

## ANÁLISE ANTI-INFLAMATÓRIA DO POLISSACARÍDEO EXTRAÍDO DA SEMENTE DA *Caesalpinia ferrea* SOBRE EDEMA DE PATA INDUZIDO POR CARRAGININA

<sup>1</sup> Ana Clara Coelho da Costa; Danyela Maria Leal Rocha<sup>2</sup>; Fernando Mesquita de Sousa de Lima<sup>2</sup>; Maria da Graça Sales Furtado<sup>2</sup>; José Simião da Cruz Júnior<sup>3</sup> André Luiz dos Reis Barbosa<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Graduanda em Biomedicina pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba- UFDPar; <sup>2</sup> Graduando em Biomedicina pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba- UFDPar; <sup>3</sup> Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba- UFDPar; <sup>4</sup> Doutor em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará- UFC.

**Área temática:** Biomedicina e Inovações em Pesquisas

**Modalidade:** Comunicação Oral

**E-mail do autor:** anaclaracoelho@ufpi.edu.br

### RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A inflamação pode ser dividida em aguda ou crônica conforme o tempo de duração da inflamação. Uma espécie nativa e endêmica no território brasileiro, popularmente conhecida como “pau ferro” ou “jucá”, a *Libidibia ferrea* é muito utilizada na medicina popular, acredita-se que o polissacarídeo extraído da sua semente, possa apresentar ação anti-inflamatória no sistema gastrointestinal. **OBJETIVO:** Avaliar a atividade anti-inflamatória do polissacarídeo extraído da semente da *C. ferrea* sobre modelos de edema de pata induzido por Carragenina, sobre a concentração da enzima mieloperoxidase (MPO) e malondealdeído (MDA). **MÉTODOS:** Foram realizados experimentos in vivo, onde foram utilizados 6 animais por grupo (camundongos *Balb/C* machos). **RESULTADOS:** O PLS da *C. ferrea* mostrou uma diminuição significativa do edema de pata e nos níveis de MPO e MDA. **CONCLUSÃO:** Verifica-se que o PLS extraído da *C. ferrea* administrado na dose de 10mg/kg apresentou potencial anti-inflamatório, sendo capaz de reduzir o edema provocado pela carragenina, os níveis da enzima Mieloperoxidase (MPO) e ácido malondialdeído (MDA) no local da inflamação.

**Palavras-chave:** Inflamação; Polissacarídeo; Anti-inflamatório.

## 1. INTRODUÇÃO

A inflamação pode ser dividida em aguda ou crônica conforme o tempo de duração da inflamação. A inflamação aguda representa um processo inicial, benéfico e auto limitado, caracterizada pelas interações controladas e combinadas de eventos celulares e moleculares no início da resposta que resultam na redução efetiva da lesão/infeção existente (MEGHA et al., 2021). Já a inflamação crônica resulta do desequilíbrio entre os mecanismos pró-inflamatórios e anti-inflamatórios (SHEN, 2016; RONCHETTI, et al., 2017).

Uma espécie nativa e endêmica no território brasileiro, popularmente conhecida como “pau ferro” ou “jucá”, a *L.ferrea* é bastante utilizada na medicina popular, em consequência várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas para determinar suas propriedades e princípios ativos, dentre os quais: antibacteriano, antifúngico, antioxidante, anti-inflamatório, entre outros já foram comprovados (MACÊDO, 2020; PEREIRA, 2016; MATOS, 2016; MELO, 2019; BATISTA, 2017; PRAZERES et al, 2019). Acredita-se que o polissacarídeo extraído da semente da *L.ferrea*, possa apresentar ação anti-inflamatória no sistema gastrointestinal, tendo em vista que os polissacarídeos extraídos de plantas desse gênero já apresentam tal atividade biológica em outras pesquisas (SANTOS, et al., 2020; JACOB et. al, 2022; MACÊDO et al., 2020).

## 2. OBJETIVOS

Avaliar a atividade anti-inflamatória do polissacarídeo extraído da semente da *C. ferrea* sobre modelos de edema de pata induzido por Carragenina, sobre a concentração da enzima MPO e MDA.

## 3. METODOLOGIA

Nos ensaios foram utilizados 6 animais por grupo (COSTA et al., 2020; SANTIAGO et al., 2015; SILVA et al., 2015; SOUSA, 2017), camundongos *Balb/C* machos, pesando 20-30 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí. Todos os tratamentos e procedimentos foram realizados de acordo com o Guia de cuidados em uso de animais da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL), ressaltamos que o presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (CEUA/UFDFPar) sob protocolo N° 017/20. Para a avaliação anti-inflamatória os animais receberam solução salina, carragenina e também foram pré-tratados 30 min antes com as doses do PLS extraído da *C. férrea* (1mg/kg; 3mg/kg e 10 mg/kg) e o grupo controle referência: indometacina 10 mg/kg i.p. O volume da pata dos animais foi mensurado por meio de pletismometria (Panlab LE75000), sendo

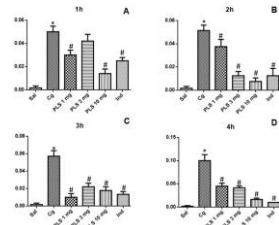
as leituras realizadas antes da administração do agente (volume basal, Vo) 1, 2, 3 e 4 horas após administração da carragenina.

Os animais foram eutanasiados ao final de cada experimento pela utilização de uma dose letal de Quetamina (240 mg/kg) combinado com Xilazina (30 mg/kg) de acordo com a dose anestésica utilizada por Guazelli et al., 2013. Após a administração do anestésico foi feita a confirmação da morte do animal pela verificação da ausência de movimento respiratório (apneia) e ausência de batimentos cardíacos. Após a eutanásia os animais, serão retirados segmentos da região sub-plantar dos animais dos grupos em estudo, que serão usados na avaliação da atividade da enzima MPO. O procedimento seguirá o protocolo estabelecido por Bradley et al. (1982). Os níveis de MDA serão medidos utilizando o método descrito por Mihara e Uchiyama (1998).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito do PLS extraído da planta *C. ferrea* sobre o edema de pata induzido por carragenina durante as 4 horas.

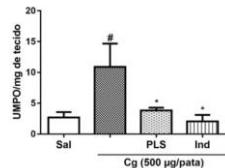
**Figura 1** – Representação em barra da variação do volume no edema de pata induzido por carragenina. A: Representação em barra da variação do volume na primeira hora. B: Representação em barra da variação do volume na segunda hora. C: Representação em barra da variação do volume na terceira hora. D: Representação em barra da variação do volume na quarta hora.



**Fonte:** Imagem obtida através do software GraphPad Prism 6.

Efeito do PLS extraído da planta *C. ferrea* sobre a migração da enzima MPO no edema de pata.

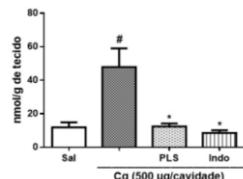
**Figura 2** – Representação em barra da migração da enzima MPO no volume do edema de pata induzido por carragenina



**Fonte:** Imagem obtida através do software GraphPad Prism 6.

Efeito do PLS extraído da planta *C. ferrea* sobre a concentração de ácido MDA do exsudato peritoneal de camundongos.

**Figura 3.** A partir das amostras do líquido peritoneal, a concentração de MDA foi medida por espectrofotometria



**Fonte:** Imagem obtida através do software GraphPad Prism 6.

Os animais que receberam a dose do agente inflamatório carragenina (1h -  $0,050 \pm 0,004$  ml; 2h -  $0,051 \pm 0,004$  ml; 3h -  $0,057 \pm 0,006$  ml; 4h  $0,100 \pm 0,012$  ml) apresentaram aumento significativo no edema de pata quando comparado ao grupo controle negativo: salina 1h -  $0,001 \pm 0,001$  ml; 2h -  $0,001 \pm 0,001$  ml; 3h -  $0,001 \pm 0,001$  ml; 4h -  $0,001 \pm 0,001$  ml). Já com relação aos grupos do PLS, a dose 10 mg/kg foi a que apresentou a melhor resposta anti-inflamatória, demonstrando uma redução significativa do edema 1h -  $0,014 \pm 0,004$  ml; 2h -  $0,007 \pm 0,003$  ml; 3h -  $0,017 \pm 0,004$  ml; 4h -  $0,016 \pm 0,003$  ml) quando comparado aos animais que receberam apenas carragenina. Um dos modelos mais clássicos para estudo da inflamação aguda é o edema de pata induzido por carragenina. O método foi introduzido por Winter em 1962, sendo ainda hoje, amplamente utilizado e valioso para análise de novas terapias anti-inflamatórias. Uma vez que a formação de edema está entre os sinais iniciais da inflamação, é causado pela ação de mediadores inflamatórios, muito utilizado para o estudo da inflamação aguda (SHEN, 2017; RONCHETTI, et al., 2017; FALCONER et al., 2018; VAN DER KRAAN, 2019). Desta forma, as doses do PLS mostraram diminuição significativa com relação ao grupo carragenina ( $0,100 \pm 0,012$ ), no entanto a 10 mg/kg por apresentar um melhor efeito estatisticamente significativo ( $0,016 \pm 0,003$ ) no modelo inflamatório, foi considerada a melhor dose para os demais ensaios dessa pesquisa.

Na figura 2, os animais que receberam somente Cg apresentaram um aumento significativo no nível de MPO no edema ( $10,9 \pm 3,76$ ) quando comparados ao grupo que recebeu apenas salina ( $2,69 \pm 0,86$ ). Os animais tratados com PLS tiveram redução significativa nos níveis de MPO na dose de 10 mg/kg ( $3,81 \pm 0,45$ ) quando comparado ao grupo Cg. A MPO é considerada como a principal enzima responsável pelo dano tecidual. Essa enzima é encontrada nos neutrófilos e sua atividade está relacionada à infiltração de neutrófilos, sendo muito utilizada para mensurar de forma qualitativa a infiltração de neutrófilos para tecido inflamado (PATIL et al., 2012; KUMAR et al., 2014). Sob condições fisiológicas normais, a MPO é liberada a partir de grânulos de azurófilos,

quando ocorre um processo inflamatório há o aumento da produção desta enzima (TAHAN et al., 2011).

O resultado do PLS sobre a concentração de MDA do exsudato peritoneal de camundongos. Observando-se a figura 3, o grupo ao qual foi induzida a peritonite com carragenina (500 $\mu$ g/cavidade) apresentou níveis elevados de MDA no exsudado peritoneal ( $47,91 \pm 4,98$  nmol/g de tecido) em relação ao grupo Salina ( $11,89 \pm 1,05$ ). O grupo tratado com o PLS apresentou níveis de MDA reduzidos ( $12,46 \pm 0,65$  nmol/g de tecido), com valores semelhantes e sem diferenças estatísticas para os grupos Salina e Indometacina ( $11,89 \pm 1,05$  nmol/g de tecido e  $8,58 \pm 0,71$  nmol/g de tecido, respectivamente). O MDA apresenta-se enquanto indicador do estresse oxidativo, através do qual o organismo produz espécies reativas a oxigênio e outros oxidantes, diretamente relacionados a doenças neurodegenerativas e outras doenças que envolvem processos inflamatórios (SOUSA, 2019; NUNES, et al., 2012).

## 5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos no ensaio experimental, verifica-se que o PLS extraído da *C. ferrea* administrado na dose de 10mg/kg apresentou potencial anti-inflamatório, sendo capaz de reduzir o edema provocado pela carragenina, os níveis de MPO e MDA no local da inflamação.

## 6. REFERÊNCIAS

- BATISTA, Emanuelle Karine Frota et al. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DE PREPARADOS À BASE DE JUCÁ (Caesalpinia ferrea Mart.). *Archives of Veterinary Science*, v. 22, n. 3, 2017.
- BRADLEY, P. P.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. *Blood*, v. 60, n.3, p. 618-622, 1982.
- COSTA, L.E.C. et al. Chemical structure, anti-inflammatory and antinociceptive activities of a sulfated polysaccharide from *Gracilaria intermedia* algae. *Int J Biol Macromol*. 159: 966-975. 2020.
- FALCONER, J. et al. Review: Synovial Cell Metabolism and Chronic Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2018 Jul;70(7):984-999. doi: 10.1002/art.40504. Epub 2018 Jun 4. PMID: 29579371; PMCID: PMC6019623.
- GUAZELLI, C.F.S.; FATTORI, V.; COLOMBO, B.B; GEORGETTI, S.R. Quercetin-Loaded Microcapsules Ameliorate Experimental Colitis in Mice by Anti-inflammatory and Antioxidant Mechanisms. *J. Nat. Prod.*, v. 76, p. 200–208, 2013.
- JACOB, A. et al. Assessment of Protection Offered By the NRF2 Pathway Against Hyperoxia-Induced Acute Lung Injury in NRF2 Knockout Rats. *Shock: Injury, Inflammation, and Sepsis: Laboratory and Clinical Approaches*, v. 57, n. 2, p. 274-280, 2022.
- KUMAR, Venkatasivam Shiva et al. Naringin ameliorates acetic acid induced colitis through modulation of endogenous oxido-nitrosative balance and DNA damage in rats. *Journal of biomedical research*, v. 28, n. 2, p. 132, 2014.

- MACÊDO, Nair Silva et al. *Caesalpinia ferrea* C. Mart. (Fabaceae) Phytochemistry, Ethnobotany, and Bioactivities: A Review. **Molecules**, v. 25, n. 17, p. 3831, 2020.
- MEGHA, K.B; JOSEPH, X.; AKHIL,V.; MOHANAN, P.V. Cascata de mecanismo imunológico e consequências de distúrbios inflamatórios. **Phytomedicine**. Vol 91, out. 2021. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153712.
- MATOS, Anselmo Junio Pedroso et al. Controle de qualidade físico-químico de uma formulação de pomada orabase de *Libidibia ferrea* ex. *Caesalpinia ferrea* L. 2016.
- MELO, Keily da Silva et al. Avaliação in vitro da citotoxicidade e genotoxicidade de uma formulação em orabase de *Libidibia ferrea* L. 2019.
- MIHARA, M.; UCHIYAMA, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Anal. Biochem.** v. 86, n. 1, p. 271-278, 1978.
- NUNES, A; ABREU T. et al. Combined Effect of Bromelain and Turmeric Against Acetic Acid Induced Ulcerative Colitis in Wistar Rats. **Journal of Applied Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 2, p. 15-24. 2012.
- PATIL, M. et al. L-Arginine attenuates the ethylene glycol induced urolithiasis in ininephrectomized hypertensive rats: role of KIM-1, NGAL, and NOs. **Renal Failure**, v. 37, n. 4, p. 709-721, 2012.
- PRAZERES, LDKT et al. Antioxidant and Antiulcerogenic Activity of the Dry Extract of Pods of *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul. (Fabaceae). Oxidative medicine and cellular longevity, v. 2019, 2019.
- PEREIRA, Lívia de P. et al. Modulator effect of a polysaccharide-rich extract from *Caesalpinia ferrea* stem barks in rat cutaneous wound healing: Role of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , NO, TGF- $\beta$ . **Journal of ethnopharmacology**, v. 187, p. 213-223, 2016.
- RONCHETTI, S.; MIGLIORATI, G. DELFINO, DV. Association of inflammatory mediators with pain perception. **Biomed Pharmacother.** 2017 Dec;96:1445-1452. doi: 10.1016/j.biopha.2017.12.001. Epub 2017 Dec 6. PMID: 29217162.
- SANTOS, SM et al. Plantas medicinais presentes em áreas de preservação no Mato Grosso do Sul: Composição química e atividade anti-inflamatória de *Allophylus edulis* e levantamento etnofarmacológico de espécies. 2020.
- SANTIAGO, R. F. et al. Riparin B, a synthetic compound analogue of riparin, inhibits the systemic inflammatory response and oxidative stress in mice. **Inflammation**, v. 38, n. 6, p. 2203-2215, 2015.
- SILVA, Sandra Cabral da. Caracterização farmacológica pré-clínica da atividade anti-inflamatória de novos derivados N-Acilhidrazônicos. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- SHEN, J. et al. Inflammation and epigenetic regulation in osteoarthritis. **Connect Tissue Res.** 2017 Jan;58(1):49-63. doi: 10.1080/03008207.2016.1208655. Epub 2016 Jul 7. PMID: 27389927; PMCID: PMC5266560.
- SOUSA, Stefany Guimarães. EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA SULFATADA EXTRAÍDA DE *Morinda citrifolia* (NONI). 2017.
- SOUSA, S. G. et al. Chemical structure and anti-inflammatory effect of polysaccharide extracted from *Morinda citrifolia* Linn (Noni). **Carbohydr Polym**. 1; 197:515-523, 2019.
- VAN DER KRAAN, PM. The Interaction between Joint Inflammation and Cartilage Repair. **Tissue Eng Regen Med.** 2019;16(4):327-334. Published 2019 Jul 26. doi:10.1007/s13770-019-00204-z.
- WINTER, C. H. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 111, p. 544-547, 1962.