavona da soja (RENAME, 2018). Porém, ultimamente, como forma de ampliar as opções terapêuticas no SUS, estados e municípios passou a ofertar serviços de fitoterapia em sua rede, aprovaram políticas e legislação específicas, instalaram hortas e laboratórios de produção com a finalidade de disponibilizar plantas medicinais e seus derivados, prioritariamente, na atenção básica, além do fornecimento de publicações para profissionais de saúde e população, sobre o uso racional desses produtos (ANTONIO et al., 2014; NICOLETTI et al., 2015).

A biodiversidade da flora brasileira vem possibilitando a utilização de diversas espécies vegetais como alternativa terapêutica em diversas doenças (MORAIS et al, 2005). Dentre as famílias que tem se destacado está a *Myrtaceae*, por sua ampla variedade e distribuição de espécies, interesse para indústrias de especiarias, farmacêuticas e madeireiras, como também o fato que apesar de muitas das suas espécies apresentarem referências populares, ainda necessitam de estudos científicos para comprovar sua eficácia. Os biomas

que são encontrados nas mais variadas espécies da família, são da Floresta Atlântica, Cerrado e Restinga, e apresentam uma rica produção de frutos comestíveis, tais como a goiaba, jabuticaba e pitanga (LIMA et al., 2008; KAUFFMANN; ETHUR, 2016).

No que se refere ao emprego popular das espécies encontradas na família *Myrtaceae*, existe uma variabilidade de vegetais para tal indicações, como: folhas e cascas de *Myrciaria cauliflora* (jabuticabeira) na terapêutica de processos diarreicos e inflamatórios (WU et al., 2012), as folhas da espécie *Myrciaria dúbia* para o tratamento na malária (RUIZ et al., 2011), folhas da espécie *Eugenia uniflora* para tratamento de diarreia, febre e ação antirreumática (SIMÕES et al., 2018). Além das indicações populares estudos científicos também foram realizados para demonstrar o potencial das espécies dessa família, como a *Blepharocalyx salicifolius* que apresentou potencial leishmanicida (SIQUEIRA et al., 2010) e *Eugenia umbeliflora* que apresentou efeito leishmanicida, microbiano e gastroprotetor (CECHINEL FILHO et al., 2013)

Nesta perspectiva, tornou-se de grande importância nesse estudo, investigar bioprodutos originados da *Plinia cauliflora*, tais como extrato e óleo essencial, que apresentem possíveis efeitos biológicos: leishmanicida, anti-diarreica, anti-pirética, antioxidante, anti-inflamatória e antinociceptiva. Tendo em vista que, a procura de bioprodutos com estas ações biológicas citadas é considerada indispensável e que podem ser aplicadas no tratamento de doenças, as quais apresentam alta prevalência e responsáveis pelas maiores taxas de mortalidade no Brasil e no mundo (MORAIS et al., 2005; HALDAR et al., 2012).

1.1 JUSTIFICATIVA

As plantas medicinais e seus derivados estão entre os principais recursos terapêuticos sendo utilizados há muito tempo pela população brasileira nos seus cuidados com a saúde. Mesmo assim, a produtividade em relação à identificação de compostos naturais efetivamente úteis como ferramentas de pesquisas biológicas ou como candidatos a protótipos de fármacos e outras substâncias de interesse é relativamente baixa, sugerindo que novas pesquisas sejam realizadas para investigar e avaliar tais compostos que possam atuar de forma mais específica e seletiva, com menos efeitos adversos. Desse modo, com base em estudos científicos que relatam os potenciais farmacológicos de determinados óleos essenciais e extratos vegetais justifica-se a necessidade de extrair, caracterizar e analisar as atividades biológicas de *Plinia*

cauliflora que possam contribuir com o arsenal terapêutico leishmanicida, antioxidante, antidiarreico, antipirético, anti-inflamatório e antinociceptivo.

1.2 HIPÓTESE

Plinia cauliflora tem demonstrado um potencial biotecnológico nas indústrias alimentícias e de cosméticos, além do uso na medicina popular como adstringente, anti-inflamatório e antidiarréico. Mas apesar de ter sido despertada recentemente a atenção para estudos que investiguem os seus potenciais farmacológicos, estudos com compostos extraídos de óleos essenciais das folhas e extratos da casca de seu fruto e árvore, ainda são praticamente inexistentes, pois infelizmente *P. cauliflora* ainda é uma espécie subaproveitada da flora brasileira. Desse modo, o presente estudo propõe uma investigação do potencial terapêutico dos óleos essenciais e extrato das folhas, casca do fruto e árvore, a partir da investigação de atividades biológicas, que poderão contribuir para a prevenção e tratamento de doenças de origem infecciosa e não infecciosas.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Geral

- Investigar o potencial biotecnológico das folhas, casca do fruto e casca da árvore da *Plinia cauliflora* (Mart). Kausel

1.3.2 Específicos

- Obter e caracterizar o óleo essencial das folhas de *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel e investigar o perfil Citotóxico sobre Macrófagos Peritoneais e Células Vero e ação Leishmanicida contra as formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonenses* e *Leishmania brazilienses*;
- Obter e caracterizar o extrato metanólico acidificado da casca do fruto de *Plinia cauliflora* (Mart.) e verificar ação anti-diarreica, antinociceptica e antipirética em modelo experimental de camundongos;
- Obter e caracterizar o extrato metanólico da casca da árvore de *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel e investigar atividades antioxidantes *in vitro* e antinociceptica e anti-inflamatória em modelo experimental de camundongos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

Desde os primórdios da civilização, os seres humanos interagem com a natureza como alternativa de melhora nas suas condições de sobrevivência. O uso dos vegetais surgiu antes mesmo de qualquer forma de escrita, como meio de alimento, vestuário, moradia e remédios (GIRALDI; HANAZAKI., 2010). Com o surgimento da escrita, o conhecimento empírico sobre os vegetais, passou a ser datado e arquivado, como no Egito, aproximadamente 2.000 a. C, os antigos escritos em papiros, demonstraram práticas medicinais utilizando as plantas no tratamento de doenças presentes na antiguidade oriental (MONTEIRO; BRANDELLI, 2017) como Tuberculose, Paralisia infantil, Gota e Artrite (CATÃO, 2011).

Dentre os registros em papiros do Egito antigo, um dos mais importantes foi o de Ebers, datado em 1975, que descreveu a medicina interna do cérebro, fígado, coração e explicações para doenças com etiologia desconhecida (CATÃO, 2011). No papiro também foi descrito um grande número de vegetais que apresentam uso terapêutico tais como erva-doce (*Foeniculum vulgare* Miller) para melhorar a digestão e eliminar gases, o absinto (*Artemisia absinthium* L.) para cólicas, endro (*Anethum graveolens* L.) como calmante , além da farmacologia dos óleos vegetais extraídos do alho, girassol e açafrão (MONTEIRO; BRANDELLI, 2017).

A proposta de descrever as plantas como fontes terapêuticas propagou-se em muitos países pela influência de diversas civilizações, como africanas, européias e indígenas (ALMEIDA, 2011). Devido a presença da biodiversidade mais rica do mundo, o Brasil, destacou-se por apresentar cerca de 19% de toda flora mundial (GIULIETTI et al., 2005). No território brasileiro, a civilização indígena devido a expansão de seu grupamento cultural, com crenças e tradições pôde difundir seus conhecimentos empíricos através das descobertas farmacológicas observadas nas plantas medicinais (MONTEIRO; BRANDELLI, 2017). Além do emprego das plantas medicinais como óleos, chás, e extratos na terapia de doenças, os índios utilizavam nas pinturas corporais, ritos religiosos, como também como meio de subsistência alimentar (SANTOS et al., 2018).

No Brasil, os registros oficiais das plantas de uso terapêutico foram na Farmacopeia verde, publicada em 1926 foi a primeira farmacopeia do Brasil. Esta apresentou cerca de 183 espécies vegetais do Brasil e descrições detalhadas de macroscopia e microscopia (FERNANDES, 2004). A partir do início de 1930, estudos científicos com a implementação industrial farmacêutica e maiores descobertas farmacológica das plantas, promoveram o

desenvolvimento de fármacos de origem sintética para tratamento das doenças. Muitos destes fármacos eram derivados de produtos naturais, outros, foram produzidos por estudos de compostos químicos purificados das substâncias bioativas das plantas (FERNANDES, 2004; ALMEIDA, 2011).

A produção destes fármacos fez com que houvesse uma revisão na Farmacopéia do Brasil, na qual foram retirados muitas das espécies vegetais e estabelecida uma nova bibliografia estabelecida como compêndios (FERNANDES, 2004). Na busca por novas substâncias terapêuticas, testes científicos foram implementados e assumiram papel fundamental determinação da ação farmacológica envolvida (YUNES et al., 2001; RATES, 2001). A partir de diversos estudos e análises científicas nas plantas empiricamente relatadas como terapêuticas, no Brasil, através do Ministério da Saúde portaria MS/GM nº 533, foi estabelecida na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) o emprego de fármacos registrados para tratamento de doenças, atualizados (Tabela 1) em 12 fitoterápicos de diferentes espécies vegetais, (HASENCLEVER et al., 2017, RENAME, 2018).

Tabela 1. Fitoterápicos da Relação Nacional de Medicamentos essenciais

Fitoterápicos	Ação terapêutica	Referências
Alcachofra – <i>Cynara scolymus</i> L.	Tratamento de hipercolesterolemia leve a moderada.	BOSTARIS; ALVES, 2007.
Babosa - <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. F.	Tratamento de queimaduras de 1º e 2º grau.	FREITAS et al., 2014.
Aroeira - <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.	Tratamento ginecológico anti-inflamatório, anti-séptico e cicatrizante.	GILBERT; FAVORETO, 2011.
Espinheira-santa - <i>Maytenus officinalis</i> Mabb.	Tratamento de gastrite e úlcera.	FERREIRA; MARQUES, 2018.
Cáscara-sagrada - <i>Rhamnus purshiana</i> DC.	Tratamento coadjuvante em casos constipação intestinal.	LÔBO, 2012.
Garra-do-diabo - <i>Harpagophytum procumbens</i> .	Tratamento de dores lombar e osteoartrite.	SETT; SIGAL, 2005.
Guaco - <i>Mikania glomerata</i> Spreng.	Tratamento broncodilatador e expectorante.	ROCHA et al., 2008.
Isoflavona-de-soja - <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Tratamento indicativo para sintomas do climatério.	ESTEVES; MONTEIRO, 2001.
Hortelã - <i>Mentha x piperita</i> L.	Tratamento para síndrome do intestino irritável.	DESCHAMPS et al., 2013.
Salgueiro- <i>Salix alba</i> L.	Tratamento de dores lombares.	MELLO et al.,

Plantago - <i>Plantago ovata</i> Forssk.	Tratamento para síndrome do intestino irritável.	2007 TEWARI et al, 2014.
Unha-de-gato – <i>Uncaria</i> <i>tomentosa</i>	Tratamento coadjuvante em artrites e osteoartrite.	VALENTE, 2006

Rename (2018).

Os fitoterápicos têm se tornado uma importante ferramenta para melhoria das condições de saúde e qualidade de vida brasileira. Além das plantas destacadas na RENAME, outras espécies vegetais têm apresentado ações medicinais de acordo com pesquisas científicas, como a *Ilex paraguariensis* (erva-mate) no tratamento de problemas cardiovasculares (CARDOZO JUNIOR ; MORAND, 2016), *Psidium guajava* (goiabeira) nos efeitos antimicrobianos (PESSINE et al., 2003) e *Copaifera* sp.(copaíba) na ação cicatrizante (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2005). Para que espécies vegetais apresentem ações biológicas, compostos químicos são produzidos em diferentes proporções, pois depende das condições oferecidas pelo habitat ao qual se desenvolveu (KLEIN et al., 2009).

Os compostos produzidos nas mais diversas espécies vegetais são sintetizados a partir de reações químicas e resultam em aminoácidos, lipídios, nucleotídeos, carboidratos, na qual estão presentes universalmente e são fundamentais à sobrevivência das plantas (DEWICK, 2009). As reações originam-se partir da captação da luz solar pela clorofila, através do consumo de gás carbônico (CO₂) e água (H₂O), produzindo energia, dando início a fotossíntese ou respiração celular, caracterizando o metabolismo primário nas plantas, na qual esta energia servirá como precursor na formação de compostos denominados metabólitos secundários (DEWICK, 2002).

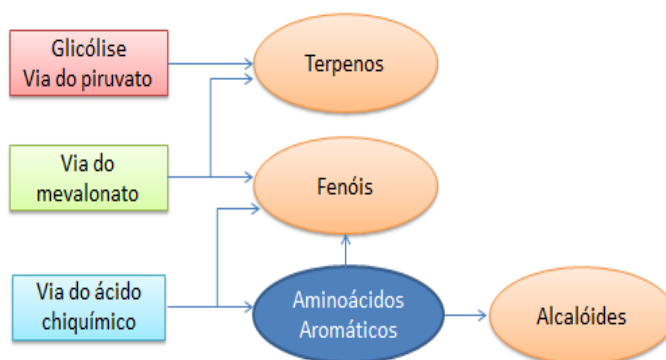
Os compostos originados do metabolismo secundário, não necessariamente são fundamentais para completar o ciclo de vida e podem nem sempre estar presente nas plantas, porém são indispensáveis para sua defesa contra agentes fitopatógenos e herbívoros do seu habitat natural (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Estes compostos podem agir no combate às agressões abióticas relacionadas à temperatura, conteúdo hídrico, exposição agressiva aos raios ultravioletas, carência de recursos minerais como também apresentam benefícios à saúde humana devido o seu potencial farmacológico (STANGARLIN et al., 2011).

De modo geral, os metabólitos secundários são produzidos por vias metabólicas que estão relacionados às características de evolução das diversas espécies de plantas (DEWICK, 2002). À exemplo disto, a determinação do grupo de metabólitos de uma espécie tem sido usado como marcadores para determinar a classe botânica, como é descrito no método de

quimiotaxonomia (EMERENCIANO et al., 1998). Assim, é definido que estes compostos são ferramentas para compreender relações filogenéticas que diferentes plantas podem apresentar (WATERMAN, 2007).

Dentre os mais variados grupos de compostos originados do metabolismo secundário, tem sido destacado os fenólicos, terpenos e alcalóides, por apresentarem efeitos benéficos ao organismo humano no tratamento de doenças (THEIS; LERDAU, 2003). Os compostos fenólicos são formados a partir da via do ácido chiquímico com o acetato ou da via do mevalonato; os terpenos são advindos da via mevalonato ou piruvato e os alcalóides que são resultantes do metabolismo de aminoácidos aromáticos, triptofano e tirosina conforme a representação na Figura 1 (DEWICK, 2002).

Figura 1. Vias essenciais do metabolismo secundário



Adaptado de Dewick (2002).

Os compostos fenólicos são substâncias químicas que são amplamente encontrados nos vegetais e possuem alta polaridade e suscetibilidade a ação enzimática, dentre os quais tais estão os taninos hidrolisados, ligninas, cumarinas e flavonóides (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Estes compostos são provenientes da tirosina e fenilalanina do metabolismo secundário das plantas em resposta a condições de estresse (ferimentos, infecções, radiação ultravioleta, dentre outros) e podem estar na forma livre ou associada a glicosídeos e proteínas (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Nos alimentos, os compostos fenólicos, são responsáveis por contribuir com propriedades sensoriais (sabor, cor, odor e adstringência) e podem ser encontradas nas frutas cítricas, tais como o limão, laranja, tangerina e também em outras, à exemplo da uva, cereja, ameixa, maçã (SOARES, 2002). Além das frutas, alguns vegetais também são ricas fontes do composto, como brócolis, repolho roxo, alho, tomate e quimicamente são estruturas moleculares que apresentam grupos funcionais e anéis aromáticos com substituintes hidroxílicos (SILVA et al, 2010). Esses compostos estão presentes nos vegetais na sua

configuração livre ou podem estar ligados a açúcares (glicosídeos) ou proteínas (ANGEL; JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos estão envolvidos com atividades biológicas como anti-inflamatória, analgésica e antioxidante (MOTTA et al., 2013). A fundamentação de tais propriedades tem sido associada ao fato deste grupo ser potente antioxidante primário, agindo como sequestrador de radicais livres e bloqueador de reações em cadeias (NACZK; SHAHIDI, 2004; MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004). No estudo de XIAO-QING e GUIDO (2016) mais de oito mil substâncias fenólicas com diferentes estruturas e funções já foram encontradas em diversas fontes vegetais.

As atividades biológicas dessas substâncias tem despertado interesse científico em decorrência dos efeitos neuroprotetores, anti-inflamatórios, antioxidantes e antiaterogênicos, já relatados na literatura (AJILA et al., 2008; JANIQUES et al., 2013). Dentre a classe dos compostos fenólicos que tem evidenciado potencial terapêutico como também uma presença acima de quatro mil variedades nos vegetais, são os flavonoides (NIJVELDT, 2001). Estes compostos são constituídos de flavonois, flavonas, antocianidinas e isoflavonoides nos quais apresentam ações anioxidantes devido sua capacidade de doar hidrogênio e ou parear elétrons dos radicais livres (RATNAM et al., 2006). Dentre estes, as isoflavonas tem se destacado devido seu efeito na sinalização celular como também a interação com a mitocôndria que é responsável pela produção de energia (HERNANDEZ-MONTES et al., 2006).

Outra classe de metabólitos secundários de grande relevância farmacológica são os terpenos ou também conhecidos como terpenoides ou isoprenoides (DEWICK, 2009). Este grupo apresenta uma diversidade de compostos que chegam aproximadamente a 55.000 dos já identificados (TAO-HSIN et al., 2010). Esses compostos são originados a partir de unidade da estrutura de isopropeno, 5 carbonos (C₅), que unem por ligações direcionadas, cabeça-cauda (OLIVEIRA et al., 2014). As estruturas químicas derivadas dos terpenos contêm o esqueleto formado pelo isopropeno (C₅), e são classificados em hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e tetraterpenos (DEWICK, 2009).

O grupo de terpenos tem apresentado propriedades farmacológicas por meio dos compostos voláteis presentes nas plantas, enquanto outros constituintes do grupo são representados no estado sólido em sua maioria e podem ser encontrados na forma livre, como glicosilados ou ésteres (HOLEZT et al., 2002). Este grupo possui propriedades diversificadas nos vegetais, tais como, atração de polinizadores, proteção contra microrganismos e produção de hormônios de crescimento vegetal (DEWICK, 2009). Para o

organismo humano, têm sido atribuídas as seguintes atividades biológicas: anti-inflamatória, anticarcinogênica, analgésica e antioxidante (COLOMA et al., 2011).

As atividades biológicas dos terpenos têm sido associadas aos seus constituintes químicos dentre os quais estão os monoterpenos e sesquiterpenos (DURBEY et al., 2003). Os monoterpenos são moléculas que fazem parte dos principais constituintes de resinas ou gomas de árvores, como também são produzidas em diversos óleos essenciais (CAMARGO; VASCONCELOS, 2014), como o da casca de laranja (limoneno e mirceno), hortelã pimenta (limoneno), limão (limoneno e β -pineno), pimenta (sabineno) além de apresentam importância biológica antimicrobiana, inseticida, anti-inflamatória (TROMBETTA et al., 2005; FELIPE; BICAS, 2017).

Os compostos sesquiterpênicos também são encontrados em diversos vegetais na constituição de uma variabilidade de óleos essenciais, e alguns deles têm sido produzidos nas plantas na forma de substâncias denominadas fitoalexinas (STANGARLIN et al., 2010). Esses compostos são sintetizados rapidamente em resposta ao ataque de microorganismos e tem apresentado efeitos antimicrobianos e anti-herbvoros, nos vegetais, tendo como exemplo a risitina da batata e tomateiro, e o capsidiol da pimenta e do tabaco (TAIZ et al., 2017). Além dessas substâncias, os sesquiterpenos também constituem componentes de óleos essenciais, como da copaíba (β -cariofileno), cravo (β -humuleno, cariofileno), gengibre (zingibereno, bisaboleno) e da casca de laranja (valenceno) (FELIPE; BICAS, 2017).

Nas moléculas que apresentam o tamanho da sua estrutura química superior aos dos sesquiterpenos, a volatilidade é diminuída, apesar do catabolismo no grupo de tetraterpenos (C_{40}), os norisoprenoides (com 10 e 13 carbonos) são de importante volatilidade em algumas espécies de vegetais (MENDES-PINTO, 2009). Além destes, outros terpenos com baixa volatilidade são os diterpenos e triterpenos, nos quais os di e triterpenos têm importância constitucional nos óleos essenciais e resinas em diferentes espécies vegetais como também aplicações nas indústrias como fixadores de fragrâncias, solventes e tintas (HARTMANN, 2007).

A volatilidade tem representando um importante papel aromático para os vegetais, principalmente para as frutas mais cítricas e diversos condimentos, o que vem a justificar sua importância industrial no emprego de cosméticos, produtos de limpeza e fármacos, além de ser uma das principais características dos óleos essenciais (OE) (FELIPE; BICAS, 2017). Os OE são misturas complexas e voláteis de compostos gerados a partir dos metabólitos secundários nas plantas aromáticas (COURTOIS et al., 2012). As aplicações biotecnológicas

dos OE tem recebido destaque industriais, como sendo amplamente utilizados em fragrâncias de cosméticos, além do emprego medicinal como antioxidantes e antimicrobianos (MIRANDA et al., 2016), analgésicos e anti-inflamatórios (MENDES et al., 2010) bactericida e fungicida nas indústrias farmacêuticas (BAKKALI et al., 2008).

As sínteses dos OE assim como outros metabólitos secundários são inicialmente em vários sítios no interior da célula e armazenados nos vacúolos ou em tricomas glandulares que são estruturas especializadas (FIGUEIREDO et al., 2008). Além disso, a concentração dos OE nos diversos vegetais variam de acordo com a sazonalidade, período de circadiano (duração 24 horas), como também a luz solar, temperatura, vento, água dentre outros fatores abióticos (TAIZ; ZEIGER., 2004).

Nos vegetais, os OE podem ser extraídos em diferentes partes, utilizando uma variedade de técnicas desde as clássicas até as avançadas (BUSATO et al., 2014). Para extração dos óleos essenciais o método mais utilizado tem sido a hidrodestilação ou arraste a vapor, e na identificação é o pela cromatografia gasosa acoplada ao espectômetro de massas (GC/MS) (MACHADO; FERNANDES JUNIOR et al., 2011). Este, tem a finalidade de separar, identificar e quantificar os compostos do tipo monoterpenos oxigenados, monoterpenos, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados, que de modo geral precisam ser confirmados com o índice de retenção (IR) (MOHAMMADHOSSEINI et al., 2017). Uma vez que, o espectro de massas de vários compostos são muito similares, apresentando isomeria, os padrões da biblioteca do (MS) são susceptíveis a apresentar como resultado da análise de 1 mesmo composto, 2 substâncias, sendo imprescindível para identificação adequada da composição química dos óleos essenciais, a verificação do (IR) em base de dados (COUTINHO et al., 2009).

Além dos óleos essenciais, outros produtos derivados de fontes naturais tem despertado interesse crescente no território brasileiro, em destaque nas indústrias farmacêuticas, para formulação de agentes terapêuticos ao passo que apresentem efeitos colaterais reduzidos (MACHADO et al., 2014). Dentre o grupo de espécies vegetais que tem demonstrado este potencial terapêutico, recebe destaque a família Myrtaceae.

2.1.1 Família Myrtaceae (*Plinia cauliflora*)

A Myrtaceae é uma das famílias que se mais se destacam entre as Angiospermas com cerca de 145 gêneros e 5.970 espécies do Brasil apresentam utilização alimentícia, medicinal e em ornamentações já descritas na literatura (THE PLANT LIST, 2013; MORAIS et al., 2014; GOMES et al., 2017). Dentre as espécies que mais tem sido apreciadas por seu valor

econômico alimentício estão a *Psidium guajava* L. (goiaba), *Eugenia uniflora* L. (pitanga) na fabricação de uma diversidade de sucos, sorvetes e geléias (LORENZI et al., 2006), na ornamentação a *Eugenia sprengelii* DC (murta) e *Leptospermum scoparium* J.R.Forst (érica-japonesa) (LORENZI; SOUZA, 2001), e uso medicinal das espécies *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) e *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh (camu-camu) no tratamento devido a presença de altos teores de vitamina C (MORAIS et al., 2014).

As espécies da família Myrtaceae também apresentam destaque como agentes promissores para estudos biológicos devido a presença de altos teores de compostos fenólicos nos quais têm sido responsáveis por ações anti-inflamatórias (DONATO; MORRETES, 2007), analgésicas e antipirética (CANTANHEDE FILHO et al., 2017) e antioxidante (HAIDA et al., 2015). Dentre as espécies que tem sido reportada cientificamente com importância que abrange a indústria farmacêutica, alimentícia e ornamental é a *Plinia cauliflora* (CITADIN et al., 2010).

Plinia cauliflora ou jabuticabeira já se é conhecida aproximadamente cinco séculos e seu nome foi originado do tupi-guarani como *iapoti'kaba* que tem significado de fruto em botão e fruto que se alimenta o jabuti (ROSSA et al., 2010). As espécies de jabuticabeiras que já são conhecidas são em torno de nove espécies, descritas em MATTOS (1978), dentre as quais se destacam *Plinia trunciflora* (DC.) Berg (jabuticaba de cabinho), e *Plinia jaboticaba* (Vell) (jabuticaba sabará) e *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (jabuticaba paulista) por serem nativas e cultivadas no Brasil (Figura 2. A-C), além disso, ressalta-se também a mudança da nomenclatura em que foi proposta por SOBRAL (1985) do gênero *Myrciaria* para *Plinia*.

Figura 2. Espécies de jabuticabeiras destaques no Brasil.

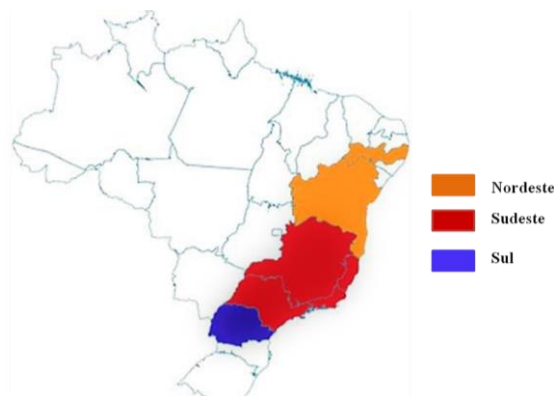


Muniz (2017); Lemos (2014); Próprio autor (2016).

A *Plinia cauliflora* que é uma espécie nativa do Brasil e apresenta como basônimo (primeiro nome dado a uma espécie) : *Myrtus cauliflora* Mart. e homotípico (nome baseado na mesma forma da espécie): *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O.Berg de acordo com FLORA DO BRASIL (2020). Na distribuição geográfica apresenta-se no na região Nordeste nos estados da Bahia e Pernambuco, região Sudeste em São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito

Santo e a região Sul no Paraná , com domínio fitogeográfico da Mata Atlântica e com tipo de vegetação da floresta pluvial (SOBRAL et al., 2015; CITADIN et al., 2010).

Figura 3. Distribuição geográfica da *Plinia cauliflora* no Brasil.



Adaptado de Flora do Brasil (2020).

A árvore de *Plinia cauliflora* é de pequeno porte, de 3 metros a 6 metros de altura (Figura 4) conhecida popularmente como jabuticabeira, nome dado também ao seu fruto (WU et al., 2012; WU, LONG; KENNELLY, 2013). As suas folhas apresentam de 2 cm a 6 cm de tamanho (Figura 5), com a nervura central levemente impressa na epiderme adaxial e saliente na epiderme abaxial; e suas flores são pequenas, brancas, axilares e se encontram distribuídas ao longo dos galhos e ramos (Figura 6) sendo esta última característica a que originou o nome da espécie (IDEMIR et al., 2005; LEITE-LEGATTI et al., 2012; BORGES et al., 2014; MERCALI et al., 2015).

Os fruto de *Plinia cauliflora* também chamada de uva brasileira,acompanha a distribuição das flores e crescem diretamente sobre os principais galhos e ramos da jabuticabeira de forma rápida, dentro de 40 a 46 dias, contendo de 1 a 4 sementes e, quando maduros, apresentam uma polpa esbranquiçada, gelatinosa, doce, levemente ácida e succulenta, de sabor agradável (WU et al., 2012).

Figura 4. Jabuticabeira - *Plinia cauliflora* (MART.) Kausel



Próprio autor (2016).

Figura 5. Folhas da jabuticabeira- *Plinia cauliflora* (MART.) Kausel



Próprio autor (2016).

Figura 6. Caule da *Plinia cauliflora* no período de transição das flores para os frutos



Próprio autor (2016).

Estudos têm reportado que as jabuticabas apresentam uma ampla variedade de nutrientes considerados clássicos, como, por exemplo, carboidratos, sais minerais, aminoácidos, como lisina e triptofano, e vitaminas B1, B2 e C (Tabela 2) que podem ter um grande benefício na saúde humana (IDEMIR et al., 2005; LEITE-LEGATTI et al., 2012). Essas propriedades fazem com que possam ser consumidos *in natura*, como sucos, geléias, sorvetes, licores e vinhos, apresentando um grande potencial na indústria alimentícia e despertando um grande interesse econômico em várias regiões do Brasil (COSTA et al., 2013; WU; LONG; KENNELLY, 2013; MARIANNI et al., 2014).

Tabela 2. Composição nutricional por 100g do fruto da jabuticaba.

Composição Nutricional e Calórica	Valores
Calorias	45,7-51,7 Unidades

Água	87,1 g
Proteína	0,11-0,32 g
Gordura	<0,01 g
Carboidratos	12,58 g
Cinzas	0,2 g
Cálcio	6,3-7,6 mg
Fósforo	9,2-34,6 mg
Ferro	0,49- 0,87 mg
Potássio	13,2 mg
Vitamina B1	0,04mg
Vitamina B2	0,09 mg
Niacina	1,3 mg
Fibra	0,08 mg
Riboflavina	0,02 mg
Triptofano	1,0 mg
Lisina	7,0 mg
Ácido ascórbico	17,7-238 mg
Antocioninas Totais	58,1-315 mg
Fenólicos Totais	460,9 mg
Carotenóides Totais	0,32 mg

Wu; Long; Kennely (2013).

Um aumento no consumo das frutas leva também a uma maior produção de resíduos, como as cascas, que são subutilizadas em todos os pontos de comercialização até o consumo final, incluindo agricultores e indústrias, no qual uma parte desse resíduo é utilizada *in natura* como alimentação animal, e a outra descartada ou usada em compostagem (MEIRA et al., 2016). As sementes também, que antes eram apenas utilizadas para formação de mudas de jabuticabeira, têm sido empregada como fontes alternativas de micronutrientes em indústrias de medicamentos e de cosméticos, que além de contribuir para diminuição do desperdício e impacto ambiental, agregou valorização aos subprodutos (LIMA et al., 2011; BORGES, 2014; ZAGO, 2015).

Além do potencial alimentício de *Plinia cauliflora* também é atribuída atividades biológicas nas quais estão relacionadas ao uso popular descrito inicialmente por MORTON et al (1987) conforme descrito na Tabela 3. Em outros estudos também foram destacados ação

antimicrobiana do extrato das folhas e do caule contra bactérias que formam o biofilme dental (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* e *Lactobacillus casei*) em que como resultado da investigação foi demonstrado um potencial eficaz contra as cepas testadas (CARVALHO et al., 2009; BORGES, 2014). Dessa maneira, nos últimos anos esta planta tem atraído diversas pesquisas científicas devido o potencial farmacológico dos compostos bioativos descobertos (BORGES et al, 2014).

Tabela 3. Aplicação terapêutica da jabuticaba de acordo com o uso popular.

Aplicação terapêutica	Referências	Indicação do uso popular MORTON (1987).
Doenças do trato gastrointestinal	GIRALDI; HANAZAKI, (2010).	Diarréia, gastrite, má digestão
Doenças inflamatórias	REYNERTSON et al., (2006).	Inflamação crônica das amígdalas
	ZHAO et al., (2019).	Asma
Carcinoma	WANG et al., (2014).	Hemoptises

Próprio autor (2018).

Dentre os compostos bioativos identificados na *Plinia cauliflora* estão os flavonoides, derivados cinâmicos, cumarinas, terpenos e antocianinas (BORGES et al., 2014). As antocianinas tem se destacado por ser um composto que está presente na jabuticaba e ser responsável por sua coloração quando os frutos estão maduros que variam de coloração roxa escura a preta além do seu potencial farmacológico trazer benefícios a saúde humana (WU; LONG; KENNELLY, 2013). A exemplo disso, este pigmento também tem sido associado com redução de massa corpórea, alterações de hormônios relacionados com a obesidade, redução da resistência insulina, efeitos benéficos na doença de Alzheimer e potencial antioxidante (HOMMAN et al., 2000; ISIHAWAJ et al., 2000; LEITE et al., 2011; PRIOR et al., 2012).

Assim, tendo em vista o potencial farmacológico de diversos vegetais, como a *Plinia cauliflora*, é importante o conhecimento de doenças como as de origem infecciosas e não infecciosas para desenvolvimento de promissores medicamentos à base de produtos naturais.

2.1.1.1 Avaliação Leishmanicida

O grupo de doenças que se originam por infecções a células hospedeiras e são causadas por microorganismos nocivos a saúde humana, são chamadas de doenças infecciosas, tais como a leishmaniose que tem representado um grave problema a saúde pública na população mundial em que tem mais vulnerabilidade, graças aos aspectos socioeconômicos (MACHADO et al., 2014). As infecções parasitárias ocorridas em todo o mundo, principalmente em países em condições de saúde precárias, tem constituído um grupo chamado de doenças de negligenciadas (DN), em que a terapia para esse grupo de doenças não tem sido tão eficaz graças ao forte conjunto de efeitos colaterais apresentados (KAUFFMANN; ETHUR., 2016).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, as DN já chegam a atingir um sexto da população total do mundo, ultrapassando mais de um bilhão de pessoas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Além disso, a fabricação de novos medicamentos como alternativa terapêutica para essas doenças tem apresentado poucos avanços econômicos devido pela indústria farmacêutica, uma vez que o mercado consumidor e lucrativo são os grupos populacionais de baixa renda (BAHMANI et al., 2015).

A susceptibilidade da população mundial a infecção pelas DN, fez com que em 2001, a Organização dos Médicos Sem Fronteiras (MSF) e a OMS propusesse a classificação dessas doenças para termos globais em Negligenciadas e Mais Negligenciadas, em que o Brasil tem se destacado por apresentar altos índices endêmicos de DN, principalmente em regiões com climas tropicais e ou regiões mais carentes, nos quais apresentam uma condição de saúde pública preocupante (MATHERS et al., 2007; SANTOS et al., 2017).

Dentre o grupo de DN, a Leishmaniose têm sido priorizada pela Organização Mundial de Saúde e se destacado no cenário brasileiro, na qual é uma doença infecciosa causada pelo protozoário *Leishmania* com alto percentual de endemias nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (ROHLOF et al., 2013). Apesar das características semelhantes de cada protozoário, as manifestações clínicas são diferenciadas por causa das alterações que provocam a nível cutâneo, cutâneo difuso mucocutâneo e viscerais (KAUFFMANN; ETHUR., 2016).

A Leishmaniose cutânea pode se desenvolver de forma lenta e progressiva, ultrapassando mais de 50% dos casos no mundo e caracterizadas pelo desenvolvimento de lesões ulcerosas na pele conforme demonstrado na Figura 8. A, e causados pelos protozoários *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania peruviana*, *Leishmania mexicana*,

Leishmania panamensis, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania brasiliensis* e *Leishmania guyanensis* (ROHLOFF et al., 2013). Além das alterações cutâneas, a *Leishmania* pode causar manifestações progressivas na pele de indivíduos que apresentam sistema imunológico diminuído e ou debilitado, a estas manifestações são denominadas cutâneo difusa conforme a Figura 8.B, e são causadas pelas espécies *Leishmania ethiopica*, *Leishmania amazonensis* e *Leishmania mexicana* (SINGH et al., 2014).

O agravamento das lesões causadas principalmente pela *Leishmania brasiliensis* que atinge desde o nariz, boca, mucosas, além do palato e septo nasal, são denominadas de *Leishmaniose mucocutânea* Figura 7. C, em que são manifestações clínicas mais severas e se o tratamento for inadequado poderá levar o paciente até a morte (SINGH et al., 2014; KAUFFMANN; ETHUR., 2016). Da mesma forma de acometimento clínico grave no fígado, baço e medula óssea Figura 8. D, é a *Leishmaniose visceral* causada pelas espécies *Leishmania infantum* e *Leishmania chagasi*. na qual a infecção é sistêmica e que se não tratada desde o principio das manifestações pode se tornar fatal (SINGH et al., 2014).

Figura 7. Manifestações clínicas provocadas pela Leishmaniose



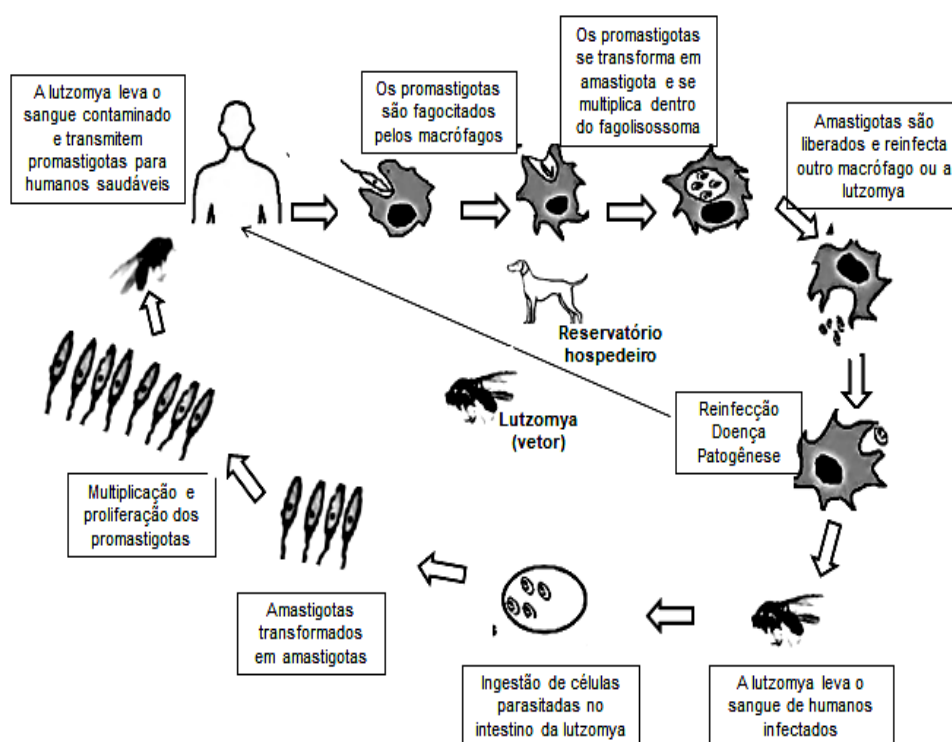
Naif Al-Kamel (2017), Ministério da Saúde (2010).

A disseminação da Leishmaniose é entre vetores de espécies que são de origem zoonótica no qual podem ser transportados entre canídeos e roedores que se destacam por serem os principais reservatórios (NAIF AL-KAMEL, 2017). O ciclo infeccioso do protozoário Figura 8, tem início quando os flebótomos de gênero *Lutzomyia* são infectados ao

succionar o sangue de um hospedeiro que está contaminado com as formas promastigotas (fusiformes e flageladas) e amastigotas (esféricas e não flageladas) (MISRA et al., 2009).

Os protozoários irão para o intestino médio dos flebotomíneos e regurgitados para o esôfago e saliva na forma promastigota, onde ocorrerá um repasto sanguíneo reinfectando e se multiplicando intracelularmente nas células fagocíticas dos hospedeiros (DESJEUX., 2004). Dessa maneira sucessivamente, as células fagocíticas são lisadas e os parasitas liberados extracelularmente para reinfectar novas células de diferentes órgãos como o baço e fígado, no qual provocam destruição nos tecidos, pois a *Leishmania* é resistente aos mecanismos de defesa do organismo (SINGH et al., 2014).

Figura 8. Ciclo infeccioso da Leishmaniose



Singh et al., (2014).

A fim de controlar e ou tratar as lesões causadas de acordo com a infecção de cada espécie da doença, os principais tratamentos disponibilizados contra Leishmanioses são denominados pentavalentes antimoniais como a Pentamidina e Glucantime que tem apresentado efeitos colaterais cardiotoxicos e hepatotóxicos ao longo do tratamento (DELGADO-ALTAMIRANO et al., 2017). Com isso, pesquisas científicas Leishmanicidas a partir de produtos naturais, têm se tornado promissor por demonstrarem resultados

terapêuticos eficazes, de baixo custo e menos tóxicos quando comparados aos medicamentos disponíveis (BAHMANI et al., 2015; DIAS et al, 2013; CARVALHO et al, 2017).

Assim, para que novos medicamentos sejam desenvolvidos com ação leishmanicida é necessária a realização de pesquisa científica. O efeito leishmanicida do óleo essencial das folhas de *Plinia cauliflora* (OEPc) foi determinado conforme descrito por Medeiros, et al., (2011), no qual as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (MHOM/BR/77/LTB0016) e *Leishmania braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903) foram incubadas (10^6 células/mL) na ausência e presença de diferentes concentrações do EOPc (28.8 a 0.9 $\mu\text{g/mL}$) por 48h. A análise foi feita através de contagem em câmara de Neubauer e determinada a IC_{50} através dos dados obtidos da realização de três experimentos independentes em triplicata.

Para determinação do efeito leishmanicida em formas amastigotas intracelulares, macrófagos peritoneais foram obtidos de camundongos Balb/c e cultivados em placas de 24 poços, sobre lamínulas (10^6 células/mL). Após a aderência, as células não aderidas foram retiradas através de lavagem com meio RPMI e as demais foram infectadas com formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. braziliensis*, na proporção de 15 parasitas/macrófago, durante 14h. Após o período de infecção, as células foram lavadas com um novo meio e submetidas ao tratamento por 24h, com diferentes concentrações do EOPc, determinadas a partir dos valores de IC_{50} nas formas promastigotas. Depois do tratamento, os macrófagos foram fixados com metanol por 5 minutos e corados com solução Giemsa (1:20) em água destilada por 20 minutos e em seguida, foi retirado o excesso de corante através de lavagens consecutivas em água destilada e, por fim, as lamínulas foram montadas em lâminas com etellan.

Após a análise dos resultados, foi determinada a IC_{50} nas formas amastigotas, através de regressão linear utilizando o SPSS 8.0 e o índice de sobrevivência (multiplicação do percentual de macrófagos que foram infectados pelas formas amastigotas por número de célula infectada). Todos os testes nas formas amastigotas foram realizados em duplicata, em três experimentos independentes.

Tendo em vista o potencial terapêutico desempenhado pelos produtos naturais frente às doenças de origem infecciosas, despertou-se o interesse por mais estudos para investigar as afecções que promovem as doenças de origem não infecciosas, uma vez que tem acometido as pessoas de modo silencioso ou por injúrias como desordens oxidativas, intestinais, febris, inflamatórias e nociceptivas em todo o mundo (FORATTINI, 2002).

2.1.1.2 Avaliação Antioxidante (DPPH, ABTS, Poder Redutor)

As terapias desenvolvidas contra as doenças de origem não infecciosas têm como alvos o aumento de perspectiva de um envelhecimento saudável bem como a redução de causas de mortalidade em todo o mundo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002). Uma das causas principais do envelhecimento precoce é o aumento do estresse oxidativo que promove uma maior produção quantitativa de radicais livres (SILVA; FERRARI, 2011). Estes radicais livres podem ser definidos como moléculas reativas derivados do oxigênio e nitrogênio, que possuem em sua estrutura um ou mais elétrons não pareados e agem negativamente em muitos processos fisiológicos que são sintetizados no organismo (citoplasma e mitocôndrias), em que nas condições metabólicas homeostáticas estão relacionados com a produção de energia, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias essenciais ao organismo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Outras fontes de produção de espécies reativas de oxigênio também são importantes, tais como: NADPH oxidases, gerando ânion superóxido; óxido nítrico sintetase, formando óxido nítrico; e as lipoxigenases, produzindo hidroperóxidos de ácidos graxos, além disso, quando sua origem é proveniente do metabolismo celular, estas moléculas são formadas em resposta a diferentes estímulos externos como a radiação ionizante, poluição, agentes oxidantes e quimioterápicos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; FERNANDEZ-PACHON et al., 2008). Porém em níveis elevados, seu acúmulo promove efeitos prejudiciais, tais como peroxidação lipídica, agressão a proteínas, enzimas, carboidratos e ácidos nucleicos, estando associado ao surgimento de diversas patologias, como a artrite, choque hemorrágico, doenças cardiovasculares, disfunções cognitivas, catarata e câncer (FERNANDEZ-PACHON et al., 2008).

A homeostase das espécies reativas pode ocorrer naturalmente pela presença de compostos que inibem ou retardam processos oxidativos, denominados antioxidantes, como metabólitos, vitaminas e enzimas (PERCIVAL, 1998). A atuação dos antioxidantes pode ser direcionada na inibição das reações em cadeias de Ferro e Cobre, que impedem consequentemente a formação de radicais livres, ou interceptando tais radicais, inibindo sua ação direta sobre lipídeos, aminoácidos, duplas ligações de ácidos graxos poli-insaturados e bases de DNA (SILVA; FERRARI, 2011).

Dentre os antioxidantes de origem enzimática estão a superóxido dismutase, catalase, NADPH-quinona oxidoreductase, glutational peroxidase e enzimas de reparo, no qual podem ser obtidos naturalmente a partir de alimentos, como a vitamina C, E e A, os carotenóides e

os flavonoides demonstrados na Tabela 4 (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Entretanto, existem lacunas associadas ao uso de tais constituintes, como por exemplo, inexistência de recomendação específica para cada antioxidante, a falta de padronização dos valores de antioxidantes e os efeitos tóxicos provocados pelo consumo excessivo (RATMAN et al., 2006).

Tabela 4. Antioxidantes de importância biológica.

Não enzimático	Enzimático
Vitamina E	Superóxido dismutase
Vitamina A	Catalase
Vitamina C	NADPH-quinona oxidoreductase
Carotenóides	Glutathione peroxidase
Flavonóides	Enzimas de reparo
Proteínas do plasma	

Adaptado de Bianchi; Antunes (1999).

Os antioxidantes podem ser classificados também de acordo com seu mecanismo de ação como primários e secundários, em que os primários retardam ou inibem inicialmente as etapas de auto-oxidação, enquanto que os secundários podem agir por diversos mecanismos, tais como: diminuição da taxa de oxidação sem a conversão de radicais livres em compostos estáveis; reposição de moléculas de hidrogênio primário; absorção de radiação ultravioleta; ou ação sobre sequestro de oxigênio (REISCHE et al., 2002). Na ausência desses mecanismos, a formação de substâncias oxidativas intra ou extracelular excedem defesas celulares proporcionando um desequilíbrio e desencadeando um processo conhecido como estresse oxidativo, que está associado a processos patológicos (FERNANDEZ-PACHON et al., 2008).

Assim, foram realizados testes antioxidantes com a casca da árvore de *Plinia cauliflora* (MeOHPC). Na avaliação do potencial antioxidante de MeOHPC no sequestro do radical DPPH foi investigado pela metodologia descrita por yang et al (2008). No procedimento foram utilizadas concentrações de 0,25, 0,5 e 1 mg / mL de MeOHPC, nas quais alíquotas de 250 µl foram retiradas e adicionadas a 40 µL da solução metanólica de DPPH (20 mg / mL). Para a curva padrão do ensaio, foi utilizada solução metanólica de ácido gálico nas concentrações de (1, 0,5 e 0,25 mg / ml). Todas as misturas foram incubadas no escuro a 25 ° C durante 25 minutos e as leituras de absorvância estavam em ELX 800 (Biotek Instruments,

Inc., Winooski, EUA) a 517 nm. A ação antioxidante de MeOHPc foi calculada usando o cálculo: % AA = $[1 - (\text{absorbância da amostra} / \text{absorbância do controle}) \times 100$. Na avaliação do índice que inibiu 50% do radical DPHH na solução (IC50) foi realizada uma percentagem de inibição na concentração de 1 mg / ml da amostra utilizando como ácido gálico padrão. Todas as misturas testadas no ensaio foram em triplicado (yang et al, 2008).

Para avaliar o potencial antioxidante de MeOHPc foi investigado pelo seqüestro de radicais ABTS (Silva et al., 2012; Uchôa et al 2015). O procedimento foi iniciado com a preparação de uma solução de mistura de 7mM ABTS e 140mM de Persulfato de Potássio e deixada no escuro a (23-25 ° C) durante 12 a 16 horas. A solução catiônica de (ABTS +) foi diluída em etanol e regulada sob absorbância de 0,7 ($\pm$ 0,02) a 734nm. O procedimento para avaliar a ação antioxidante foi iniciado após alíquotas de 30 μ l da solução estoque etanólica (1mg / mL) de MeOHPc adicionadas em 3 mL da solução ABTS + já diluída. A leitura da absorbância foi tirada no tempo de 6 minutos. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata e o percentual de antioxidantes da amostra foi calculado de acordo com a capacidade antioxidante total do padrão Trolox (Silva et al 2012).

O ensaio antioxidante do poder redutor de ions de ferro de MeOHPc foi conduzido pelo método descrito em Oyaizu (1986). O procedimento foi iniciado com a preparação da solução aquosa de MeOHPc nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0 mg / mL, nas quais foram misturadas alíquotas de 0,2 mL e misturadas a 0,5 mg / mL de solução de tampão fosfato de sódio a 0,2 M com pH 6,6 e também a 0,5 mg / ml de solução de ferricianeto de potássio a 1%. A mistura foi incubada a uma temperatura de 50 durante 20 minutos, depois 0,5 mg / mL de ido tricloroacico a 10% foi adicionado e centrifugado a 4000 rpm durante 10 minutos. Após centrifugação, retirou-se uma alíquota de 0,5 mg / ml do sobrenadante e misturou-se a 0,1 mg / ml de 0,1% de cloreto férrico III (FeCl₃) e também a 0,5 mg / ml de água destilada. A leitura da absorbância foi a 700 nm, na qual o aumento no valor de absorbância da leitura da mistura foi interpretado como aumentando o poder de redução da potência do íon ferro. O padr que foi utilizado para a curva de calibrao foi Butil-hidroxitolueno (BHT) nas mesmas concentraes testadas de MeOHPc. Todas as misturas testadas neste ensaio foram testadas em triplicado.

O ensaio antioxidante do poder redutor de ions de ferro de MeOHPc foi conduzido pelo método descrito em Oyaizu (1986). O procedimento foi iniciado com a preparação da solução aquosa de MeOHPc nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0 mg / mL, nas quais foram misturadas alíquotas de 0,2 mL e misturadas a 0,5 mg / mL de solução de tampão fosfato de sódio a 0,2 M com pH 6,6 e também a 0,5 mg / ml de solução de ferricianeto de potássio a

1%. A mistura foi incubada a uma temperatura de 50 durante 20 minutos, depois 0,5 mg / mL de ido tricloroacico a 10% foi adicionado e centrifugado a 4000 rpm durante 10 minutos. Após centrifugação, retirou-se uma alíquota de 0,5 mg / ml do sobrenadante e misturou-se a 0,1 mg / ml de 0,1% de cloreto férrico III (FeCl₃) e também a 0,5 mg / ml de água destilada. A leitura da absorbância foi a 700 nm, na qual o aumento no valor de absorbância da leitura da mistura foi interpretado como aumentando o poder de redução da potência do íon ferro. O padr que foi utilizado para a curva de calibrao foi Butil-hidroxitolueno (BHT) nas mesmas concentraes testadas de MeOHPC. Todas as misturas testadas neste ensaio foram testadas em triplicado.

2.1.1.3 Avaliação Antidiarreica (Diarreia induzida por óleo de rícino, Trânsito e Motilidade intestinal)

A diarreia é uma desordem intestinal ocasionada por estímulos que induzem um elevado número de evacuações, no qual podem acompanhar dores de origem abdominal, presença de fluidez , muco e sangue, além disso podem ser desencadeadas por alterações no processo de digestão de alimentos e fatores hormonais (MATHAN, 1998). Esta desordem tem sido destacada como uma das causas principais de mortalidade do mundo em cerca de 5 milhões de pessoas por ano, principalmente quando é desencadeada por enterotoxinas (SHAREEF et al., 2014). Além disso, a diarreia tem afetado todas as raças, sexos como também idades, porém dentre o índice de mortalidade, 1,5 milhões são de crianças (HAVAGIRAY et al., 2004; YAKUBU; SALIMON, 2015).

O processo fisiológico de evacuação do bolo fecal depende da hidratação do individuo bem como a sua capacidade de excreção intestinal, no qual, têm sido descrito na literatura como normalidade, um número de evacuações de até três vezes ao dia ou uma vez no periodo a cada três dias , sendo provocada principalmente por um aumento de secreção de líquidos e eletrólitos, uma diminuição na absorção dos eletrólitos, uma maior osmolaridade como também alterações na motilidade intestinal (HAVAGIRAY et al., 2004).

Quando ocorre a hipersecreção intestinal por causa de enterotoxinas, a mucosa do intestino não é rompida, pois este agente promove a diarreia através da ativação da adenilciclase desencadeando um aumento da produção intracelular de adenosina monofosfato cíclico (cAMP) que conduz a abertura dos canais de íons cloro dos enterócitos e saída do mesmo para o lúmen intestinal (BRUNTON et al., 2008). Dessa forma, como mecanismo fisiológico para restabelecer o equilibrio dos eletrólitos ocorre o deslocamento dos íons de sódio para fora da luz intestinal, e o fluxo de secreção de água é reinstalado passivamente por

causa da força do gradiente de osmolaridade, e sendo assim, aumenta a produção do bolo fecal que se torna aquoso e com ausência de sangue (MUREK et al., 2010).

Outro mecanismo diarreico é desencadeado pela invasão e lesão do lúmen intestinal no qual compromete a capacidade de absorção eletrolítica bem como da absorção dos nutrientes no intestino delgado, e como consequência a motilidade intestinal é comprometida, como também são liberadas células de origem inflamatórias, além da presença do sangue secretado nas fezes (FIELD; SEMRAD, 1993; MUREK et al., 2010).

O processo diarreico também é classificado de acordo com o tempo de duração, no agudo (inferior a duas semanas), persistente (mais de 14 dias), crônica (mais de um mês) em que podem ser provocados por diferentes agentes como produtos com lactose, colchicinas e antineoplásicos (CHASSANY et al., 2000). Para o processo de remissão dos quadros diarreicos ocorre a introdução de terapias imediatas, com reidratação oral de acordo com a sintomatologia, uma alimentação balanceada, probióticos para reequilíbrio da flora intestinal além de medicamentos para redução da motilidade como a loperamida e o difenoxilato (SHARMA; SHARMA, 2007). No entanto, estes medicamentos têm provocado reações colaterais de constipação e distensão abdominal (RANG et al., 2001).

Desse modo, a fim de controlar desordem intestinal causada pela diarreia, a Organização Mundial da Saúde tem incentivado o uso de produtos de origem natural que apresenta ação terapêutica eficaz como também por ser uma alternativa de baixo custo para os países em desenvolvimento, nos quais são os mais atingidos (OMS, 2004). Dentre estes produtos naturais, as espécies que têm sido destacadas são as da família Myrtaceae como a *Eugenia uniflora* (pitanga), *Psidium guajava* (goiaba), *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia) e *Plinia cauliflora* (jabuticaba) na qual ressalva a importância do desenvolvimento de novos produtos com baixo custo e efeitos colaterais reduzidos (SENNA et al., 2011, SOUZA-MOREIRA et al., 2011).

Na investigação da ação antidiarreica da casca do fruto de *Plinia cauliflora* (MeOHPC), os animais foram previamente individualizados em funil de vidro com papel filtro no chão e em jejum no prazo de 18 horas. A diarreia foi induzida 1 hora antes do tratamento com 10 ml / kg de óleo de rícino. Os grupos foram divididos em controle negativo (veículo); controle positivo (loperamida) e os grupos de teste de MeOHPC foram 200 mg / kg e 400 mg / kg. As fezes foram monitoradas e datadas de acordo com a consistência e quantidades durante o período de 4 horas (Robert et al., 1976).

A metodologia para investigação dos fluidos intestinais foi induzida pelo óleo de rícino (Robert et al., 1976). Todos os animais foram pré-submetidos a jejum por 18 horas. Para o grupo controle negativo, o veículo e o controle positivo do sulfato de atropina (0,25mg / kg) foram administrados, e o grupo teste foi administrado nas doses de 200mg / kg e 400mg / kg. Após 1 hora os animais receberam oralmente 10 mL / kg de óleo de mamona. Após 30 minutos de indução de diarreia, os animais foram sacrificados e o intestino delgado foi coletado para medição do tamanho, bem como pesando seu peso total e vazio. Os dados foram aplicados na seguinte fórmula: Enteropooling = (W1-W2), onde W1 e W2 correspondem ao peso vazio e peso total dos fluidos intestinais, respectivamente, e "L" significa o tamanho total do intestino.

Na investigação do efeito do MeOHPC sobre a motilidade intestinal foi de acordo com Yegnanarayan et al., (1982). O grupo controle negativo recebeu apenas o veículo e o sulfato de atropina controle positivo (0,25mg / kg). Os grupos de teste foram avaliados em concentrações de 200 mg / kg e 400 mg / kg. Após 30 minutos, os animais receberam individualmente óleo de castor (0,2 ml). Os animais foram também administrados oralmente após 30 min o carvão activado (0,2 ml) suspenso em CMC (0,5%). Após 30 minutos da administração do carvão ativado, os animais foram sacrificados e o intestino delgado foi removido para medição do tamanho total entre o esfíncter pilórico e o ceco, bem como a distância (cm) percorrida pelo carvão. O trânsito intestinal foi avaliado pelo seguinte cálculo: Trânsito intestinal (%): (CD) x 10/ LSI, onde "DC" corresponde à distância percorrida pelo carbono ativado e "LSI" é o comprimento do intestino delgado.

2.1.1.4 Avaliação Antipirética (Febre induzida por *Saccharomyces cerevisiae*)

A termorregulação é um processo de defesa que o organismo tem para manter homeostasia da temperatura corporal, a medida que ocorre a redução da temperatura, a consequência é a atividade enzimática e o fornecimento de energia diminuído, além disso, o deslocamento de íons pelas membranas celulares também é alterado; no entanto, se temperatura corporal aumenta, causa a redução da de infecção por patógenos em que estimula a resposta imunológica do indivíduo (MORRISON, et al., 2008).

A desordem febril que tem como causa a elevação de temperatura, tem sido originada frente à resposta por injúrias ou por agentes infecciosos, no qual é um dos sintomas de uma resposta inflamatória imediata do organismo através estímulo dos receptores periféricos e centrais que enviam informações para o hipotálamo anterior, e este é responsável pela

regulação do aumento ou redução de temperatura corporal (BRAZ, 2005). Neste processo, mecanismos termoefetores estimulam diversas respostas autônomas como também comportamentais, nos quais são recorrentes vasoconstricção cutânea, diminuição da sudorese e um aumento de produção de energia em forma de calor (BLATTEIS et al., 2004).

O aumento da temperatura corporal tanto por agentes infecciosos como em processos inflamatórios, desencadeia a liberação de substâncias denominadas pirógenas endógenas como interleucinas do tipo IL-1 β , IL-6 e TNF- α que causam a liberação de prostaglandinas E2 (termorregulador encefálico da febre) no qual aumenta o limiar de estimulação do hipotálamo, e mantém assim a temperatura elevada (BRAZ, 2005).

Em outro estado de desordem febril, é a hipertermia, que se trata da elevação da temperatura corpórea, no qual é proveniente de um distúrbio na termorregulação corporal devido a produção excessiva de energia em forma de calor, provenientes de exercícios físicos intensos e perda da capacidade de dissipação do calor em processos de desidratação sem alterar equilíbrio termostático do hipotálamo (BLATTEIS et al., 2004). Entretanto, a febre em casos infecciosos promove alterações comportamentais, do tipo letargia (profunda inconsciência), sonolência, perda de peso e redução da atividade motora (BLATEIS, 2003).

O tratamento antipirético tem sido realizado frente ao desconforto promovido pela desordem febril, no qual agentes promissores que tem se destacado em pesquisas científicas são os produtos de origem natural, dentre os quais se destacam a *Eugenia uniflora* (pitangueira), *Eugenia caryophyllata* (cravo da Índia) e *Myrciaria dúbia* (araçá d'água) por apresentarem além da ação antipirética uma ação anti-inflamatória (DUKE, 2002; TAHER et al., 2015; KAUFFMANN; ETHUR, 2016).

Para avaliação antipirética, a indução da febre foi realizada a partir de uma aplicação por injeção subcutânea de 20% de levedura de cerveja (10ml / kg) suspensa em 0,5% de CMC. Através da inserção no reto (2 cm) do termômetro clínico, a temperatura foi medida antes da indução e após um período de 24 horas de aplicação da levedura de cerveja. Os grupos foram tratados em controle negativo (veículo), controle positivo (paracetamol 150mg / kg) e os grupos teste em 200mg / kg e 400mg / kg do MeOHPc. A temperatura de todos os animais foi medida no intervalo de 1 hora (1-5 minutos) após o respectivo tratamento (TEOTINO et al., 1963).

2.1.1.5 Avaliação Anti-inflamatória (Edema de pata)

O nosso organismo possui mecanismos de resposta a diferentes estímulos nocivos, de origem física (calor, frio, trauma), química (substâncias irritantes) e/ou biológica

(microrganismos), desencadeando alterações humorais e celulares com intuito de manter o equilíbrio homeostático, tal processo fisiológico é denominado inflamação (KUMAR et al., 2013). A manifestação clínica da desordem inflamatória é caracterizada por cinco sinais cardeais de rubor (vermelhidão), calor (decorrente da hiperemia arterial), dor (ativação de fibras nervosas devido ao acúmulo de células e líquidos; lesão direta nas fibras nervosas; ou ainda ação química sobre as terminações nervosas), tumor (representada pelo edema inflamatório) e perda de função (provindo do tumor, principalmente em articulações) (SANTOS JUNIOR, 2003).

Com finalidade de reparação do tecido ou célula lesionada, uma cascata de reações e atividades celulares é ativada, promovendo o aumento das arteríolas e vênulas, que leva ao aumento da permeabilidade vascular e do fluxo sanguíneo, e como consequência o acúmulo de líquidos (TEDGUI; MALLAT, 2000). A inflamação pode ser classificada em aguda ou crônica, em que a aguda é proveniente da resposta ao agressor, que irá agir na remoção a fim de evitar sua disseminação, além disso, os produtos resultantes da destruição celular também serão eliminados, promovendo a reparação tecidual (SILVA; CARVALHO, 2004). No entanto, a inflamação crônica é caracterizada pela ocorrência de infiltração tissular de células do sangue periférico (monócitos, macrófagos, neutrófilos) bem como ativação e proliferação de células do tecido conjuntivo (fibroblastos) (KUMAR et al., 2013).

O processo inflamatório envolve a vasodilatação local e aumento da permeabilidade vascular, a chamada fase vascular, mediados por aminas vasoativas, histamina e serotonina, que são liberados por monócitos e mastócitos (TEDGUI; MALLAT, 2000). Com o acúmulo de proteínas e água, o exsudato, ocorre a ativação de moléculas presentes no endotélio, favorecendo a aderência e migração celular e consequentemente o extravasamento vascular, além disso, ocorre também a ativação dos sistemas: complemento, coagulação; e a liberação de citocinas inflamatórias, tais como, IL-1, TNF- α e quimiocinas (SANTOS JUNIOR, 2003).

Em conjunto ocorre a produção de mediadores lipídicos que são derivados do ácido araquidônico; que em consequência da ativação de fosfolipases geram prostaglandinas, leucotrienos e PAF (fator de ativação plaquetária), em que prostaglandinas possuem um papel importante na inflamação, pois induzem a febre, a hiperalgesia e a vasodilatação (MESQUITA JÚNIOR; ARAÚJO, 2008).

Mesmo sendo considerada de extrema importância, a resposta do processo inflamatório, causa desconforto e em alguns casos são necessárias intervenções medicamentosas (SILVA; CARVALHO, 2004). Atualmente são utilizadas duas classes de

fármacos que atuam interferindo nesse processo de defesa do organismo com o intuito de minimizar o dano, os glicocorticoides ou anti-inflamatórios esteroidais (AIEs) e ou anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (LONGUI, 2007).

Os AINEs têm sido representado por um grupo heterogêneo de substâncias, com efeito analgésico, anti-térmico e anti-inflamatório e inibem também a síntese de protrombina e agregação plaquetária, especialmente o ácido acetil salicílico (AAS), introduzido em 1899, que acetila irreversivelmente a cicloxigenase (KUMMER; COELHO, 2002). Estes fármacos em geral inibem, de forma variável em doses terapêuticas, ambas as isoformas da COX e que apesar de sua eficácia na dor e na inflamação, sua administração em longo prazo pode provocar danos a saúde, como úlceras gastrointestinais, sangramentos e desordens renais e cardiovasculares decorrente da inibição não seletiva destas isoformas (TAPIERO et al., 2002).

Apesar do potente efeito farmacológico destes medicamentos, a sua utilização produz efeitos colaterais (LONGUI, 2007). Desta forma, tem crescido os estudos utilizando plantas medicinais em tratamentos de inflamação e nocicepção, em que estas apresentam substâncias que possuem mecanismo de ação relacionadas com o bloqueio de canais de cálcio ou a inibição da calmodulina; a atuação em receptores dos mediadores inflamatórios; atuação como antagonistas; e inibição da síntese ou ação de citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão, vias do ácido araquidônico e óxido nítrico (SCHMITZ; BACHER, 2005). Dentre a inibição em mais de uma via mecanística, os produtos naturais possuem a capacidade de intensificar os efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios, reduzindo possivelmente os efeitos adversos (WERZ, 2007).

Na avaliação anti-inflamatória o teste realizado foi edema da pata de acordo com Winter et al (1962). O procedimento foi iniciado a partir da aplicação sub-plantar de 1% de carragenina no murganho (0,1 mL) realizada 30 minutos antes da administração de MeOHPc a concentrações de 200 e 400 mg / kg, v.o. A atividade anti-inflamatória foi verificada por meio do paquímetro (Stainless Mardened, Nakamura, COK, Japão), imediatamente após o (tempo 0) e os subsequentes tempos de 60, 120, 180 e 240 min. O grupo controle negativo recebeu o veículo (solução salina a 0,9%) e o grupo controle positivo recebeu ácido acetilsalicílico (AAS) na concentração de 100 mg / kg, ambos os grupos foram administrados por via oral. A percentagem de inibição de MeOHPc contra a resposta anti-inflamatória foi calculada a partir da fórmula: Percentagem de inibição (%) = $[(V_f - V_i) \text{ Média do grupo de controle} - (V_f - V_i) \text{ Média do grupo de teste}] / (V_f - V_i)$, Onde V_f e V_i representam o volume final e inicial da pata.

2.1.1.6 Avaliação antinociceptiva (Contorção abdominal, Placa quente, Formalina)

Nociceção, por vezes chamada de dor, é considerada uma sensação de extrema relevância que envolve processos fisiológicos e sinaliza o organismo de qualquer ameaça que atinja sua integridade física e, neste sentido, é clinicamente usada para detecção e avaliação de doenças (MILLAN, 1999). A definição para o termo dor, usada pela Associação Internacional para o Estudo da Dor, é de que esta seja “Uma experiência emocional e sensorial desagradável associada com uma lesão tecidual real ou potencial ou descrita em termos de tal lesão”, enquanto que o termo nociceção refere-se às manifestações neurofisiológicas geradas pelo estímulo doloroso (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK., 2004).

A dor pode ser classificada conforme o tipo de lesão: neurogênica, quando a lesão ocorre no tecido neuronal; neuropática, quando um nervo sofre uma disfunção; psicogênica, decorrente de fatores psicológicos; e nociceptiva, quando desencadeada pela excessiva estimulação dos nociceptores (MILLAN, 1999). Também pode ser classificada quanto a sua duração em aguda ou crônica; a dor aguda refere-se à ativação dos nociceptores, seguida do desaparecimento da sensação dolorosa até mesmo antes do restabelecimento do tecido lesionado, enquanto que a dor crônica perdura por mais tempo sucedendo mesmo o período de cura da injúria, seguida de repetição de tal processo e não se relacionando com nenhuma função fisiológica ou protetora (APKARIAN; BALIKI; GEHA, 2009).

Basicamente, envolve a ativação do componente sensorial que irá permitir a localização espaço-temporal, a qualificação física e a quantificação do estímulo nocivo, e a ativação do sistema cognitivo responsável por atribuir emoções ao processo, caracterizando o comportamento de dor (JULIUS; BASBAUM, 2001). O componente responsável por refletir a dor é denominado nociceptor, que são terminações nervosas livres, sensíveis na presença de estímulos de origem térmico, mecânico ou químico (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFI, 2004). Dispersos por todo o corpo, os nociceptores se inervam na pele, músculos, articulações e órgãos internos, e sua principal função é expedir informações sobre a lesão aos neurônios de ordem superior. São descritos em quatro classes: mecânicos, térmicos, polimoidais e silenciosos (FEIN, 2011).

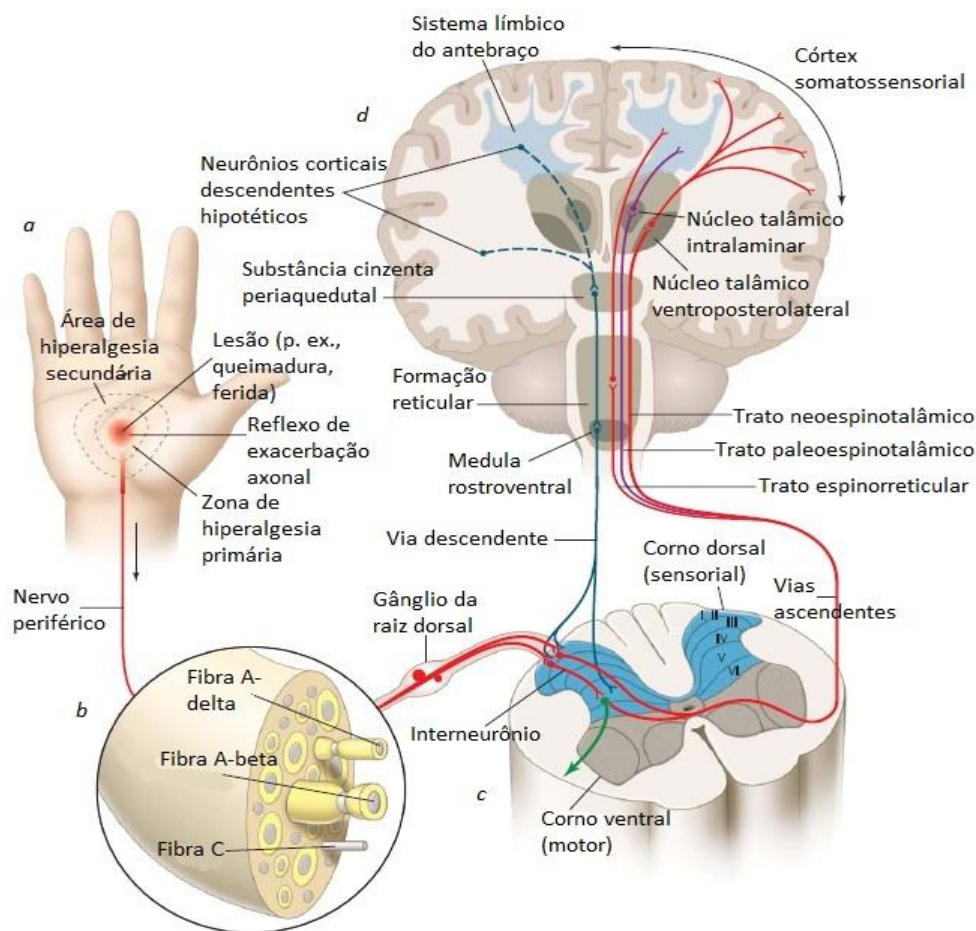
Os nociceptores mecânicos são ativados em resposta à pressão intensa, os térmicos a temperaturas extremas, quentes ($> 45^{\circ}\text{C}$) ou frias ($< 5^{\circ}\text{C}$) e possuem fibras A mielinizadas (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFI, 2004). A união desses nociceptores de fibra A δ - β são

chamados de nociceptores mecanotérmicos; já os receptores polimodais podem responder tanto a estímulos nocivos de origem mecânica, térmica ou química, e os nociceptores silenciosos (“silente ou sleeping”) podem ser ativados por estímulos flogísticos e mediadores inflamatórios, porém só respondem a estímulos mecânicos e térmicos após sua ativação (FEIN, 2011).

A sensibilização desses receptores desencadeia a liberação de mediadores químicos, tais como, bradicinina, serotonina, histamina, metabólitos do ácido araquidônico, citocinas, neurotrofinas, opióides, acetilcolina, dentre outros (MILLAN, 1999). Tais substâncias interagem com nociceptores específicos, desencadeando a propagação do sinal doloroso devido a alterações na permeabilidade da membrana da fibra nervosa e consequentemente a geração do potencial de ação (APKARIAN; BALIKI; GEHA, 2009). A informação nociceptiva é transportada para o sistema nervoso central pelas fibras aferentes, que podem ser classificadas quanto a sua estrutura, diâmetro e velocidade de condução do estímulo: fibras A β , são mielinizadas, com diâmetro de 10 μ m com condução de 30-100 m/s; as fibras A δ são pouco mielinizada com diâmetro médio de 2-6 μ m e condução de 12-30m/s; e as fibras C, não mielinizadas possuem diâmetro de 0,4-1,2 μ m e condução de 0,5-2 m/s (JULIUS; BASBAUM, 2001).

Na medula espinhal, ocorre a liberação de neurotransmissores (glutamato, neuropeptídeos) por estas fibras, que auxiliam intensificando a transmissão do estímulo nociceptivo (ALMEIDA et al., 2004). A informação nociceptiva é transmitida para os neurônios do corno dorsal da medula, que por sua vez, retransmite para os centros encefálicos por vias ascendentes (tratos espinomesencefálico, espinobraquial, espinotalâmico e espinorreticular), incluindo a formação reticular, hipotálamo e tálamo que transmite impulsos por neurônios de terceira ordem para o córtex cerebral, resultando na consciência da dor representada na Figura 10 (CURY et al., 2011).

Figura 9. Mecanismo da transmissão de dor.



Oaklander (2013).

O organismo também possui vários mecanismos intrínsecos que são responsáveis em modular a sensação dolorosa (FEIN, 2011). Nos diversos núcleos do tálamo, após a estimulação, os sinais são propagados para as diferentes áreas do córtex, substância cinzenta periaquedutal, hipotálamo, amígdala e cerebelo, em que um modulador endógeno descendente associado à substância cinzenta periaquedutal, especificamente o núcleo magno da rafe, estruturas adjacentes da medula rostral ventromedial e o corno dorsal da medula, é responsável por ativar conexões que desencadeiam a inibição ou facilitação da nocicepção (LAMONT; TRANQUILLI, 2000).

O processo inibitório da nocicepção no corno dorsal é decorrente do envolvimento de diversos receptores localizados pré e pós-sinápticos na porção central do aferente primário; os receptores localizados pré-sinápticamente são: receptores opiídeos μ/δ , κ ; GABA (ácido gama aminobutírico); α_2 -adrenérgicos; neurocinina 1 e 5HT e os pós-sinápticamente, podem ser citados os receptores: GABA a,b , AMPA, NMDA, μ , μ/δ , α_2 -adrenérgicos, 5HT $1b$, adenosina (LAMONT & TRANQUILLI, 2000).

Os receptores opiídeos μ (OP3) e κ (OP2) são demonstrados cientificamente de maior importância clínica, envolvendo a ação fisiológica das endorfinas e a das vias inibitórias noradrenérgicas e serotoninérgicas (ROBES, 2006). A eficácia analgésica dos opiídeos é decorrente do bloqueio da transmissão periférica e central da via nociceptiva aferente (RIBEIRO; SCHMIDT; SCHMIDT, 2002). Porém, sua utilização não pode ser generalizada para todos os tipos de dor, como exemplo, na dor neuropática os opiídeos respondem de forma curta (CURY et al., 2011).

Outra ação analgésica se dá pelo bloqueio de canais de sódio, prevenindo a transmissão do impulso nervoso e conseqüentemente a excitação do nociceptor; ou se administrado por via central, desencadeia a inibição do processo modulatório de nocicepção (BASSANEZI; OLIVEIRA FILHO, 2006). Além disso, a dor também pode ser modulada por analgésicos, anti-inflamatórios não esteroidais, que atuam na inibição da atividade da ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase, que não irão permitir a síntese de prostaglandinas e conseqüentemente não irão sensibilizar nociceptores periféricos (HALDAR et al., 2012).

A antinocicepção também pode ser desencadeada pela diminuição da expressão do ácido araquidônico e conseqüentemente na diminuição de seus metabólitos (prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos), que reduzem a expressão de citocinas inflamatórias envolvidas com o processo doloroso (LAMONT; TRANQUILLI, 2000; ROBES, 2006). Outro mecanismo são pelos α_2 -agonistas que ligam-se a receptores presentes no tronco cerebral ou na medula espinhal, inibindo neurotransmissores e resultando na anestesia e sedação (BASSANEZI; OLIVEIRA FILHO., 2006). Além destes, os antagonistas dos receptores NMDA também possuem efeito modulatório da nocicepção na medula espinhal, como exemplo, a cetamina, usada no tratamento de dor neuropática que normalmente não responde a fármacos opiídeos (LAMONT; TRANQUILLI., 2000; BASSANEZI; OLIVEIRA FILHO, 2006).

O modelo nociceptivo contorção abdominal foi induzido nos animais através de uma injeção intraperitoneal de ácido acético (0,8%). O grupo controle negativo recebeu apenas o

veículo, o controle positivo recebeu 100 mg / kg de ácido acético e os grupos de teste do MeOHPc nas concentrações de 200 mg / kg e 400 mg / kg. Todos os grupos foram tratados 1 hora antes de receber ácido acético (0,8%), e após cinco minutos, foi iniciado observando - se o alongamento dos músculos posteriores ea contração do músculo abdominal, com duração de 20 minutos (Koster; Anderson, De Beer, 1959).

Na avaliação antinociceptiva no modelo placa quente os grupos utilizados nos testes foram controle negativo (veículo), controle positivo (5mg / kg morfina) e os grupos teste MeOHPc nas concentrações de 200mg / kg e 400mg / kg. O tratamento foi realizado 1 hora antes do início da metodologia. A placa quente foi pré-aquecida a uma temperatura ($55 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$) e usada individualmente para cada animal, não excedendo 60 segundos. Os tempos 0, 30, 60, 90 e 120 foram avaliados no teste, após a primeira estimulação térmica (MacDonald et al., 1946).

O teste de formalina foi realizado com o protocolo descrito em Hunskaar; Hole (1987). Formalina (2,5% em solução salina a 0,9%) no volume de 0,02 mL foi administrada subplantar dos camundongos (Santos et al., 2010). A reação dolorosa nos camundongos foi observada no momento (seg) de lamber ou no ato de morder a pata na primeira fase (reação neurogênica da dor) por 5 min e na segunda fase (reação inflamatória à dor) entre 15 - 30 min logo após a administração da formalina subplantar ("Almeida et al., 2011). Os animais foram divididos em grupos: controle negativo com $n = 6$ (solução salina 0,9%, v0), controle positivo com $n = 6$ recebendo indometacina (20 mg / kg, ip) e morfina (10 mg / kg, ip), e um grupo de teste que recebeu MeOHPc a concentrações de 200 e 400 mg / kg ($n = 6$, v0), 1 hora antes da administração de formalina.

As vias mecánísticas do bloqueio nociceptivo foram investigadas através do envolvimento de receptores de acordo com Anaya-Eugenio et al (2016). Para os receptores opídeos, um antagonista, naloxona (5 mg / kg, ip), foi injectado 30 minutos antes da administração do grupo MeOHPc (400 mg / kg, vol) ou do grupo morfina (10 mg / kg, ip). Na avaliação dos receptores de acetilcolina e muscarínicos (M1 a M5) o antagonista de sulfato de atropina (10 mg / kg, ip) foi injetado 30 min antes da administração de MeOHPc (400 mg / kg, v) ou morfina (10 mg / kg, ip). Além disso, o bloqueio da via nociceptiva dos receptores H2 da histamina também foi investigado pela administração do antagonista da glibenclamida (10 mg / kg, v) 1 hora antes do MeOHPc (400 mg / kg, v0) ou morfina (10 mg / kg, ip). Todos os grupos de pesquisa dos mecanismos nociceptivos testados estavam com ($n = 6$) camundongos.

Dentre os inúmeros medicamentos que são usados atualmente com atuação em vias distintas, a terapêutica é eficaz, porém o uso prolongado destas drogas pode acarretar o surgimento de diversos efeitos colaterais, estimulando a procura de novas moléculas bioativas que sejam também eficazes e menos prejudiciais ao organismo (BASSANEZI; OLIVEIRA FILHO, 2006). Drogas de fontes vegetais estão sendo utilizadas por cerca de 80 % da população mundial e estes compostos estão mostrando segurança, eficácia, aceitabilidade e menos efeitos colaterais, ressaltando a importância de se estudar atividade antinociceptiva de partes de plantas (HALDAR et al., 2012).

3 RESULTADOS

3.1 CHEMICAL CHARACTERIZATION, LEISHMANICIDE AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF *Plinia cauliflora* (MART.) KAUSEL FROM THE ATLANTIC MATA OF THE NORTHEAST OF BRAZIL

Thaíse Gabriele da Silva Brito^a, Vanderlan Nogueira Holanda^{a,c}, Tiago Ferreira da Silva Araújo^b, Regina Célia Bressan Queiroz Figueiredo^c, Ana Paula Sant'Anna da Silva^a, Sócrates Golzio dos Santos^d, Vera Lúcia de Menezes Lima^{a*}

^aLaboratory of Lipids and Applications of Biomolecules in Prevalent and Neglected Diseases. Department of Biochemistry, Center of Biological Sciences, Federal University of Pernambuco, Professor Moraes Rego Avenue, 1235, 50670-901 Recife, PE, Brazil.

^bCollegiate of Pharmaceutical Sciences, Federal University of São Francisco Valley, José de Sá Maniçoba Avenue, S / N, 56304917, Petrolina, PE, Brazil.

^cDepartment of Microbiology, Institute Aggeu Magalhães, IAM-Fiocruz, Professor Moraes Rego Avenue, 1235, 50670-901 Recife, PE, Brazil.

^dLaboratory of Pharmaceutical Technology, Institute of Research in Drugs and Medicines, Federal University of Paraíba, University City, Campus I, Castelo Branco III, S / N, 58033-455, João Pessoa, PB, Brazil.

*Corresponding author.

E-mail addresses: lima.vera.ufpe@gmail.com (V. Lúcia de Menezes Lima)

Abstract

Plinia cauliflora (Mart.) Kausel is a plant native to Brazil of the Myrtaceae Family, also known as jabuticaba. This study aimed to investigate the leishmanicidal biotechnological potential of the essential oil of the leaves of *Plinia cauliflora* (OEPc). Thus, the chemical composition of the OEPc by gas chromatography coupled to the mass spectrometer (GC/MS) was investigated, cytotoxicity of OEPc against Peritoneal Macrophages and Vero cells, Leishmanicidal action of OEPc on promastigotes and amastigotes of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis* and the effect of EOPc on the production of nitric oxide (NO) by Peritoneal Macrophages. In addition, an ultrastructural analysis of *L. amazonensis* and *L. braziliensis* was performed after treatment with 1 and 2x values related to the 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of EOPc and the investigation of pharmacokinetic and physicochemical properties in each of the OEPc compounds. GC/MS showed that Caryophyllene (24.4%), Eudesmol (8%), 2-Naphthalenemethanol (8%) and Calamenene (8%) were the major constituents. The cytotoxic concentration of OEPc was 137.4 µg / mL and 143.7 µg / mL in Peritoneal Macrophages and Vero cells, respectively. As a leishmanicidal action the OEPc presented an IC₅₀ of 5.77 ± 0.96 µg / mL against the promastigote form and IC₅₀ of 7.31 ± 0.53 µg for amastigotes of *L. amazonensis*. For *L. braziliensis* IC₅₀ was 5.60 ± 1.74 for promastigotes and IC₅₀ of 7.26 ± 0.12 for amastigotes. There was no significant variation in NO production between treated and untreated macrophages. Treatment with 1 and 2 x IC₅₀ of OEPc promoted ultrastructural changes in protozoa. Analysis of the pharmacokinetic and physicochemical properties of the major compounds OEPc showed no relationship with systemic toxicity. Thus, EPO can be considered a bioproduct with leishmanicidal potential and presents possible pharmacological applications that may contribute to the future development of drugs against *L. amazonensis* and *L. braziliensis* infections.

Keywords: Cytotoxicity; Jabuticaba; Cutaneous Leishmaniasis; Scanning Electron Microscopy.

1. Introduction

The use of plants as therapeutic resources in the treatment of diseases is a practice that has existed since the beginning of civilizations. In the present day, plants with medicinal properties continue to play an important role as sources of therapeutic agents and their use has resulted in the discovery of promising substances in the field of folk and herbal medicine [1]. In addition to the popular use and increasing availability of herbal medicines, natural resources of plant origin have drawn the attention of the scientific community because it is a vast source of active substances that may be used for the synthesis of new drugs [2]. Among the main families of botanical species with therapeutic potential, the members of the Myrtaceae family stand out for the breadth of biological activities investigated and proven, among them: *Myrciaria floribunda* [3], *Psidium guajava* [4], *Eugenia brejoensis* [5], *Eugenia uniflora* [6], *Eucalyptus globulus* [7] e *Plinia cauliflora*.

P. cauliflora is an endemic plant in Brazil, present in all regions of the country and occurs in alluvial and ubiquitous plains in the different biomes of Brazil, with emphasis on the Atlantic Forest [8, 9, 10]. This species is one of the most important of Brazilian flora and its fruit, popularly known as Jabuticaba, has great economic and nutritional importance [11]. Like other members of the Myrtaceae family, *P. cauliflora* is used in folk medicine for the treatment of various diseases such as asthma, tonsils inflammation and diarrhea [12]. The main formulations obtained from this botanical species are extracts, infusions and essential oils [3]. The latter have drawn the attention of the scientific community due to the wide variety of chemical compounds present in its composition and the possibility of biotechnological applications.

Essential Oils (EO) are composed of biomolecules related to biological functions in plant organisms and susceptible to variations in the quantity and chemical-structural diversity according to environmental stimulus [13]. Terpenoids are examples of compounds that make up the EO, modulated by environmental factors. These molecules are characteristic by the lipophilicity and complexity of chemical structures, of which the groups stand out: ketones, hydrocarbons, alcohols, aldehydes, oxides, etc. These compounds have biological activities already described, such as anti-diarrheal [14], antimicrobial [15], antioxidant [16], pesticide [17], anti-diabetic [18], citotoxic [4], insecticide [19] e leishmanicide [20].

Leishmaniasis is an infectious disease caused by protozoa of the genus *Leishmania* and presents three well-established clinical forms: cutaneous, mucocutaneous and visceral. The wide distribution of the vector associated with the diversity of pathogenic leishmaniasis

species contributes to the large number of cases and diversity of clinical forms found in more than 80 countries, especially in tropical regions [21]. In Brazil, there are occurrences of the three cynical forms of the disease, with *Cutaneous Leishmaniasis* (LT) being registered in all regions of the country, mainly caused by species *L. guyanensis*, *L. braziliensis* e *L. amazonensis* and responsible for causing physical, functional and metabolic deformities [22, 23].

Despite being considered by the World Health Organization one of the six major infectious diseases, there is no effective vaccine against leishmaniasis and because of this, the measures of control of the disease are based on the sanitary and, mainly, therapeutic aspects [22]. Treatment against protozoan infection of the *Leishmania* genus has reduced efficacy, proven resistance and high systemic toxicity [24, 25]. Pentavalent antimonials are the first-line drugs for the treatment of cutaneous leishmaniasis, require intravenous or intramuscular administration for up to 20 mg / kg for 20 days and are rapidly excreted via the urinary tract [23, 26]. During treatment, several of the following symptoms may occur: arthralgia, myalgia, nausea, vomiting, abdominal pain, pancreatitis, pruritus, fever, weakness, dizziness, edema and acute renal failure [26, 27]. Despite proven efficacy in some cases, studies show that even after application of the regimen in patients, there is no remission of the lesion and parasitemia, and may lead users of these drugs to death [23].

The objective of this study was to present the chemical composition of the essential oil of *Plinia cauliflora* leaves from the Brazilian Atlantic Forest biome and to evaluate its effect on two evolutionary forms of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis* and its cytotoxic potential on mammals.

2. Results and Discussion

2.1. Ecological aspects and chemical composition of essential oil from *P. cauliflora* (EOPc)

Essential oils (EO), also known as volatile oils, are products of the secondary metabolism of aromatic plants, formed by complex mixtures of substances of low molecular weight, lipophilic and generally of terpenic nature [31]. EOs present great utility versatility and their study has grown in several sectors, with chemical, cosmetic, food and pharmaceutical applications [32]. One of the most important factors to consider when extracting EO from plant species is the yield and identification of the chemical compounds that make up these oils [32].

The EOPc presented a considerable yield of 7.33% (v / w) when compared to yields obtained from EO extracted from other species of the family Myrtaceae, such as *Myrciaria tenella* and *Calycorectes sellowianus*, with yields of 0.4% and 0.46% (v / w) [33]. The EO yield may be associated with the quantitative proportion of the chemical compounds present in the complex mixtures. In the present study, EOPc was extracted from a native species of the Zona da Mata Pernambucana (Fig. 1), characterized by the predominance of the Atlantic Forest biome and the tropical climate. Studies show that the chemical composition of the EO varies among species of the same family and according to the part from which it was obtained [34].

According to Gobbo-Neto and Lopes [35], the same plant species may present significant variations in the chemical composition of their essential oils due to climatic factors, cultivation processes, conditions in which they were collected, extracted and stored. There are variations in the concentration of these metabolites and generally they are synthesized in one part of the plant and stored in another, different in each plant [36]. Therefore, each product is restricted to unique chemical processes for a given species or family, being variable in different states throughout its development, so it is not universal [37,38] .

An example of this can be seen in a recent study that investigated the chemical composition of the *P. cauliflora* essential oil collected from the Cerrado, yielding 0.05%. These differences in yield and chemical composition can be attributed to the fact that abiotic factors can interfere in the production of essential oils, especially those related to the biome where the species was collected such as light incidence, solar radiation, temperature, soil composition , and climate [20].

The chemical composition of EOPc (Table 1) revealed the presence of 52 chemical compounds, which corresponded to 96% of the common molecules in the mass spectrometer database. The analysis showed a large number of sesquiterpenes, with the main constituents (24.4%), Eudesmol (8%), 2-naphthalenemethanol (8%), calamenene (8%) and 2-naphthalenemethanol [1,2,3,4,4a,5,6,8a-octa-hidro] (6.69%). This group of compounds can also be found in other species, especially those belonging to the family Myrtaceae.

Among the volatile compounds of these plants, the caryophyllene is demonstrated in the chemical composition of different species [39]. Essential oils from the leaves of *Plinia edulis* showed the main compounds of this class, with the caryophyllene oxide in the percentage of 39.3% [40]. Other species, such as *Plinia cordiflora* and *Plinia trunciflora*, also

presented considerable values of β -caryophyllene (15.9% and 8.2%) in their chemical composition [13].

In addition to these sesquiterpenes, eudesmol was also identified in the chemical composition of the volatile oils of *P. edulis*, *P. cordifolia* and *P. truncatus*, but in smaller quantities: 1.1%, 1.0% and 3.4%, respectively [13]. Another genus known for the production of essential oils belonging to the family Myrtaceae, *Eugenia* also has predominant chemical composition of sesquiterpenes, mainly germacrene and selinene, and some species in smaller quantity, such as monoterpenes [41].

2.2. Effect of EOPc on the viability of Vero Cells and Intraperitoneal Macrophages

The toxicity assessment of novel compounds candidates for therapeutic agents is one of the main stages in determining the pharmacological potential. The search for compounds that do not present or demonstrate a low cytotoxic effect on mammalian cells has progressively increased, especially in the context of Leishmaniasis, which have highly toxic drug alternatives [23].

EOPc showed cytotoxic concentration (CC_{50}) of 137.4 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and 143.7 $\mu\text{g} / \text{mL}$ in Peritoneal Macrophages and Vero cells (Fig. 2), respectively. According to the Ríos *et al.* [42] studies, EO with CC_{50} values between 100 and 500 $\mu\text{g} / \text{mL}$ are considered moderately toxic. These results demonstrate a potential therapeutic use superior to that observed in the reference drugs used in the treatment of cutaneous Leishmaniasis, since literature data show that drugs such as Pentamidine and Amphotericin B present CC_{50} of 11.7 and 0.78 $\mu\text{g} / \text{mL}$ in Peritoneal Macrophages, thus presenting strong cytotoxic activity [21].

One of the greatest current challenges is the development of therapeutic products with the lowest possible side effects, which are low cost and easy to obtain and are effective against infectious microorganisms during treatment. Within EO, biological actions can be justified by the isolated or joint action of the chemical constituents present in their composition. The study Leite *et al.* [43] investigated the cytotoxic and leishmanicidal effect of caryophyllene, a compound that is present in a greater amount in EOPc. The results showed effective activity against the *Leishmania* parasite as well as did not demonstrate cytotoxic action to the fibroblasts that were evaluated in the study. These data suggest a strong association between the leishmanicidal effect of EOPc and the great amount of Caryophyllene identified in its chemical composition, reinforcing its therapeutic potential against leishmaniasis.

2.3. Leishmanicidal activity of EOPc on *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis*

The search for effective compounds against parasites of the genus *Leishmania* has gained great importance due to the limitations of the current treatment [23]. In the world, it is estimated that Leishmaniasis affects about 1.6 million people, and that of this, about 1.1 million is affected by the tegumentary form of the disease, called American Cutaneous Leishmaniasis (LTA), commonly caused by *L. braziliensis* species and *L. amazonensis* in Brazil [44]. In addition to the difficulties in the treatment of the disease, the LTA presents is difficult to be, due to the similarity of dermatological symptoms with other pathologies and mainly, due to the psychosocial issues involved [22, 24, 25].

The use of medicinal plants became attractive from the potential leishmanicide already presented in the literature. The results of the present study showed that the EOPc had a dose-dependent leishmanicidal effect against promastigotes of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis*, with IC_{50} values of $5.77 \pm 0.96 \mu\text{g} / \text{mL}$ and 5.60 ± 1.74 , respectively. After detecting the effect against promastigote forms, it was seen that EOPc was also effective against intracellular amastigotes, with an IC_{50} value of 7.31 ± 0.53 for *L. amazonensis* (Fig. 3) and 7.26 ± 0.12 for *L. braziliensis* (Fig. 4). The effectiveness of both evolutionary forms of the main species related to LTA was verified, and it was possible to determine that the EOPc presents selectivity against the parasites investigated in this study, being 18.8 times more selective for *L. braziliensis* and 18.9 for *L. amazonensis* (Table 2).

Several species of the family Myrtaceae are producers of essential oils with biological potential, in particular with a view to the treatment of Leishmaniasis [24]. Rodrigues *et al.* [45] carried out the study with essential oil of *Syzygium cumini*, and obtained the IC_{50} value of $38.1 \mu\text{g} / \text{mL}$ on *Leishmania* sp. In addition, Kauffman and Ethur [24] demonstrated the leishmanicidal potential of the Myrtaceae family through in vitro studies with the essential oils of *Eugenia arensa* and *Eugenia pyriformis* com IC_{50} of 13.72 and 19, 73 $\mu\text{g} / \text{mL}$ respectively. Thus, it is important to highlight the pharmacological potential of essential oils obtained from Myrtaceae family against Leishmaniasis, thus constituting important therapeutic advances with the use of natural products from the Brazilian flora.

2.4. Investigation of the Effect of EOPc on the Production of Nitric Oxide (NO) by Peritoneal Macrophages

The production of nitric oxide (NO) by macrophages is related to the mechanism of defense against infection by *Leishmania* sp. [38]. Thus, after observing the leishmanicidal effect of EOPc in the promastigote and amastigote form, Peritoneal Macrophages were stimulated with lipopolysaccharide (LPS) and / or treated with different EOPc. The results demonstrated that there was no significant difference between the untreated control group and the groups that received EOPc (Fig.5), so it can be suggested that the leishmanicidal effect could be related to another intracellular mechanism and that, due to the apolar characteristic of the EOPc constituents, it is possible that there is a direct interaction between the parasite forms and the secondary metabolites.

Boyom *et al.* [38] and Silva *et al.* [20] reported that the hydrophobic characteristic of the essential oils provides their passage through the membranes in the cells and facilitates the toxic selectivity to the intracellular parasite. According to Duarte and Rochael [46] and Romão *et al.* [47], the tegumentary clinical manifestations of Leishmaniasis trigger progressive inflammatory reactions from the epidermis to the dermis, as alternative to eliminate and control parasite infection. Thus, a drug inducing a high production of nitric oxide may favor inflammation and would contribute to the increase and duration of the injury in the LTA.

The essential oils of species of the family Myrtaceae have presented anti-inflammatory effect when investigating the involvement with macrophages in the production of NO. Ramos *et al.* [48] found that different non-cytotoxic doses of the essential oils of *Eugenia jambolana* and *Psidium widgrenianum* inhibited NO production and a late inflammatory reaction. Silva *et al.* [49] highlight the anti-inflammatory potential of the essential oil of *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) and correlate the reduction of the inflammatory process with the inhibition of the increase of the production of nitric oxide.

In this context, it is possible to affirm that EOPc presented the promising product for the topical treatment of LTA. The possible mechanism of action may be related to the potentiation of macrophage phagocytosis through lysosomal action, as reported by Rodrigues *et al.* [50], who tested the essential oil of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) not observed an increase in NO production, but there was intense parasitic reduction.

2.5. Ultrastructural assay

Ultrastructural analyzes (Fig. 6 and 7) revealed significant changes in the cellular structure of *L. amazonensis* and *L. braziliensis* after treatment with the inhibitory concentration in 50% (IC_{50}) de 1 and 2x EOPc. Cells that did not receive treatment were considered as control group and presented normal morphology, characteristic fusiform shape, topologically normal membrane and well preserved long flagellum (Fig. 6. A and 7. A). In cells treated with 1x IC_{50} (Fig. 6 C-D and 7 C-D), it was possible to observe ultrastructural alterations related to loss of cell viability, such as membrane wrinkling, flagellar rupture, shortening of the cell body, occurrence of depressions along the plasma membrane and clear reduction of the cell population.

The cells treated with 2x IC_{50} (Fig. 6 E-F and 7 E-F) also presented significant ultrastructural changes, such as: decrease in the number of parasites, formation of depression, wrinkling and rupture of the cell body. Recent studies investigating the action of essential oils on *Leishmania* species have also found similar and compatible alterations to those demonstrated in EOPc, such as membrane and flagellar alterations [51-53]. The ultrastructural changes caused by EOPc can be related to loss of viability and consequently cell death.

2.6. Investigation of pharmacokinetic and physicochemical properties

Computational evaluations revealed peculiar characteristics in relation to each of the observed majorities in the OEPC and results can be observed in Table 3. None of the substances individually tested shows systemic toxicity in the mutagenicity, carcinogenicity, irritability and embryotoxicity patterns. Concerning the possible biochemical interactions, the compounds revealed high probabilities of binding and interaction with enzymes, transporters and receptors of the cytoskeleton and cell membrane. Such observations may corroborate the changes observed in the ultrastructural analysis, where the most prominent damages are associated with the integrity of the cellular body. All analyzes follow the guidelines established according to the Myatt *et al.* [54] and Daina *et al.* [55].

3. Conclusion

The evaluation of the essential oil of the leaves of *Plinia cauliflora* (OEPC) showed Leishmanicida action against the species *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis*. In addition, it presented toxic selectivity to the parasite and maintained the integrity of infected cell forms. When verified the major compounds none showed harmful

toxicity to the human organism. Thus, OEPc is a potential therapeutic candidate of natural origin and selective efficacy against the main tegumentary forms of Leishmaniasis.

Conflict of interest

All the authors declare that there was no conflict of interest in the elaboration of the project.

Acknowledgments

The work was supported by the support of the Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

References

- [1] S.S. ul Hassan, H. Jina, T. Abu-Izneidb, A. Raufc, M. Ishaqa, H.A.R. Suleria, Biomedicine & Pharmacotherapy Stress-driven discovery in the natural products : A gateway towards new drugs, 109 (2019) 459–467. doi:10.1016/j.biopha.2018.10.173.
- [2] N.E. Thomford, D.A. Senthebane, A. Rowe, D. Munro, P. Seele, A.M. Id, K. Dzobo, Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century : Innovations for Novel Drug Discovery, (2018). doi:10.3390/ijms19061578.
- [3] L.A.C. Tietbohl, B.G. Lima, C.P. Fernandes, M.G. Santos, F.E.B. Silva, E.L.G. Denardin, R. Bachinski, G.G. Alves, M. V. Silva-Filho, L. Rocha, Comparative study and anticholinesterasic evaluation of essential oils from leaves, stems and flowers of *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd.) O. Berg, Lat. Am. J. Pharm. 31 (2012) 637–641
- [4] A. Weli, A. Al-kaabi, J. Al-sabahi, S. Said, M. Amzad, Journal of King Saud University – Science Chemical composition and biological activities of the essential oils of *Psidium guajava* leaf, J. King Saud Univ. - Sci. (2018). doi:10.1016/j.jksus.2018.07.021
- [5] L.I.O. de Souza, P. CristinaBezzera-Silva, D.M.A.F. Navarro, A.G. Silva, M.T.S.C. Figueiredo, M.V. Silva, Regina Celia Bressan Queiroz de Figueiredo, Biomedicine & Pharmacotherapy The chemical composition and trypanocidal activity of volatile oils from Brazilian Caatinga plants, Biomed. Pharmacother. (2017) 0–1. doi:10.1016/j.biopha.2017.11.121.
- [6] J.F.S. dos Santos, J.E. Rocha, C.F. Bezerra, M.K. do Nascimento Silva, Y.M.L.S. de Matos, T.S. de Freitas, A.T.L. dos Santos, R.P. da Cruz, A.J.T. Machado, T.H.S. Rodrigues, E.S. de Brito, D.L. Sales, W. de Oliveira Almeida, J.G.M. da Costa, H.D.M. Coutinho, M.F.B. Morais-Braga, Chemical composition, antifungal activity and potential

- anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp., Food Chem. 261 (2018) 233–239. doi:10.1016/j.foodchem.2018.04.015.
- [7] N. Salem, S. Ke, O. Tabben, A. Ayed, S. Jallouli, N. Feres, M. Hammami, S. Khammassi, I. Hrigua, S. Ne, A. Sghaier, F. Limam, S. Elkahoui, Industrial Crops & Products Variation in chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil under phenological stages and evidence synergism with antimicrobial standards, 124 (2018) 115–125. doi:10.1016/j.indcrop.2018.07.051.
- [8] M. De Fátima Agra, P.F. De Freitas, J.M. Barbosa-Filho, Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil, Brazilian J. Pharmacogn. 17 (2007) 114–140. doi:10.1590/S0102-695X2007000100021.
- [9] I. Citadin, M.A. Danner, S.A.Z. Sasso, Jaboticabeiras, Rev. Bras. Frutic. 32 (2010) 343–656.
- [10] A.M. Baseggio, C.E.C. Nuñez, N.R.V. Dragano, C.A. Lamas, P.A. de C. Braga, S.A. Lenquiste, F.G.R. Reyes, V.H.A. Cagnon, M.R. Maróstica Júnior, Jaboticaba peel extract decrease autophagy in white adipose tissue and prevents metabolic disorders in mice fed with a high-fat diet, PharmaNutrition. 6 (2018) 147–156. doi:10.1016/j.phanu.2018.06.006.
- [11] C.M. Donado-Pestana, M.H.C. Moura, R.L. de Araujo, G. de Lima Santiago, H.R. de Moraes Barros, M.I. Genovese, Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications, Curr. Opin. Food Sci. 19 (2018) 42–49. doi:10.1016/j.cofs.2018.01.001
- [12] J. F. Morton, Fruits of Warm Climates. Julia Morton, Winterville, NC, (1987) 386–388.
- [13] M. A. Apel, M. Sobral, J. Â. Zuanazzi, A. T. Henriques. Essential oil composition of four *Plinia* species (Myrtaceae). Flavour Fragr. J. 21 (2006) 565–567.
- [14] F.D.S. Monteiro, A. Felipe, S. Carvalho, E.D.C. Marques, Antidiarrhoeal and antispasmodic activity of leaves of *Syzygium cumini* L. (Myrtaceae) mediated through calcium channel blockage, African J. Pharm. Pharmacol. 12 (2018) 11–18. doi:10.5897/AJPP2017.4868.
- [15] S. Sá, L.T. Chaul, V.F. Alves, T.S. Fiuza, L.M.F. Tresvenzol, B.G. Vaz, P.H. Ferri, L.L. Borges, J.R. Paula, Phytochemistry and antimicrobial activity of *Campomanesia adamantium*, Rev. Bras. Farmacogn. 28 (2018) 303–311. doi:10.1016/j.bjp.2018.02.008.
- [16] C. Sarikurkcü, M. Sabih, N. Calli, J. Popovi, Industrial Crops & Products Essential oil composition and antioxidant activity of endemic *Marrubium parvi* florum subsp . oligodon, Ind. Crop. Prod. 119 (2018) 209–213. doi:10.1016/j.indcrop.2018.04.023.
- [17] M. Jia, Q. He, W. Wang, J. Dai, L. Zhu, Chemical composition and acaricidal activity of *Arisaema anurans* essential oil and its major constituents against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae), Vet. Parasitol. 261 (2018) 59–66. doi:10.1016/j.vetpar.2018.08.006.
- [18] G. Bongo, K. Ngbolua, C. Ashande, B. Gbolo, C. Tshiama, D. Tshilanda, D. Tshibangu, N. Ngombe, T. Mbemba, P. Mpiana, Antidiabetic , Antisickling and Antibacterial Activities of *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) and *Zanthoxylum rubescens*

- Planch . Ex Hook (Rutaceae) from DRC, 3 (2018) 7–14.
doi:10.11648/j.ijde.20180301.12.
- [19] D. Bekele, Review on insecticidal and repellent activity of plant products for malaria mosquito control, Biomed. Res. Rev. 2 (2018) 1–7. doi:10.15761/BRR.1000114.
- [20] V.P. da Silva, C.C.F. Alves, M.L.D. Miranda, L.C. Bretanha, M.P. Balleste, G.A. Micke, E.V. Silveira, C.H.G. Martins, M.A.L.V. Ambrosio, T. de S. Silva, D.C. Tavares, L.G. Magalhães, F.G. Silva, M.B. Egea, Chemical composition and in vitro leishmanicidal , antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of the Myrtaceae family occurring in the Cerrado biome, Ind. Crop. Prod. 123 (2018) 638–645.
doi:10.1016/j.indcrop.2018.07.033.
- [21] T.G. Ribeiro, M.A. Chávez-fumagalli, D.G. Valadares, J.R. Franca, P.S. Lage, M.C. Duarte, P.H.R. Andrade, V.T. Martins, L.E. Costa, A.L.A. Arruda, A.A.G. Faraco, E.A.F. Coelho, R.O. Castilho, Experimental Parasitology Antileishmanial activity and cytotoxicity of Brazilian plants, Exp. Parasitol. 143 (2014) 60–68.
doi:10.1016/j.exppara.2014.05.004.
- [22] M. S. Brasil, Manual de vigilância da *Leishmaniose Tegumentar*, First ed., Brasília, 2017.
- [23] V.N. Holanda, W.V. da Silva, P.H. do Nascimento, R.N. Oliveira, V.L. de M. Lima, R.C.B. de Figueiredo, Desafios e Perspectivas No Tratamento da *Leishmaniose Tegumentar*: Revisão De Literatura, Rev. Interfaces Saúde, Humanas e Tecnol. 6 (2019) 140–157.
- [24] C. Kauffmann, E.M. Ethur, Potentiality of species of the family Myrtaceae as source for obtaining new candidates for drugs for the treatment OF, Rev. Cad. Pedagógico. 13 (2016) 56–74.
- [25] E.H.S. Ramos, M.M. Moraes, L.L.D.A. Nerys, S.C. Nascimento, G.C.G. Militão, R.C.B.Q. De Figueiredo, C.A.G. Câmara, T.G. Silva, Chemical Composition , Leishmanicidal and Cytotoxic Activities of the Essential Oils from *Mangifera indica* L . var . Rosa and Espada, Biomed Res. Int. 2014 (2014) 9.
- [26] S. Rath, L.A. Trivelin, T.R. Imbrunito, D.M. Tomazela, M.N. De Jesús, C. Marzal, I. De Medicina, T. De São, U.D.S. Paulo, A. Enéas, D.C. Aguiar, S.P. Sp, Antimoniais empregados no tratamento da Leishmaniose: estado da arte, Quim. Nov. 26 (2003) 550–555.
- [27] E. B. Lima, C. Porto, J.O. da M. Carneiro, R.R.S. Nonata, Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana, An. Bras. Dermatol. 1 (2007) 111–124.
- [28] R.P. Adams, Review of Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry , 4th Edition, Am. Soc. Mass Spectrom. 001 (2007) 803–806. doi:10.1016/j.jasms.2007.01.001
- [29] M.Â. Aranda-souza, V. Maria, B. De Lorena, M. Tereza, R. Célia, B. Queiroz, In vitro effect of Bothrops leucurus lectin (BLL) against *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis* infection, Int. J. Biol. Macromol. 120 (2018) 431–439.
doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.08.064.
- [30] M.G. F. Medeiros, A. C. Silva, A. M. G. L. Citó, A. R. Borges, S.G. de Lima, J. A. D. Lopes, R. C. B. Q. de Figueiredo, Parasitology International In vitro antileishmanial

- activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham, Parasitol. Int. 60 (2011) 237–241. doi:10.1016/j.parint.2011.03.004.
- [31] J.S. Raut, S.M. Karuppayil, A status review on the medicinal properties of essential oils, Ind. Crops Prod. 62 (2014) 250–264. doi:10.1016/j.indcrop.2014.05.055.
- [32] J. Popović-Djordjević, M. Cengiz, M.S. Ozer, C. Sarikurkcü., *Calamintha incana*: Essential oil composition and biological activity, Ind. Crops Prod. (2019) 162–166.
- [33] M.A. Apel, M.E.L. Lima, M. Sobral, M.C.M. Young, I. Cordeiro, E.E.S. Schapoval, A.T. Henriques, P.R.H. Moreno, Anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Myrciaria tenella* and *Calycorectes sellowianus*, Pharm. Biol. 48 (2010) 433–438. doi:10.3109/13880200903164386.
- [34] C.A.S.F. Miranda, M. das G. Cardoso, L.R. Batista, L.M.A. Rodrigues, A.C. da S. Figueiredo, óleos essenciais de folhas de diversas espécies: Propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas, Rev. Cienc. Agron. 47 (2016) 213–220. doi:10.5935/1806-6690.20160025.
- [35] L. Gobbo-neto, N.P. Lopes, Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários, Quim. Nov. 30 (2007) 374–381. doi:10.1590/S0100-40422007000200026.
- [36] F.S.N. Taveira, W.N. De Lima, E.H.A. Andrade, Seasonal essential oil variation of *Aniba canelilla*, Biochem. Syst. Ecol. 31 (2003) 69–75.
- [37] K.M. Bowes, V.D. Zheljazkov, Factors Affecting Yields and Essential Oil Quality of *Ocimum sanctum* L. and *Ocimum basilicum* L. Cultivars, J. Amer. Soc. Hort. Sci. 129 (2004) 789–794.
- [38] F.F. Boyom, V. Ngouana, P.H. Amvam Zollo, C. Menut, J.M. Bessiere, J. Gut, P.J. Rosenthale, Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants, Phytochemistry. 64 (2003) 1269–1275. doi:10.1016/j.phytochem.2003.08.004
- [39] H. Coté, M.-A. Boucher, A. Pichette, J. Legault, Anti-Inflammatory, Antioxidant, Antibiotic, and Cytotoxic Activities of *Tanacetum vulgare* L. Essential Oil and Its Constituents, Medicines. 4 (2017) 34. doi:10.3390/medicines4020034.
- [40] T. Ishikawa, R. dos S. Donatini, I.E.C. Diaz, M. Yoshida, E.M. Bacchi, E.T.M. Kato, Evaluation of gastroprotective activity of *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Myrtaceae) leaves in rats, J. Ethnopharmacol. 118 (2008) 527–529. doi:10.1016/j.jep.2008.05.007.
- [41] M. E. A. Stefanello, A.C.R.F. Pascoal, M.J. Salvador, Essential oils from neotropical Myrtaceae: Chemical diversity and biological properties, Chem. Biodivers. 8 (2011) 73–94. doi:10.1002/cbdv.201000098.
- [42] Y.R. Karina Ríos, A.J. Carolina Otero, D.H. Lorena Muñoz, M.R. Echeverry, S.R. María Robledo, M.C. Alejandra Yepes, Actividad citotóxica y leishmanicida in vitro del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. 37 (2008) 200–211. www.farmacia.unal.edu.co.

- [43] N.F. Leite, C.E. Sobral-Souza, R.S. Albuquerque, D.I. V. Brito, A.K.L.S. Lavor, L.B.B. Alencar, S.R. Tintino, J.V.A. Ferreira, F.G. Figueredo, L.F. Lima, F.A.B. Cunha, A.I. Pinho, H.D.M. Coutinho, Actividad antiparasitaria in vitro citotóxica de cariofileno y eugenol contra *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania brasiliensis* eugenol, Rev. Cuba. Plantas Med. 18 (2013) 522–528.
- [44] T.M. de Miranda, L.C.C. Malaquias, P.M.F. Escalda, K.C. Ramalho, W. Coura-Vital, A.R. da Silva, R. Corrêa-Oliveira, A.B. Reis, Descriptive study of American tegumentary leishmaniasis in the urban area of the Municipality of Governador Valadares, Minas Gerais State, Brazil, Rev. Pan-Amazônica Saúde. 2 (2011) 27–35. doi:10.5123/S2176-62232011000100003.
- [45] K.A. da F. Rodrigues, L.V. Amorim, C.N. Dias, D.F.C. Moraes, S.M.P. Carneiro, F.A. de A. Carvalho, *Syzygium cumini* (L .) Skeels essential oil and its major constituent α - pinene exhibit anti- *Leishmania* activity through immunomodulation in vitro, J. Ethnopharmacol. 160 (2015) 32–40. doi:10.1016/j.jep.2014.11.024.
- [46] M.L. Duarte, M. carrijo Rochael, Perfil histopatológico e imuno-histoquímico da leishmaniose tegumentar americana com ênfase nos dendrócitos dérmicos, An Bras Dermatol. 81 (2006) 541–548.
- [47] P.R.T. Romão, R.D.O. Dias, K.K. Cruz, C. Biológicas, F.C. De Souza, M.C. Monteiro, L. De Imunologia, Leishmaniose : Resposta Imune e Mecanismos, Rev. Pesqui. e Extensão em Saúde. 2 (2007) 1–10.
- [48] M. Ramos, M. F amos, A.C.. Siani, M.C.. Souza, E.C.. Rosas, M.G.M.O. Henriques, Evaluation of the Anti-inflammatory Activity of Essential Oils from Five Myrtaceae Species, Rev. Fitos. 2 (2006) 9.
- [49] S.M.M. da Silva, C.R.R. Costa, G.M. Gelfuso, E.N.S. Guerra, Y.K. de M. Nóbrega, S.M. Gomes, A. Pic-Taylor, Y.M. Fonseca-Bazzo, D. Silveira, P. de O. Magalhães, Wound Healing Effect of Essential Oil Extracted from, Molecules. 24 (2019) 16. doi:10.3390/molecules24010002.
- [50] K.A. da F. Rodrigues, L.V. Amorim, J.M.G. de Oliveira, C.N. Dias, D.F.C. Moraes, E.H. de A. Andrade, J.G.S. Maia, S.P. Carneiro, F.A. de A. Carvalho, *Eugenia uniflora* L . Essential Oil as a Potential Anti- *Leishmania* Agent : Effects on *Leishmania amazonensis* and Possible Mechanisms of Action, Evidence-Based Complement. Altern. Med. 2013 (2013) 10.
- [51] F. Almeida-Souza, N.N. Taniwaki, A.C.F. Amaral, C.D.S.F. De Souza, K.D.S. Calabrese, A.L. Abreu-Silva, Ultrastructural Changes and Death of *Leishmania infantum* Promastigotes Induced by *Morinda citrifolia* Linn. Fruit (Noni) Juice Treatment, Evidence-Based Complement. Altern. Med. 2016 (2016) 1–9. doi:10.1155/2016/5063540.
- [52] A.O. dos Santos, T. Ueda-Nakamura, B.P.D. Filho, V.F. da V. Junior, C.V. Nakamura, Copaiba oil: An alternative to development of new drugs against leishmaniasis, Evidence-Based Complement. Altern. Med. 2012 (2012) 7. doi:10.1155/2012/898419.
- [53] I.G. Demarchi, M.V. Thomazella, M. de S. Terron, Z.C.G. Lilian Lopes a, D.A.G. Cortez, L. Donatti, S.M.A. Aristides, T.G.V. Silveira, M.V.C. Lonardoní., Antileishmanial activity of essential oil and 6 , 7-dehydroroleanone isolated from

Tetradenia riparia, *Exp. Parasitol.* J. 157 (2015) 128–137.
doi:10.1016/j.exppara.2015.06.014.

- [54] G.J. Myatt, E. Ahlberg, Y. Akahori, D. Allen, A. Amberg, L.T. Anger, A. Aptula, S. Auerbach, L. Beilke, P. Bellion, R. Benigni, J. Bercu, E.D. Booth, D. Bower, A. Brigo, N. Burden, Z. Cammerer, M.T.D. Cronin, K.P. Cross, L. Custer, M. Dettwiler, K. Dobo, K.A. Ford, M.C. Fortin, S.E. Gad-McDonald, N. Gellatly, V. Gervais, K.P. Glover, S. Glowienke, J. Van Gompel, S. Gutsell, B. Hardy, J.S. Harvey, J. Hillegass, M. Honma, J.H. Hsieh, C.W. Hsu, K. Hughes, C. Johnson, R. Jolly, D. Jones, R. Kemper, M.O. Kenyon, M.T. Kim, N.L. Kruhlak, S.A. Kulkarni, K. Kümmerer, P. Leavitt, B. Majer, S. Masten, S. Miller, J. Moser, M. Mumtaz, W. Muster, L. Neilson, T.I. Oprea, G. Patlewicz, A. Paulino, E. Lo Piparo, M. Powley, D.P. Quigley, M.V. Reddy, A.N. Richarz, P. Ruiz, B. Schilter, R. Serafimova, W. Simpson, L. Stavitskaya, R. Stidl, D. Suarez-Rodriguez, D.T. Szabo, A. Teasdale, A. Trejo-Martin, J.P. Valentin, A. Vuorinen, B.A. Wall, P. Watts, A.T. White, J. Wichard, K.L. Witt, A. Woolley, D. Woolley, C. Zwickl, C. Hasselgren, *In silico toxicology protocols*, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 96 (2018) 1–17. doi:10.1016/j.yrtph.2018.04.014.
- [55] V. A. Daina; M. Olivier; Z. Swiss, ADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug- likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, *Sci. Rep.* 7 (2017) 42717. doi:10.1038/srep42717.
- [56] CRPM, Serviço Geológico do Brasil, <http://geobank.cprm.gov.br/>. Accessed on 25.09.2018 by GEOBANK.

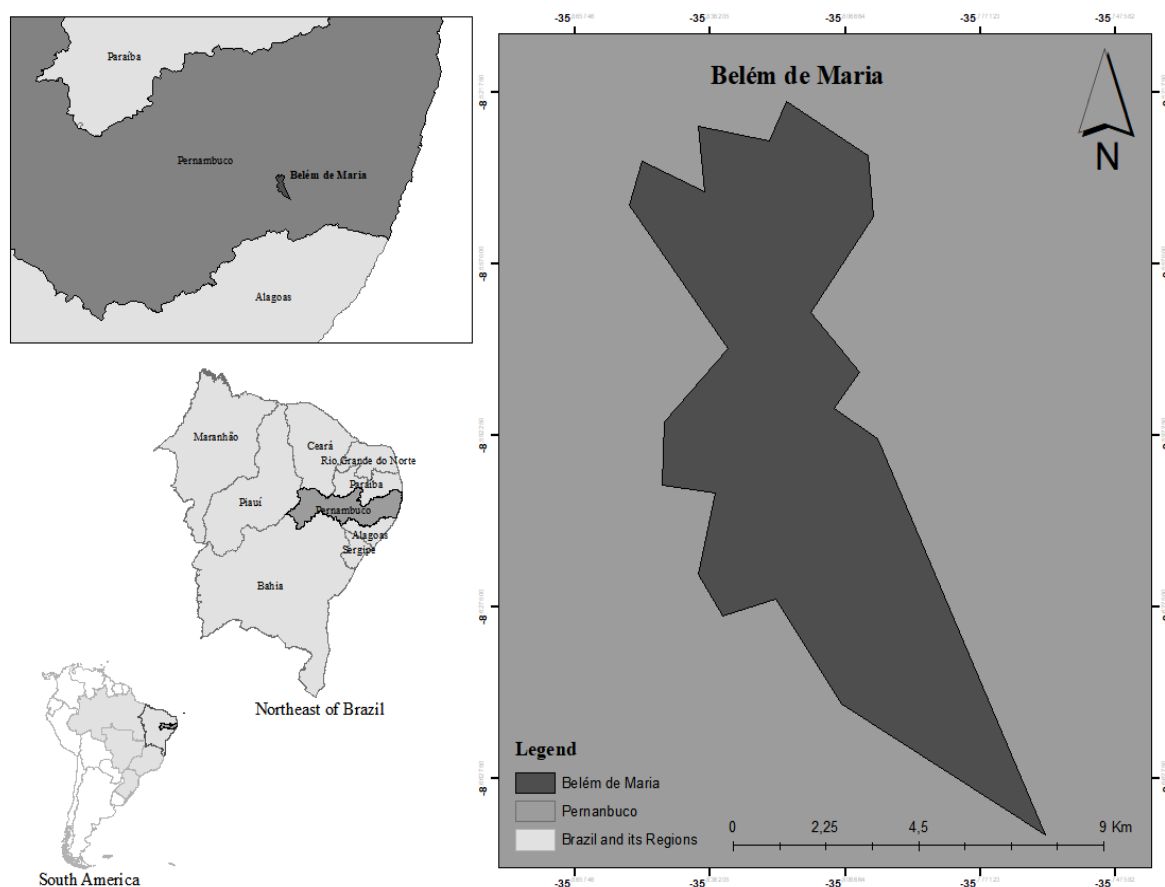


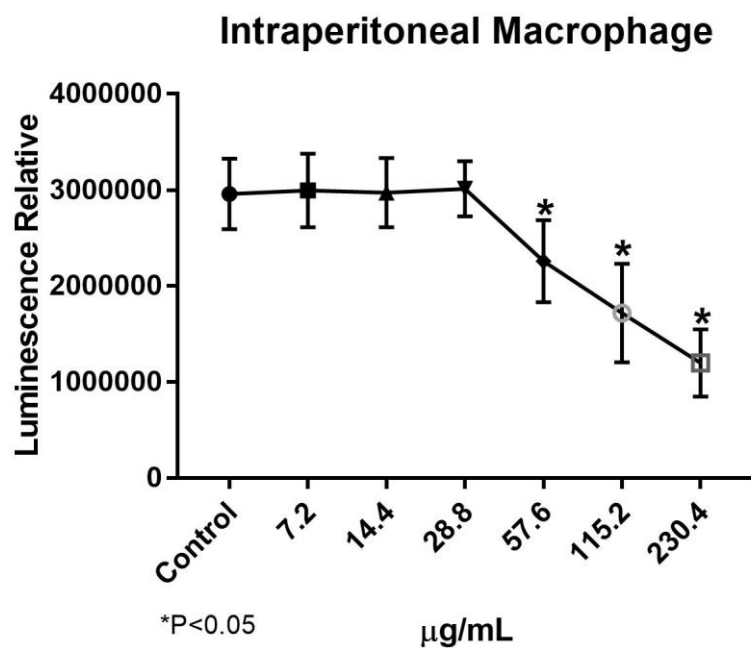
Fig. 1. Description of the region of collection of the essential oil of *Plinia cauliflora*. The city of Belém de Maria described cartographically. South America (Brazil) in the Northeast region of the southern forest area of the state of Pernambuco by the Software Arcgis and Geological Service of Brazil [56].

Table 1Chemical composition of the essential oil of *Plinia cauliflora* leaves

Compounds	IR*	(%)
Caryophyllene	1494	24.04
Eudesmol	1624	8.00
2-Naphthalenemethanol[decahydro-.alpha]	1593	8.00
Calamenene	1527	6.69
2-Naphthalenemethanol	1598	5.84
Bicyclogermacrene	1497	5.46
Germacrene D	1480	4.07
Copaene	1375	3.33
Cyclohexanemethanol	1522	2.60
Caryophyllene oxide	1507	2.52
β -Pinene	943	2.44
α -Caryophyllene	1579	1.92
Aromadendrene	1386	1.86
Octatriene	976	1.84
Spathulenol	1536	1.64
Cadinadiene	1452	1.63
Naphthalene[1,2,3,4,4a,7-hexahydro]	1536	1.47
Cyclohexene	377	1.29
tau-Murolol	1580	1.06
Ledol	1530	1.05
α -Cubebene	1344	0.97
Cyclohexane	1398	0.88
Eucalyptol	1032	0.88
Ledol	1030	0.88
Total compounds (%)		96

*IR (Retention Indices) of the compounds compared to the NIST08, Pherobase libraries and Adams [28].

A



B

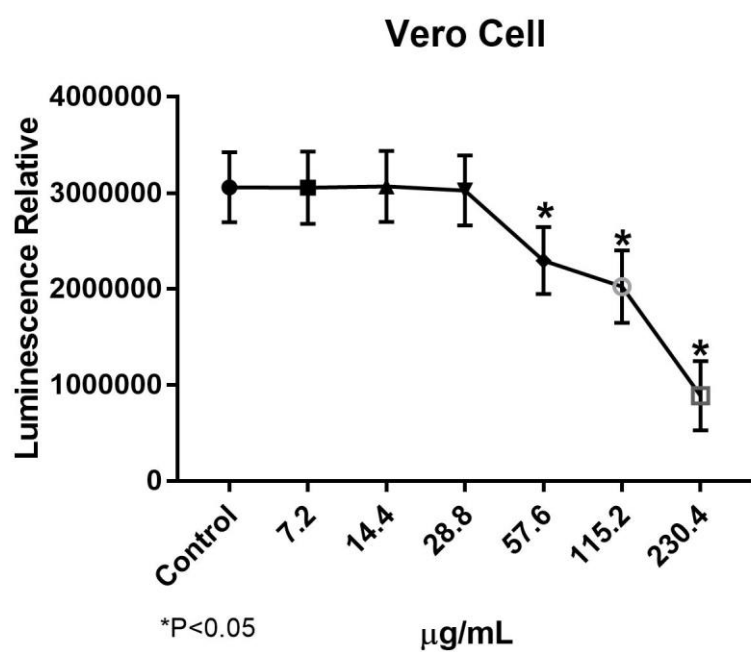
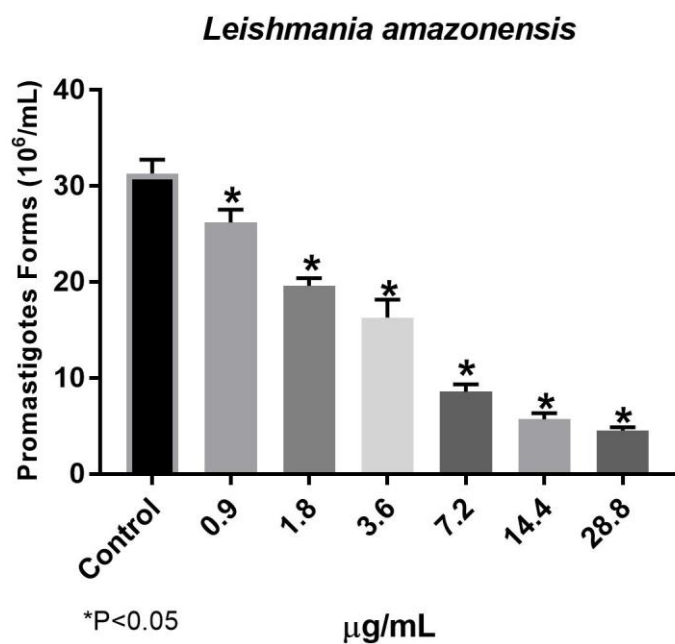


Fig. 2. Effect on mammalian cells incubated in the absence or presence of different concentrations of essential oil of *Plinia cauliflora*. (A) Peritoneal macrophages and (B) Vero cells. *Significant difference of each group compared to the control group $p < 0.05$).

A



B

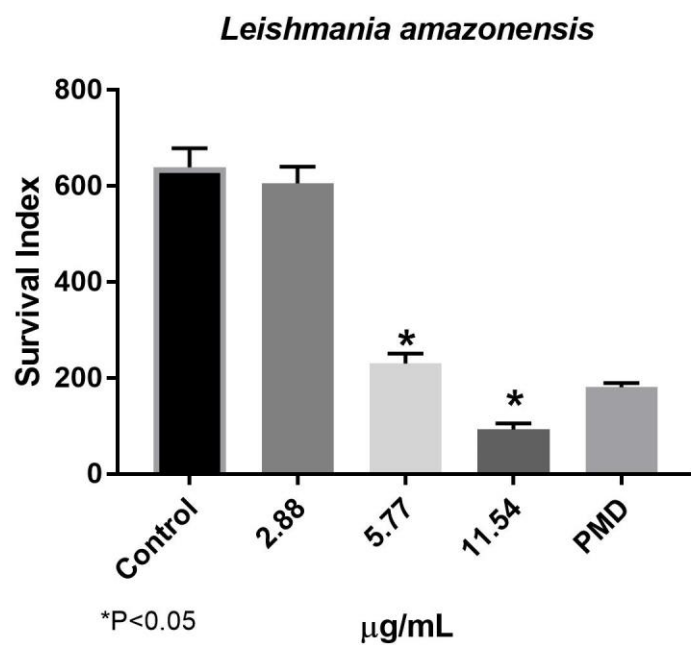
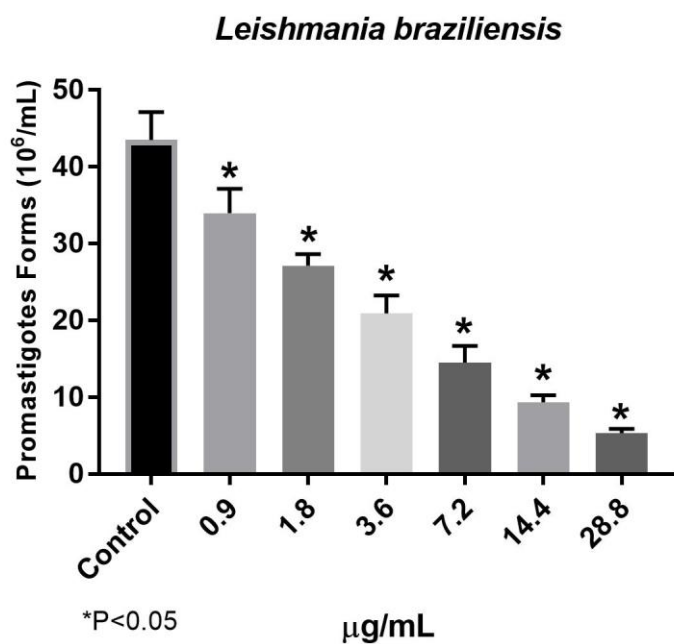


Fig.3. Effects of essential oil of *Plinia cauliflora* on *Leishmania amazonensis* promastigote (A) and amastigota forms (B). Each bar represents the mean $\pm$ standard deviation of three independent experiments in triplicate. *Significant difference of each group compared to the control group ($p \leq 0.05$).

A



B

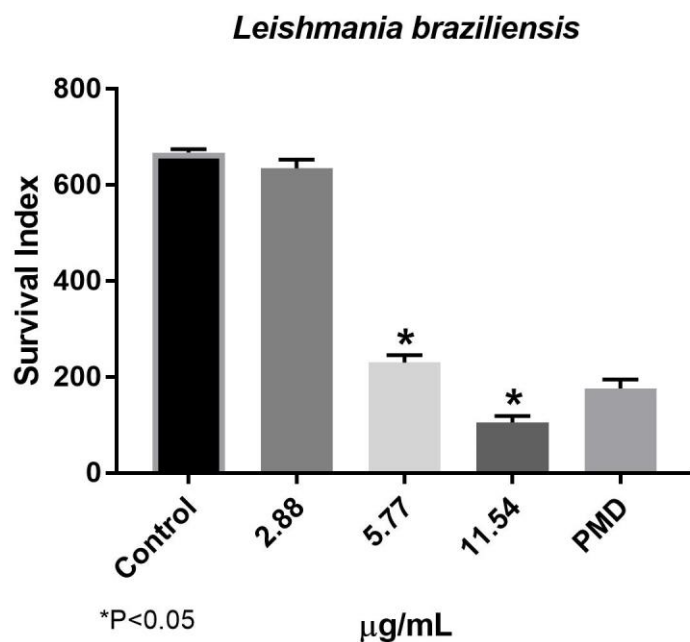


Fig. 4. Effects of essential oil of *Plinia cauliflora* on *Leishmania braziliensis* promastigote (A) and amastigote forms (B). Each bar represents the mean $\pm$ standard deviation of three independent experiments in triplicate. *Significant difference of each group compared to the control group ($p \leq 0.05$).

Table 2.

Index of selectivity of the essential oil of *Plinia cauliflora* on *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis*

	CC ₅₀	<i>Leishmania</i> Species	Promastigote			Amastigote		
			IC ₅₀	IS _{MØ}	IS _{VC}	IC ₅₀	IS _{MØ}	IS _{VC}
MØ	137.48±4.6	<i>Leishmania amazonensis</i>	5.77±0.9	23.81	24.78	7.31±0.5	18.80	19.66
Vero Cell	143.73±3.4	<i>Leishmania braziliensis</i>	5.60±1.7	24.53	25.53	7.26±0.1	18.93	19.79

IS_{MØ}– Macrophage Selectivity Index; **IS_{VC}**– Vero Cell Selectivity Index; **IC₅₀**– Concentration capable of inhibiting the development of 50% of cells; **CC₅₀**– Cytotoxic concentration capable of inhibiting the development of 50% of cells.

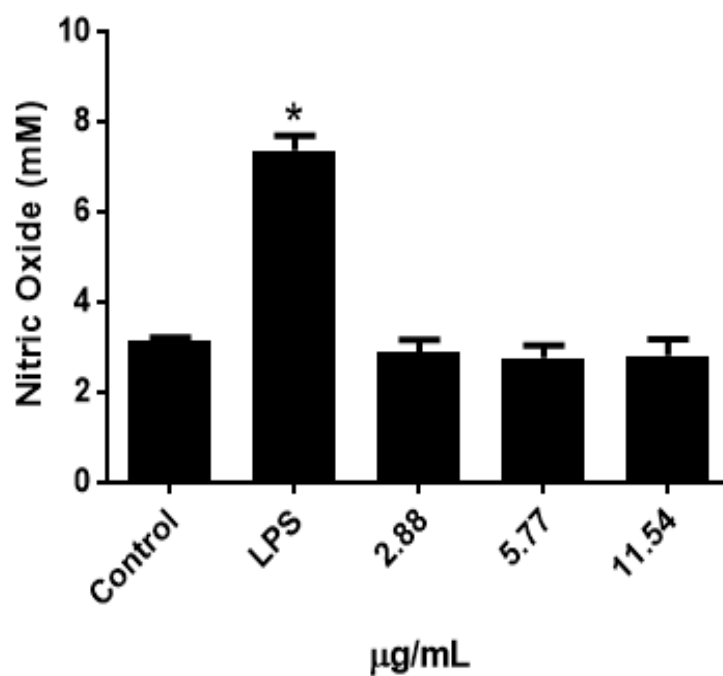


Fig. 5. Effect of the essential of *Plinia cauliflora* on the induction of nitric oxide by Macrophages. Each bar represents the mean $\pm$ standard deviation of three independent experiments in triplicate.* Significant difference of each group compared to the control group ($p \leq 0.05$).

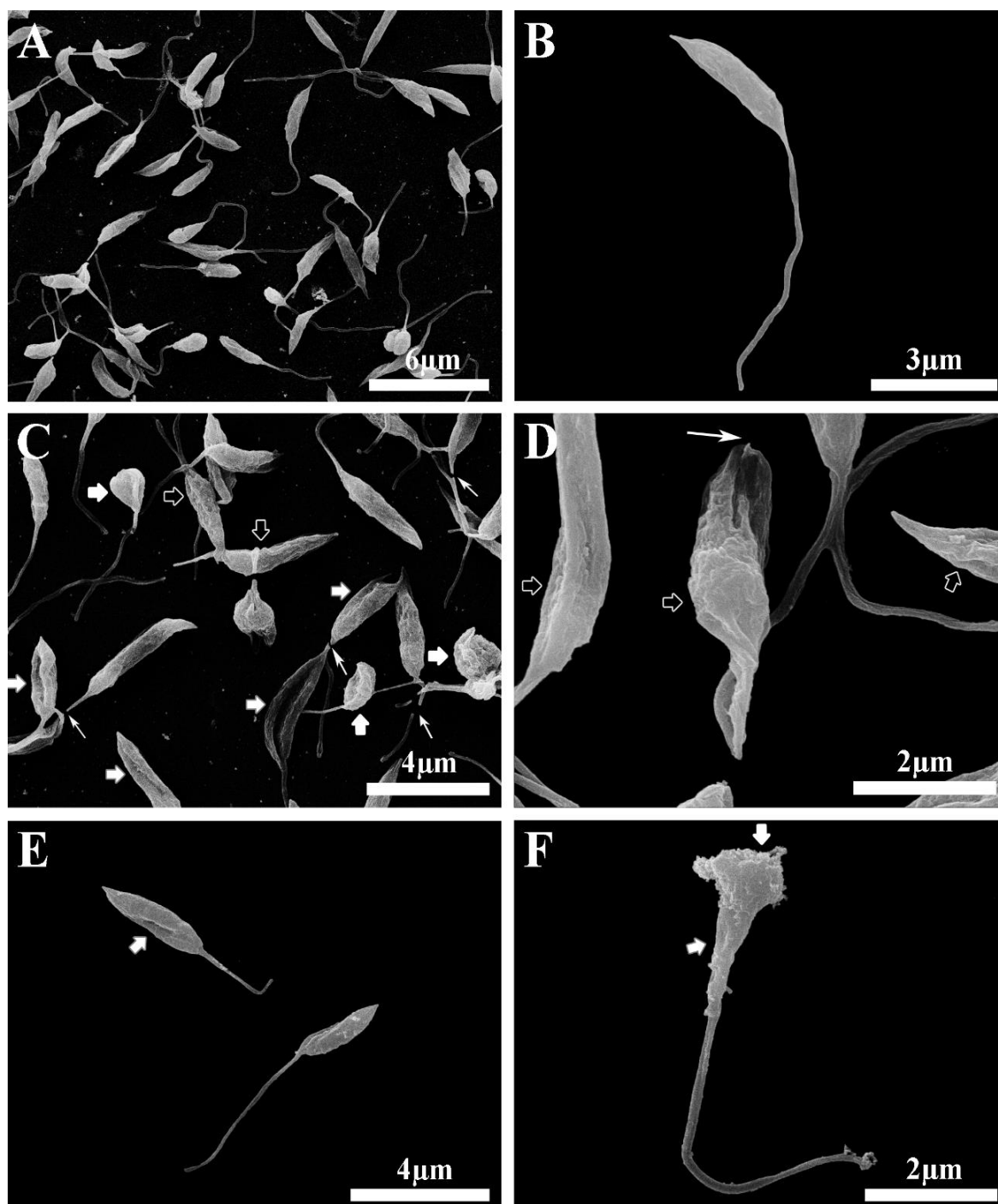


Fig. 6. Ultrastructural assay on *Leishmania amazonensis*. Negative control (A and B). Treatment with the essential oil of *Plinia cauliflora* 1x IC₅₀ (C and D) and 2 x IC₅₀ (E and F). Thick white arrows: Reduction of the cellular body; Black arrows with white outline: Wrinkled membrane; White arrow with gray outline: Plasma membrane depression; Coarse arrow Gray with white outline: Plasma membrane with perforation / rupture of plasma membrane; Thin arrow: Breaking the flagellum.

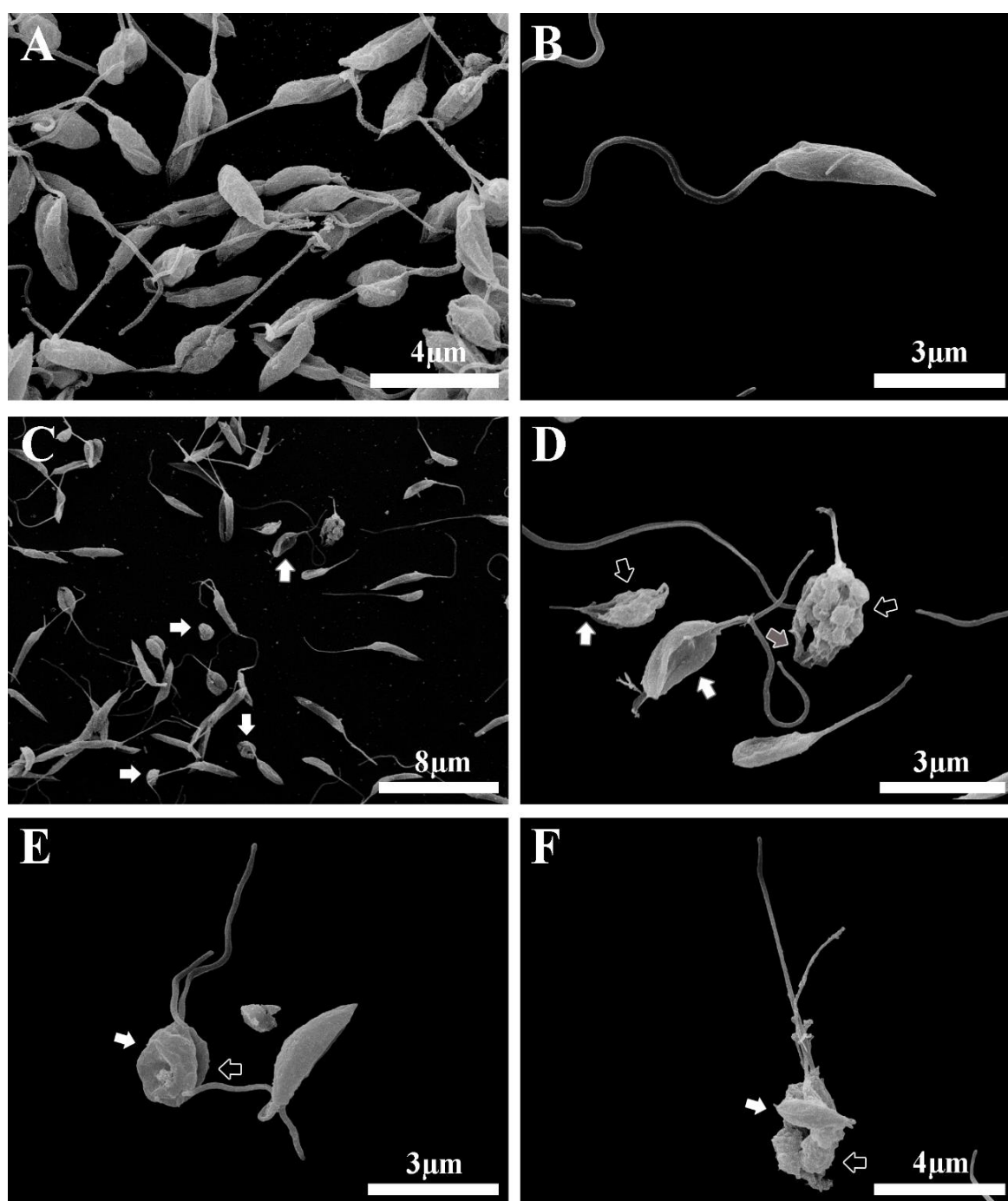


Fig. 7. Ultrastructural assay on *Leishmania braziliensis*. . Negative control (A and B). Treatment with the essential oil of *Plinia cauliflora* 1x IC₅₀ (C and D) and 2 x IC₅₀ (E and F). Thick white arrows: Reduction of the cellular body; Black arrows with white outline: Wrinkled membrane; White arrow with gray outline: Plasma membrane depression; Coarse arrow Gray with white outline: Plasma membrane with perforation / rupture of plasma membrane; Thin arrow: Breaking the flagellum

Table 3

ADMET and prediction of the toxicity profile of the main compounds of the essential oil of *Plinia cauliflora*

Parameter	CAR	EUD	2-NAPH	CAL
	Result	Result	Result	Result
Physicochemical properties				
HBA (≤ 10)	0	1	1	0
HBD (≤ 5)	0	1	1	0
ClogP (≤ 5)	3.29	3.19	3.11	3.19
MW (≤ 500)	204.35	222.37	222.37	202.34
	g/mol	g/mol	g/mol	g/mol
n-ROTB (≤ 10)	0	1	1	1
Absorption				
BBB	No	Yes	Yes	No
HIA	Low	High	High	Low
P-GP substrate	No	No	No	No
Metabolism				
CYP450 2C9 inhibitor	Yes	No	Yes	No
CYP450 2D6 inhibitor	No	No	No	Yes
CYP450 2C19 inhibitor	Yes	No	No	No
CYP450 3A4 inhibitor	No	No	No	No
CYP450 1A2 inhibitor	No	No	No	No
Toxicity				
Mutagenic	No	No	No	No
Tumorigenic	No	No	No	No

Irritant	No	No	No	No
DL ₅₀	5000	5000	2000	1710
	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg
Frequency of target class				
Enzyna	33%	13%	80%	20%
Transporter	47%	47%	0%	47%
Membrane Receptor	7%	20%	0%	27%
Others	13%	20%	20%	7%

ADMET: Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity. CAR: Caryophyllene; EUD: Eudesmol; 2-NPH: 2-Naphthalenemethanol[decahydro.alpha]; CAL: Calamenene. **Physicochemical properties** - HBA: Number of hydrogen bond acceptors; HBD: Number of hydrogen donors; ClogP: logarithm of partition coefficient between octanol and water (lipophilicity); MW: Molecular Weight; n-ROTB: Number of rotatable connections. **Absorption** - BBB: Blood-brain barrier; HIA: Gastrointestinal absorption; P-gp: permeability glycoprotein. **Metabolism** - CYP450: Cytochrome P450 enzyme; **Toxicity** - DL₅₀: Lethal dose in 50%.

3.2 ANTIDIARRHOEAL, ANTIPYRETIC AND ANTINOCIPETIVE PROPERTIES OF METHANOL ACIDIFICATED EXTRACT OF *Plinia cauliflora* (MART.) KAUSEL EPICARP

Thaise Gabriele da Silva Brito^a, Tiago Ferreira da Silva Araújo^b, Janaína Karin de Lima Campos^c, Pâmella Grasielle Vital Dias de Souza^a, Bianka Santana dos Santos^c, Nicácio Henrique da Silva^a, Vera Lúcia de Menezes Lima^a

^aDepartamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Brazil.

^bColegiado de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Vale do São Francisco.

^cColegiado de Medicina. Núcleo de Ciências da Vida, Universidade Federal de Pernambuco.

Abbreviations: AINEs, non-steroidal anti-inflammatory drugs, CEUA, Animal Use Ethics Committee, AMPc, adenosina 3',5'-monofosfato cíclico, CMC, Carboximethyl cellulose; LIKA, Laboratory of Immunopathology Keizo Asami; LH, Loperamide; DC, Distance travelled; LHI, Length of small intestine; CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

*Corresponding Author: Vera Lúcia de Menezes Lima. Av Prof. Moraes Rêgo, 1235, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brazil. CEP: 50670-901. Telephone: +558121268540.

E-mail. lima.vera.ufpe@gmail.com.br.

Abstract

Background: *P. cauliflora* has been used by traditional medicine for the treatment of diarrhea, inflammatory and respiratory problems. The present study aimed to investigate the anti-diarrheal, antipyretic and antinociceptive properties of the acidic metanolic extract of the jabuticaba epicarp (MeOHPc) in animal models.

Study design: The study investigated the action of MeOHPc in mice from antidiarrheal effects (castor oil-induced diarrhea), antinociceptive effect (pain was induced by 0.8% acetic acid and a hot plate of approximately 55 ± 1.0 °C), and the antipyretic effect (beer yeast induced fever). The animals were randomized into groups. For the positive group in the antidiarrheal evaluation, loperamide (2mg / kg), atropine (0.25 mg/mL). For the positive group in the antipyretic evaluation was used Paracetamol (150 mg / kg) and in the antinociceptive evaluation was Acetylsalicylic Acid (100 mg / kg) and morphine (5 mg / kg). MeOHPc was evaluated at (200 and 400 mg / kg) and all tests had the negative group (vehicle).

Methods: The test models (normal defecation, castor oil-induced diarrhea, enteropooling and intestinal transit) were used to investigate the properties of MeOHPc in mice, anti-pyretic activity was used the subcutaneous application of brewer's yeast at 20%, for febrile process formation, and antinociceptive, the test models (abdominal contortion and hot plate) were also investigated by chromatography in each thin, the chemical composition of the extract.

Results: In the Castor oil-induced diarrhea test, oral pretreatment with MeOHPc doses (200 and 400 mg/kg) significantly reduced the number of diarrheal feces in 82% and 96.6%, respectively. In the enteropooling test, the oral treatment group at doses of 200 and 400 mg / kg significantly reduced the intestinal fluid accumulation in the values of 50% and 63.2%, respectively, when compared to the negative control. In the evaluation of the intestinal transit of the test group of 200 and 400mg/kg, it promoted a significantly lower percentage (17.5% and 9.5%, respectively) when compared to the negative control. For the abdominal writhing test, the test group of 200 and 400 mg/kg presented a percentage of pain reduction in 54.9% and 65%, and the hot plate test showed significant increase in the latency time in both doses from 90 min for the 200mg/kg dose and 60 min for the 400 mg/kg dose as compared to the negative control.

Conclusion: In this way, it is concluded that the bark *Plinia cauliflora* presents biotechnological applications anti-diarrheal, antipyretic and antinociceptive, which could contribute to the development of new herbal products.

Keywords: *Plinia cauliflora*, diarrhea, fever, pain.

1.Introduction

There is a tremendous increase in the use of medicinal plants products for various health benefits over the past few decades.¹ The incessant search for drugs that cause fewer side effects to the human body has aroused interest for years to science. Popularly used for its therapeutic actions since antiquity, medicinal plants have been an alternative treatment for several pathologies, since they are low cost and more accessible.^{2,3}

These medicinal plants present bioactive substances in their composition that act by providing beneficial effects varying to human health⁴, such as antidiarrhoeal⁵, analgesic⁶ and antipyretic⁷. These plant materials can be used to manage them economically with fewer side effects when compared to modern medicines. In the current scenario, fruits are one of the most important categories having medicinal and nutritional properties⁸.

The Myrtaceae family, due to the great presence of fruit species or their biological properties already identified as analgesia, anti-inflammatory, antioxidant, anti-diarrheal and antidiabetic, is highlighted due to the ennoblement of the northeast Brazilian economy^{9,10}. *Plinia cauliflora* fruit, popularly jabuticaba, also known as “brazillian berry” is a small dark colored fruit native to Brazil belongs to the Myrtaceae family¹¹. The epicarp, which is commonly not consumed, concentrates large amounts of anthocyanins¹² and phenolic compounds¹³.

In recent years, several studies have suggested that a diet supplementation with fruits rich in phenolic compounds may be associated to health benefits¹⁴. This has driven the development of research involved with the production of therapeutic products derived from popular medicine. In this aspect, the fruits of *Plinia cauliflora* have been used in folk medicine for the treatment of diarrhea¹⁵.

Diarrhea, a symptom that especially affects children is considered one of the biggest health problems in the world, taking about 1.5 million deaths a year. This symptom is characterized by changes in consistency or number of bowel movements and is usually caused by biological agents (bacteria, viruses, parasites), medications (antacids, anticancer drugs and antibiotics), as well as some functional disorders (Crohn's disease)¹⁶. Northeastern Brazil is considered one of the regions that most present outbreaks of diarrhea, mainly in inland municipalities¹⁷.

Diarrhea may be associated with pain and fever. Nociception or pain refers to the unpleasant emotional as well as sensory events associated with tissue damage. The mechanical, thermal and chemical stimuli of pain in the diarrhea can lead to the development

of other pathological conditions such as inflammation, which promotes tissue damage⁵. Therefore, due to the incidence of numerous cases of diarrhea and the constant scientific search for alternative medicines that present less damage to the body and prolonged and beneficial effects, there is interest in evaluating and exploiting biological properties not yet discovered in different extracts, such as Acidic methanolic extract from the epicarp of the fruit of the jaboticaba. Thus, this study aims to investigate the anti-diarrheal, antipyretic and anti-nociceptive properties of the acidified methanolic extract of the epicarp of *Plinia cauliflora*.

2 .Results

3.1 Phytochemical analysis

The analysis of the MeOHPC of the fruit bark of *Plinia cauliflora* revealed the presence of flavonoids, phenylpropanoids and triterpenes as shown in (Table 1).

2.2.Acute Toxicity Assay

The oral administration of 2000 mg/kg of the MeOHPC did not produce mortality. In the first 15 minutes showed a slight agitation and piloerection effect. After 30 minutes, it presented a moderate effect of drowsiness. At the following hours the animals had no depressant or central nervous system stimulant effects. The follow-up of the test was during a period of 15 days, where daily the possibility of behavior change was analyzed. After the fifteenth day in the behavioral observation, the biochemical parameters analyzed in the blood, did not present significative alterations.

2.3.Normal Defecation Model

After 1 hour of administration of MeOHPC a significant reduction in the number of feces produced by the animals was observed. Treatment at doses of 200 and 400mg/kg reduced stool numbers by 32.2% and 39.9%, respectively ($p < 0,05$). The group of animals treated with loperamide (2mg/kg) obtained a 72% reduction in the number of feces.

2.4.Castor Oil-Induced Diarrhea

Beaver oil promoted abundant diarrhea in all mice in the negative control group after 4 hours. Pre-treatment with both MeOHPc doses (200 and 400 mg / kg) significantly reduced the number of wet stools by 82% and 96.6%, respectively (Table 2). Loperamide treatment also significantly reduced the number of wet stools by 78.1%.

2.5. Enteropooling Model

In the enteropooling model after collection of the small intestine it was observed that the administration of castor oil caused a considerable increase of intestinal fluids (Figure 1). The negative control group (vehicle) was compared to the test and positive control groups, both of which demonstrated significant reductions in the fluid accumulation induced by beaver oil, with values of 50% and 63.2% for treatment with 200 and 400 mg / kg, respectively. Treatment with atropine sulfate (positive control) promoted a significant reduction of 55.6% of intestinal fluid.

2.6. Charcoal Meal Model

In the intestinal motility test it was possible to observe that the intestinal lengths remained with approximate measures. The treatment in the test group at both doses showed a significant reduction of the space (cm) covered by activated charcoal, 9.7 ± 0.4 and 6.0 ± 0.7 (200 and 400 mg / kg, respectively), as shown in (Table 3). Thus, demonstrated that treatment with MeOHPc at doses of 200 and 400 mg / kg promoted a significantly lower percentage of intestinal transit (17.5% and 9.5%, respectively), when compared to the negative control group (79.3%).

2.7. Yeast Induced Pyrexia Model

Beer yeast-induced pyrexia in mice is reduced with the treatment as shown in Table 4. The standard drug paracetamol showed a significant reduction in temperature values in all times investigated. There was also a significant reduction in rectal temperature in the MeOPc treated groups (200 and 400 mg / kg) as compared to the control group at all times.

2.8. Abdominal Writhing Model

The application of acetic acid caused numerous contortions in the mice as shown in Figure 1. A significant reduction of 88.3% of such contortions in the ASA-treated groups was observed, while in the groups treated with MeOHPC at doses of 200 and 400 mg / kg, there was significant reduction of 54.9% and 65%, respectively.

2. 9. Test Hot Plate

The effect of MeOHPC (Figure 2) showed a significant increase in latency time ($p < 0.001$) at both doses, from 90 min for the 200 mg / kg dose and 60 min for the 400 mg / kg dose when compared to the negative control. Morphine showed protective effect at the dose of 10 mg / kg, from 60 minutes and provided its effect until the end of the observation

3. Discussion

Several studies have validated the medicinal use of plants by evaluating the effects of these plants on intestinal transit and water and electrolyte secretion using experimental models²⁵. Therefore, this study was conducted to evaluate the antidiarrheal effect of *Plinia cauliflora* fruits using antidiarrheal test models in mice.

As shown in table 1, phytochemical analysis of the MeOHPC revealed the presence of flavonoids, phenylpropanoids and terpenes. The existence of these metabolites was also demonstrated by Souza-Moreira et al (2011)²⁶; Chang et al (2018)²⁷, using extracts of the jaboticaba fruit. These classes of secondary metabolites are considered of great importance because they have several biological properties, such as antioxidants, anticancer, anti-inflammatory, analgesic, antispasmodic and for treatment of diarrhea^{28,29,30}.

Several processes may initiate diarrhea, among them are the increase of intestinal lumen osmolarity, greater luminal release of electrolytes, reduction in electrolyte absorption and altered intestinal transit³¹. Experimentally, castor oil has been used for the induction of diarrhea¹⁷. This oil promotes irritation of the intestinal mucosa through the release of prostaglandins and consequent reduction of the absorption of electrolytes, which promotes increased intestinal motility³². In our study, castor oil effectively induced diarrhea in mice. In addition, MEOHPC presented a therapeutic effect against the changes promoted by castor oil.

The therapeutic effect of MEOHPC was related to reduction in stool formation in mice. Sarkar et al., (2019)⁵ suggested that the use of phenolic compounds may promote

reduction in secretion and intestinal motility. MeOHPC is composed of phenolic compounds, such as flavonoids, phenylpropanoids and terpenes. Therefore, it is possible that these compounds present in MeOHPC may be associated with the antidiarrheic effect observed in this study.

These data corroborate with results obtained by Ifeanyi and Aruh (2014)³³ who demonstrated that *Palisota hirsuta* extract decreased motility and passage of pastous feces in an experimental model of castor oil-induced diarrhea. The antidiarrheic effect of *Myrtus communis* was also evidenced by an improvement in the frequency of bowel movements and the consistency of feces in animals that received castor oil³⁴.

Similar of the findings of MeOHPC in the treatment of castor oil-induced diarrhea, Sarkar et al. (2019)⁵ demonstrated that all doses of the treatment with methanolic extract of *Justicia schimperiana* showed a significant reduction in both the mean of number of stools and the volume of intestinal fluid compared with negative controls. In this study, the reduction in volume of intestinal content was increased with the dose of the extract. This effect was also observed for treatment with MEOHPC. The antidiarrhoeal effect of the methanol extract of *Justicia schimperiana* was also associated with the presence of phenolic compounds such as flavonoids and terpenoids⁵.

Recently, Mekonnen et al. (2019)³⁰ reported that a therapeutic agent can be considered antidiarrheic since it promotes reduction in intestinal secretion or acts in intestinal motility. The elevation of intestinal fluid secretion in the diarrhea results from active chloride (Cl^-) secretion by intestinal epithelial cells (enterocytes) into the intestinal lumen. This involves Cl^- entry into cells from the basolateral or blood side via the $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ (NKCC1) cotransporter and exit into the intestinal lumen through cAMP and Ca^{2+} activated Cl^- channels³⁵. MeOHPC was able to act on the intestinal fluidity and we suggest that this effect may be associated with a reduction in the release of electrolytes as well as water. This antidiarrheal effect was also observed after the treatment of loamide with antimuscarinic action and acts on the opioid receptors μ (MU) in the submucosal plexus of the intestine interfering with motility³⁶. Devi et al (2002)³⁷ demonstrated that the methanol extract of *Cleome viscosa* showed significant inhibitory action of the hypersecretion and intestinal fluidity caused by castor oil, thus reporting the antidiarrhoeal potential of this species. The reductive action of intestinal fluid promoted by MeOHPC corroborates with effects observed by other medicinal plants, such as *Bombax buonopozense*³⁸ and *Morinda morindoides*³⁹. These studies correlated the antidiarrhoeal potential of medicinal plants with the presence of phenolic compounds, such as

flavonoids, Thus, it is believed that the antidiarrhoeal effect of MeOHPc may be associated with the presence of phenolic compounds.

Motility and intestinal secretion are controlled by neurotransmitters that may have excitatory action (promote intestinal hypersecretion and greater enteric motility) such as acetylcholine or inhibitory action (promote a decrease in secretion Intestinal tract as well as lower enteric motility) such as noradrenaline⁴⁰. Therefore, the decrease in motility of the intestinal transit was demonstrated in the action of the MeOHPc extract, in which it reduced the intestinal peristaltic movement and consequently the propulsion of the charcoal meal. This effect could be involved with the inhibition of excitatory neurotransmitters causing reduction of the peristaltic movement and consequently the intestinal muscle relaxation, as was observed by Mekonnen et al (2019)³⁰ that associated the presence of phenolic compounds with antidiarrhoeal potential.

The non-specific antidiarrics already produced commercially, has involved mechanism of action on secretion and intestinal motility. Substances such as phenols, flavonoids, glycosides, triterpenes, tannins and saponins have been reported in the literature as being responsible for the antidiarrheic activity^{30,34}. Among these metabolites, the flavonoids that are present in the MeOHPc, have a mechanism responsible for inhibiting secretory activity and intestinal motility, as well as phenylpropanoids (complex phenolics) have adstringent action, and reducing secretion and intestinal transit.

Pyrexia, or induced elevation of temperature with bread yeast, is considered a pathogenic fever, which occurs by the activation of yeast as well as release of pro-inflammatory cytokines. The thermoregulatory center of the hypothalamus is activated and stimulates the secretion of prostaglandins PGE2 and causes the increase in body temperature^{41,42}. This temperature is reduced by antipyretics that act by reducing the expression of cyclooxygenase-2 (COX-2), thus inhibiting the secretion of prostaglandins.

The MeOHPc showed a significant reduction of yeast-induced fever in concentrations (200 and 400mg/kg) when compared to the negative control. The presence of secondary compounds, such as flavonoids, in the extract of *P. cauliflora*, may have desired action on the enzymatic activities of cyclooxygenase and, consequently, inhibition of prostaglandins. This action is justified by studies that reported the ability of flavonoids to act on the biosynthesis of inflammatory mediators, such as the peroxidation of arachidonic acid and consequently reduction of final products of lipoxygenase and prostaglandins^{43,44}. Thus, the antipyretic

effect of MeOHPc may be related to the suppression of inflammatory mediators, derived from the eicosanoid class.

The interference in the biosynthesis of the products derived from eicosanoids, not only has an antipyretic effect, but also antinociceptive. The evaluation of the antinociceptive effect of MeOHPc was initially performed by the abdominal contortion test induced by acetic acid. The process that developed the painful sensation, started from the release of endogenous inflammatory mediators such as bradykinin, serotonin and substance P and the activation of the local peritoneal receptors, in which it produced abdominal contortion and distension of the lower limbs in mice, as reported by Rauf et al (2014)⁴⁵ and Taher et al (2015)⁴⁶. The antinociceptive effect of MeOHPc occurred from the observation of the significant reduction of the abdominal contortion after treatment with the dose of 200 and 400 mg/kg. Thus, it can be suggested that the antinociceptive action of MeOHPc could be related to the blockade of the release of inflammatory mediators, as well as action on peritoneal receptors.

The second Test performed to evaluate the antinociceptive activity of the present study was the hot plate that evaluates the central analgesic pathway of the transmission of pain. In this process, there is activation of supraspmy structures in which it is triggered by the painful thermal stimulus and led by the C fibers activated by the nociceptors VRL-1. This painful sensation is attributed to the inhibitory process of phospholipase A2, which consequently inhibits the breaking of arachidonic acid in metabolites that promote pain, such as prostaglandins^{47,48}.

In order to verify the central analgesic action of the MeOHPc, the hot plate nociceptive test was performed. In this test, it was possible to observe that the treatment with MeOHPc exerted a significant effect on the increase in the latency of animals treated with both doses (200 mg/kg and 400 mg/kg). These results corroborate the scientific reports of therapeutic effects observed through the treatment with extracts produced from other plants of the family Myrtaceae. Asante et al (2019)⁴⁹, Lee et al (2019)⁵⁰, Stamford et al (2019)⁵¹ also observed an increase in the latency of the animals on the painful thermal stimulus, after the use of extracts of plants containing phenolic compounds. Thus, it can be suggested that the phenolic compounds present in MeOHPc are related to the observed antinociceptive potential.

4. Conclusion

The results of the present study suggest that the MeOHPc have promising anti-diarrheal, antinociceptive and antipyretic effects. These results corroborate with the therapeutic use in

the popular medicine of jabuticaba peels, thus presenting a possible candidate to develop a promising phytopharmaceutical with action against diarrhea, fever and pain.

Conflict of interest

The authors declared there is not any conflict of interest.

Funding Statment

This work was supported by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)*.

5. References

- [1] Awortwe, C.; Bruckmueller, H.; Ingolf, C. Interaction of herbal products with prescribed medications: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacological Research*. (2019) *IN PRESS*, 2019.
- [2] Dubreuil, J.D. 2013. Antibacterial and antidiarrheal activities of plant products against enterotoxinogenic *Escherichia coli*. *Toxins*, (5) (2013) 2009-204.
- [3] Martins, M.C., Garlet, T.M.B. Desenvolvendo e divulgando o conhecimento sobre plantas medicinais. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental Santa Maria*. (20) (2016) 1-9.
- [4] Fenaltia, J. M., Baccegaa, B., Mata-Santos, B, Santos, P. C. Scaini, C. J. Diversidade das plantas brasileiras com potencial anti-helmíntico. *Vittalle – Revista de Ciências da Saúde*. (28) (2016) 39-48.
- [5] Sarkar, K. K.; Mitra, T.; Acharyya, R. N.; Sadhu, S.K. Phytochemical screening and evalutaion of the pharmacological activities of ethanolic extract of *Argemone mexicana* Linn. Aerial parts. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, (2019), 1-16.
- [6] Ismail, H. F, Zezi, A. U, Hamza, Y. A, Habib, D. U. Analgesic, anti- inflammatory and antipyretic activities of the methanol leaf extract of *Dalbergia saxatilis* Hook. F in rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology*. (160) (2015) 74- 78.
- [7] Pingsusaen, P., Kunanusorn, P, Khonsung, P., Chiranthanut, N, Panthong, A, Rujjanawate C. Investigation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities

of *Stahlianthus involucratus* rhizome ethanol extract. *Journal of Ethnopharmacology*. (162) (2015) 199-206.

[8] Yadav, M.; Srilekha, K.; Barbhai, M. D.; Maheswari, K. U. Potential health benefit of underutilized fruits: a review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. (7) (2018) 1417-1420.

[9] Faleiro, J. H., Gonçalves, R. C., Santos, M. N. G., D. Silva, D. P., Naves, P. L. F., Malafaia, G. The Chemical featuring, toxicity, and antimicrobial activity of *Psidium cattleianum* (Myrtaceae) leaves. *New Journal of Science*. (8) (2016) 1-8.

[10] Stadnik, A., Oliveira, M. I. U., Roque, N. Levantamento florístico de Myrtaceae no município de Jacobina, Chapada Diamantina, Estado da Bahia, Brasil. *Hoehnea*. (43) (2016) 87-97.

[11] Barros, H.; Bassegio, A. M.; Angolini, C. F. F.; Pastore, G. M.; Cazarin, C. B. B.; Marostica-Junior, M. R. Influence of different types of acids and pH in the recovery of bioactive compounds in Jabuticaba peel (*Plinia cauliflora*), *Food Research International*, (2019), *IN PRESS*.

[12] Paludo, M. C.; Oliveira, L. F.; Hermosin-Gutierrez, I.; Ballus, C. A.; Ribeiro, A. B.; Oliveira, S. B. P.; Godoy, H. T. Extracts of peels and seeds of five varieties of brazilian jabuticaba presente high capacity to deactivate reactive species of oxygen and nitrogen. *Plant Foods for Human Nutrition*, (1) (2019), 1-6.

[13] Furlan, F. P. R.; Stehling, E. G. Draft genome sequence of a multidrug resistant *tet*/IncF-harboursing *Escherichia coli* ST906 obtained from a soil cultivated with jabuticaba (*Plinia cauliflora*). *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, (2019), *IN PRESS*.

[14] Silva, A. P. G.; Spricigo, P. C.; Purgatto, E.; Alencar, S. M.; Jacomino, A. P. *Plinia trunciflora* and *Plinia cauliflora*: two species rich in bioactive compounds, terpenes, and minerals. *Journal of Food Measurment and Characterization*. (2018) 1-11.

[15] Ferreira, A. E.; Ferreira, B. S.; Lages, M. M. B.; Rodrigues, V. A. F.; Thé, P. M. P.; Pinto, N. A. V. D. Produção, caracterização e utilização da farinha da casca de jabuticaba em biscoitos tipo cookie. *Alimentos Nutricionais*, (23) (2012), 603-607.

[16] Asrie, A. B., M, Abdelwuhab, Shewamene, Z., Gelayee, A. D., Adinew, G. M., Birru, E. M. Antidiarrheal activity of methanolic extract of the root bark of *Cordia africana*. *Journal of Experimental Pharmacology*. (8) (2016), 53–59.

[17] Rufino, R., Gracie, R., Sena, A., Freitas, C. M., Barcellos, M. Surtos de diarreia na região Nordeste do Brasil em 2013, segundo a mídia e sistemas de informação de saúde –

Vigilância de situações climáticas de risco e emergências em saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, (21) (2016) 777-788.

[18] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Organization for economic cooperation and development, Paris, (2004), 1-18.

[19] Izzo A. A, Nicoletti M, Giannattasio B, Capasso F. Antidiarrhoeal activity of *Terminalia sericea* Burch ex. DC extracts. In: Capasso F, Mascolo N, editores. Natural drugs and the digestive tract. *Roma: EMSI*, (1992), 223-230.

[20] Robert., A., Nezamis., J. E., Lancaster., C., Hanchar., A. J., Klepper., M. S. Enteropooling assay: A test for diarrhea produced by prostaglandins. *Prostaglandins*. (11) (1976), 809–814.

[21] Yegnanarayan., R., Shrotri., D. S. Comparison of anti-diarrhoeal activity of some drugs in experimental diarrhoea. *Indian Journal of Pharmacology*. (14) (1982), 293–299.

[22] Teotino., U. M., Friz., L. P., Gandini., A., Bella., D. D. Thioderivative of 2-3-dihydro-4H-1,3-benzoxazin-4-one synthesis and pharmacological properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, (6) (1963), 248–250.

[23] Koster, R., Anderson, M., De Beer, E. J. Acetic Acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* (18) (1959), 412-414.

[24] MacDonald, A. D., Woolfe, G., Bergel, F., Morrison, A., Paroli, E., Rinderknecht, H. Analgesis action of pethidine and related compounds. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*. (1) (1946), 4-14.

[25] Al-Snafi, A. E. Arabian medicinal plants for the treatment of intestinal disorders-plant based review. *Journal of Pharmacy*, (8) (2018), 53-66.

[26] Souza-Moreira, T.M., Severi, J. A., Santos, E., Silva, V. Y. A., Vilegas, W., Salgado, H. R. N., Pietro, R. C. L. R. Chemical and Antidiarrheal Studies of *Plinia cauliflora*. *Journal of Medicinal Food*, (14) (2011), 1590–1596.

[27] Chang, S. K.; Alasalvar, C. Superfruits: phytochemicals, antioxidant efficacies, and health effects – a comprehensive review. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, (2018).

[28] Wu, S-B.; Long, C.; Kenelly, E. J. Phytochemistry and health benefits of Jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil. *Food Research International*. (54) (2013), 148-159.

[29] Teixeira, N.; Mello, J.C.S.; Fronza, P.; Batista, L.F.; Paula-Souza, J.; Brandão, M.G.L. Edible fruits from Brazilian biodiversity: a review on their sensorial characteristics versus bioactivity as tool to select research. *Food Research International*, (2019), *IN PRESS*.

- [30] Mekonnen, B.; Asrie, A. B.; Wubneh, Z. B. Antiarrhoeal activity of 80% methanolic leaf extract of *Justicia schimperiana*. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. (2018) (2018), 1-10.
- [31] Camilleri, M.; Sellin, J.H.; Barret, K. E. Pathophysiology, evaluation, and management of chronic watery diarrhea. *Gastroenterology*, (152) (2017), 515-532.
- [32] Tadesse, E.; Engidawork, E.; Nedi, T.; Mengistu, G.; Evaluation of the anti-diarrhoeal activity of the aqueous stem extract of *Lantana camara* Linn (Verbenaceae) in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, (17) 2017), 1-8.
- [33] Ifeanyi, E.G.; Aruh, A. O. Evaluation on anti-diarrheic properties of the aqueous methanolic extract of *Palisota hirsuta* leaves and its fractions using in vivo models. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, (8) (2014), 327-332.
- [34] Sisay, M.; Engidawork, E.; Shibeshi, W. Evaluation of the antidiarrheal activity of the leaf extracts of *Myrtus communis* Linn (Myrtaceae) in mice model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. (17) (2017) 1-11.
- [35] Duan, T.; Cil, O.; Thiagarajah, J. R.; Verkman, A. S. Intestinal epithelial potassium channels and CFTR chloride channels activated in ErbB tyrosine kinase inhibitor diarrhea. *Journal of Clinical Investigation*, (2019), IN PRESS.
- [36] Dhakad, P.K. Phytochemical investigation and anti-diarrheal activity of hydroalcoholic extract of fruits of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. (Cucurbitaceae). *Journal of Molecular and Genetic Medicine*, (11) (2017), 1-6.
- [37] Devi, B. P.; Boominathan, R.; Mandal, S. C. Evaluation of anti-diarrhoeal activity of *Cleome viscosa* L. extract in rats. *Phytomedicine*, (9) (2002).
- [38] Akuodor, G. C.; Muazzam, I.; Usman-Idris, M.; Megwas, U. A.; Akpan, J. L.; Chilaka, K. C.; Okoroafor, D. O.; Osunkwo, U. A. Evaluation of the antidiarrhoeal activity of methanol leaf extract of *Bombax buonoponzense* in rats. *Ibnosina Journal of Medicine and Biomedical Sciences*, (2011), 15-20.
- [39] Maya, M.; Ciongo, K.; Kanyanga, C.; Kabangu, K.; Vlietinck, A. J.; Pieters, L. Antidiarrheal activity of aqueous extract and some isolated flavonoids from *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Readh, (Rubiaceae) leaves in animal model. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, (8) (2019), 131-150.
- [40] HALL, J. E.; GUYTON, A. C. Tratado de fisiologia médica, 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.
- [41] Vieira Junior V. F, Pinto A. C, Maciel, M A.M. Plantas medicinais: cura segura. *Química nova*. (28) (2005) 519-528.

- [42] Pingusaen, P.; Kunanusorn, P.; Khonsung, P.; Chiranthanut, N.; Panthong, A.; Rujjanawate, C. Investigation of anti-inflammatory, antinociceptive, and antipyretic activities of *Stahlianthus involucratus* rhizome ethanol extract. *Journal of Ethnopharmacology*, (162) (2015), 199-206.
- [43] Owoyele, B. V.; Oguntoye, S. O.; Dare, K.; Ogunbiyi, B. A.; Aruboula, E. A.; Soladoye, A. O. Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities from flavonoid fractions of *Chromolaena odorata*. *Journal of Medicinal Plants Research*. (2) (2013), 219-225.
- [44] Muhammad, S.; Aleem, A. A.; Muhammad, N.; Khalid, M.; Khan, A.; Farooq, U.; Ahmad, I.; Khan, F. A.; Bukhari, S. M. Investigation of antipyretic activity of *Viola serpens* on brewer's yeast induced pyrexia in mice. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, (74) 1797-1802.
- [45] Rauf, A.; Khan, R.; Khan, H.; Pervez, S.; Pirzada, A. S. In vivo antinociceptive and anti-inflammatory activities of umbelliferone isolated from *Potentilla evestita*. *Natural Products Research* (28) (2014) 1-9.
- [46] Taher, Y. A.; Samud, A. M.; El-Taher, F. E.; ben-Hussin, G.; Elmezogi, J. S.; Al-Mehdawi, B.F.; Salem, H. A. Experimental evaluation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of clove oil in mice. *Libyan Journal of Medicine*, (2015), 1-6.
- [47] Shah, A.; Hayes, C. J.; Martin, B. C. Factors influencing long-term opioid use among opioid naive patients: and examination of initial prescription characteristics and pain etiologies. *The Journal of Pain*, (18) (2017), 1374-1383.
- [48] Santos, E. Lima, J. C. S., Noldin, V., Cechinel-filho, V., Rao, V. S. N., Lima, E. F., Schmeda-hirschmann, G., .Sousa jr, P., Martins, D. T. O. Anti-inflammatory, antinociceptive, and antipyretic effects of methanol extract of *Cariniana rubra* stem bark in animal models. / *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, (8) (2001) 557-566.
- [49] Asante, D.; Henneh, I. T.; Achempong, D. O.; Kyei, F.; Adokoh, C. K.; Ofori, E. G.; Domey, N. K.; Adakudugu, E.; Tangella, L. P.; Ameyaw, E. O. Anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activity of young and old leaves of *Verninia amygdalina*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, (111) (2019), 1187-1203.
- [50] Lee, Y. Y.; Saba, E.; Irfan, M.; Kim, M.; Chan, J. Y.; Jeon, B. S.; Choi, S. K.; Rhee, M. H. The anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of Korean ginseng. *Phytomedicine*, (54) (2019), 169-181.
- [51] Gatis-Carrazzoni, A. S. S. G.; Mota, F. V. B.; Leite, T. C. C.; Oliveira, T. B.; Silva, S. C.; Bastos, I. V. A.; Maia, M. B. S.; Pereira, P. S.; Neto, P. P. M.; Chagas, E. C. O.; Silva, T. M. S.; Nascimento, M. S.; Silva, T. G. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the

leaf metanol extract of *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC. And characterization of compounds by UPLC-DAD-QTOF-MS/MS. *Nunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, (392) (2019), 55-68.

Table 1. Phytochemical screening of extract MeOHPc.

Parameters	MeOHPc
Flavonoids (<i>Neu</i>)	+++
Phenylpropanoid (<i>Potassium hidroxide ethanol 10%</i>)	+++
Triterpene (<i>Vanilin sulfuric 1%</i>)	-
Terpene (<i>Vanilin sulfuric 1%</i>)	+
Alkaloids (<i>Dragendorf</i>)	-
Tannin (<i>Ferric Chloride 1%</i>)	-

+++ : High intensity reaction; ++ : Moderate intensity reaction; + : low intensity reaction; - : Nondetected

Table 2. Effect of MeOHPc (200 and 400 mg/kg) on castor oil induced diarrhea.

Treatment	Dose (mg/Kg)	Total n ^a of stools	N ^o of dry stools	N ^o of pasty stools	N ^o of wet stools
Negative Control	-	12.8 ± 1.22	0 ± 0	0 ± 0	12.8 ± 3.81
Loperamide	2	6.36 ± 1.07*	1.78 ± 0.8	1.78 ± 0.8	2.8 ± 1.38*
MeOHPc	200	4.97 ± 2.44*	2.67 ± 1.2	0 ± 0	2.3 ± 0.4*
MeOHPc	400	9.75 ± 3.11	5.32 ± 2.21*	4.0 ± 0.61*	0.43 ± 0.33*

* Data are presented as mean ± DP. *P* values are significantly different from negative control using Tukey post hoc test (n = 6). *P* < 0.0001

Table 3. Effect of MeOHPC (200 and 400 mg/kg) on small intestinal transit in mice.

Parameters/ dose	Negative	Atropine	MeOHPC	
	Control	sulphate	200 mg/kg	400 mg/kg
LSI (cm)	47.6 ± 2.1	51.7 ± 1.8	55.3 ± 1.2	63.0 ± 0.6
DC (cm)	38.3 ± 2.5	10.5 ± 1.4*	9.7 ± 0.4*	6.0 ± 0.7*
Intestinal transit (%)	80.5 ± 2.3	20.3 ± 1.6*	17.5 ± 0.6*	9.5 ± 0.9*

* Data are presented as mean ± DP. P values are significantly different from negative control using Tukey post hoc test (n = 6). $P < 0.0001$

Table 4. Effect of MeOHPc (200 and 400 mg/kg) on body temperature in yeast induced pyrexia.

Groups	Rectal Temperature (C°)					
	Baseline	0h	1h	2h	3h	4h
Control	36.2±0.32	37.7±0.2	38.5±0.4	38.4±0.3	38±0.4	37.4±0.5
Paracetamol	35.6±0.75	38±0.3	36±0.7**	35.8±0.3**	35.4±0.2**	35.4±0.3**
MeOHPc (200 mg/Kg)	35.9±0.57	38.5±0.4	38.5±0.1 [†]	37.7±0.2 [†]	37.6±0.2 [†]	37.6±0.2 [†]
MeOHPc (400 mg/Kg)	36.1±0.54	38.6±0.5	37.7±0.6* [†]	37.6±0.4** [†]	37.1±0.6** [†]	36.8±0.5** [†]

Values are expressed as Mean ± DP, n = 6 in each group, Statistical analysis of data was performed using ANOVA and Student's "t" test to study the differences amongst the means.

* indicate $P < 0.05$ ** indicate $P < 0.001$. [†] $P < 0.05$, comparing the same group at different times.

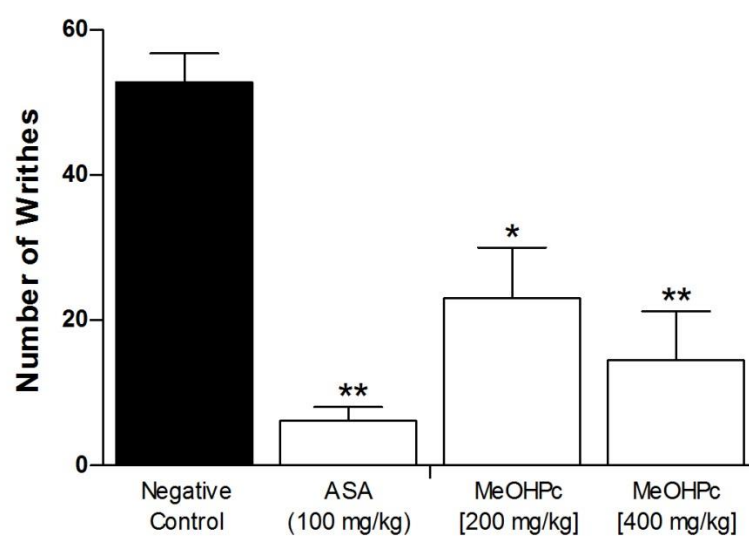


Figure 1. Effect of MeOHPC in the number of writhes in the model of nociception induced by acetic acid. * $P < 0.05$, in relation to negative control. ** $P < 0.0001$, in relation to negative control.

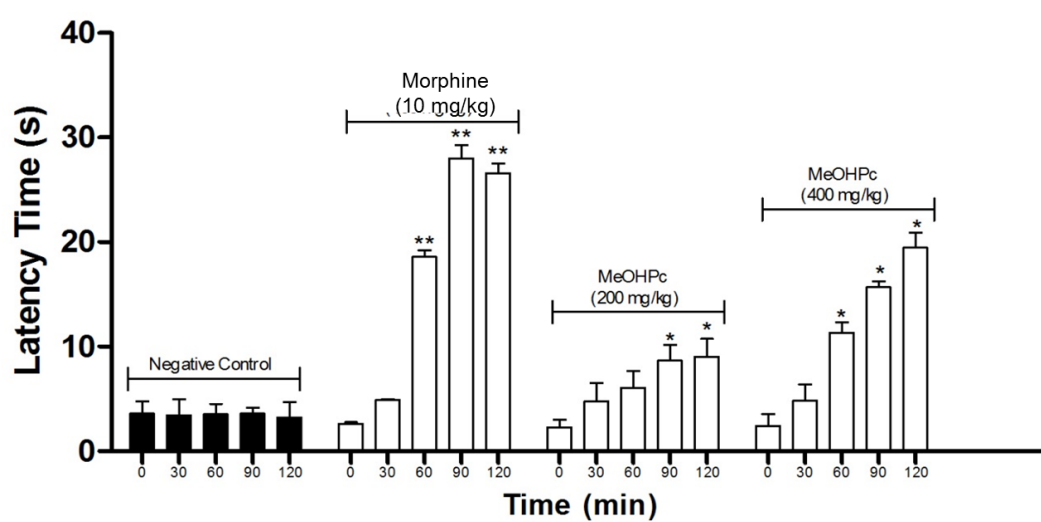


Figure 2. Effect of MeOHPC in the latency time in the model of nociception by hot plate.

* $P < 0.05$, in relation to negative control. ** $P < 0.0001$, in relation to negative control.

3.3 ANTIOXIDANT, ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF METHANOLIC EXTRACT OF *Plinia cauliflora* TREE BARK

Thaíse Gabriele da Silva Brito^a, Tiago Ferreira da Silva Araújo^b, Janaína Karin de Lima Campos^c, Bianka Santana dos Santos^c, Ana Paula Sant'Anna da Silva^a, Amanda dias de Araújo^d, João Ricardhis Saturnino de Oliveira^a, Antônio Fernando Moraes de Oliveira^e, Maria Tereza dos Santos Correia^f, Vera Lúcia de Menezes Lima^a.

^aLaboratory of Lipidic e Applications of Biomolecules in Prevalent and Neglected Diseases. Departament of Biochemistry, Biological Sciences Center, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil.

^bCollege of Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal do Vale do São Francisco, A, 56304917 Petrolina, PE, Brazil.

^cMorphofunctional Laboratory, Medicine Course, Division of Health Life Sciences, Centro Acadêmico do Agreste, Universidade Federal de Pernambuco, 55014-908 Caruaru, PE, Brasil.

^eLaboratory of Applied Ecology and Phytochemistry. Departament of Botany, Biological Sciences Center, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil.

^fLaboratory of Glicoproteins. Departament of Biochemistry, Biological Sciences Center, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil.

*Correspondence should be addressed to Vera L. M. Lima: Departament of Biochemistry, Biological Sciences Center, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901 Recife, PE, Brazil.

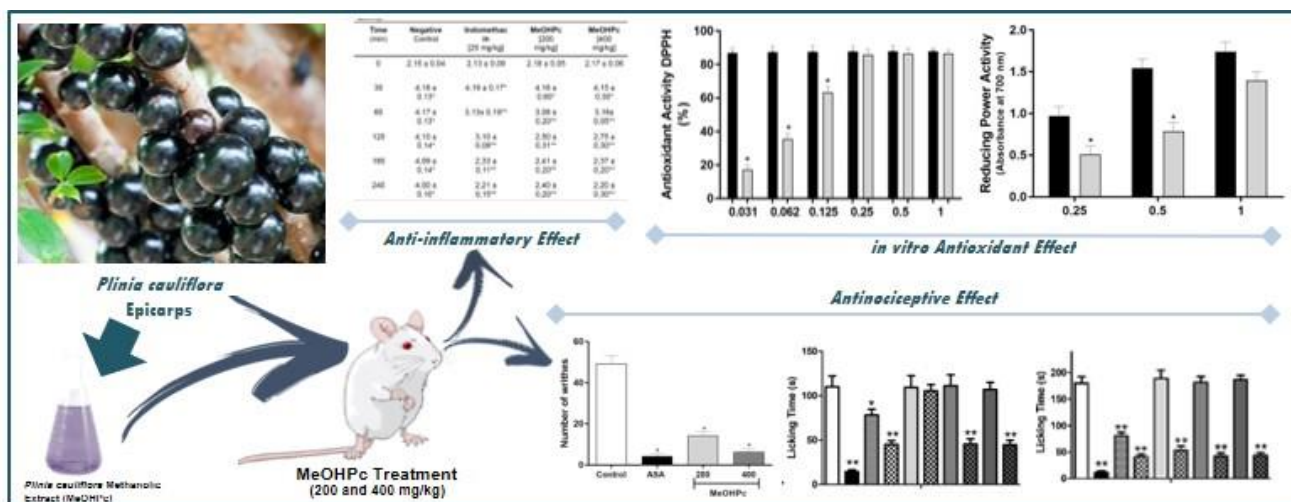
Lima.vera.ufpe@gmail.com

Abstract

Plinia cauliflora is a plant belonging to the family Myrtaceae, which has been scientifically outstanding due to the diverse therapeutic properties found in its seeds, leaves, fruits and pulps. Thus, in order to contribute with new therapeutic agents in the scientific environment, this work proposes to investigate the antioxidant, analgesic and anti-inflammatory properties in the metanolic extract of the bark of the *Plinia cauliflora* tree (MeOHPc). For this, the identification of the bioactive compounds of the extract was performed by thin layer chromatography (CCD) and quantification of phenols and flavonoids. The antioxidant action was investigated by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH), 2,2-Azino-Bis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid (ABTS) sequester and by the action of ferric reducing power. The oral acute toxicity test was performed prior to the in vivo assays with the mice. The methods of investigation of the analgesic action were of acetic acid-induced abdominal contortion (0.8%) and the formalin test that can be investigated the mechanistic way of analgesic action of MeOHPc at concentrations of 200 and 400 mg / kg. The anti-inflammatory evaluation was performed using the carrageenan-induced paw edema method. The results showed that the MeOHPc had a presence in the CCD presence of flavonoids, diterpenes, triterpenes, tannins and quantitatively phenolic compounds of $12,449 \pm 0,13$ milligrams equivalent to gallic acid per gram of extract (mg EAG / g) and 654 ± 0.02 milligrams equivalent to quercetin per gram of extract (mg EQ / g). Sequestration of the DPPH radical showed IC_{50} of $106.6 \mu\text{g} / \text{mL}$ and of ABTS an antioxidant capacity equivalent to Trolox (TEAC, μM) of 2.3577 ± 0.05 . The toxicity evaluation of MeOHPc showed no toxicity in an observable and blood state. The abdominal contortion method showed inhibition of 71% in the concentration of 200 mg / kg and 87.16 in the 400 mg / kg and showed inhibition of pain of 59.03% in the neurogenic phase in the formalin test. The mechanistic pathway of the MeOHPc pain inhibitory action was on the opioid receptors. The anti-inflammatory action showed 88.10% inhibition of the paw edema volume at the concentration of 200 mg / kg and 98.37% at 400 mg / kg. Thus, MeOHPc is a potential bioproduct for the formulation of a therapeutic agent against oxidative damage, inflammatory and nociceptive reactions.

Key Words: inflammation, pain, jabuticaba, free radicals.

Graphical Abstract



Introduction

Free radical production is a normal process of cell metabolism that is strictly controlled and has been shown to be in cellular homeostasis, and in the body response to pathogens (Yaribeygi et al., 2018). On the other hand, excess of these substances can lead to oxidative stress and even trigger pathologies, such as: atherosclerosis, diabetes, cancer, among others (Chen et al., 2019).

Some substances of natural or synthetic origin, also called antioxidants, have the capacity to retard or inhibit oxidative processes of pathophysiological origin or due to environmental factors (Uchôa et al., 2015). The antioxidants act by suspending chain reactions involved in lipid oxidation. They can also act by making free radicals thermodynamically stable by donating an electron or hydrogen, or even reducing the initiation rate of oxidation by decomposing hydroperoxide (Martelli and Nunes, 2014). Thus, the use of antioxidants, mainly of vegetal origin, has been prominent in the population through food products, cosmetics and pharmaceuticals (Casagrande et al., 2019).

In addition, new approaches to analgesic and anti-inflammatory therapies that have less harmful effects on the body have been pursued, since pain is a sensation that acts as defense mechanisms to maintain the integrity of the organism, and is listed as one of the main clinical symptoms used for the detection and evaluation of diseases (Saldanha et al., 2019). In view of this, new bioactive agents have been investigated in order to be more efficient and accessible, and less aggressive (Lee et al., 2019; Gatis-Carrazzoni et al., 2019).

The genus *Plinia*, belonging to the family Myrtaceae, has been scientifically highlighted against the vast biodiversity present in our country because it has some

promising therapeutic properties already clarified (Barros et al., 2019). *Plinia cauliflora* refers to semi-deciduous trees, with a height of 3 to 6 m of smooth, brownish bark. Its glabrous leaves have long scattered nodules (3-7 cm), and its flowers designed in spring and summer form clusters around the stem and branches, with very short unifloral pedicels and floral bud glabrous (Quatrin et al., 2019). They have round fruits, sweet and juicy pulp, rich in phenolic compounds, called "Jabuticaba", which can be consumed fresh and processed through jellies, juice and liqueurs (Teixeira et al., 2019).

In recent years, with the healthy demand for lifestyle has been encouraged the consumption of balanced diets in fruits rich in phenolic compounds, because they have beneficial action in reducing various pathologies (Biazotto et al., 2019; Shan et al., 2019). With this, *P. cauliflora* has instigated the addition of scientific researches that demonstrate the present properties and instruct the conscious and favorable consumption of the different parts of the tree. Thus, in order to contribute with new studies, this work proposed to investigate the presence of classes of secondary metabolites, their antioxidant properties and some therapeutic properties, such as analgesic and anti-inflammatory.

Results and Discussion

Phytochemical Screening of the Tree Bark Extract from *Plinia Cauliflora* (MeOHPc)

Investigation of the phytochemical profile of MeOHPc showed the presence of Flavonoids, Diterpenos, Triterpenos, and Cumarinas. These compounds, in several studies of the Myrtaceae family are being associated with antinociceptive and anti-inflammatory effects (Basting et al 2014), antidiabetic (Tripathi and Kohli, 2014),

antimicrobial (Sá et al, 2018), hepatoprotective (Sobeh et al 2018) and antioxidant (Zuninga et al 2018). Considering the connections of the secondary metabolites with possible therapeutic properties, the plants of the family Myrtaceae have stood out as promising therapeutic agent for the pharmaceutical industries.

The Myrtaceae species present a variety in their phytochemical constituents as they are widely distributed throughout the world and undergo seasonal action from their place of origin (Conceição and Aragão, 2010). Souza-Moreira et al. (2011) presented in the phytochemical profile derived from flavonoids, ellagic acid and gallic acid in leaves and fruits of *Plinia cauliflora*, these compounds corroborated with antidiarrheal activity of the species. In the phytochemical analysis of the leaves of *Pimenta pseudocaryophyllus* were found triterpenes and flavonoids in which resulted in the anti-inflammatory and antinociceptive potential (Paula et al 2012).

Ramos and Bandiola, (2017) analyzed the phytochemical profile of *Syzygium Cumini* leaves, showing that flavonoids, tannins and saponins were related to antioxidant, antimicrobial and antidiabetic potential of the species. In addition, the presence of gallic acid, β -carotene, ascorbic acid and flavonoid derivatives was shown in Castro et al (2018), and gallic acid was present in Tukiran et al (2018) in the tree bark of *Syzygium Polycephalum* which was related to the antioxidant potential investigated in the studies.

After observing the phytochemical profile of the different species of the Myrtaceae family, including that found in the literature on the leaves and fruits of *P. cauliflora*, it was necessary to inquire about the properties of the bark of the tree since it is devoid of knowledge in the scientific works, contributing in a pioneering way to the literary collection.

Quantitative Analysis of Phytochemical Constituents of MeOHPc

Phenolic compounds are molecules that are present in most plants and are considered secondary metabolites because they contribute to protection against phytopathogens as well as beneficial effects on human health (Archela and Antonia, 2013, Argones et al., 2017). The total phenolic quantification in MeOHPc showed $1.244.90 \pm 0.13$ milligrams equivalent to gallic acid per gram of extract (mg EAG / g). This result constitutes the representative value of bioactive content present in the extract. Also, the content of phenolic compounds in MeOHPc was higher than that observed in extracts from other plants of the Myrtaceae family. Data of total phenolic content of Myrtaceae species showed results of 855.76 ± 2.71 mg GAE / g in the leaves and 970.32 ± 2.72 mg EAG / g in the branches of *Eugenia copacabanensis* and these compounds were related to an antioxidant potential (Carvalho junior et al, 2014). In the *Campomanesia adamantium* pulp the total phenols were 1.222.59 mg GAE / g in the study by Alves et al (2013), which was related to the antioxidant activity investigated. In the leaves of *Syzygium polyanthum* the total phenolic content was 1.125.00 mg GAE / g in which it presented potential related to the antioxidant action of the species (Har and Ismail, 2012).

The phenols represent substances widely distributed in several plants, which are the flavonoids. These have been noted for their biological potential reported in several studies as antioxidant, antimicrobial, antitumor (Lou and Ho, 2017), antinociceptive and anti-inflammatory (Bahamonde et al, 2013). After analyzing the total phenolic content and quantitatively investigating the presence of flavonoids due to its pharmacological potential already described scientifically, MeOHPc demonstrated in 654.00 ± 0.02 milligrams equivalent to quercetin per gram of extract

(mg EQ / g). The flavonoid content observed in MeOHPc was higher than that reported in extracts obtained from other plants of the Myrtaceae family.

The quantification of flavonoids in other species of the family Myrtaceae showed in the leaves of *Eugenia copacabanensis* 38.69 ± 0.55 milligrams equivalent to quercetin per gram of extract (mg QE / g) and in the branches 26.70 ± 0.82 mg EQ / g in the study of Carvalho júnior et al (2014). In Har and Ismail (2012) in the leaves of *Syzygium polyanthum* were identified 14.87 mg EQ / g.

Therefore, after observing the results and pharmacological actions related to the presence of total phenols as well as rich flavonoid content in several species of the Myrtaceae family the interest in investigating the antioxidant potential of MeOHPc was aroused.

Activity Antioxidant

Due to complex reactivity of phytochemicals and other natural antioxidants, free radical scavenging power of food and medicinal plants cannot be determined by a single method only. Therefore, use of different assays and at least two test systems is required to authenticate the antioxidant capacity of a plant sample (Shan et al., 2019).

Sequestration of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical (DPPH)

The pharmacological action of several secondary metabolites has demonstrated the relevance of the antioxidant potential among many plant species. Bioactive antioxidant compounds act in the sequestration of reactive oxygen species or free radicals. These are essential in the treatment of oxidative reactions that cause neurodegenerative, cardiovascular, as well as carcinogenic pathologies (Barbosa et al., 2010; Lins and Sartori, 2014). The antioxidant activity of MeOHPc was

investigated by the sequestration method of the purple free radical 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH). Sequestration of the free radical transforms the reaction in yellow color and the radical in the reduced form 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine which indicates the presence of antioxidant action in which the MeOHPc showed a concentration value of the extract that inhibited in 50% (IC₅₀) of 106.6 µg / mL and a significant difference in concentrations of 0.031, 0.062, 0.125 mg / mL, since in the higher concentrations tested the antioxidant behavior was similar to that of gallic acid, according to Figure 1 .

The species Myrtaceae family are already known scientifically for presenting antioxidant action in the sequestration of free radical DPPH in several studies. In Araújo et al (2015), IC₅₀ of 848.78 µg / mL was demonstrated in mature fruits of *Psidium guajava*. No study by Ramadhania et al. (2017) analyzed the antioxidant potential of leaves in the *Melaleuca leucadendra* species that resulted in the IC₅₀ of 289.53 ± 3.70, *Syzygium aqueum* an IC₅₀ of 515.48 ± 16.70, *Syzygium malaccense* an IC₅₀ of 514.79 ± 7.66. In addition, the study by Tukiran et al (2018) on the bark of the *Syzygium polycephalum* tree demonstrated an IC₅₀ of 163.6 µg / mL in the sequestration of free DPPH.

Thus, after observing the results in several studies of the MeOHPc family, it is possible to report its antioxidant profile in which it has been related to the potential of phenolic compounds of leaves, fruits and bark as well as an IC₅₀ with value which maintained its effectiveness in the test. In this method, the effectiveness of an antioxidant agent in the sequestration of the DPPH radical depends on its structure and the number of hydroxyls available, according to Brand-William et al. (1995), in which it would require further analysis of the MeOHPc compounds.

Sequestration of the 2,2-Azino-Bis-3 Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid (ABTS)

Sequestration of the 2,2-Azino-Bis-3 Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid (ABTS) radical also allows investigation of the antioxidant profile in plants. In this method, the resulting reaction is known as the Trolox equivalent (TEAC, μM) standard antioxidant capacity, in which it produces an oxidation reaction resulting in 2,2-azinobis- (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate). After investigating the antioxidant profile of MeOHPc by the ABTS method in 6 min a TEAC of 2.3577 ± 0.05 and after 120 min TEAC of $3.3821 \pm 0.06 \mu\text{M}$ equilloquent to Trolox was obtained. This result demonstrates that MeOHPc showed an action according to time when included in the Pearson correlation coefficient ($r^2 = 0.996$, $p < 0,0001$), in which the antioxidant promising effect progressed significantly over time.

In other studies of species of the Myrtaceae family that demonstrated the antioxidant capacity of the ABTS radical. Pereira et al. (2012) investigated the fruits of *Psidium cattleianum*, *Campomanesia xanthocarpa* and *Eugenia pyriformis* respectively obtained a TEAC of 242.30 ± 4.08 , 507.49 ± 29.17 , $336.29 \pm 38.19 \mu\text{M}$ equilibrating to Trolox after the time of 6 min. In Tuncel and Yilmaz (2013), when investigating antioxidant activity in the fruits peel of *Feijoa sellowiana*, they presented a TEAC of $465.7 \mu\text{M}$ equilibrating to Trolox after 120 min. These results corroborate with the antioxidant capacity demonstrated in the MeOHPc results that both after analysis of the TEAC at the initial time of 6 min and at the final time of 120 min, there were significantly higher values when compared to other species of the same family.

The choice of antioxidant method in scientific studies varies according to the nature of the compound being tested (Floegel et al, 2011). According to Kim et al. (2002) and Uchôa et al. (2015) the use of the ABTS test has the possibility of

application in hydrophilic and lipophilic systems while the DPPH test in which the radical must be dissolved in a solution with organic solvent to perform the test, its applicability is more directed in hydrophobic systems. However, the use of the two tests in MeOHPc did not interfere with their antioxidant capacity according to each method.

Reducing Power Test

The test method that shows the power of reduction of Fe^{2+} ion in complex Fe^{+3} that is deep blue color, is the reducing power. In this method, the result is indicated so that the higher the absorbance reading of the plant sample, the higher the antioxidant reducing power, considering that the butylated hydroxytoluene (BHT) is used as a standard and a 100% ionic Fe^{3+} reductant (Santos et al 2007). Thus, the antioxidant power of MeOHPc was also investigated and showed only a significant difference ($p < 0.05$) in the concentrations 0.25 and 0.5 mg / mL, since at the highest concentration tested (1mg / mL) Figure 2.

The antioxidant potential in the reduction of ferric ions has also been described in other species of the Myrtaceae family. In the studies by Vasi et al (2009) with the seeds of *Eugenia jambolana*, Lavanya et al (2012) with leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*, Eslami et al (2016) with leaves of *Myrtus communis* and seeds in Wannes and Marzouk (2016), demonstrated that the significant differences in the oxidative profile of the ferric ions of the compounds tested were dose-dependent on the concentrations used when compared to their respective standard of the test.

With these promising results of the antioxidant profile of other species of Myrtaceae as well as scientific description of the tannins in the antioxidant action

when interacting with metallic ions (Sanches et al., 2007), the effective behavior of MeOHPc in the reduction of Fe^{2+} and consequently in the protection against reactive oxygen species (ROS), because second Halliwell and Gutteridge, (1984) and Beyhan et al. (2010), Fe^{2+} ions have been highlighted as major inducers of oxidative stress by the production of ROS.

Oral Acute Toxicity Test

The various plants that are investigated against their biological potential *in vivo* should be analyzed and assured of a possible toxic reaction, in order to present a safety in the subsequent formulation of medication (Lalitha et al, 2012).

Thus, after oral administration (v.o.) of MeOHPc, at a concentration of 2000 mg / kg, there were no behavioral, physiological (faeces and urine) and biochemical changes in the mice. Further, until the end of the test, no death was observed, demonstrating that MeOHPc shows no toxicity in an observable and blood state.

The results of the biochemical parameters (albumin, urea, creatinine and CK), as in Table 2, were compared with the control group that only received 0.9% saline solution (vehicle), and as observed, were statistically analyzed by the *t test-student*, which showed that none of the parameters were altered in the groups receiving MeOHPc treatment.

The non-toxic profile was also found in other species of the Myrtaceae family, as in the bark of the *Syzygium cumini* tree of Ugababe Et al, (2010), bark of the tree of *Eugenia jambolana* in the study of Yele and Veeranjaneyulu, (2010), leaves of *Callistemon citrinus* in Bhushan et al (2014), leaves of *Campomanesia guazumifolia* in "Catelan" et al (2018), when verified after acute oral toxicity also used MeOHPc.

Accordingly, according to the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) Guidelines (2001), Clarke and Clarke (1977) and the functional observation of toxicity (vomiting, seizures, bleeding, irritation and abnormal postural reaction) of the metabolic biochemical parameters of the study of Amidaa et al. (2007), MeOHPc presents as safe and non-toxic plant material when administered orally.

Antinociceptive Activity

Acetic Acid Induced Contortion

The discovery of new natural products with analgesic mechanisms has been increasing in several scientific studies (Lenardão et al, 2016). The method of abdominal writhing by acetic acid was applied as a screening test and analgesia verification in pain caused by the release of inflammatory mediators (histamine, bradykinin, prostaglandins, substance P) that stimulate the nociceptive fibers in the nervous system and cause movement of abdominal contortion in the mice (Lenardão et al, 2016, Mohammadi, 2018).

As antinociceptive response in this method after treatment with MeOHPc was demonstrated 71% in the concentration of 200 mg / kg and 87.16% in the concentration of 400 mg / kg. The results showed reduction of the nociceptive effect in a dose-dependent manner and significance in both concentrations when compared to the negative control, according to Figure 3.

The method of abdominal writhing induced by acetic acid was also used in other studies of the family Myrtaceae. Saha et al (2013) performed the antinociceptive investigation of the root bark of *Eugenia jambolana* and found a significant result at the concentration of 400 mg / kg with a percentage of contortion

decrease in 54.28%. In Azevedo et al (2016) the investigation of the antinociceptive effect of the leaves of *Plinia edulis* at the concentration of 300 mg / kg presented a significant result of 83.7% in reducing abdominal writhings. In addition to these results, in Moharram et al. (2018) investigating the antinociceptive potential of *Pepper racemosa* leaves at the concentration of 700 mg / mL demonstrated a 49.33% reduction in abdominal writhing.

In order to evaluate the antinociceptive response of the species in the Myrtaceae family, as well as the analgesic potential in abdominal wrinkles induced by acetic acid by flavonoids and triterpenes (Tavares et al., 2010) present in the root bark and tree stem, it was verified that these studies can corroborate with the preliminary analgesic profile found, in which it stood out with its dose response to the chemical stimulus of acetic acid. However, how would this nociception method be involved in "central" mechanisms and peripheral (Lapa et al, 2008), further tests would be required for the investigation of the antinociceptive mechanistic pathway as in the formalin test.

Formalin Test

In the scientific research of analgesic action of plant species, the formalin-induced nociceptive method has been noted for presenting pain stimulus that most resembles the acute pain caused in humans (Murray et al., 1988). In this method it is possible to identify and differentiate analgesic action in the central and peripheral nervous system via two distinct phases (Batista et al., 2016).

The first phase is considered a neurogenic phase by the stimulation of the afferent fibers C during the first five minutes (Sulaiman et al, 2008) and the second phase is the inflammatory phase immediately after the quiescence period, which

stimulates the peripheral and central pathways by inflammatory mediators between 15 and 30 minutes after the onset of the pain stimulus (Ferreira et al., 2004).

As a result, the MeOHPc presented significant analgesic action in the two phases evaluated in relation to the control group (Saline 0.9%) according to (Figure 4). In the neurogenic phase represented by (Figure 4.A) both morphine (used as standard of the test) and MeOHPc in the concentration of 400 mg / kg had a significant difference with $p < 0.0001$ when compared with the control group and an inhibition of the neurogenic phase of 95.8% and 59.03%, respectively. At the concentration of 200 mg / kg presented a significant difference ($p < 0.05$) and inhibition of the neurogenic phase of 28.88% when compared to the control.

The results of phase 2 or inflammatory demonstrated in Figure 4.B were that both morphine and MeOHPc at concentrations of 200 and 400 mg / kg were able to perform a significant analgesic effect with $p < 0.0001$ when compared to the control group, as well as a response of inhibition in the inflammatory pain of 93.72%, 55.52% and 77.17%, respectively.

According to the analgesic response of the 400 mg / kg MeOHPc concentration in the two phases in the test, the antinociceptive mechanism of action was investigated. For this, after administration of the opioid receptor antagonists (naloxone), acetylcholine and muscarinic (atropine) and histamine H2 (glibenclamide), the blocking or reduction of the MeOHPc response to the receptors with their respective antagonists was observed. As a result, it was found that in the neurogenic phase MeOHPc acted on the opioid receptor pathway (Figure 4.A), as there was no analgesic effect, due to the binding of naloxone in the receptor, and consequently its percentage of antinociceptive inhibition was 26%. However, when

the inflammatory phase was observed, no action was observed in any of the routes tested, since MeOHPc maintained its significant analgesic action (Figure 4.B).

In some studies with Myrtaceae family species have been reported scientifically with antinociceptive action in the formalin test. Basting et al (2014) demonstrated analgesic action of *Eugenia punicifolia* leaves with significant inhibition in the neurogenic phase of 35% and in the inflammatory phase 63% when compared to the negative control. In addition to this study, Simões et al. (2018) also reported that the leaves of *Eugenia brasiliensis* significantly inhibited formalin nociception by 43.7% in the inflammatory phase, but no significant action was presented in the neurogenic phase.

Among the previously mentioned studies, Basting et al (2014) investigated the mechanism of action against the opioid system and observed that the analgesic effect was not reversed in the presence of naloxone, thus demonstrating the possibility of analgesic involvement by another route mechanism and not by the endogenous mechanism of opioid nociceptive inhibition.

The investigation of antinociceptive mechanistic pathways in the various scientific studies is of paramount importance in order to demonstrate the mode of analgesic action on the human organism as well as the involvement of the bioactive compounds of the plants in biological activities associated to the control of pain. In Santos et al (2005) and Basting et al. (2014) it has been reported that the endogenous opioid system is involved both in the control of painful and inflammatory process stimuli and that the relevant phytochemical presence of phenolic and / or flavonoid contents would be associated to these mechanisms of action.

Thus, it is important to highlight that the high content of phenolic contents as well as of flavonoids present in MeOHPc may have contributed to the analgesic

potential demonstrated after the nociceptive stimulus by formalin in addition to its relevant effect against the pathway of the inflammatory process developed.

Anti-inflammatory Activity in Foot Edema

The inflammatory process is a defensive immune response (acute and / or chronic) to some type of physical damage or irritation caused by infectious or chemical agents (Debnath et al, 2013). To this process, acute or chronic, pain is often associated as one of the major physiological reactions (Leelaprakash and Mohan Dass, 2011; Debnath et al, 2013). Thus, after observing the analgesic potential of MeOHP in abdominal pain (proinflammatory chemical induced pain) and the analgesic potential in the inflammatory phase of the formalin test, an anti-inflammatory action on foot edema was investigated (volume represented in mm). The results were demonstrated in Table 3, where all groups had a significant difference in time of 30 min being $*p < 0.0001$ when compared to the initial time (time 0).

In the negative control group, this significant difference remained until the time of 240 min. However, when the indomethacin group (positive control) and MeOHPc were observed at concentrations of 200 and 400 mg / kg, this difference only occurred up to 30 min, since from the 60 min time they had a significant result when compared to the negative control being $** p < 0.0001$, but when compared to time 0 there was no difference. This result indicates that after treatment with indomethacin and with MeOHPc in the two concentrations, from the 60 min time it already presented reduction of the paw volume when compared to the negative control, and

this reduction demonstrates that there is no significant difference with the initial time that it was when the animal's paw there was no edema.

The anti-inflammatory action of MeOHPc showed 88.10% inhibition of the paw edema volume at the concentration of 200 mg / kg and 98.37% at 400 mg / kg. Considering that the inflammatory process developed in the paw edema method, there are two phases in which the first phase represented by the time between 0 and 60 min has been associated with the release of histamine and bradykinin, and the second phase is related to the increase of the and the production of prostaglandins (Salvemini et al, 1996, Sadik et al, 2018), it was observed that the anti-inflammatory action of MeOHPc could be involved in the decrease of histamine and bradykinin as well as the production of prostaglandins.

In addition, studies corroborate scientifically the anti-inflammatory potential highlighted in MeOHPc. Moharram et al. (2018) showed the presence of phenolic acids, flavonoids and tannins in leaves of *Pimenta racemosa* were related to the inhibitory potential of 93.83% for the time of 240 min at the concentration of 500 mg / kg. *Syzygium cerasoideum* leaves showed a significant inhibition of 55.95% in the time of 240 min when evaluated at the concentration of 400 mg / kg, in which this potential was related to the suppression of the substances produced in the two phases of inflammation.

Conclusions

The present study demonstrated biological activity of the methanolic extract of the bark of the tree of *Plinia cauliflora* (MeOHPc), in which it presented significant antioxidant, analgesic and anti-inflammatory results. The search for new bioproducts that present a diversity of pharmacological actions as well as do not demonstrate

toxic reactions after their administration, has been highlighted as potential agents in the employability and formulation of medicines. Thus, MeOHPc is a potential bioproduct for the formulation of a therapeutic agent against oxidative, inflammatory and nociceptive reactions.

References

- Access, O., n.d. We are IntechOpen , the world ' s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 %.
- Ahangarpour, A., Sayahi, M., Sayahi, M., 2018. SC. Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.11.051>
- Akhtar, N., 2018. Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. Arab. J. Chem. 11, 1223–1235. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.01.013>
- Alves, C.Q., Química, I. De, Federal, U., Ondina, C., Ba, S., David, J.P., Farmácia, F. De, Federal, U., Ondina, C., Ba, S., 2010. Revisão 33, 2202–2210.
- Antioxidants, D., 2018. Dietary Antioxidants and Health Promotion 7–9. <https://doi.org/10.3390/antiox7010009>
- Archela, E., Henrique, L., Antonia, D., n.d. Determinação de Compostos Fenólicos em Vinho : Uma revisão Determination of Phenolic Compounds in Wine : A Review 193–210. <https://doi.org/10.5433/1679-0375.2013v34n2p193>
- Assmann, P., Mazaro, S.M., Donazzolo, J., Aparecida, S., Sasso, Z., 2006. Enraizamento de jabuticabeira (*Plinia trunciflora*) 530–532.
- Atividades antinociceptiva e antiinflamatória do extrato etanólico de *Luehea divaricata*, n.d. 433–441.
- Bahamonde, S.M.A., Flores, M.L., Osvaldo, L., 2013. activities of an aqueous extract of *Chiliotrichum diffusum*. Rev. Bras. Farmacogn. - Brazilian Journal Pharmacogn. 23, 699–705. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000051>
- Barra, K., Barbosa, F., Maria, N., Costa, B., Paula, O.D.E., Minim, P.R., Bressan, J., Federal, U., Bressan, J., Federal, U., Federal, U., Geral, B., Federal, U., 2010. Estresse oxidativo : conceito , implicações e fatores modulatórios Oxidative stress : concept , implications 23, 629–643.

- Barros, H., Baseggio, A.M., Angolini, C.F.F., Pastore, G.M., Cazarin, C.B.B., Marostica-Junior, M.R., 2019, Influence of different types of acids and pH in the recovery of bioactive compounds in jaboticaba peel (*Plinia cauliflora*), Food Research International, *IN PRESS*.
- Basting, R.T., Nishijima, C.M., Lopes, J.A., Santos, R.C., Lucena, L., Laufer, S., Bauer, S., Costa, M.F., Santos, L.C., Rocha, L.R.M., Vilegas, W., Santos, A.R.S., Hiruma-lima, C.A., 2014. Antinociceptive , anti-inflammatory and gastroprotective effects of a hydroalcoholic extract from the leaves of *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC . in rodents. J. Ethnopharmacol. 157, 257–267. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.09.041>
- Benzidia, B., Barbouchi, M., Hammouch, H., Belahbib, N., Zouarhi, M., Erramli, H., Ait, N., Badrane, N., Hajjaji, N., 2018. Journal of King Saud University – Science Chemical composition and antioxidant activity of tannins extract from green rind of *Aloe vera* (L .) Burm . F . J. King Saud Univ. - Sci. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.05.022>
- Beyhan, Ö., Elmasta, M., Gedikli, F., 2010. Total phenolic compounds and antioxidant capacity of leaf , dry fruit and fresh fruit of feijoa (*Acca sellowiana* , Myrtaceae).
- Bhatt, I.D., Rawat, S., Rawal, R., 2013. Antioxidants in Medicinal Plants Chapter 13 Antioxidants in Medicinal Plants. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-29974-2>
- Bhushan, B., Sardana, S., Bansal, G., 2014. Acute and sub-acute toxicity study of *Clerodendrum inerme* , *Jasminum mesnyi* Hance and *Callistemon citrinus*. J. Acute Dis. 3, 324–327. [https://doi.org/10.1016/S2221-6189\(14\)60069-X](https://doi.org/10.1016/S2221-6189(14)60069-X)
- Biazzoto, K.R., Mesquita, L.M.S., Neves, B.V., Braga, A.R.C., Tangerina, M., Vilegas, W., Mercadante, A.Z., Rosso, V.V. 2019. Brazilian biodiversity fruits: Discovery bioactive compounds from underexplored sources. Journal of Agricultural and Food Chemistry, *IN PRESS*.
- Brasileira, R., Agroindustriais, D.P., Grande, C., 2014. 1 , 2 . 69–76.
- Carolina, M., Michel, D.P., Márcia, N., Barcellos, S., De, P.M., Vieira, A., Magalhães, T., Oliveira, M., Maria, V., 2017. Acute and sub chronic toxicity study of aqueous extract from the leaves and branches of *Campomanesia velutina* (Cambess) O . Berg. J. Ethnopharmacol. 201, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.043>
- Casagrande, M., Zanela, J., Pereira, D., Lima, V.A. Oldoni, T.L.C., Carpes, S.L., 2019. Optimization of the extraction of antioxidant phenolic compounds from grape pomace using response surface methodology. Journal of Food Measurement and Characterization, 1-10.

- Chen, G., Fan, M., Wu, J., Li, N., Guo, M., 2019. Antioxidant and anti-inflammatory properties of flavonoids from lotus plumule 277, 706–712.
- Chen, Z., Li, X., Zhang, S., Jin, J., Song, X., Wang, X., Tratnyek, P.G., 2019. Overlooked role of peroxides as free radical precursors in advanced oxidation process. *Environmental Science & Technology*, *IN PRESS*.
- Conceição, G.M., Aragão, J.G., 2010. Diversidade e importância econômica das Myrtaceae do Cerrado , Parque Estadual do Mirador , Maranhão 6, 1–8.
- Constituents, C., Activity, A., Leaves, O.F., Of, B., 2014. Artigo 37, 477–482.
- Danesi, F., Del, D., Mena, P., Aragon, G., 2017. Trends in Food Science & Technology The importance of studying cell metabolism when testing the bioactivity of phenolic compounds 69, 230–242.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.001>
- Debnath, T., Kim, D.H., Lim, B.O., 2013. Natural Products as a Source of Anti-Inflammatory Agents Associated with Inflammatory Bowel Disease 2, 7253–7270. <https://doi.org/10.3390/molecules18067253>
- Ebrahimzadeh, M.A., 2016. Antioxidant Activity Of Polyphenol And Flavonoid Rich Extracts From Leaves Of Myrtle (*Myrtus communis* L) 2, 132–136.
- Elfalleh, W., Kirkan, B., Sarikurkcu, C., Recherche, U. De, Urcmep, P., Gabès, S. De, Gabès, U. De, 2019. Industrial Crops & Products Antioxidant potential and phenolic composition of extracts from *Stachys tmolea* : An endemic plant from Turkey. *Ind. Crop. Prod.* 127, 212–216.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.078>
- Floegel, A., Kim, D., Chung, S., Koo, S.I., Chun, O.K., 2011. Journal of Food Composition and Analysis Comparison of ABTS / DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods §. *J. Food Compos. Anal.* 24, 1043–1048. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
- Gatis-Carrazzoni, A.S., Mota, F.V.B., Leite, T.C.C., Oliveira, T.B., Silva, S.C., Bastos, I.V.A., Maia, M.B.S., Pereira, P.S., Neto, P.P.M., Chagas, E.C.O., Silva, T.M.S., Nascimento, M.S., Silva, T.G., 2019. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 392, 55-68.
- Gupta, R., Malik, P., Das, N., Singh, M., 2019. Antioxidant and physicochemical study of *Psidium guajava* prepared zinc oxide nanoparticles. *J. Mol. Liq.* 275, 749–767. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.11.085>

- Jesus, F., Gonçalves, A.C., Alves, G., Silva, L.R., 2018. Exploring the phenolic profile, antioxidant, antidiabetic and anti-hemolytic potential of *Prunus avium* vegetal parts. *Food Res. Int.* 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.079>
- Jeswani, G., Alexander, A., Saraf, S., Saraf, S., Qureshi, A., 2015. Recent approaches for reducing hemolytic activity of chemotherapeutic agents. *J. Control. Release* 211, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.06.001>
- Kattappagari, K.K., Teja, C.S.R., Kommalapati, R.K., 2015. Role of antioxidants in facilitating the body functions : A review 71–75. <https://doi.org/10.4103/0975-8844.169745>
- Kocot, J., Luchowska-kocot, D., Kurzepa, J., Musik, I., 2018. Review Article Antioxidant Potential of Propolis, Bee Pollen, and Royal Jelly : Possible Medical Application 2018.
- Lee, Y.Y., Saba, E., Irfan, M., Kim, M., Chan, J.Y., Jeon, B.S., Choi, S.K., Rhee, M.H., 2019. The anti-inflammatory and antinociceptive effects of Korean black ginseng. *Phytomedicine* 54, 169-181.
- Leelaprakash, G., Dass, S.M., Road, B., 2011. Available online <http://www.ijddr.in> Covered in Official Product of Elsevier, The Netherlands 2010 Ijddr Invitro Anti-Inflammatory Activity Of Methanol Extract Of *Enicostemma Axillare* 3, 189–196.
- Lim, S., Choi, A., Kwon, M., Joung, E., Shin, T., Lee, S., Kim, N., Kim, H., 2019. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extract from *Sargassum serratifolium* and its major antioxidant components. *Food Chem.* 278, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.058>
- Luis, P., Figueiredo, B., Pinto, L.C., Jamile, S., Ray, A., Silva, C., Helena, R., Mourão, V., Montenegro, R.C., Kelly, J., Silva, R., Guilherme, J., Maia, S., 2019. Composition, antioxidant capacity and cytotoxic activity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon. *J. Ethnopharmacol.* 232, 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.12.011>
- Magda, V., Chagas, M., 2016. Breve revisão etnobotânica, fitoquímica e farmacologia de *Stryphnodendron adstringens* utilizada na Amazônia 10, 329–338. <https://doi.org/10.5935/2446-4775.20160025>
- Profile, C., Capacity, A., Of, V., Different, A.T., Of, S., 2015. Original article : Chemical Profile And Antioxidant Capacity Verification Of *Psidium Guajava* (Myrtaceae) Fruits 1020–1030.

- Quatrin, A., Paulleto, R., Maurer, L.H., Minuzzi, N., Nichelle, S.M., Carvalho, J.F.C., Marostica-Junior, M.R., Rodrigues, E., Bochi, V.C., Emanuelli, T., 2019, *IN PRESS*.
- Review, P., 2014. Herbal antioxidant in clinical practice : A review 4, 78–84.
[https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60213-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60213-6)
- Sabine, C., 2015. Atividade Antinociceptiva e Antimicrobiana da Casca do Caule de Psidium 1125–1133.
- Saldanha, A.A., Vieira, L., Ribeiro, R.I.M.A., Thomé, R.G., Santos, H.B., Silva, D.B., Carollo, C.A., Oliveira, F.M., Lopes, D.O., Siqueira, J.M., Soares, A.C., 2019. Chemical composition and evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of Duguetia furfuracea essential oil: effect on edema, leukocyte recruitment, tumor necrosis factor alpha production, iNOS expression, and adenosinergic and opioidergic systems. *Journal of Ethnopharmacology* 231, 325-336.
- Shan, S., Huang, X., Shah, M.H., Abbasi, A.M., 2019. Evaluation of polyphenolics content and antioxidant activity in edible wild fruit. *BioMed Research International* 2019, 1-11.
- Teixeira, N., Mello, J.C.S., Fronza, P., Batista, L.F., Paula-Souza, J., Brandão, M.G.L., 2019. Edible fruits from Brazilian biodiversity: a review on their sensorial characteristics versus bioactivity as tool to select research. *Food Research International*, *IN PRESS*.
- Yaribeygi, H., Atkin, S.L., Sahebkar, A., 2018, A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia-induced free radical generation leading to oxidative stress. *Journal of Cellular Physiology* 234, 1300-1312.

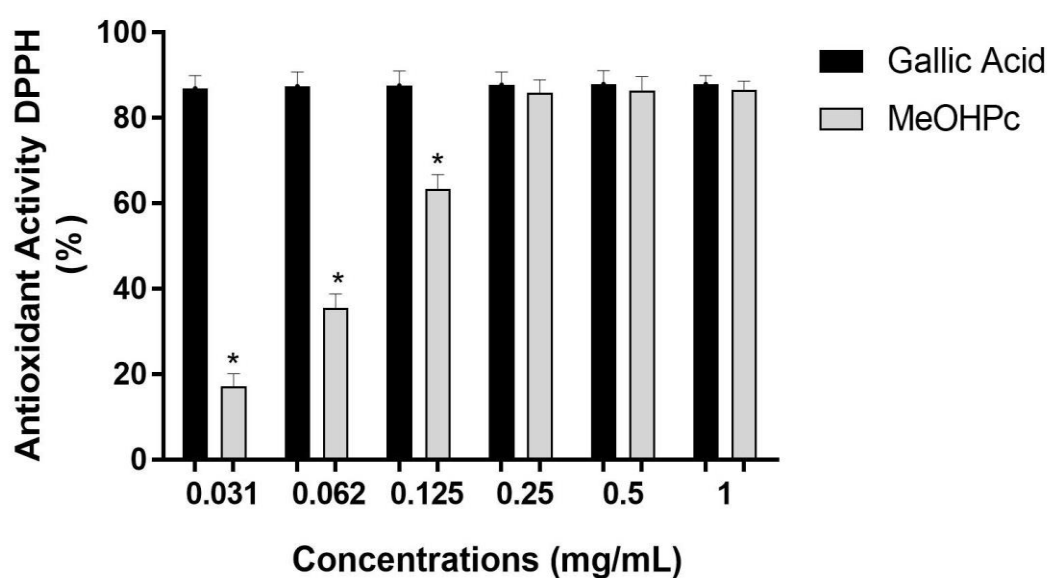


Figure 1.Antioxidant activity of the methanolic extract of the bark of the *Plinia cauliflora*. MeOHPc: Methanolic extract of bark tree *Plinia cauliflora*; Gallic Acid: Used was standard. Analysis of variance was (ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test using Prism (*p <0.05, compared to Gallic Acid).

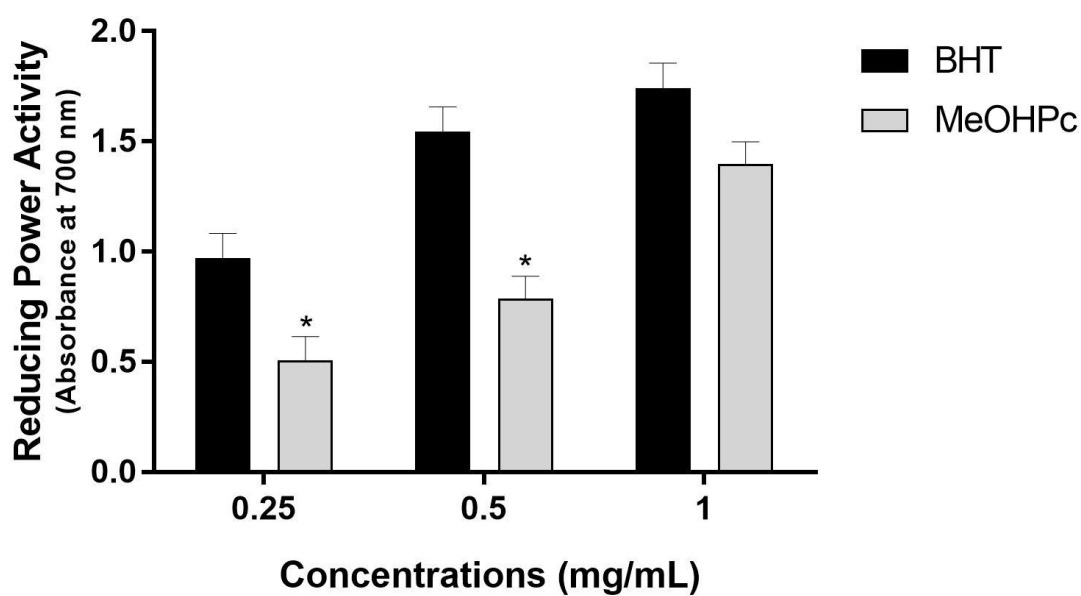


Figure 2. Reducing Power Activity of extract of the bark of the *Plinia cauliflora* tree. MeOHPc: Methanolic extract of bark tree *Plinia cauliflora*; BHT (Butylated hydroxytoluene): Used was standard. Analysis of variance was (ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test using Prism (* $p < 0.05$, compared to BHT).

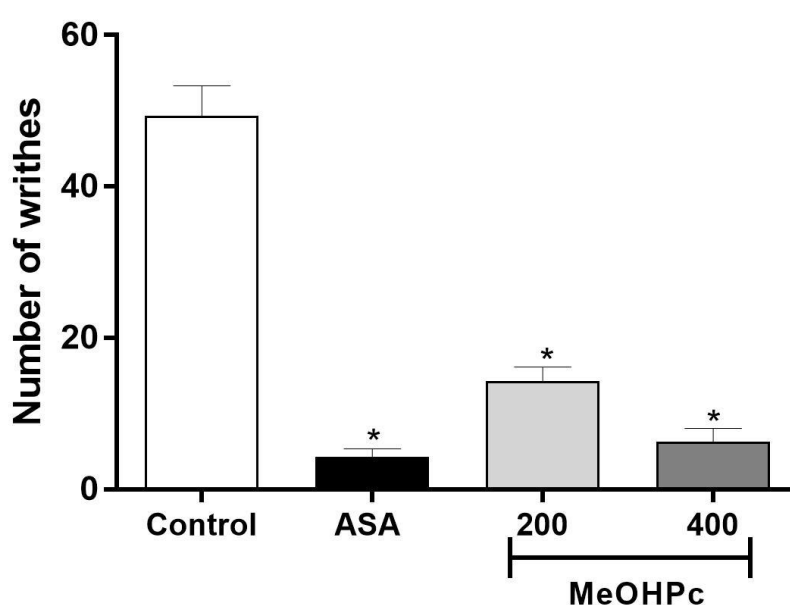


Figure 3. Effect of extract of the bark of the *Plinia cauliflora* tree in writhes Abdominal induced by acetic acid. Control: treated animals saline 0.9%; ASA: treated animals 100 mg/kg acetylsalicylic acid; MeOHPc (methanolic extract of bark tree *Plinia cauliflora*): treated animals 200 e 400 mg/kg. Analysis of variance was (ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test using Prism (* $p < 0.0001$, compared to control group).

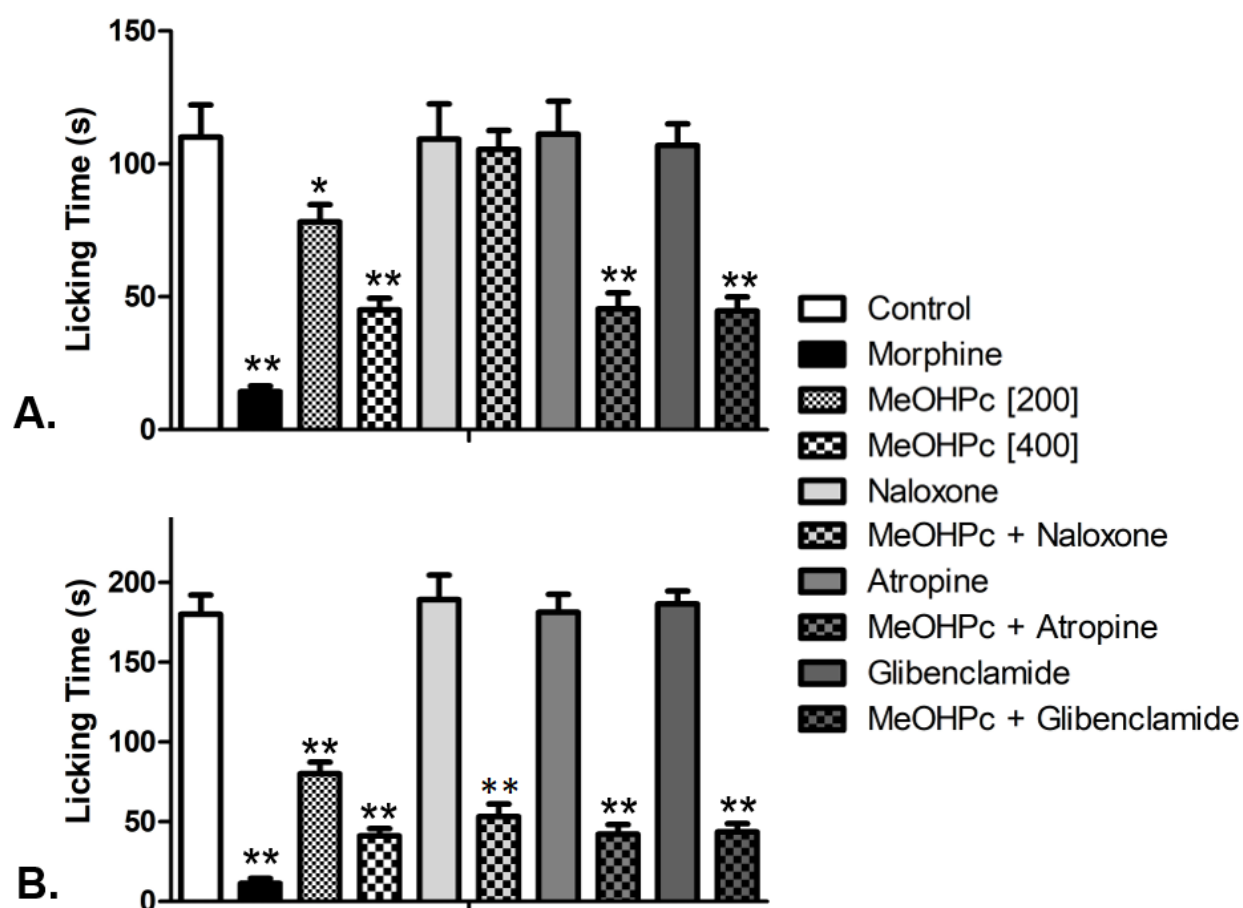


Figura 4. Effect of extract of the bark of the *Plinia cauliflora* tree in Formalin test. A. PHASE 1- Control: treated animals saline 0.9%; Morphine: treated animals [10 mg/kg]; MeOHPC (methanolic extract of bark tree *Plinia cauliflora*): treated animals [200 e 400 mg/kg]; B. PHASE 2 - Naloxone: treated animals [5 mg/kg] ; MeOHPC + Naloxone: treated animals [400 mg/kg] + [5 mg/kg]; Atropine: treated animals [10 mg/kg]; MeOHPC + Atropine: [400 mg/kg] + [5 mg/kg]; Glibenclamide: treated animals [10 mg/kg]; MeOHPC + Glibenclamide: [400 mg/kg] + [10 mg/kg]. Analysis of variance was (ANOVA) followed by *Tukey's post hoc* test using Prism (* $p < 0,05$; ** $p < 0.0001$, compared to control group).

Tabela 1. Phytochemical analysis do methanolic extract of the bark of *Plinia cauliflora* tree

Compounds	MeOHPc
Flavonoids (Neu)	+
Diterpeno (Vanilin sulfuric 1%)	+
Triterpene (Vanilin sulfuric 1%)	+
Cumarin (Vanilin sulfuric 1%)	-
Alkaloids (Dragendorf)	-
Tannin (Ferric Chloride 1%)	+

+: Presence ; - : Ausence

Tabela 2. Effect of the methanolic extract of the bark of the *Plinia cauliflora* tree on the biochemical parameters of the acute oral toxicity test

Parameters	Control	Toxicity test
Albumina	3,2 ± 0,5	3,4 ± 0,4
Ureia	67,6 ± 12,1	75,5 ± 13,9
Creatinina	0,46 ± 0,1	0,44 ± 0,4
CK	41,4 ± 5,3	43,6 ± 7,3

CK – creatine kinase; Control: saline 0.9%; Toxicity test: MeOHPc [2000 mg/dL]. The values represent the mean ± SD. Unpaired *t*-student test. $P < 0,05$ versus control.

Tabela 3. Effect of extract of the bark of the *Plinia cauliflora* tree in Anti-inflammatory activity.

Time (min)	Negative Control	Indomethacin [20 mg/kg]	MeOHPC [200 mg/kg]	MeOHPC [400 mg/kg]
0	2,15 ± 0,04	2,13 ± 0,09	2,18 ± 0,05	2,17 ± 0,06
30	4,18 ± 0,13*	4,19 ± 0,17*	4,16 ± 0,60*	4,15 ± 0,30*
60	4,17 ± 0,13*	3,13 ± 0,19**	3,08 ± 0,20**	3,16 ± 0,05**
120	4,10 ± 0,14*	3,10 ± 0,08**	2,50 ± 0,31**	2,75 ± 0,30**
180	4,09 ± 0,14*	2,33 ± 0,11**	2,41 ± 0,20**	2,37 ± 0,20**
240	4,00 ± 0,10*	2,21 ± 0,15**	2,40 ± 0,20**	2,20 ± 0,30**

All groups were analyzed at 0, 30, 60, 120, 180 and 240 min. Negative control: animals treated with 0.9% saline solution; Indomethacin: treated animals [20mg/kg] and were used standard; MeOHPC: (methanolic extract from the bark of the *Plinia cauliflora* tree): treated animals [200 and 400 mg / kg]. The analysis of variance was (ANOVA) followed by the *Tukey post hoc* test using Prism (* p <0.0001) when compared to the initial time (time 0) and (** p <0.0001) when to the negative control compared.

4 CONCLUSÃO

O óleo essencial das folhas de *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel demonstrou-se um agente em potencial para o tratamento da Leishmaniose tegumentar devido ação Leishmanicida com seletividade significativa para as espécies *Leishmania amazonenses* e *Leishmania brazilienses*, tendo em vista que, o uso de um bioproduto que tenha ação seletiva para mais de uma espécie no tratamento da doença é um agente promissor contra a forma Tegumentar da doença;

O extrato metanólico acidificado da casca do fruto de *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel apresentou-se como um potente agente antidiarreico, antipirético e antinociceptivo pois o mesmo: apresentou redução da hipersecreção dos fluidos intestinais como também motilidade, comprovando cientificamente a potente ação medicinal empírica relatada do uso popular; Além do efeito terapêutico eficaz contra o desequilíbrio da termorregulação fisiológica e potencial analgésico a nível do sistema nervoso central e periférico apresentando assim um possível agente terapêutico em estímulos térmicos e químicos no organismo.

O extrato metanólico da casca da árvore de *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel apresentou-se como um potente agente antioxidante, anti-inflamatório antinociceptivo devido a potente ação no seqüestro de radicais livres; Além da ação anti-inflamatória na redução do edema de pata e potencial analgésico neurogênico sobre a via mecânica de ação opióides apresentando assim um bioproduto de importância clínica.

Desta forma, a *Plinia cauliflora* apresentou-se como um produto natural de relevância clínica podendo vir a contribuir com segurança e eficácia no tratamento de condições patológicas de origem infecciosas e não infecciosas

REFERÊNCIAS

- AJILA, C.M.; LEELAVATHI, K.; PRASADA RAO, U.J.S. Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder. **Journal of Cereal Science**. v. 48, p. 319-326, 2008.
- AL-KAMEL, M.N.A. Leishmaniasis and Malignancy: A Review and Perspective, **Clinical Skin Cancer** , vol. 2, n. 1-2, 54-8, 2017.
- ALMEIDA, M. Z. **Plantas Medicinais** [online]. 3rd ed. Salvador: EDUFBA, 2011.
- ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**. v. 1000, n. 1472, p. 40-56, 2004.
- ALVES, A.C.S.; MORAES, D.C.; DE FREITAS, G.B.L.; ALMEIDA, D.J. Aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e terapêuticos do *Hypericum perforatum* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.16, n.3, p.593-606, 2014.
- ANDREY, S.T. **Sementes de endro**, 2010. Disponível em: <http://depositphotos.com/3558335/stock-photo-dill-seed.html>>. Acesso em: 26/01/2018.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. v. 66, n. 1; p. 1-9, 2007.
- ANTONIO, G. D.; TESSER, C.D.; MORETTI-PIRES, R. O. Fitoterapia na atenção primária à saúde, **Revista de Saúde Pública**, v. 48, n. 3, p.541-553, 2014.
- ANTONIO, J. ; CANTANHEDE FILHO, A.; LOURIVALDO, S. et al. Triterpenoides, Fenólicos E Efeito Fitotóxico Das Folhas De *Eugenia flavescens* DC (Myrtaceae), **Quimica Nova**, v. 40, n. 3, p. 252-259, 2017
- APKARIAN, A. V.; BALIKI, M. N.; GEHA, P. Y. Towards a theory of chronic pain. **Progress in Neurobiology**. v. 87, n. 2, p. 81-97, 2009.
- BAHMANI, M.; SAKI, K.; EZATPOUR, B.; SHAHSAVARI, S. et al. Leishmaniosis phytotherapy: Review of plants used in Iranian traditional medicine on leishmaniasis. **Asian Pacific Journal Tropical Biomed**. v. 5, n. 9, p. 695–701, 2015.
- BASSANEZI, B. S. B.; OLIVEIRA FILHO, A. G. D. E. Analgesia pós-operatória. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**. v. 33 n. 2, p. 116-122, 2006.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Nutrire**, v.12, n. 2, p.123-30, 1999.

- BLATTEIS, C. M. Fever: pathological or physiological, injurious or beneficial? **Journal Thermal of Biology**, n. 28, p. 1-13, 2003.
- BLATTEIS, C. M.; FELEDER, C.; PERLIK, V. L. S. Possible sequence of pyrogenic afferent processing in the POA. **Journal Thermal of Biology**, v. 29, p. 391-400, 2004.
- BORGES, L. L.; CONCEIÇÃO, E. C.; SILVEIRA, D. Active Compounds and Medicinal Properties of *Myrciaria genus*. **Food Chemistry**. v. 153, p. 224-233, 2014.
- BOTSARIS, A. S; ALVES, L. F. *Cynara scolymus* L. (Alcachofra). **Revista Fitos**, v..3 n.02, 2007.
- BRASIL, Ministério da Saúde, **Prevenção e Controle das Doenças não Transmissíveis no Brasil**,p. 36, 2002.
- BRAZ, J. R. Fisiologia da termorregulação normal, **Revista Neurociências**,v. 13, n. 3, jul/set, 2005.
- BRUNTON, L.; PARKER, K.; BLUMENTHAL, D.; BUXTON, I.. Treatment of disorders of bowel motility and water flux; antiemetics; agents used in biliary and pancreatic disease. Goodman and Gilman's **Manual of Pharmacology and Therapeutics**., p.:633–652, 2008
- BUSATO, N. V.; SILVEIRA, J. C.; COSTA, A. O. S.; COSTA JUNIOR, E. F. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**. v.44, n.9, p.1574-1582, 2014.
- CAMARGO, S. B.; VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpeno, **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 3, p. 381-387, 2014.
- CARDOZO JUNIOR, E. L.; MORAND, C. Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health – A review. **Journal of Functional Foods**. v. 21, p.440-454,2016.
- CARVALHO, C.E.S., SOBRINHO-JUNIOR, E.P.C. ; BRITO, L.M., NICOLAU, L.A.D et al. Anti-Leishmania activity of essential oil of *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All.: Composition, cytotoxicity and possible mechanisms of Action. **Experimental Parasitology** . v. 175, p. 59-67, 2017.
- CARVALHO, C.M. ; MACEDO-COSTA, M.R. , PEREIRA, M.S.V. et al.. Efeito antimicrobiano in vitro do extrato de jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.)O.Berg.] sobre *Streptococcus* da cavidade oral. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.1, p.79-83, 2009.
- CATÃO, M. O. **Genealogia do direito à saúde: uma reconstrução de saberes e práticas na modernidade** [online]. Campina Grande: EDUEPB, 2011.

- CHASSANY , O.; MICHAUX, A.; BERGMANN, J. F. Drug-induced diarrhoea. **Drug Safety**, v. 22, n.1, p 53-72, 2000.
- CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jabuticabeiras, **Revista Brasileira De Fruticultura**, v. 32, n. 2 p.343-656
- COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; GIMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive Compounds and Health Benefits of Exotic Tropical Red-black Berries. **Journal of Functional foods**. V. 5, p. 539-549, 2013.
- COUTINHO, I.D; CARDOSO, C. A. L.; RÉ-POPPII, N.; MELO, A. M.;VIEIRA, M. C.; HONDA, N. K.; COELHO. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Guavira) Brazilian. **Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 45, n. 4, 2009.
- CURY, Y.; PICOLO, G.; GUTIERREZ, V. P.; FERREIRA, S. H. Pain and analgesia: The dual effect of nitric oxide in the nociceptive system. **Nitric Oxide**. v. 25, p. 243–254, 2011.
- DELGADO-ALTAMIRANO A. R.; MONZOTEC, L.; PIÑÓN-TÁPANESC, A.; VIBRANDS, H.; RIVERO-CRUZE, J. F.; IBARRA-ALVARADO, C.; ROJAS-MOLINAB, A. In vitro antileishmanial activity of Mexican medicinal plants. **Heliyon**. v. 3, n. 394, 2017.
- DESCHAMPS, C.; MONTEIRO, R.; MACHADO, M. P.; COCCO, A. P. S. L.; YAMAMOTO, C. Avaliação de genótipos de *Mentha arvensis*, *Mentha x piperita* e *Mentha* spp. para a produção de mentol, **Horticultura Brasileira**, vol.31 n.2, 2013.
- DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new Perspectives. **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.** v. 27, p. 305–318, 2004.
- DEWICK, P. M. **Medicinal natural products biosynthetic approach**. Chichester: Wiley, 2009.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products**. A Biosynthetic Approach. 2nd ed, 2002.
- DIAS, C. N. ; RODRIGUES, K. A. F.; CARVALHO, F. A. A.; CARNEIRO, S. M. P. ; MAIA, J. G. S.; ANDRADEC, E. H. A.; MORAES, D. F. C Molluscicidal and Leishmanicidal Activity of the Leaf Essential Oil of *Syzygium cumini* (L.) Skeels from Brazil. **Chemistry & Biodiversity**. v. 10 ,2013.

- DONATO, A. M.; MORRETES, B. L. Anatomia foliar de *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) proveniente de áreas de restinga e de floresta, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 426-443, 2007.
- DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da Atividade Antioxidante utilizando Sistema β -caroteno/ácido Linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.
- DUBEY, V.S.; BHALLA, R.; LUTHRA, R.; An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. **The Journal of Biosciences**, v. 28, p. 637–646, 2003.
- DUKE, J. A. **Handbook of Medicinal Herbs**, Ed. 2, 2002.
- ELODIE, C.; CHRISTOPHER, B.; TIMOTHY, P. et al. Differences in volatile terpene composition between the bark and leaves of tropical tree species, **Phytochemistry**, v. 82, p. 81–88, 2012.
- EMERENCIANO; V. P. ; RODRIGUES, V. P. ; ALVARENGA, S. A. V.; MACARI, E. P. A. T. Um Novo Método Para Agrupar Parâmetros Quimiotaxonômicos, **Química Nova**, v. 21, n.2, 1998.
- ESTEVES, E. A.; MONTEIRO, J. B. R.; Efeitos Benéficos Das IsoflAs Isoflavonas de Soja Em Doencas Crônicas. **Revista de Nutrição**, v.14, n.1, p. 43-52, 2001.
- F. BAKKALI; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; . IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review, **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.
- FEIN, A. **Nociceptors: The cells that Sense Pain**, 2011. Disponível em <<http://www.dol.inf.br/nociceptores>> Acesso em: 08 Fev. 2019.
- FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química nova esc.** v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.
- FERNANDES, T. M. **Plantas medicinais: memória da ciência no Brasil** [online]. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2004.
- FERNANDEZ-PACHON, M. S.; VILANO, D.; TRONCOSO, A. M.; GARCIA-PARRILLA. Antioxidant activity of Phenolic compounds: from in vitro results to in vivo evidence. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, p. 649-671, 2008.
- FERREIRA, L. A. Q.; MARQUES, C. A.. Garrafadas: uma abordagem analítica, **Revista Fitos**, v.12, n.3, p. 243-262, 2018.

FIELD, M.; SENRAD, C. E. Toxigenic diarrheas, congenital transport. **Annual Review Physiology**, v. 55, p.631-655, 1993.

FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; PEDRO, L.G.; SCHEFFER, J.J.C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour Fragrance Journal**, v. 23, p. 213–226, 2008.

FORATTINI, O. P. Doenças não transmissíveis e infecções, **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 1, p. 1-3, 2002.

FREITAS, V.S.; RODRIGUES, R.A.F.; GASPI, F.O.G., Propriedades farmacológicas da Aloe vera (L.) Burm. **A Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.**, v.16, n.2, p.299-307, 2014

GARSKE, S. **Leaves: *Artemisia absinthium***, 2018. Disponível em:<
<https://gobotany.newenglandwild.org/species/artemisia/absinthium/>> Acesso em: 26/01/2018
GILBERTE, B.; FAVORETO, R. Schinus terebinthifolius Raddi, **Revista Fitos**, v.6, n.1, 2011.

GIRALDI, M.; HANAZAKI, N. Uso e Conhecimento Tradicional de Plantas Mediciniais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. v. 24, n. 2, p. 395-406, 2010.

GIRALDI, M.; HANAZAKI, N. Uso e Conhecimento Tradicional de Plantas Mediciniais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. v. 24, n. 2, p. 395-406, 2010.

GIULIETTI, A. M.; QUEIROZ, R. M. H.; WANDERLEY, M. G. L.; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil, **Megadiversidade**, v.1,n. 1, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas Mediciniais: Fatores De Influência No Conteúdo De Metabólitos Secundários, **Química Nova** , v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOMES, J. P.; COREGIO, H. M.; SILVA, K.M. et.al, Myrtaceae na Bacia do Rio Caveiras: Características Ecológicas e Usos Não Madeireiros, **Floresta e Ambiente**, V. 24, 2017.

HAIDA, K. S.; HAAS, J.; MELLO, S.A. et al. Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Goiaba (*Psidium guajava* L.) Fresca e Congelada, **Revista Fitos**, v. 9, n. 1, p. 1-72, 2015.

HALDAR, S.; KAR, B.; DOLAI, N.; KUMAR, R. B. S.; BEHERA, B.; HALDAR, P. K. In vivo Anti-nociceptive and Anti-inflammatory Activities of *Lippia alba*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. p.667-670, 2012.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. 4ª edição, **Clarendon**. Oxford, 2007.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**. v. 68, n. 22-24, p. 2831-2846, 2007

HASENCLEVER, L.; PARANHOS, J.; COSTA, C. R.; CUNHA, G.; VIEIRA, D. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades, **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n.8, p.2559-2569, 2017.

HAVAGIRAY, CR., RAMESH, C., SADHNA, K . Studies on anti-diarrheal activity of *Calotropis gigantea* R.BR. in experimental animals. *Journal of Pharmacology*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 1, p. 70-75, 2004.

HERNANDEZ-MONTES, E., POLLARD, S.E., VAUZOUR, D., JOFRE-MONTSENY, L., ROTA, C., RIMBACH, G., WEINBERG, P.D.E SPENCER, J.P.E. Activation of glutathione peroxidase via Nrf1 mediates genistein's protection against oxidative endothelial cell injury. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.346, p.851-859, 2006.

HOMMAM, M. M.; TANIGUCHI, O. O.; MORITAS, N. I.; TSUMA, T. Inhibitory Effects of Lignans And Flavonoids In Saibokuto, a Herbal Medicine For Bronchial Asthma, on the Release Of Leukotrienes From Human Polymorphonuclear Leukocytes. **PlantaMedica**. v. 66, p. 88-91, 2000.

IDEMIR, C.; VICARI, I. J.; SILVA, T. T. da; DANNER, M. A. Qualidade de Frutos de Jabucabeira (*Myrciaria cauliflora*) sob Influência de duas Condições de Cultivo: Sombreamento Natural e Pleno Sol. **Revista Brasileira de Agrociência**. v.11, n. 3, p. 373-375, 2005.

ISIHIWAJ, S. T.; MINAKI, Y.; SASCHIDA, Y.; YANO, M.; ITO, A. A Citrus Flavonoid , Nobiletin, Suppresses Production And Gene Expression of Matrix Metalloproteinase 9/Gelatinase B in Rabbit Synovial Fibroblasts. **The Journal of Rheumatology**. v.27, p. 20-25, 2000.

JANIKUES, A. G. P. R.; LEAL, V. O.; MOREIRA, N. X.; SILVA, A. A. M.; MAFRA, D. Compostos fenólicos e DRC. *Nutrire: rev. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, v. 38, n. 3, p. 322-337, 2013.

JULIUS, D.; BASBAUM A. I. Molecular Mechanisms of Nociception. **Nature**, n.413, v. 6852, p. 203-10, 2001.

- KLEIN, T.1 ; LONGHINI, R. ; BRUSCHI, M.L. ; MELLO, J.C.P. Fitoterápicos: um mercado promissor, **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n.3, p. 241-248,2009.
- KUMAR S., PANDEY A.K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v.162750, 2013.
- KUMAR, S.; BAJAWA, B. S.; SINGH KULDEEP.; KALIA, A. N. Anti-Inflammatory Activity of Herbal Plants: A Review. **International Journal Of Advances In Pharmacy, Biology And Chemistry**, v. 2 n. 2, Apr-Jun, 2013.
- KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Antiinflamatórios Não Esteróides Inibidores da Ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 4, p. 498 - 512, 2002.
- LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J. Physiology of Pain. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v.30, n.4, p. 703-728, 2000.
- LEITE, A. V.; MALTA, L. G.; RICCIO, M. F.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Antioxidant Potential of rat Plasma by Jaboticaba Peel (*Myrciaria Jaboticaba* Vell.Berg). **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 59, n. 6, p. 2277-2283, 2011.
- LEITE-LEGATTI, A. V.; BATISTA, A. G.; DRAGANO, N. R. V.; MARQUES, A. C.; MALTA, L. G. RICCIO, M. F.; EBERLIN, M. N.; MACHADO, A. R. T.; CARVALHO-SILVA, L. B.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; PASTORE, G. M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Jaboticaba Pell: Antioxidant compounds, Antiproliferative and Antimutagenic Activities. **Food Research International**. v. 49, p. 596-603, 2012.
- LEMOES, J. V. **Jaboticaba-sabará Plinia jaboticaba (Vell.) Berg**, 2014.. Disponível em <https://www.flickr.com/photos/jonatanvitorlemos/12350830494> Acesso em: 26/11/2018
- LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P.; DANTAS-BARROS, A. M. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 58, n. 4, 2008.
- LIMA, A. I. C. L. DIAS, M. S. NETO, R. S. G. OLEA, Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais, **Cadernos de Pesquisa**, v. 18, n. especial, 2011.
- LÔBO, C. R. Cáscara Sagrada (*Rhamnus purshiana*): Uma Revisão de Literatura, **Revista de Divulgação Científica Sena Aires**, v. 2, p. 171-178, 2012.
- LONGUI, C. A. Corticoterapia: minimizando efeitos colaterais. **Jornal de Pediatria**. v. 83, n. 5 ,p. 163-171, 2007.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. Frutas **Brasileiras e Exóticas Cultivadas**. Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2006.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas Ornamentais no Brasil**. 3º ed. Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2001.

MACHADO, B. F. M.; FERNANDES JUNIOR, A. Óleos Essenciais: Aspectos Gerais E Usos Em Terapias Naturais,, Caderno Acadêmico, , v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MACHADO, K. C.; GOMES JÚNIOR, A.L. FREITAS, R. M. et al. Uso De Produtos Naturais Para O Tratamento De Doenças Infecciosas: Prospecção Tecnológica, **Revista GEINTEC**, v. 4, n. 1, p.665-672, 2014.

MARIANNI, N. C. T.; COSTA, R. C.; LIMA, K. M. G.; NARDINI, V.; CUNHA JÚNIOR, L. C.; TEIXEIRA, G. H. A. Predicting Soluble Solid Content in Intact Jaboticaba [*Myrciaria Jabotica* (Vell.) O. Berg] Fruit Using Near-Infrared Spectroscopy and Chemometrics. **Food Chemistry**. v. 159, p. 458-462, 2014.

MATHAN, V. I. Diarrhoeal diseases. **British Medical Bulletin**, v. 54, p. 402 – 419, 1998.

MATHERS, C. D, EZZATI M, LOPEZ A. D. Measuring the burden of neglected tropical diseases: the global burden of disease framework. **PLoS Negl Trop Dis**. v.1, p. 114, 2007.

MATTOS, J. L. R. **Frutos indígenas comestíveis do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1978.

MEIRA, N. A. N.; PEREIRA, N. P.; MACIEL, L. F. et al. Flavonoids And Anthocyanins In *Myrciaria cauliflora* (Jaboticaba) Aiming To Cosmetic Applicability, **Visão Acadêmica**, v.17, n.3, 2016.

MELLO, B.; LANGELOH, A; MELLO, J. R.B. Estudo de Toxicidade e Eficácia em Ratos Wistar de Produto Fitoterápico Usado como Sedativo e/ou Hipnótico Fernanda, **Latin American Journal of Pharmacy**,v. 26, n. 1, p. 38-44, 2007.

MENDES, S. S. et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, n. 3, p. 391-397, 2010.

MENDES-PINTO, M.M. Carotenoid breakdown products the—norisoprenoids—in wine aroma. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v. 483, nº 2, p. 236–245, 2009.

- MERCALI, G. D.; GURAKI, P. D.; SCHMITZ, F.; MARCZAK, L. D. F. Evaluation of Non-Thermal Effects of Electricity on Anthocyanin Degradation During Ohmic Heating of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Food Chemistry**. v. 171, p. 201-205, 2015.
- MESQUITA jr, D. M.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C.; CRUNIVEL, W. N. Aspectos Celulares E Moleculares Da Inflamação. **Revista Brasileira de Medicina**. p. 66-81, 2008.
- MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in Neurobiology**. v. 57,n.1, p. 1-164, 1999.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde, **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n. 1, p. 200-227, 2010.
- MISHRA, B. B.; SINGH, R. K. A. et al. Fighting Against Leishmaniasis: Search of Alkaloids as Future True Potential Anti-Leishmanial Agents, **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 9, pp. 107-123, 2009.
- MOHAMMADHOSSEINI, M.; SARKER, S. D.; AKBARZADEH, A. Chemical composition of the essential oils and extracts of *Achillea* species and their biological activities: A review. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 199, p. 257–315, 2017.
- MONTEIRO, S. C. **Farmacobotânica - Aspectos Teóricos E Aplicação**, Artmed, ed. 1, 172 p, 2017.
- MORAIS, L. M. F.; CONCEIÇÃO, G. M.; NASCIMENTO, J. M. Família Myrtaceae: Análise Morfológica E Distribuição Geográfica De Uma Coleção Botânica, Agrarian Academy, **Centro Científico Conhecer**, v.1, n.01,p. 2014.
- MORAIS, S. M.; DANTAS, J. D. P.; SILVA, A. R. A.; MAGALHÃES, E. F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n. 2, p 169-177, 2005.
- MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Influence of Spices Phenolic Compounds on Lipoperoxidation and Lipid Profile of Rats Tissues. **Revista de Nutrição**. v. 17, n. 4, 2004.
- MORRISON, S. F., NAKAMURA, K., MADDEN, C. J. Central control of thermogenesis in mammals. **Experimental Physiology**, v. 93, n. 7, p. 773-797, 2008.
- MORTON, J. **Fruits of Warm Climates**; Julia Morton: Winterville, NC, 1987; p. 386-388.

MOTTA, E.V.S.; PINTO, N.C.C.; DUQUE, A.P.N.; MENDES, R. F.; BELLOZI, P.M.Q.; SCIO, E. Atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória das folhas de *Mucuna pruriens* (L.) DC. **Rev. bras. plantas med. vol.15 no.2 Botucatu 2013**

MUNIZ, H. J. T. **Frutas Do Mato – Um Guia De Identificação, Cultivo E usos**, 2017. Disponível em <<http://www.colecionandofrutas.org/myrciariatrunciflora.htm>> Acesso em: 26/11/2018.

MUREK, M.; KOPIC, S.; GEIBEL, J. Evidence for intestinal chloride secretion **Experimental Physiology**, v. 95, n.4, p. 471–478, 2010.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and Analysis of Phenolics in Food. **Journal of Chromatography A**. v. 1054, p. 95-111, 2004.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and Analysis of Phenolics in Food. **Journal of Chromatography A**. v. 1054, p. 95-111, 2004.

NICOLETTI, M. A.; ROSILENE KINUE ITO, R. K.; FUKUSHIMA, A. R.; LEANDRO, A. C. Farmacovigilância de drogas vegetais e seus derivados: uma ação necessária e já iniciada para a segurança do paciente, no contexto do uso racional de medicamentos. **Vigilância sanitária debate**, v. 3, n. 2, p. 136-143, 2015.

NIJVELDT, R. J.; VAN NOOD, E.; DANNY E.C. ; VAN HOORN, BOELEN, P. G VAN NORREN, K. VAN LEEUWEN, P. A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Am J Clin Nutr** . v.74, p.418–25, 2001.

OAKLANDER, A. L. Chronic pain. **ACP Medicine**, p. 1-19, 2011.

OLIVEIRA, A. M.; BARRETO, A. A. O.; QUINTANS JÚNIOR, L. J.; GUIMARÃES, A. G. Aplicação De Terpenos Como Agentes Analgésicos: Uma Prospecção Tecnológica. **TI/SIMTEC** v. 2,n.1, p.033-039, 2014.

PERCIVAL, M. Antioxidants. **Clinical Nutrition Inside**, v. 31, p. 1-4, 1998.

PESSINI, G.L.; HOLETZ, F.B.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; DIAS FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista. Brasileira de Farmacognia**. v. 13, p. 21-24, 2003.

PICKINA, E. **Erva-Doce: Virtude Floral e Benesses**, 2012. Disponível em: <<https://cuidarseblog.files.wordpress.com/2012/11/Erva-DoceAmarela>>. Acesso em: 26/01/2018.

PLINIA IN Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10828>>. Acesso em: 08 Fev. 2019.

PRIOR R. L.; WILKES, S.; ROGERS, T.; KHANAL, R. C.; WU, X.; HAGER T. J. Dietary Black Raspberry Anthocyanins do not alter Development of Obesity in mice fed obesogenic high-fat diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 58, n. 7, p. 3977-3983, 2010.

RANG, H. P., DALE, M. M., RITTER, J. M. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 2001.

RATNAM, D., ANKOLA, D., BHARDWAJ, V., SAHANA, D. E KUMAR M. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, v.113, p.189-207, 2006.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants In: AKOH, CC; Min DB. **Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology**. 2ª Edição: Marcel Dekker, New York, 2002.

REYNERTSON, K. A.; WALLACE, A. M.; ADACHI, S. Bioactive Depsides and Anthocyanins from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), **Journal Natural Products**, v. 69, p. 1228-1230, 2006.

RIBEIRO, S.; SCHMIDT, A. P.; SCHMIDT, S. R. G. O Uso De Opióides No Tratamento Da Dor Crônica Não Oncológica: O Papel Da Metadona. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.52, n.5, p. 644-651, 2002.

ROBES, R. R. **Avaliação do cetorolaco de trometamina e parecoxib para analgesia preemptiva em gatas**. Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná. Dissertação de mestrado, Curitiba, 2006.

ROCHA, L.; LUCIO, E. M. A.; FRANÇA, H. S.; SHARAPIN, N. *Mikania glomerata* Spreng: desenvolvimento de um produto fitoterápico, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.18, n. 0, 2008.

ROHLOFF, J.; HYMETE, A.; TARIKU, Y. Plant-Derived Natural Products for the Treatment of Leishmaniasis. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 39., 2013.

ROSSA, U. B.; TRICHES, G. P.; GROSSI, F. et. al. Germinação de Sementes e Qualidade De Muda DE *Plinia trunciflora* (Jabuticabeira) Em Função De Diferentes Tratamentos Pré-Germinativos. **Floresta**, v. 40, n. 2, p. 371-378, 2010.

- RUIZ, L.; RUIZ, L.; MACO, M.; COBOS, M.; GUTIERREZ-CHOQUEVILCA, A. L.; ROUMY, V. Plants used by native Amazonian groups from the Nanay River (Peru) for the treatment of malaria. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 133, n. 2, p. 917-921, 2011.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos. Actividad antioxidante. **Alimentaria**, Lisboa, enefeb, p.29-40, 2002.
- SANTOS JUNIOR, J. C. M. Rubor, calor, tumor e dor e o paciente grave. **Revista Brasileira de coloproctologia**, v. 23, n. 3, p. 206-210, 2003.
- SANTOS, C. A.; MIRANDA, F.; CARDOSO, N. G.; BATISTA, L. R. et al. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas, **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.
- SANTOS, C. S.; GOMES, A. M. T.; SOUZA, F. S.; MARQUES, S. C. ; LOBO, M. P.; OLIVEIRA, D. C. Representações sociais de profissionais de saúde sobre doenças negligenciadas. **Esc Anna Nery**. v. 21, n. 1, 2017.
- SCHMITZ, L. M.; BACHER, S. Novel molecular targets in the search for anti-inflammatory agents. **Phytochemistry Reviews**, n.4, p. 19-25, 2005.
- SENNA, L. M.; SOUZA, G. R.; BIZZO, H. R.; MOREIRA, D. L. Composição volátil das folhas de *Eugenia racemulosa* O. Berg. (Myrtaceae), **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 2, p. 51-54, 2011.
- SETTY A. R, SIGAL, L. H. Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: mechanisms of actions, efficacy and side effects. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, p. 773-84, 2005.
- SHAREEF., H. et al. Studies on antidiarrhoeal, antispasmodic and bronchodilator activities of *Operculina turpethum* Linn. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.14, p.479, 2014.
- SHARMA., H. L., SHARMA.,K. K. **Principles of Pharmacology**. (first ed.) Paras Medical Publisher ,p. 412–414, 2007.
- SILVA, C. S.; CARVALHO, J.C.T. Inflamação. In: CARVALHO, J.C.T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios: Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. São Paulo:Tecmedd, 2004.

SILVA, M. L. C ; COSTA, R. S.; SANTANA, A.R.S. ; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais, *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, R. L ; MARTINS, L. V. ; BANTIM FELICIO CALOU, I. et al. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. *Acta Toxicológica Argentina*, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.

SILVA, W. J. M. FERRARI, C. K. B. Metabolismo Mitocondrial, Radicais Livres e Envelhecimento, *Revista Brasileira De Geriatria E Gerontologia*, v. 14, n. 3, p. 441-451, 2011.

SIMÕES, R. R.; KRAUS, S. I.; COELHO, I. S.; DAL-SECCO, D.; SIEBERT, D. A.; MICKE, G. A.; ALBERTON, M. D.; SANTOS, A. R. S. *Eugenia brasiliensis* leaves extract attenuates visceral and somatic inflammatory pain in mice, *Journal of Ethnopharmacology*, v. 2017, p. 178-186, 2018.

SINGH, N.; MISHRA, B.B.; BAJPAI, S.; SING, R. K.; TIWARI, V. K. Natural product based leads to fight against leishmaniasis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* .v. 22, p.18–45, 2014.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como Antioxidantes. *Revista de Nutrição*. v.15, n. 1, p.71-81, 2002.

SOBRAL, M. Alterações nomenclaturais em *Plinia* (Myrtaceae). *Boletim do Museu Botânico de Curitiba*, n. 63, p. 1-4, 1985.

SOBRAL, M., PROENÇA, C., SOUZA, M., MAZINI, F., LUCAS, E. 2015. *Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

SOUZA-MOREIRA, T.M.; SEVERI, J. A.; SANTOS, E. et al. Chemical and Antidiarrheal Studies of *Plinia cauliflora*. *Journal of Medicine Food*, v.14 n. 12, p. 1590–1596, 2011.

STANGARLIN, J. R. ; KUHN, O. J. ; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L. ; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. ; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. *Scientia Agraria Paranaensis*. v. 10, n. 1, p 18-46, 2011.

STANGARLIN, J.R ; SCHULZ, D.G ; FRANZENER, G. L.; ASSI, K.R.F. SCHWAN-ESTRADA, O.J. KUHN. Indução De Fitoalexinas Em Soja E Sorgo Por Preparações De *Saccharomyces Boulardii*, *Arquivos do Instituto Biológico*, v.77, n.1, p.91-98, 2010.

TAHER, Y. A.; SAMUD, A. M. ; EL-TAHER, F. E . et al. Avaliação experimental de atividades antiinflamatórias, antinociceptivas e antipiréticas de óleo de cravo em camundongos, **Líbio Journal Medicine**, v. 10, n. 1, 2015.

TAIZ, L. ZEIGER, E.; MOLLER, M. I.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**, 6ed, Artmed Editora, 2017.

TAO-HSIN, C.; FU-LIEN, H.; TZU-PING, K.; KUO-HSUN, T.; PO-HUANG, L., ANDREW, H.J. W. Structure of a Heterotetrameric Geranyl Pyrophosphate Synthase from Mint (*Mentha piperita*) Reveals Intersubunit Regulation. **The Plant Cell**, v.. 22: p.454–467, 2010.

TAPIERO, H., BA, G. N., TEW, K. D. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 5, p. 215-22, 2002.

TEDGUI, A.; MALLAT, Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. **Circulation Research**. v. 88, p. 877-887, 2001.

TEWARI, D.; TRIPATHI, A. Y. C. Hytochemistry And Pharmacology of Plantago Ovata: A Natural Source Of Laxative Medicine. **World Journal of Pharmaceutical Research** , v. 3, n. 9, p. 361-372, 2014.

The Plant List. **Myrtaceae** [online]. 2013 [citado em 2015 set. 22]. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Myrtaceae>

THEIS, N., LERDAU, M. The evolution of function in plant secondary metabolites. **International Journal of Plant Sciences**, v. 164, n.3, p. 93-102, 2003.

TROMBETTA, D. et al. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.49, n.6, p.2474-8, 2005.

VALENTE, L. M. M.; ALENTE, L. M. M. Unha-de-gato [Unha-de-gato [*Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. e (Willd.) DC. e *Uncaria guianensis* *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmel.]: Um Panorama Sobre anorama Sobre seus Aspectos mais Relevantes seus Aspectos mais Relevantes. **Revista Fitos**, v.2, n. 01, 2006.

VASCO-DOS-SANTOS, R. D.; SANTOS, J. V.; ANDRADE, W. M.; SANTOS-LIMA5, T. M.; LIMA, L. D.; DIAS-LIMA, A.G.; ANDRADE, M. J. G.; VANNIER-SANTOS, M. A.;

- MOURA, G. J. B; NUNES, E. S. Plantas antiparasitárias utilizadas pelos indígenas Kantaruré-Batida (NE-Brasil): Etnobotânica e riscos de erosão dos saberes locais **Ambiente & Sociedade**, v. 21, 2018.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, E. C. Plantas Medicinais: Cura Segura? **Química Nova**. v. 28, n. 3, 519-528, 2005.
- WANG, WEN-HUNG; TYAN, YU-CHANG CHEN, Z. S. et al. Evaluation of the Antioxidant Activity and Antiproliferative Effect of the Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seed Extracts in Oral Carcinoma Cells, **BioMed Research International**, p.7, 2014.
- WATERMAN, P. G. The current status of chemical systematics. *Phytochemistry*, in press, doi:10.1016/j.phytochem.2007.06.029. 2007
- WERZ, O. Inhibition of 5-Lipoxygenase product synthesis by natural compounds of plant origin. **Plantas Medicinais**. v. 73, p. 1331-1357, 2007.
- WU, S-B. DASTMALCHI, K.; LONG, C.; KENELLY, E. J. Metabolite Profiling of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other Dark-Colored Fruit Juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 60, p. 6513-7525, 2012.
- WU, S-B., LONG, C., KENELLY, E. J. Phytochemistry and Health Benefits of Jaboticaba, an Emerging Fruit Crop From Brazil. **Food Research International**. v. 154, p. 148-159, 2013.
- XIAO-QING, Y. ; GUIDO, J. E. An Overview of Plant Phenolics Measurement. **Food Technol Nutr Sci Open** . n.2, p. 34-44, 2016
- YAKUBU., M. T., SALIMON., S. S. Antidiarrhoeal activity of aqueous extract of *Mangifera indica* L. leaves in female albino rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 163, p. 135-141, 2015.
- ZAGO, M. F. C.; CALIARI, M.; SOARES JÚNIOR, M. S. et al. Jaboticaba Peel In The Production Of Cookies For School Food: Technological And Sensory Aspects, **Ciência e Agrotecnologia**, v. 39, n. 6, p. 624-633, 2015
- ZHAO, D.-K., SHI, Y.-N., PETROVA, V. et al. Jaboticabin and Related Polyphenols from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) with Anti-inflammatory Activity for Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2019.

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DE ANIMAIS (CEUA)



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 / 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 13 de julho de 2016.

Ofício nº 73/16

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

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

Departamento de Bioquímica

Centro de Biociências

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.000669/2016-99

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação das atividades biológicas da casca do fruto de Myrciaria cauliflora em modelos experimentais.**”, registrada com o nº 23076.000669/2016-99, sob a responsabilidade de **Prof.ª Vera Lucia de Menezes Lima** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 28/06/2016.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Até 27/02/2019
Espécie/linhagem/raça	Camundongo <i>heterogênico</i>
Nº de animais	78
Peso/Idade	30-35g/ 30-60 dias
Sexo	Macho
Origem	Biotério

Atenciosamente,

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