

ESTUDOS BOTÂNICO, FITOQUÍMICO E DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS FOLHAS DE *Eugenia klotzschiana* O.Berg

Botanical, phytochemical and biological activity studies of the leaves of Eugenia klotzschiana O.Berg

Charles Lima Ribeiro

Universidade Estadual de Goiás – UEG/UnU CSEH
charles20lima@gmail.com

Márcio Júnior Pereira

Universidade Estadual de Goiás – UEG/UnU CSEH
marciopereira1898@gmail.com

Adriano Pereira Ramiro

Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA
adriano.ramiro@unievangélica.edu.br

José Luís Rodrigues Martins

Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA
jose.martins@unievangélica.edu.br

Plínio Lázaro Faleiro Naves

Universidade Estadual de Goiás – UEG/Campus CET
plinionaves@ueg.br

Josana de Castro Peixoto

Universidade Estadual de Goiás – UEG/UnU CSEH
Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA
josana@ueg.br

Resumo: A *Eugenia klotzschiana* O.Berg é uma espécie pertencente à família Myrtaceae, endêmica do Cerrado e que se encontra amplamente distribuída nesse bioma. Atualmente figura entre as espécies ameaçadas de extinção e com carência de estudos fitoquímicos e de seu potencial terapêutico. Nesse contexto, este estudo morfo-botânico foi realizado com a coleta, secagem e pulverização de amostras das folhas para a determinação do teor de umidade, teor de cinzas e análise fitoquímica. Posteriormente foram realizados estudos da toxicidade com o ensaio de letalidade de *Artemia salina* e avaliação antinociceptiva e/ou anti-inflamatória. Os resultados encontrados demonstraram que esta planta possui características morfológicas básicas como a formação de touceiras, folhas coriáceas, presença de frutos carnosos, pilosos, com comprimento aproximado de 8cm e em baga. As análises fitoquímicas demonstraram a presença de compostos antraquinônicos, heterosídeos cardioativos, flavonóides, saponinas e taninos em pulverizados de suas folhas. O extrato hexânico apresentou bioatividade no ensaio de letalidade de *A. salina*, assim como propriedades antinociceptivas e/ou anti-inflamatórias. *E. klotzschiana* O.Berg apresenta potencial terapêutico e reforça a importância da preservação e conservação do bioma Cerrado, que com sua diversidade, apresenta-se como um repositório interessante de moléculas para futuros bioprodutos.

Palavras-chave: Perinha do Cerrado; Análise Fitoquímica; Bioprospecção.

Abstract: *Eugenia klotzschiana* O.Berg belongs to the Myrtaceae family, which is endemic to the Cerrado and is widely distributed in this biome. Currently, it is among the endangered species with a lack of phytochemical studies and its therapeutic potential. In this context, this morpho-botanical study was carried out with the collection, drying and pulverization of leaf samples for the determination of the moisture content, ash content and phytochemical analysis. Later, toxicity studies were carried out with the *Artemia salina* lethality assay and antinociceptive and/or anti-inflammatory evaluation. The results showed that this plant has basic morphological characteristics such as clump formation, leathery leaves, presence of fleshy, hairy, berry-like fruits, approximately 8cm long. Phytochemical analyses demonstrated the presence of anthraquinone compounds, cardioactive heterosides, flavonoids, saponins, and tannins in sprays of its leaves. The hexanic extract showed bioactivity in the *A. salina* lethality assay, as well as antinociceptive and/or anti-inflammatory properties. *E. klotzschiana*O.Berg presents therapeutic potential and reinforces the importance of preservation and conservation of the Cerrado biome, which with its diversity, presents itself as an interesting repository of molecules for future bioproducts.

Keywords: Perinha do Cerrado; Phytochemical Analysis; Bioprospecting.

INTRODUÇÃO

Algumas plantas da família Myrtaceae possuem um considerável potencial de usos medicinais descritos por povos tradicionais. Os estudos fitoquímicos demonstraram que as folhas e flores apresentam elevada presença de compostos de natureza fenólica, sendo utilizados como anti-inflamatórios, anti-hipertensivo e para distúrbios gastrointestinais, por exemplo (LUCENA *et al.*, 2014; ARAÚJO *et al.*, 2019).

Eugenia klotzschiana O.Berg é uma planta endêmica do Cerrado pertencente à família Myrtaceae, conhecida popularmente como pêra-do-cerrado, cabacinha-do-cerrado, perinha-do-cerrado, perinha-do-campo, mas também como cambamixá-açú, termo de origem tupi-guarani que significa erva que produz fruto grande que aperta a língua (FARIA; COSTA; JUNQUEIRA, 2006; DIAS, 2016). Essa planta possui porte arbustivo, com formação de hábito de touceira, os espécimes são superficialmente independentes, mas estão interligados subterraneamente (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

As atividades biológicas descritas para *E. klotzschiana* O.Berg consistem na atividade antimicrobiana das raízes, caule, folhas e flores (CARNEIRO *et al.*, 2017a; VICENTE, 2020), atividade antioxidante de frutos (TAKAO; IMATOMI; GUALTIERI, 2015; CARNEIRO *et al.*, 2019) e ação tripanocida das flores (CARNEIRO *et al.*, 2017b). Entretanto, há um número reduzido de estudos realizados com *E. klotzschiana* O.Berg, e neste sentido destaca-se a carência de triagens fitoquímicas de suas folhas, frutos, caules e raízes (VICENTE, 2020).

Portanto, este estudo visa contribuir com a compreensão das potencialidades farmacológicas e nutricionais da *E. klotzschiana* O.Berg uma vez que esta espécie vegetal está

ameaçada de extinção. Nesse contexto, o presente estudo realizou o estudo botânico, a prospecção fitoquímica e a avaliação da toxicidade e da capacidade antinociceptiva e/ou anti-inflamatória das folhas de *E. klotzschiana* O.Berg.

MÉTODOS

Coleta e estudo botânico de *E. klotzschiana* O.Berg

As folhas de *E. klotzschiana* O.Berg foram coletadas na zona rural do município de Silvânia – Goiás, nas seguintes coordenadas geográficas: -16.697976S, - 48.63388W; - 16.698048S, -48.633466 W; -16.698009 S, -48.633386 W, no mês de dezembro de 2021. As exsiccatas encontram-se depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Goiás, sob o número de tombo 14911. Coletou-se ramos caulinares, acima de 20cm da superfície do solo; a partir de 10 AM.

O registro fotográfico foi realizado no mês de dezembro de 2021 -fruto- e maio de 2022 – para os demais órgãos vegetais. Utilizou-se máquina fotográfica, modelo *Nikon D3200*, lente *Af-5, Nikon*, 18-55mm, 1:3,5-5,6G, *Nikon DX* e no tratamento dos registros o *software Adobe Fotoshop, Lightroom 4*, assim como Microscópio Estereoscópico 40x *LED DI-224 – DIGILAB*.

Prospecção fitoquímica

As folhas dos materiais vegetais foram secas em temperatura ambiente, durante 14 dias, no Laboratório de Pesquisa em Biodiversidade (LAPEBIO) da Universidade Evangélica de Goiás - UniEvangélica e pulverizadas em moinho de facas da Tecnel no Laboratório de Biodiversidade da Universidade Estadual de Goiás. O pó obtido foi devidamente identificado, acondicionado em embalagens plásticas e armazenado em temperatura ambiente até a sua utilização nos experimentos, que foram realizados no Laboratório de Química II do curso de odontologia da Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica em duplicata.

As análises qualitativas das principais classes de produtos do metabolismo secundário presentes nas folhas de *E. klotzschiana* O.Berg, foram realizadas nas amostras pulverizadas,

com as metodologias descritas por Matos (1988), Matos; Matos (1989), Costa (2001); Paula; Bara, 2007; Simões *et al.* (2010) e Zuanazzi; Montanha, (2010).

Os extratos brutos foram obtidos a partir do material seco e pulverizado das folhas de *E. klotzschiana* O.Berg (250g) através da técnica de maceração dinâmica a frio (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998), como descrição a seguir: As extrações com hexano e etanol em triplicata, separadamente; num intervalo de 72h entre elas, num período de 14 dias, utilizando o mesmo material biológico (250g). Foram utilizados 700mL de solvente em cada extração, ou seja, 0,35g/mL (m/v), logo após cada extrato foi concentrado em pressão reduzida em rota- evaporador com 45° de inclinação.

Os extratos hexânicos e etanólicos foram armazenados em *freezer* (-10°C) até sua utilização nos testes.

Ensaio de Letalidade de *Artemia salina*

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Bioensaios, da Universidade Estadual de Goiás - UEG, Campus Central Anápolis, para determinar a toxicidade dos EEEK e EHEK com o cálculo da CL₅₀ dos extratos para *A. salina*, segundo Molinas-Salinas e Said-Fernández (2006), com adaptações.

Foi utilizado o meio de água marinha artificial (AMA) preparado a partir da dissolução de sal marinho (36g L⁻¹) e extrato de levedura (6mgL⁻¹) em água destilada com ajuste do *pH* a 8.5 com 0,1 M de Na₂CO₃. Para a realização dos ensaios, foram pesados 0,3g de cistos de *A. salina* que foram incubados em artemilheiro com 500mL de AMA durante 36h em estufa, ao abrigo de luz, à temperatura ambiente \cong 25°C e oxigenação constante. Após este período, os náuplios foram atraídos por fonte de luz, pipetados e transferidos para uma placa de Petri, contendo 5mL de AMA fresco.

Os testes foram realizados em microplacas de poliestireno de 96 poços de fundo plano. Em cada poço, foram adicionados 100μL de AMA com 10 náuplios e 100μL dos extratos etanólicos e hexânicos dissolvidos em AMS e DMSO 10% perfazendo a seguintes concentrações finais: 2,5; 1,25; 1; 0,625; 0,5; 0,3125; 0,25; 0,15625; 0,125 e 0,0625 mgmL⁻¹. As placas foram incubadas nas mesmas condições descritas para a eclosão dos cistos, porém durante um período de 24h.

Em seguida as *A. salina* mortas foram contadas em cada poço, as vivas foram inativadas e o número total de indivíduos computado em cada condição para o cálculo da CL₅₀ pelo método PROBIT com o *software R*. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas independentes.

Avaliação antinociceptiva e/ou inflamatória do composto EHEK

Foram utilizados camundongos albinos *Swiss* machos adultos, com idade de dois meses, com cerca de 40 a 44g, fornecidos e mantidos pelo Biotério da Universidade Evangélica de Goiás - UniEvangélica em condições controladas: Temperatura ambiente ($\approx 25^{\circ}\text{C}$), ração e água filtrada *ad libitum* e iluminação (Ciclo claro/escuro com períodos de 12 h). Protocolo n°002-2020, Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA, da Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica.

O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético a 1,2% foi realizado segundo metodologia apresentada por Hendershot e Forsarth (1959) e Koster; Andersons; Debber (1959). Foram utilizados grupos experimentais de camundongos machos (n=40) tratados via oral (V.O.) com veículo a 10mL/Kg, EHEK a 1000, 500 e 250 mg/Kg e indometacina a 10 mg/Kg. Após uma hora dos tratamentos, foi injetado o ácido acético a 1,2% v/v (10 mL/Kg, i.p) na região abdominal de todos os camundongos.

As contorções abdominais, torções do tronco, extensão dos membros posteriores ou de um dos membros posteriores, provocados pela irritação causada pela ação do ácido acético na cavidade abdominal, foram contadas durante um período total de 30min, através de uma observação detalhada.

A indometacina (anti-inflamatório não esteroide) foi utilizada como controle (10mg/kg v.o.). As barras e colunas verticais representam a média \pm E.P.M. (n=8) ao comparar o grupo controle (veículo 10mL/kg v.o.). Com valores de $p < 0,05$ em termos de significância das diferenças existentes quando se compara ao grupo controle utilizado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

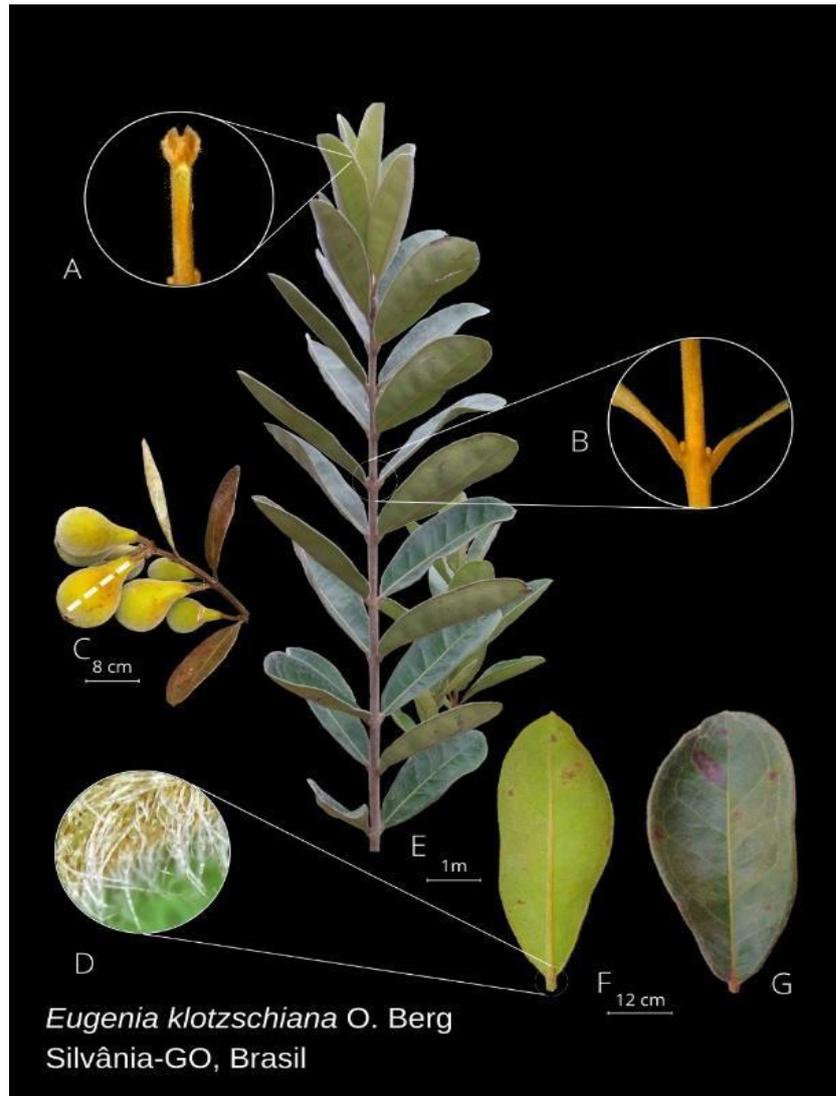
O ramo caulinar da *E. klotzschiana* apresentou diâmetro de aproximadamente 4cm, variando em regiões do mesmo ramo; apresenta filotaxia oposta e cruzada, com hastes pouco ramificadas, brotos nas porções de hastes e porções axilares, com ausência de espinhos e

acúleos na porção de caule e folhas. As folhas e os ramos jovens são pilosos, com presença de tricomas curtos. O caule apresenta casca fissurada, com estriamentos longitudinais e coloração castanho escuro. (Figura 1).

As plantas apresentam folhas simples, pecíolo reduzido, arredondado e achatado; pubescentes com tricomas tectores pluricelular sem cabeça e capitado – também presentes na lâmina foliar, na porção abaxial, com ausência de estípula e bainha. O limbo é do tipo obovato, ápice acuminado, rotundo ou mucronado, base oblíqua, margem inteira, nervação peninérvea, superfície pilosa, bicolor - coloração verde escuro na porção adaxial e na porção abaxial verde claro intenso - e consistência coriácea. A base é cuneada ou obtusa.

Os frutos possuem cerca de 8cm quando maduros, coloração verde-amarelo-laranja, com predomínio da coloração amarela intenso. São simples, pubescentes – presença de pêlos-, carnosos do tipo baga, com sabor ácido característico.

Figura 1: Registro fotográfico de um espécime de *E. klotzschiana* O.Berg.



Fonte: Acervo particular dos autores. Fevereiro, 2023.

Foi obtido um total de 393,40g de material vegetal pulverizado de *E. klotzschiana* O.Berg. O teor de umidade das amostras foi de 4,33%. Esse valor encontra-se abaixo dos valores de 8 a 14% para umidade em drogas vegetais secas recomendados pela Farmacopéia Brasileira, 6ª ed. (BRASIL, 2019). O resultado obtido assegura a estabilidade tanto química quanto microbiológica das amostras utilizadas no presente estudo, por se encontrar abaixo do intervalo recomendado. Portanto, os resultados atestam que as amostras atendem requisitos que minimizam a contaminação microbiana e degradação química.

O teor de cinzas totais foi 3% enquanto o de cinzas insolúveis em ácido clorídrico foi de 0,07%. Os resultados encontrados atestam a origem e qualidade das amostras vegetais.

A partir das análises realizadas, identificou a presença e ausência dos seguintes metabólitos secundários na amostra de folhas de *E. klotzschiana* O.Berg (Tabela 1).

Tabela 1: Prospecção fitoquímica das folhas de *E. klotzschiana* O.Berg.

Reação de Caracterização de Heterosídeos Antraquinônicos	
Reação de Borntrager Indireta	Positivo
Reação de Caracterização de Heterosídeos Cardioativos	
Reação de Liebermann-Burchard	Positivo
Reação de Keller-Kiliani	Positivo
Reação de Pesez	Positivo
Reação de Kedde	Positivo
Pesquisa de Caracterização de Heterosídeos Flavonóides	
Reação de Shinoda	Positivo
Reação Oxalo-Bórica	Positivo
Reação com Ácido Sulfúrico Concentrado	Negativo
Reação com Hidróxidos Alcalinos	Negativo
Reação com Cloreto de Alumínio	Positivo
Reação com Cloreto Férrico	Positivo
Pesquisa de Caracterização de Heterosídeos Saponínicos (Saponinas)	
	Positivo
Pesquisa de Caracterização de Taninos	
Reação com Gelatina	Positivo
Reação com Sais de Alcalóides	Positivo
Reação com Sais Metálicos	Positivo
Reação com Hidróxidos Alcalinos	Negativo
Pesquisa de Caracterização de Alcalóides	
Reativo de Mayer	Negativo
Reativo de Dragendorff	Negativo
Reativo de Bouchardat	Negativo
Reativo de Bertrand	Negativo
Reativo de Hager	Negativo
Ácido Tânico	Negativo
Pesquisa de Caracterização de Cumarinas	
	Negativo

Fonte: Autores.

A prospecção fitoquímica se faz de suma importância para a pesquisa na área das ciências farmacêuticas, para a filogenética, e para preservação e conservação de recursos vegetais dos mais distintos biomas (SOARES *et al.*, 2016).

Os rastreios fitoquímicos demonstraram que os grupos de metabólitos secundários presentes nos pulverizados de folhas de *E. klotzschiana* O.Berg, foram: Antraquinonas, heterosídeos cardioativos, flavonóides, saponinas e taninos.

As antraquinonas são uma classe de compostos aromáticos que apresentam interessantes usos, tanto na indústria quanto na farmacologia, com ampla variedade de utilizações e aplicações (ANDREI; BRAZ FILHO, 1989; HUSSAIN *et al.*, 2015; MALIK; MÜLLER, 2016).

Os derivados das antraquinonas têm sido utilizados por séculos em aplicações médicas, como agentes antimicrobianos, laxantes e anti-inflamatórios; com indicações terapêuticas que incluem câncer, esclerose múltipla, constipação e artrite (MALIK; MÜLLER, 2016), atuando também como agentes antidiabéticos, anti-HCV, antivirais, antifibróticos e fungicidas (HUSSAIN *et al.*, 2015).

Os heterosídeos cardioativos ou glicosídeos cardioativos são compostos que atuam na bomba de sódio e potássio do coração apresentando atividade inotrópica, pois possui ação frente as ATPases (TAIZ; ZEIGER, 2004; BOTELHO, 2018). São compostos químicos que contém um ou mais resíduos de glicídeos ligados, apresentando toxicidade e gosto amargo (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Os flavonóides apresentam distintos papéis biológicos e são rotineiramente encontrados em vários vegetais (SERAFINI; PELUSO, RAGUZZINI, 2010; WEN *et al.*, 2021), no entanto, em pequenas concentrações (WEN *et al.*, 2017). São um grupo de compostos polifenólicos que tem apresentado uma ampla ação frente a uma gama diversa de distúrbios de saúde, tais como: Câncer, hipoglicemia, alterações cardiovasculares e inflamações crônicas (WEN *et al.*, 2020).

As saponinas apresentam aplicações na área da indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (OSBOURN; GOSS; FIELD, 2011), com ampla atividade biológica, como antimicrobiana, antiviral – frente a HIV, COVID-19, rotavírus, HSV, por exemplo (SHARMA *et al.*, 2021), anti-inflamatória (PASSOS *et al.*, 2022) e anticâncer (WANG, 2022).

Os taninos são um grupo de polifenóis solúveis em água que possuem a função nos vegetais de os protegerem contra fungos e insetos (SZCZUREK, 2021). Apresentam as seguintes propriedades terapêuticas: anti-hiperglicêmicas, antimicrobianas, anticancerígenas e

antioxidantes; atuam frente a uma ampla variedade de doenças respiratórias, tais como: Asma, doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose pulmonar e hipertensão pulmonar, por exemplo (RAJASEKARAN; RAJASEKAR; SIVANANTHAM, 2021).

Neste panorama a família Myrtaceae do ponto de vista fitoquímico, apresenta uma diversidade de derivados flavonóides, óleos voláteis e taninos onipresentes. São ricos em derivados de floroglucinol, das subclasses: Floroglucinóis e acilcloroglucinóis, nomeados de myrtocommulonas (CELAJ *et al.*, 2021).

As Myrtaceae apresentam uma grande variedade de terpenos – sesquiterpenos, monoterpenos, polifenóis, carotenóides e outros produtos exclusivos (NICOLETTI *et al.*, 2018; ARAÚJO *et al.*, 2019), e os sesquiterpenos, por exemplo, são compostos predominantes na maioria dos óleos essenciais de espécies da família Myrtaceae nos neotrópicos (STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011).

O gênero *Eugenia* possui um elevado número de estudos fitoquímicos, principalmente devido à presença de óleos essenciais, que são amplamente produzidos pelas espécies deste gênero (SILVEIRA *et al.*, 2021). No entanto, algumas espécies como *E. klotzschiana* O.Berg são negligenciadas e se encontram ameaçadas de extinção sem ao menos se compreender suas potencialidades. Além dos compostos fenólicos, as espécies de *Eugenia* apresentam compostos derivados da classe de metabólitos dos terpenos, como os esteróides e triterpenos (MAGINA, 2008).

Estudos com a espécie *E. klotzschiana* O.Berg identificaram a presença de alguns compostos, tais como: α -copaeno, β -bisaboleno, α -(E)-bergamoteno, β -cariofileno, espatulenol, biciclogermacreno, sesquiterpenos, monoterpenos compostos fenólicos, carotenóides, flavonóides, compostos fenólicos e ácido ascórbico (CARNEIRO *et al.*, 2017a; CARNEIRO *et al.*, 2017b; CARNEIRO *et al.*, 2019; VICENTE, 2020, MARIANO *et al.*, 2022).

Os produtos de origem vegetal são uma fonte valiosa de novos medicamentos, devido aos seus compostos fitoquímicos que servem de base para a identificação e desenvolvimento de tratamentos para inúmeras patologias, como por exemplo as neoplasias (NTUNGWE *et al.*, 2020; NTUNGWE *et al.*, 2021).

Quanto aos extratos de *E. klotzschiana* O.Berg, encontramos o rendimento de 40,63g (16,25%) de extrato bruto hexânico (EHEK) e 40,61g (16,24%) de extrato bruto etanólico (EEEK). Em relação a toxicidade dos extratos das folhas para *A. salina*, a CL_{50} foi de 0,5921

mg mL⁻¹ para EHEK e 1,2245 mg mL⁻¹ para EEEK, com intervalo de confiança igual a 95% e $p < 0,05$.

Os resultados apontam que os extratos apresentam toxicidade e que suas propriedades precisam ser elucidadas em novos estudos com o isolamento dos compostos com as propriedades bioativas. O ensaio de toxicologia preditiva, utilizando *A. salina*, é um modelo que se enquadra na classe de testes alternativos; é um teste de baixo custo e fácil de ser executado (ARAÚJO *et al.*, 2014; KHABIB *et al.*, 2022; LIMA *et al.*, 2022).

Algumas espécies de Myrtaceae foram já avaliadas quanto ao ensaio de letalidade de *A. salina*, *Eugenia pyriformis* Cambess (SILVA *et al.*, 2015); *Psidium myrsinites* DC (DURÃES *et al.*, 2017); *Psidium guajava* (YADAV; MOHITE, 2020); *Eugenia pyriformis* Cambess (SOUZA *et al.*, 2021).

O efeito antinociceptivo e/ou anti-inflamatório de EHEK, tanto a dor quanto a inflamação são estímulos importantes do organismo a fim de conferir proteção frente a distintos estímulos agressivos que podem, se persistirem, serem prejudiciais (VASCONCELOS, 2016).

Para o tratamento da dor e da inflamação medicamentos anti-inflamatórios são utilizados na prática clínica, no entanto, apresentam uma variedade de efeitos colaterais como também eficácia limitada, portanto a procura por novos agentes anti-inflamatórios e com reduzidos efeitos colaterais, faz com que a identificação de novos agentes com esta propriedade se faça de suma importância (HILGENBERG, 2019).

Contorções abdominais induzidas por ácido acético a 1,2% são respostas importantes do organismo, a dor e a inflamação quando persistem desencadeiam um processo doentio, portanto, deve-se controlá-los através de mecanismos e agentes intrínsecos ou via farmacoterápica (VASCONCELOS, 2016).

Este teste possui elevada sensibilidade a compostos com propriedades antinociceptivas de distintas classes farmacológicas, e serve como um excelente teste para triagem da potencialidade analgésica de compostos com atividade anti-inflamatória (ZAKARIA *et al.*, 2006).

O ácido acético quando injetado por via intraperitoneal promove a liberação de mediadores endógenos, como por exemplo, a serotonina e a histamina; estimulando os neurônios nociceptivos e conseqüentemente promovendo as contorções da região abdominal (FISCHER *et al.*, 2008).

O composto veículo utilizado promoveu o maior número de contorções abdominais e o EHEK apresentou atividade diminuindo assim o número de contorções abdominais. Foi observada redução do número de contorções abdominais induzidas por ácido acético em todas as concentrações do EHEK. Sendo que a concentração que apresentou melhor capacidade de inibição das contrações no mesmo intervalo de tempo foi de 125 mg/kg v.o.

Nos intervalos das concentrações utilizados no presente estudo observou um efeito dose-dependente, portanto sugere-se que para os demais testes antinociceptivos e/ou anti-inflamatórios a utilização da menor concentração utilizada de EHEK neste teste – 125 mg/kg v.o. Em contraste a elevada sensibilidade do teste há a presença de algumas variáveis que interferem no presente teste, portanto a fim de se detectar a existência e realizar o descarte de falsos positivos, assim como distinguir o tipo de dor que está sofrendo influência (VASCONCELOS, 2016) da EHEK, deverá se realizar testes mais específicos.

Esta propriedade pode estar relacionada à presença de flavonóides, que são compostos com expressiva atividade anti-inflamatória (SANTOS; RODRIGUES, 2017; PACHECO; PERAZA; PINTO, 2021).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Cerrado apresenta como uma das suas principais características o elevado número de espécies endêmicas correlacionadas a sua biodiversidade. A perinha do cerrado é um exemplo da biodiversidade florística do bioma, que apresenta elevada capacidade bioativa e constitui-se como um repositório interessante de moléculas, com uma riqueza genética ainda pouco conhecida e explorada.

E. klotzschiana O.Berg é uma espécie que apresenta potencial farmacológico, terapêutico com presença de compostos antraquinônicos, heterosídeos cardioativos, flavonóides, saponinas e taninos na prospecção fitoquímica, bioatividade com maior atividade do extrato hexânico em comparação ao etanólico e atividade anti-inflamatória e/ou antinociceptiva; fazem com que esta espécie atraia a atenção, principalmente da área médica, biomédica e farmacêutica.

Até a presente data, não foram encontrados estudos de caracterização fitoquímica para as folhas de *E. klotzschiana* O.Berg. Portanto, nosso trabalho contribui para a elucidação da composição fitoquímica e da triagem de atividades biológicas desta espécie vegetal e colabora

para o desenvolvimento de estudos com futuros bioprodutos, além de contribuir para a preservação e conservação da espécie vegetal estudada e do bioma Cerrado como um todo.

AGRADECIMENTOS

A Associação Educativa Evangélica – AEE, a Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica e a Universidade Estadual de Goiás – UEG.

REFERÊNCIAS

ANDREI, C.C.; BRAZ FILHO, R. Isolamento de antraquinonas de *Hemorocallis fulva*, Liliaceae. **Semina: Exact and Technological Sciences**, v.10, n.4, 1989.

ARAÚJO, L.L.N.; FARIA, M.J.M.; SAFADI, G.M.V.V. Prospecção fitoquímica da espécie *Justicia pectoralis* Jacq. var. *Stenophylla* Leonard pertencente à família Acanthaceae. **Revista FASEM Ciências**, v.3, n.2, 2014.

ARAÚJO, G.L.de.; CAMPOS, M.A.A.; VALENTE, M.A.S.; SILVA, S.C.T.; FRANÇA, F.D.; CHAVES, M.M.; TAGLIATI, C.A. Alternative methods in toxicity testing: The current approach. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.50, n.1, 2014.

ARAÚJO, F.F.de; NERI-NUMA, I.A.; FARIAS, D.P.; CUNHA, G.R.M.C.; PASTORE, G.M. Wild Brazilian species of *Eugenia genera* (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, v.121, p.57-72, jul., 2019.

BOTELHO, A.F.M. 99f. **Efeitos dos glicosídeos cardioativos (digoxina, ouabaína e oleandrina) na fisiologia cardiorrenal em ratos *wistar* hípidos**. Tese (Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais), 2018.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. 6.ed., Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, v.1, 2019.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v.21, n.1, p. 99- 105, 1998.

CARNEIRO, N.S.; ALVES, C.C.F.; ALVES, J.M.; EGEA, M.B.; MARTINS, C.H.G.; SILVA, T.S.; BRETANHA, L.C.; BALLESTE, M.P.; MICKE, G.A.; SILVEIRA, E.V.; MIRANDA, M.L.D. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from leaves and flowers of *Eugenia klotzschiana* Berg (Myrtaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.89, n.3, 2017A.

CARNEIRO, N.S.; ALVES, J.M.; ALVES, C.C.F.; ESPERANDIM, V.R.; MIRANDA, M.L.D. Óleo essencial das flores de *Eugenia klotzschiana* (Myrtaceae): Composição química e atividades tripanocida e citotóxica *in vitro*. **Revista Virtual de Química**, v.9, n.3, 2017B.

CARNEIRO, N.S.; ALVES, C.C.F.; CAGNIN, C.; BELISARIO, C.M.; SILVA, M.A.P.; MIRANDA, M.L.D.; OLIVEIRA-FILHO, J.G.O.; ALVES, J.M.; PEREIRA, P.S.; SILVA, F.G.; EGEEA, M.B. *Eugenia klotzschiana* O.Berg fruits as new sources of nutrients: Determination of their bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.62, 2019.

CELAJ, O.; DURÁN, A.G.; CENNAMO, P.; SCOGNAMIGLIO, M.; FIORENTINO, A.; ESPOSITO, A.; D'ABROSCA, B. Phloroglucinols from Myrtaceae: Attractive targets for structural characterization, biological properties and synthetic procedures. **Phytochemistry Reviews**, jun., 2021.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 3.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

DIAS, L.G. 97f. **Aproveitamento da casca do maracujá em formulações de bebidas lácteas saborizadas com boca boa (*Buchenavia tomentosa*) e pera do cerrado (*Eugenia klotzschiana* Berg)**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano), 2016.

DURÃES, E.R.B.; CLEMENTINO, C.O.; FARI, L.R. Phytochemical study, toxicity and antimicrobial activity of *Psidium myrsinites* DC. (Myrtaceae) leaves. **Bioscience Journal**, v.33, n.5, p.1305-1313, set.-out., 2017.

FARIA, J.P.; COSTA, T.S.A.; JUNQUEIRA, N.T.V. **Pera-do-Cerrado**. In: VIEIRA, R.F.; COSTA, T.S.A.; SILVA, D.B.da; FERREIRA, F.R.; SANO, S.M. (Org.). Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. 1 ed. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010, p.313-322.

FISCHER, L.G.; SANTOS, D.; SERAFIN, C.; et al. Further antinociceptive properties of extracts and phenolic compounds from *Plinia glomerata* (Myrtaceae) leaves. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.31, n.2, p.235-239, fev., 2008.

HENDERSHOT, L.C.; FORSARTH, J. Antagonism of the frequency of phenylquinone induced writhing in the mouse by weak analgesics and non analgesics. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.125, n.3, p.237-240, mar., 1959.

HILGENBERG, L.C.R. 72f. **Uma nova carboximidamina modula a nociceção inflamatória e comportamento doentio em modelos experimentais *in vivo***. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Amazonas), 2019.

HUSSAIN, H.; HARRASI, A.A.; AL-RAWAHI; GREEN, I.R.; CSUK, R.; AHMED, I.; SHAH, A.; ABBAS, G.; REHMAN, N.U.; ULLAH, R.A fruitful decade from 2005 to 2014 for anthraquinone patents. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v.25, n.9, 2015.

KHABIB, M.N.H.; SIVASANKU, Y.; LEE, H.B.; KUMAR, S.; KUE, C.S. Alternative animal models in predictive toxicology. **Toxicology**, v.15, jan., 2022.

- KOSTER, R.; ANDERSONS, M.; DEBBER, E.J. Acetic acid analgesic screening. **FASEB Journal**, v.89, p.418-420, 1959.
- LIMA, W.G.; SANTOS, L.B.; NIZE, W.S. C.; CASTILHO, R.O.; BRITO, J.C.M. Brine shrimp (*Artemia salina* Leach) as an alternative model for assessing the in vivo antioxidant activity of rutin. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v.4, n.1, p.39-44, 2022.
- LUCENA, E.M.P.; ALVES, R.E.; ZEVALLOS, L.C.; LUZ, E.W.M.E; BRITO, E.S.de. Biodiversidade das Myrtaceae brasileiras adaptadas à Flórida, EUA. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.7, n.2, 2014.
- MAGINA, M.D.A. 199f. **Estudo fitoquímico e biológico de espécies do gênero *Eugenia***. Tese (Programa de pós-graduação em Química- Universidade Federal de Santa Catarina), 2008.
- MALIK, E.M.; MÜLLER, C.E. Anthraquinones as pharmacological tools and drugs. **Medicinal Research Reviews**, v.36, n.4, p.705-48, jul., 2016.
- MARIANO, A.P.X.; RAMOS, A.L.C.C.; OLIVEIRA-JÚNIOR, A.H.de; GARCÍA, Y.M.; PAULA, A.C.C.F.F.; SILVA, M.R.; AUGUSTI, R.; ARAÚJO, R.L.B.; MELO, J.O.F. Optimization of extraction conditions and characterization of volatile organic compounds of *Eugenia klotzschiana* O.Berg fruit pulp. **Molecules**, v.27, 2022.
- MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: Editora da UFC, 1988.
- MATOS, J.M.D.; MATOS, M.E. **Farmacognosia**. Fortaleza: Editora da UFC, 1989.
- MOLINA-SALINAS, G.M.; SAID-FERNÁNDEZ, S. A modified microplate cytotoxicity assay with brine shrimp larvae (*Artemia salina*). **Pharmacology online**, v.3, p.633-638, 2006.
- NTUNGWE, E.; et al. *Artemia* species: An important tool to screen general toxicity samples. **Current Pharmaceutical Design**, v.26, n.24, p.2892-2908, 2020.
- NTUNGWE, E.; ISCA, V.M.S.; LANZA, A.M.D.; AFONSO, C.A.M.; RIJO, P. General toxicity screening of Royleanone derivatives using an *Artemia salina* model. **Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research**, v.18, n.1, 2021.
- NICOLETTI, R.; SALVATORE, M.M.; FERRANTI, P.; ANDOLFI, A. Structures and bioactive properties of myrtucommulones and related acylphloroglucinols from myrtaceae. **Molecules**, v.23, n.12, 2018.
- OLIVEIRA, G.S.; LOPES, P.S.N.; CUNHA-NETO, F.R.; CARVALHO, J.G. Caracterização de plantas de *Eugenia klotzschiana* Berg (Pêra-do-Cerrado) e do ambiente de sua ocorrência na região fisiográfica dos campos das vertentes de Minas Gerais. **Revista da Universidade de Alfenas**, v.5, p.9-13, 1999.
- OSBOURN, A.; GOSS, R.J.M.; FIELD, R.A. The saponins: Polar isoprenoids with important and diverse biological activities. **Natural Product Reports**, v.28, n.7, 2011.

PACHECO, F.; PERAZA, M.; PINTO, I. Flavonoides: Micronutrientes con amplia actividad biológica. **Revista de la Facultad de Medicina**, v.44, n.1, jan.-jun., 2021.

PASSOS, F.R.S.; ARAÚJO-FILHO, H.G.; MONTEIRO, B.S.; SHANMUGAM, S.; ARAÚJO, A.A.S.; ALMEIDA, J.R.G.S.; THANGARAJ, P.; QUITANS-JÚNIOR, L.J.; QUINTANS, J.S.S. Anti-inflammatory and modulatory effects of steroidal saponins and saponin on cytokines: A review of pre-clinical research. **Phytomedicine**, v.96, fev., 2022.

PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. **Farmacognosia II**: Apostila de aulas práticas. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2007.

RAJASEKARAN, S.; RAJASEKAR, N.; SIVANANTHAM, A. Therapeutic potential of plant-derived tannins in non-malignant respiratory diseases. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.94, ago., 2021.

SANTOS, D.S.dos; RODRIGUES, M.M.F. Atividades farmacológicas dos flavonóides: Um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, v.7, n.3, p.29-35, set.-dez., 2017.

SERAFINI, M.; PELUSO, I.; RAGUZZINI, A. Flavonoids as anti-inflammatory agents. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.69, n.3, p.273-278, ago., 2010.

SHARMA, P.; TYAGI, A.; BHANSALI, P.; PAREEK, S.; SINGH, V.; ILYAS, A.; MISHRA, R.; PODDAR, N.K. Saponins: Extraction, bio-medicinal properties and way forward to anti-viral representatives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 150, n.112075, abr., 2021.

SILVA, Y.L. da; TAKEMURA, O.S.; SANTOS, S.R.daS.R.dos; ROMAGNOLO, M.B.; LAVERDE-JUNIOR, A. Triagem fitoquímica e avaliação de propriedades biológicas do extrato alcoólico das folhas de *Eugenia pyriformis* Cambess. (Myrtaceae). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v.19, n.3, p.205-211, set.-dez., 2015.

SILVEIRA, R.M.; CARVALHO, A.F.U.; BÜNGER, M.deO.; COSTA, I.R.da. Diversidade da Composição Química dos Óleos Essenciais de *Eugenia* – Myrtaceae: Uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.3, 2021.

SIMÕES, C.M.O.; et al. **Farmacognosia**: Da planta ao medicamento. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS/Florianópolis: Editora da UFSC, 2010.

SOARES, N.P.; SANTOS, P.L.; VIEIRA, V.S.; PIMENTA, V.; ARAÚJO, E. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13, n.24, 2016.

SOUZA, A.M.de; OLIVEIRA, V.B.de; OLIVEIRA, C.F.; BETIM, F.C.M.; PACHECO, S.D.G.; COGO, L.L.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil obtained from *Eugenia pyriformis* Cambess. (Myrtaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.64, 2021.

STEFANELLO, M.E.A.; PASCOAL, A.C.R.F.; SALVADOR, M.J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: Chemical diversity and biological properties. **Chemistry & Biodiversity**, v.8, 2011

SZCZUREK, A. Perspectives on tannins. **Biomolecules**, v.11, n.3, mar., 2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TAKAO, L.K.; IMATOMI, M.; GUALTIERI, S.C.J. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico de infusões foliares de espécies de Myrtaceae do Cerrado (Savana Brasileira). **Brazilian Journal of Biology**, v.75, n.4, 2015.

VASCONCELOS, P.A. 72f. **Avaliação da atividade anti-inflamatória do composto LQFM 147, um candidato a protótipo de fármaco**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Universidade Federal de Goiás), 2016.

VASCONCELOS, T.N.C.; PROENÇA, C.E.B.; AHMAD, B.; AGUILAR, D.S.; AGUILAR, R.; AMORIN, B.S.; CAMPBELL, K.; COSTA, I.R.; CARVALHO, P.S.; FARIA, J.E.Q.; GIARETTA, A.; KOOIJ, P.W.; LIMA, D.F.; MAZINE, F.F.; PEGUERO, B.; PRENNER, G.; SANTOS, M.F.; SOEWARTO, J.; WINGLER, A.; LUCAS, E.J. A Myrteae phylogeny, calibration, biogeography and diversification patterns: Increased understanding in the most species rich tribe of Myrtaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.109, p.113–137, 2017.

VICENTE, E.O. 78f. **Atividade antimicrobiana de extratos de folhas, caules e raízes de *Eugenia klotzschiana* O.Berg (Myrtaceae)**. Mestrado (Centro de Ciências Biológicas e da Saúde- Universidade Federal de São Carlos), 2020.

WANG, R. Current perspectives on naturally occurring saponins as anticancer agents. **Archiv der Pharmazie**, v.355, n.5, fev., 2022.

WEN, K.; FANG, X.; YANG, J.; YAO, Y.; NANDAKUMAR, K.S.; SALEM, M.L; CHENG, K.Recent research on flavonoids and their biomedical applications. **Current Medicinal Chemistry**, v.27, p.1-25, 2020.

YADAV, A.R.; MOHITE, S.K. Toxicological evaluation of *Psidium guajava* leaf extracts using brine shrimp (*Artemia salina* L.) model. **Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology**, v.12, n.4, out.-dez., 2020.

ZAKARIA, Z.A.; ABDUL GHANI, Z.D.F.; NOR, R.N.S.R.M.;GOPALAN, H.K.; SULAIMAN, M.R.; ABDULLAH, F.C. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of dicranopteris linearis leaves chloroform extract in experimental animals. **Yakugaku Zasshi**, v.126, n.1, 2006.

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. **Flavonóides**. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.Farmacognosia: Da planta ao medicamento. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS/Florianópolis: Editora da UFSC, 2010.

SOBRE OS AUTORES E AUTORA

CHARLES LIMA RIBEIRO

Doutorando em Ciências Ambientais, membro do Laboratório de Pesquisa e Inovação em Saberes Tradicionais e Ambientais do Cerrado, Campus de Ciências Socioeconômicas e Humanas - Nelson de Abreu Júnior, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO e do Laboratório de Bioensaios, Centro de Pesquisa e Pós Graduação, Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO.

MÁRCIO JÚNIOR PEREIRA

Membro do Laboratório de Pesquisa e Inovação em Saberes Tradicionais e Ambientais do Cerrado, Campus de Ciências Socioeconômicas e Humanas - Nelson de Abreu Júnior, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO.

ADRIANO PEREIRA RAMIRO

Graduado em Química, membro do Laboratório de Pesquisa em Biodiversidade, Campus Anápolis, Universidade Evangélica de Goiás, UniEVANGÉLICA, Anápolis, GO.

JOSÉ LUÍS RODRIGUES MARTINS

Doutor Em Ciências Biológicas, membro do Laboratório de Pesquisa em Biodiversidade, Campus Anápolis, Universidade Evangélica de Goiás, UniEVANGÉLICA, Anápolis, GO.

PLÍNIO LÁZARO FALEIRO NAVES

Doutor em Microbiologia e Parasitologia, membro do Laboratório de Bioensaios, Centro de Pesquisa e Pós Graduação, Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO.

JOSANA DE CASTRO PEIXOTO

Doutora em Ciências Biológicas, membra do Laboratório de Pesquisa e Inovação em Saberes Tradicionais e Ambientais do Cerrado, Campus de Ciências Socioeconômicas e Humanas - Nelson de Abreu Júnior, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO e do Laboratório de Pesquisa em Biodiversidade, Campus Anápolis, Universidade Evangélica de Goiás, UniEVANGÉLICA, Anápolis, GO