UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CELSO RODRIGUES DE LIRA

AVALIAÇÃO *IN VIVO* DA ATIVIDADE ANTIDIARREICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE FOLHAS DE *Psidium guineense* SWARTZ EM CAMUNDONGOS

Recife
2020

CELSO RODRIGUES DE LIRA

AVALIAÇÃO *IN VIVO* DA ATIVIDADE ANTIDIARREICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE FOLHAS DE *Psidium guineense* SWARTZ EM CAMUNDONGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Linha de Pesquisa: Obtenção e Avaliação de Produtos Naturais e Compostos Bioativos.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Ivone Antônia de Souza

Recife

2020

Catalogação na Fonte
Bibliotecário: Mônica Uchôa, CRB4:1010

L768a Lira, Celso Rodrigues de.
Avaliação in vivo da atividade antidiarreica do extrato hidroetanólico de folhas de *Psidium guineense swartz* em camundongos / Celso Rodrigues de Lira. – 2020.
100 f.; il.; tab., gráf.; 30 cm.

Orientadora: Ivone Antônia de Souza.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2020
Inclui referências, apêndices e anexo
.

1. Diarreia. 2. Camundongos. 3. Psidium. 4. Araçá. 5. Toxicidade. I. Souza, Ivone Antônia. (Orientadora). II. Título.

615.1 CDD (20.ed.) UFPE (CCS 2020-211)

CELSO RODRIGUES DE LIRA

AVALIAÇÃO *IN VIVO* DA ATIVIDADE ANTIDIARREICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE FOLHAS DE *Psidium guineense* SWARTZ EM CAMUNDONGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em: 25/09/2020.

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof.ª Dr.ª Ivone Antônia de Souza (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Prof.ª Dr.ª Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Prof.ª Dr.ª Juliana Pinto de Medeiros (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter cuidado tão bem do caminho que me levou até esse momento, e por ser tão generoso ao me cercar de pessoas incríveis.

Aos meus pais, *Celso* e *Gizelda*, por me ensinarem o valor da dedicação e da perseverança, e por me apoiarem em tudo. Essa conquista é de vocês.

À toda minha família, em especial minha (fada) madrinha, *Geane*, sem a qual definitivamente não dado início a esse ciclo reacendendo minha inspiração pela ciência e pela docência.

À minha gangue da graduação, *Rebeca Araújo* e *Kamylla Ramos*, pelo apoio incondicional, escuta, amizade e carinho.

Ao meu amor, *Neto*, com quem há longos quatro anos divido todos os momentos, conquistas, alegrias e futuro. Sem tê-lo ao meu lado, com toda certeza esse caminho seria ainda mais difícil.

À *Amanda, Rafaela, Enikele, Anico, Fernanda e Ismaela* pela confiança, carinho e suporte no início de tudo, revelando docência como possibilidade.

À *Prof.ª Dr.ª Ivone Antônia de Souza*, minha orientadora, pelo acolhimento durante toda a jornada. Obrigado por me inspirar e estimular na pesquisa científica e pela confiança depositada.

Aos amigos do Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental (LAFAC), por todo apoio no desenvolvimento do projeto e pelos momentos partilhados, em especial *Marcela*, *Marília e Mariana,* parceiras em absolutamente tudo; e *Rômulo,* por respirar ciência e me instigar a ir cada vez mais longe.

Aos IC's do LAFAC, pelo apoio, compromisso, aprendizado e parceria, em especial *Emanuele* e *Marcilene*, por terem sido minhas mãos na pesquisa *in vivo*; e *Atílio*, pelo apoio e disponibilidade de sempre. Gratidão a absolutamente todos vocês!

Aos colegas do LEA, em especial o *Prof. Dr. Rafael, Maria de Fátima*, *Wellington*, *Raudney* e *Camila*, por me permitir usufruir de equipamentos e pelos conselhos sempre que era necessário.

Às parcerias de análises de *Simone da Paz*, *Helimarcos Nunes* e *Prof. Dr. Alex Benício* pelas horas dedicadas à finalização desse projeto.

Ao LIKA, pela permissão de uso de equipamentos, em especial *Janderson, Gabriel e Rafael Padilha***,** por terem participado ativamente nesses processos.

À Universidade Federal de Pernambuco, sobretudo ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e todos que o compõem, sobretudo a *Nerilin* e *Rilvan* pela paciência, dedicação e suporte para com todos.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para essa conquista.

Muito Obrigado!

“Acho que invento a felicidade para compor todas as coisas e não haver preocupações desnecessárias. [...] O importante é desenvolvermos coisas boas, das de pensar, sentir ou fazer” (MÃE, 2018, p.31).

RESUMO

No arsenal de plantas medicinais usadas como fontes de tratamentos alternativos das doenças do trato gastrointestinal, principalmente nas síndromes diarreicas, estão as do gênero *Psidium*. Dentre as mais utilizadas destacamos a *Psidium guajava*, conhecida popularmente como goiabeira, bastante estudada cientificamente para esta finalidade, e *Psidium guineense*, conhecida como araçá, cuja atividade antidiarreica não se encontra na literatura. Partindo de critérios etnofarmacológicos e quimiotaxonômicos, investigou-se a atividade antidiarreica do extrato hidroetanólico das folhas de *P. guineense* (EHEPg), e estabeleceu-se sua dose letal 50%. Na dose letal 50%, dividimos seis camundongos fêmeas em dois grupos, onde um recebeu o EHEPg 2.000 mg/kg por via oral (v.o.), e o outro, veículo; esse protocolo foi repetido nas mesmas condições. No teste antidiarreico, dividiu-se 56 camundongos machos em sete grupos, dos quais quatro receberam EHEPg nas doses de 50, 100, 200 e 400 mg/kg por v.o., um recebeu loperamida 3 mg/kg por v.o. e um recebeu apenas água destilada, 60 minutos após o pré-tratamento com o laxante óleo de rícino por v.o.; a diarreia não foi induzida em um grupo. Nenhum camundongo fêmea morreu no teste da dose letal 50%. As doses de 100 e 400 mg/kg do EHEPg retardaram e diminuíram os episódios diarreicos, das quais a maior delas foi mais eficaz que o tratamento com loperamida. Concluímos que o EHEPg tem baixa toxicidade e apresenta atividade antidiarreica satisfatória. Dessa forma, pode-se estabelecer formulações a partir da *Psidium guineense* para o tratamento da diarreia.

Palavras-chave: Diarreia. Camundongos. *Psidium*. Araçá. Toxicidade.

ABSTRACT

The genus *Psidium* includes medicinal plants used as a source of alternative treatments to gastrointestinal tract diseases, mostly diarrheal syndromes. Among the species, *Psidium guajava*, also known as “guava”, highlight by its popular usage and massive scientific studies about this property. *Psidium guineense*, known as “araçá”, is also used for this goal, but as far as we know there is no scientific confirmation about its antidiarrheal activity. Despite the existence of treatment protocols, diarrhea diseases are still the eighth leading cause of death worldwide, affecting mostly children and elderly adults. Medicinal plants are the main source of alternative and complementary treatment of pathologies. Ethnobotany studies describe the popular usage of species from the *Psidium* genus to treat diarrhea. Among them, *P. guajava*, also known as guava, is extensively studied for this purpose. Even though cited for its antidiarrheal property, *P. guineense*, also known as araçá, lacks studies that demonstrate such activity. Based on ethnopharmacological and chemotaxonomic criteria, the antidiarrheal activity of *P. guineense* hydroethanolic leaf extract (EHEPg) and its lethal dose 50% was assayed. In the lethal dose 50%, six female mice were divided into two groups; the first one received EHEPg 2,000 mg/kg orally, and the second one received vehicle. The protocol was repeated in the same conditions. In the antidiarrheal trial, 56 male mice were divided into seven groups, in which four received EHEPg 50, 100, 200, and 400 mg/kg orally, one received loperamide 3 mg/kg orally, and one received distilled water 60 minutes after oral pre-treatment with castor oil. The diarrhea was not induced in one group. No female mice died during the lethal dose 50% test. The dose of 100 and 400 mg/kg of EHEPg doses reduced the diarrheal start and the diarrheal episodes. EHEPg 400 mg/kg was more effective than loperamide. It is concluded that EHEPg has low toxicity and antidiarrheal activity. With these results, safe antidiarrheal drugs could be done based on *Psidium guineense* leaves.

Keywords: Diarrhea. Mice. *Psidium*. Araçá. Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fotomicrografia do epitélio de revestimento do intestino delgado corado com pararrosanilina e azul de toluidina 19

Figura 2 – Representação esquemática dos processos absortivo e secretório hidroeletrolítico das células epiteliais intestinais 20

Figura 3 – Mortes por 100.000 pessoas em razão de doenças diarreicas em 2017 25

Figura 4 – Distribuição da espécie *Psidium guineense* Swartz no território brasileiro.....39

Figura 5 – Fotografia das flores da espécie *Psidium guineense* Swartz. 40

Figura 6 – Fotografia das folhas da espécie *Psidium guineense* Swartz.....41

Figura 7 – Fotografia do arbusto e galho da espécie *Psidium guineense* Swartz no qual o material botânico foi coletado 43

Figura 8 – Macroscopia dos órgãos dissecados na toxicidade aguda 61

Figura 9 – Esquema de categorização de risco de substâncias pela OCDE 423....62

Figura 10 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo Normal em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino.....69

Figura 11 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo Controle em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino.....70

Figura 12 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo Loperamida 3 mg/kg em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino 71

Figura 13 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo EHEPg 50 mg/kg em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino.....72

Figura 14 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo EHEPg 100 mg/kg em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino 73

Figura 15 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo EHEPg 400 mg/kg em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino 73

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Consumo de água dos Grupos Controle e EHEPg durante 14 dias de observação. 58

Gráfico 2 – Consumo de ração dos Grupos Controle e EHEPg durante 14 dias de observação na repetição. 58

Gráfico 3 – Variação ponderal dos Grupos Controle e EHEPg durante 14 dias de observação. 59

Gráfico 4 – Efeito da administração oral de EHEPg e Loperamida na excreção total de fezes em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos 63

Gráfico 5 – Efeito da administração oral de EHEPg e Loperamida na excreção diarreica em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos 64

Gráfico 6 – Índice de evacuação na excreção diarreica em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos 64

Gráfico 7 – Efeito da administração oral de EHEPg e Loperamida na latência diarreica em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos ... 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição dos gêneros da família Myrtaceae e seus respectivosquantitativo de espécies em território nacional 32

Tabela 2 – Nomes vernaculares e aplicações medicinais de espécies do gênero *Psidium* 34

Tabela 3 – Análise fitoquímica quantitativa preliminar do extrato hidroetanólico de folhas da *Psidium guineense* 53

Tabela 4 – Avaliação hipocrática dos sinais estimulantes do SNC em camundongos submetidos à toxicidade aguda do EHEPg na dose de 2.000 mg/kg...54

Tabela 5 – Avaliação hipocrática dos sinais depressores do SNC em camundongos submetidos à toxicidade aguda do EHEPg na dose de 2.000 mg/kg...55

Tabela 6 – Avaliação hipocrática dos sinais relacionados ao SNA em camundongos submetidos à toxicidade aguda do EHEPg na dose de 2.000 mg/kg...56

Tabela 7 – Avaliação hipocrática de outros comportamentos dos camundongos submetidos à toxicidade aguda do EHEPg na dose de 2.000 mg/kg...57

Tabela 8 – Avaliação bioquímica e hematológica de amostras sanguíneas pós toxicidade aguda 60

Tabela 9 – Peso relativo dos órgãos dos Grupos Controle e EHEPg após eutanásia.....61

Tabela 10 – Efeito da administração oral de EHEPg e de Loperamida na diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos.....66

Tabela 11 – Dosagens bioquímicas de amostras sanguíneas coletadas após finalização da atividade antidiarreica.....66

Tabela 12 – Avaliação hematológica da série vermelha de amostras coletadas após finalização da atividade antidiarreica.....67

Tabela 13 – Avaliação hematológica da série vermelha de amostras sanguíneas pós atividade antidiarreica 68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
CEUA	Comitê de Ética de Uso Animal
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
DRTE	Diarreia relacionada ao transporte de eletrólitos
DL_{50}	Dose Letal 50%
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EHEPg	Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*
et al.	E outro
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
IE	Índice de Evacuação
IPA	Instituto Agronômico de Pernambuco
LAFAC	Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keiso Assami
mOsm	Miliosmol
OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PR	Peso Relativo
SGLT1	Transportador de glicose e sódio 1
SNA	Sistema Nervoso Autonômico
SNC	Sistema Nervoso Central
SNE	Sistema Nervoso Entérico
TGI	Trato Gastrointestinal
TRI	Terapia de Reidratação Intravenosa
TRO	Terapia de Reidratação Oral
VCM	Volume Corpuscular Médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
1.1 OBJETIVO GERAL 17
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 17
2 REVISÃO DE LITERATURA 18
2.1 FISIOLOGIA INTESTINAL 18
2.2 DIARREIA 21
2.2.1 Fisiopatologia da doença diarreica 22
2.2.1.1 Diarreia osmótica 22
2.2.1.2 Diarreia relacionada ao transporte de eletrólitos 23
2.2.1.3 Diarreia inflamatória 23
2.2.2 Óleo de rícino 24
2.2.3 Dados Epidemiológicos 25
2.2.4 Tratamento 26
2.2.4.1 Terapia de reidratação oral e intravenosa 27
2.2.4.2 Antimicrobianos, probióticos e bacteriófagos 28
2.2.4.3 Agentes antimotilidade 28
2.2.4.4 Agentes antissecretórios 29
2.2.4.5 Plantas medicinais com atividade antidiarreica 30
2.3 FAMÍLIA Myrtaceae e GÊNERO *Psidium* 31
2.4 *Psidium guineense* SWARTZ 39
2.4.1 Botânica 40
2.4.2 Atividades farmacológicas 41
3 MATERIAIS E MÉTODOS 43
3.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL 43
3.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO 44
3.3 AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Psidium guineense* 44
3.4 ANIMAIS EXPERIMENTAIS 45
3.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DETERMINAÇÃO DA DOSE LETAL 50% 46

3.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIARREICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Psidium guineense* 47
3.7 ANÁLISES LABORATORIAIS 48
3.7.1 Análise bioquímica 48
3.7.2 Análise hematológica 49
3.7.3 Processamento e análise histológica 51
3.7.3.1 Inclusão, emblocamento e microtomia 51
3.7.3.2 Coloração 52
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 52
4 RESULTADOS 53
4.1 IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA, RENDIMENTO E ANÁLISE FITOQUÍMICA 53
4.2 TOXICIDADE AGUDA 53
4.2.1 Análise hipocrática 53
4.2.2 Consumo de água, ração e variação ponderal 57
4.2.3 Análises bioquímicas e hematológicas 59
4.2.4 Análise macroscópica dos órgãos 60
4.2.5 Análises histológicas 61
4.3 ATIVIDADE ANTIDIARREICA INDUZIDA POR ÓLEO DE RÍCINO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Psidium guineense* 62
4.3.1 Avaliação antidiarreica 62
4.3.2 Avaliação bioquímica e hematológica 66
4.3.3 Análises histológicas 69
5 DISCUSSÃO 74
6 CONCLUSÃO 79
REFERÊNCIAS 80
ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DE USO ANIMAL 97
ANEXO B – CARTA DE ANUENCIA DA INSTITUIÇÃO 98
ANEXO C – IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DA ESPÉCIE ESTUDADA 99
ANEXO D – EXSICATA DA ESPÉCIE ESTUDADA 100

1 INTRODUÇÃO

A palavra diarreia vem do grego, “diárrhoia”, que significa “fluir por todos os lados”, em referência à perda hidroeletrolítica provocada pelas evacuações frequentes e de consistência líquida. As principais preocupações acerca da diarreia decorrem das complicações cognitivas e nutricionais causadas por esse sintoma comum à diversas enfermidades do TGI (PROSS, 2017).

Apesar da redução no índice de mortalidade nas últimas décadas, as doenças diarreicas ainda integram o ranking das dez maiores causas de morte a nível mundial, vitimando principalmente crianças e idosos (RITCHIE; ROSER, 2018). Patógenos entéricos são os principais agentes causadores da diarreia. Isso explica o fato de cidadãos de países em desenvolvimento serem os mais afetados por essa condição, dada a escassez de saneamento básico e água potável nessas regiões (DADONAITE; RITCHIE; ROSER, 2019; WHO, 2019a, 2019b).

A implementação de protocolos frente aos quadros diarreicos visam não só reestabelecer o equilíbrio metabólico causado pela perda de fluidos e eletrólitos, como também agir sobre a etiologia desses episódios (RIDDLE; DUPONT; CONNOR, 2016). Antimicrobianos, antissecretórios, estimulantes da absorção e inibidores da motilidade intestinal são os principais agentes utilizados nessa terapêutica. Contudo, efeitos adversos importantes são observados em pacientes que fazem uso dessas substâncias, como resistência bacteriana, paralisia ileal, constipação grave, problemas cardíacos e encefalopatias (AKEL; BEKHEIT, 2018; DUDINK; MEARIN; SUKHAI, 2003; WALLEY; MILSON, 1990).

Visando constituir novas abordagens terapêuticas para mitigar os efeitos colaterais observados, métodos alternativos e complementares estão sendo investigados quanto à sua eficácia na terapêutica da diarreia, dos quais se destacam os probióticos, as práticas da medicina tradicional chinesa e as plantas medicinais (ASMAT et al., 2018; SADRAEI; ASGHARI; JAMALI, 2018; YAN et al., 2019). Esta última, em particular, tem papel fundamental na história farmacêutica, posto que registos de utilização de espécies vegetais com propriedades curativas datam de, pelo menos, sete mil anos atrás (HOSSEINZADEH et al., 2015).

O reino Plantae é uma fonte inexorável de moléculas e compostos bioativos. Das estimadas 250.000 espécies vegetais superiores existentes no globo, apenas 6% foram investigadas quanto às suas propriedades farmacológicas (HOSSEINZADEH et al., 2015). Apesar disso, mais de 60% dos fármacos aprovados a nível mundial partiram de fontes naturais (BERNARDINI et al., 2018). A exemplo, tem-se a pilocarpina, extraída das folhas de *Pilocarpus* spp., usada no tratamento do glaucoma (ALJARALLAH, 2017); a quinina, conhecido antimalárico extraído da *Cinchona officinalis* (JAZAYERI et al., 2014); e um antidiarreico extraído do *Croton lechleri*, o crofelemer (GAO et al., 2017).

Estudos etnobotânicos tem sido a principal fonte de busca por táxons com atividade antidiarreica, na qual o gênero *Psidium* têm se destacado (RAWAT; SINGH; KUMAR, 2017). *Psidium cattleyanum*, *Psidium grandifolium* e *Psidium guajava* são algumas das espécies mencionadas por comunidades ao redor do mundo com essa propriedade (JARADAT; AYESH; ANDERSON, 2016; SANTOS; LIMA; OLIVEIRA, 2014; SUROOWAN; PYNEE; MAHOMOODALLY, 2019). A infusão das folhas da *Psidium guajava* L., descrita por populares como eficaz no tratamento da diarreia (MAGALHÃES et al., 2019), originou pesquisas científicas que demonstrassem a atividade farmacológica das folhas dessa espécie (BORAH; DASH; CHAKRABORTY, 2018). Dessa forma, respostas positivas obtidas para diarreia com espécies do gênero *Psidium* têm despertado interesse para análise científica de outras espécies vegetais deste gênero.

Psidium guineense Swartz, conhecida popularmente como “araçazeiro”, destaca-se em território nacional por sua ampla distribuição (JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, 2020a). Entre as atividades farmacológicas verificadas nessa espécie estão antioxidante, antimicrobiana e citotóxica, demonstradas a partir do extrato dos galhos (NERYS, 2018). Recentemente, a espécie demonstrou também atividade no TGI, na prevenção do desenvolvimento de úlceras gástricas em camundongos (SOUSA, 2016). Apesar dos relatos de utilização popular da *P. guineense* no tratamento de afecções diarreicas (ANESINI; PEREZ, 1993), não existe, até o presente momento, investigações cientificas que busquem verificar tal atividade.

1.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a atividade antidiarreica do extrato hidroetanólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar e identificar as folhas de *Psidium guineense* Swartz;
- Obter o extrato hidroetanólico das folhas de *P. guineense*;
- Realizar a investigação fitoquímica do extrato hidroetanólico de *P. guineense*;
- Determinar a toxicidade aguda a partir da Dose Letal 50% (DL_{50});
- Avaliar a atividade antidiarreica do extrato hidroetanólico de *P. guineense*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FISIOLOGIA INTESTINAL

O TGI é formado por um conjunto de órgãos cujas funções são transportar, digerir e absorver substâncias e nutrientes a partir dos alimentos ingeridos. Boca, esôfago, estômago e intestino são os principais órgãos do TGI, que conta também com glândulas salivares, pâncreas, fígado e vesícula biliar como órgãos acessórios (MEERVELD; JOHNSON; GRUNDY, 2017).

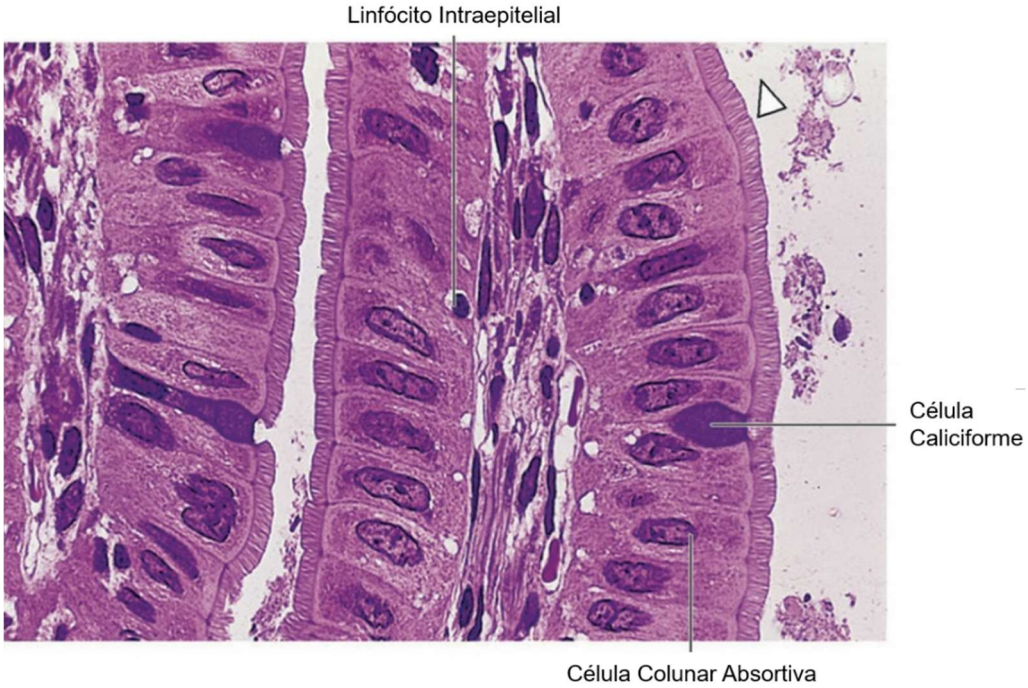
Anatomicamente, o intestino é dividido em dois grandes segmentos sequenciais denominados intestinos delgado e grosso. O primeiro é subdividido em duodeno, jejuno e íleo, enquanto o segundo é composto por ceco, cólons ascendente, transverso e sigmoide, reto e ânus (MEERVELD; JOHNSON; GRUNDY, 2017).

Motilidade, secreção, digestão e absorção são os quatro pilares das funções intestinais. A motilidade controla a mistura, o tempo de permanência e a passagem do bolo alimentar ou quimo pelo TGI. As secreções pancreática, biliar, hidroeletrolítica e mucosa auxiliam os processos de digestão alimentar, bem como a absorção de nutrientes. A digestão age na quebra de macromoléculas em moléculas absorvíveis, e a absorção, finalmente, capta nutrientes, eletrólitos e água do lúmen intestinal para a corrente sanguínea ou linfa (DEANE et al., 2019; KIELA; GHISHAN, 2016).

Cerca de 85% do tecido epitelial intestinal é composto por células absortivas, (KISHIDA et al., 2017), cuja superfície apical é composta por projeções citoplasmáticas, denominada borda em escova, como mostra a figura 2, que expandem a superfície de contato e otimizam o processo absortivo (ZIMMER et al., 2016).

Aproximadamente dez litros de fluidos contendo íons e solutos percorrem o lúmen intestinal diariamente, dos quais aproximadamente 85% são absorvidos no intestino delgado (CAMILLERI; SELLIN; BARRETT, 2017). A absorção desses fluidos acontece na região apical das células absortivas, que transportam Na^+ em associação ao H^+, Cl^- e HCO_3^- através de transporte ativo, promovendo a absorção de água. O gradiente eletroquímico necessário para esse processo é fornecido pela Na^+/K^+/ATPase, localizada na membrana basolateral das células absortivas, que transportam Na^+ para o meio extracelular e K^+ para o intracelular (BARRETT, 2015).

Figura 1 – Fotomicrografia do epitélio de revestimento do intestino delgado corado com pararrosanilina e azul de toluidina



Fonte: JUNQUEIRA; CARNEIRO (2008, p. 302).

Nota: Borda em escova (seta) na microscopia óptica. Aumento de 400x.

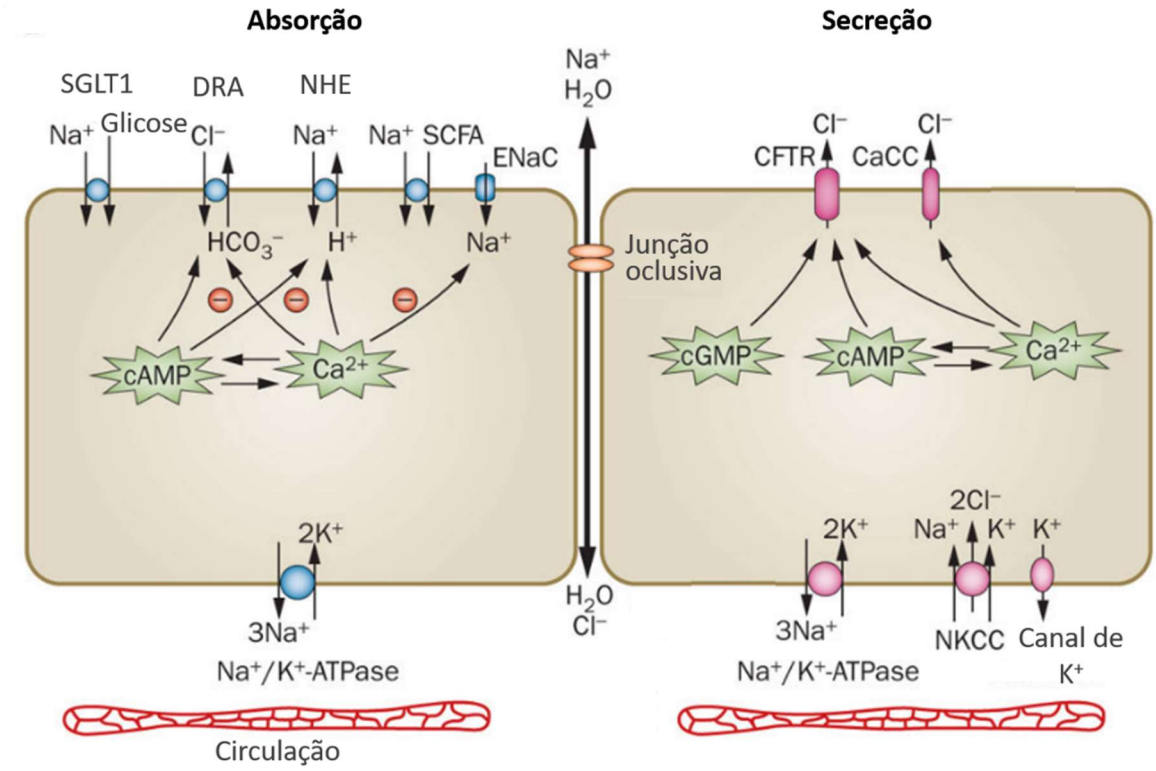
Os principais transportadores do intestino delgado são o trocador de Na^+/H^+, que internaliza Na^+ e secreta H^+; o co-transportador de sódio e glicose, SGLT1, que utiliza a baixa concentração de Na^+ intracelular para absorver a glicose contra seu gradiente de concentração; e o transportador de Cl^-/HCO_3^-, que troca o íon cloreto pelo íon bicarbonato. Os trocadores de Na^+/H^+ e de Cl^-/HCO_3^- trabalham de maneira coordenada promovendo a absorção eletroneutra de NaCl, e, consequentemente, de água a partir dos fluidos intestinais (CAMILLERI; SELLIN; BARRETT, 2017).

No cólon, além do transporte eletroneutro, há também canais de Na^+ e transportadores de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que captam principalmente os AGCC provenientes do metabolismo da microbiota comensal (KIELA; GHISHAN, 2016). Os processos absortivos são modulados por segundos mensageiros, como Ca^{+2} e cAMP, cujo aumento intracelular leva à inibição da absorção, conforme ilustra a figura 3 (THIAGARAJAH; DONOWITZ; VERKMAN, 2015).

Apesar da nomenclatura, as células absortivas também realizam secreção hidroeletrolítica, o que fluidifica o conteúdo luminal, facilitando os processos digestivo e absortivo (CAMILLERI; SELLIN; BARRETT, 2017). Tal mecanismo secretor é

embasado no transporte transcelular de íons cloreto e sua posterior absorção através do transportador basolateral $Na^+/K^+/2Cl^-$. As condições eletroquímicas para essa captação é igualmente fomentada pela Na^+/K^+/ATPase e por canais de potássio situados na membrana basolateral das células absortivas (CAMILLERI; SELLIN; BARRETT, 2017). Os íons cloreto presentes no citosol são então secretados por canais de cloro dependentes de cAMP e cGMP e Ca^+, denominados CFTR, e por canais de Cl^- dependentes de cálcio, denominados CaCC, presentes na membrana apical. Esses processos podem ser melhor compreendidos através da figura 3 (THIAGARAJAH; DONOWITZ; VERKMAN, 2015).

Figura 2 – Representação esquemática dos processos absortivo e secretório hidroeletrolítico das células epiteliais intestinais



Fonte: THIAGARAJAH; DONOWITZ; VERKMAN (2015). Adaptado.

Notas: “SGLT1” – co-transportador de sódio e glicose; “DRA” – transportador de Cl^-/HCO_3^-; “NHE3” – trocador de Na^+/H^+; “SCFA” – ácidos graxos de cadeia curta; “ENaC” – canal de sódio; “cAMP” – monofosfato de adenosina cíclico; “cGMP” – manofosfato de guanina; “CFTR” – canais de cloro dependentes de cAMP e cGMP e Ca^+; “CaCC” – canal de cloro dependente de cálcio; “NKCC” – transportador de $Na^+/K^+/2Cl^-$.

A motilidade, ao modular o tempo de permanência e a mistura do conteúdo luminal em cada segmento intestinal, tem papel fundamental no processo absortivo e

digestivo. Os intestinos são constituídos por duas camadas de tecido muscular liso dispostas paralelamente. A camada mais interna é formada por fibras que circundam os intestinos e reduzem o seu lúmen quando contraídas; por sobre essa, estão as fibras longitudinais, cujas contrações culminam na redução do comprimento intestinal (MIRJALILI et al., 2019). Apesar da divisão anatômica, as fibras musculares circular e longitudinal agem em conjunto através de contrações e relaxamentos coordenados e controlados pelo sistema nervoso entérico (SNE) por meio do plexo nervoso mioentérico, localizado entre as duas camadas. Esses movimentos controlam a mistura do quimo com as secreções digestivas através das chamas segmentações e contrações isoladas, e o transporte do conteúdo luminal por movimentos de peristalse (DEANE et al., 2019).

O SNE pode ser definido como uma terceira divisão do sistema nervoso autonômico (SNA), que controla o TGI de forma independente do sistema nervoso central (SNC), embora estabeleça comunicação bilateral com ele através das vias simpática e parassimpática. O SNE é composto por gânglios de inervações intrínsecas que recebem informações tanto do SNC, como do próprio TGI através de mecano e quimiorreceptores (RAO; GERSHON, 2016, 2018).

O plexo mioentérico é composto por três tipos de neurônios: motores, aferentes primários intrínsecos e interneurônios. Os neurônios motores podem ser excitatórios ou inibitórios, agindo através da liberação de acetilcolina ou oxido nítrico, respectivamente; os neurônios aferentes primários intrínsecos respondem a estímulos químicos do lúmen através da Substância P, um neuropeptídeo excitatório das fibras musculares; e os interneurônios utilizam a acetilcolina e a serotonina para transmitir os estímulos para todo o TGI (BARRETT, 2015; RAO; GERSHON, 2018).

2.2 DIARREIA

A diarreia é definida como a apresentação de mais de 2 evacuações de caráter urgente e consistência líquida no intervalo de 24h (WHO, 2017). Com base no tempo de duração, esta pode ser classificada como aguda, com durabilidade menor que 14 dias (BRANDT; DE CASTRO ANTUNES; DA SILVA, 2015); persistente, durando 14 dias ou mais (DUPONT, 2016); ou crônicas, quando ultrapassam 4 semanas (SCHILLER; PARDI; SELLIN, 2017).

2.2.1 Fisiopatologia da doença diarreica

Quando os processos de absorção e secreção do TGI entram em desarranjo, seja pela secreção excessiva de eletrólitos, ou pela absorção prejudicada de água e solutos, tem-se o desenvolvimento de episódios diarreicos (THIAGARAJAH; DONOWITZ; VERKMAN, 2015). Os principais mecanismos envolvidos, bem como suas exemplificações, estão descritos a seguir.

2.2.1.1 Diarreia osmótica

A diarreia osmótica ocorre quando há incapacidade absortiva do epitélio intestinal a um determinado soluto, seja ela intrínseca ou adquirida. A permanência desse soluto no lúmen intestinal eleva o gap osmótico intraluminal para valores acima de 100 mOsm (THIAGARAJAH et al., 2018). O gap osmótico intraluminal é calculado a partir da seguinte fórmula:

$$\textit{Gap osmótico intraluminal} = \textit{osmolaridade sérica} - 2 \times (Na^{+}\ \textit{fecal} + K^{+}\ \textit{fecal})$$

A intolerância à lactose, por exemplo, gera episódios diarreicos devido à incapacidade de produção da lactase, enzima responsável por hidrolisar a lactose nos monossacarídeos glicose e galactose, absorvíveis. Como resultado, tem-se o acúmulo intraluminal de lactose, elevando o gradiente osmótico (ROSADO, 2016). Doenças congênitas também podem causar diarreia osmótica, como ocorre na doença da inclusão dos microvilos, caracterizada pela ausência da borda em escova nas células absortivas. Com as microvilosidades presas em corpos de inclusões, tais células não executam a absorção adequadamente, o que eleva a osmolaridade intraluminal e propicia grave diarreia nos pacientes portadores (ZIMMER et al., 2016).

A hipermotilidade intestinal, como a ocasionada por toxinas e laxantes, também pode levar à diarreia osmótica, uma vez que a motilidade é crucial no desempenho absortivo do epitélio intestinal (CRAWFORD et al., 2017; TUNARU et al., 2012). A passagem acelerada do quimo nos diferentes seguimentos intestinais dificulta a incorporação de fluidos e nutrientes pelas células absortivas, gerando um quadro diarreico (THIAGARAJAH; MARTIN, 2019).

2.2.1.2 Diarreia relacionada ao transporte de eletrólitos

A diarreia relacionada ao transporte de eletrólitos (DRTE) é causada pelo aumento da secreção ou diminuição na absorção de Na^+, K^+, H^+ Cl^- e HCO_3. As altas concentrações de íons no lúmen intestinal estimula a secreção de água, gerando um valor de gap osmótico intraluminal abaixo de 50 mOsm (THIAGARAJAH et al., 2018).

As principais causas de DRTE são as infecções por patógenos não invasivos, e, menos frequentemente, as doenças congênitas. Na infecção pelo *Rotavirus*, as células hospedeiras produzem e secretam a enterotoxina viral NSP4, que sinaliza o aumento intracelular de Ca^+. Como consequência, tem-se a secreção excessiva de íons cloreto mediada por CaCC e CFTR, e a secreção de serotonina pelas células enteroendócrinas, estimulando a motilidade intestinal (CRAWFORD et al., 2017). De modo similar, as toxinas produzidas pelas bactérias *Vibrio cholerae* e *Escherichia coli* enterotoxigênica causam diarreia através da estimulação da secreção de íons cloreto (GOMES et al., 2016; WEIL; BECKER; HARRIS, 2019). Ambas as toxinas termolábil e termoestável da *Escherichia coli* enterotoxigênica reduzem ainda a absorção de Na^+, potencializando o efeito diarreico (GOMES et al., 2016).

Atualmente, a pandemia causada pelo Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave também tem sido a causa de episódios diarreicos em até 50% dos pacientes infectados. Isso provavelmente se deve à presença da enzima conversora de angiotensina no epitélio intestinal, usada por esse vírus para adentrar nas células e realizar seu ciclo de replicação. O mecanismo exato no qual o vírus induz a diarreia, no entanto, permanece incerto (D'AMICO et al., 2020).

Entre as causas menos frequentes de DRTE, estão as de origem congênita, sendo a mais estudada a diarreia congênita por cloreto. Nessa doença, os genes do transportador de Cl^-/HCO_3^- estão mutados, tornando-o incapaz de absorver íons cloreto e de secretar HCO_3^-. Como resultado, há a formação de fezes diarreicas ácidas e ricas em Cl^- (SEIDLER; NIKOLOVSKA, 2019).

2.2.1.3 Diarreia inflamatória

Processos inflamatórios, sejam causados por doenças autoimunes, como doença de Crohn e colite ulcerativa (ROSEN; DHAWAN; SAEED, 2015), sejam as de

origem infecciosa, como as ocasionadas por *Escherichia coli* enteroinvasiva (GOMES et al., 2016), *Salmonella* spp. (BULA-RUDAS; RATHORE; MARAQA, 2015) e *Campylobacter* spp. (FACCIOLÀ et al., 2017), levam à destruição das células absortivas, causando ao mesmo tempo um quadro de diarreia osmótica e de DRTE. O processo inflamatório induz ainda a perda de proteínas, muco e sangue através das fezes, característicos da diarreia disentérica (SHANKS, 2016).

2.2.2 Óleo de rícino

O óleo de rícino, caracterizado pela coloração amarelo clara e alta viscosidade, é originário das sementes de *Ricinos communis* Linn., a “mamona”, onde perfaz cerca de 50% do seu peso seco (PATEL et al., 2016). O óleo de rícino é extensivamente empregado no estudo de drogas e compostos antidiarreicos devido à potente atividade laxante exercida sobre o TGI (EJEH; ONYEYILI; ABALAKA, 2017; MAIGARI et al., 2016; NEGREIROS et al., 2019).

Cerca de 90% desse óleo é formado pelo ácido 12-hidroxi-9-octadecenoico, um ácido graxo insaturado hidroxilado mais conhecido como ácido ricinoleico (CHAUKE; MUKAYA; NKAZI, 2019; NERI et al., 2018). Quando administrado por via oral, o óleo de rícino sofre a ação emulsificante dos ácidos biliares, e catalítica das enzimas pancreáticas, liberando glicerol e ácido ricinoleico (WATSON et al., 1963). A estimulação da motilidade, associada ao desbalanço secretório/absortivo culmina no efeito laxante desse composto.

Uma vez livre no lúmen intestinal, o ácido ricinoleico é assimilado pelas células absortivas e reduz tanto a absorção de Na^+ e K^+, como a atividade da Na^+/K^+/ATPase, provocando o acúmulo de líquidos no lúmem intestinal (PHILLIPS et al., 1965; WATSON et al., 1963). Além disso, o ácido ricinoleico estimula a liberação da prostaglandina E_2 e age também em seus receptores EP_3 do músculo liso (BEUBLER; JUAN, 1979; GAO; SUN; WANG, 1999; TUNARU et al., 2012). Tais ações resultam na estimulação da motilidade intestinal e da secreção de Cl^-, e na inibição da absorção de Na^+ (AL-AWQATI; GREENOUGH, 1972).

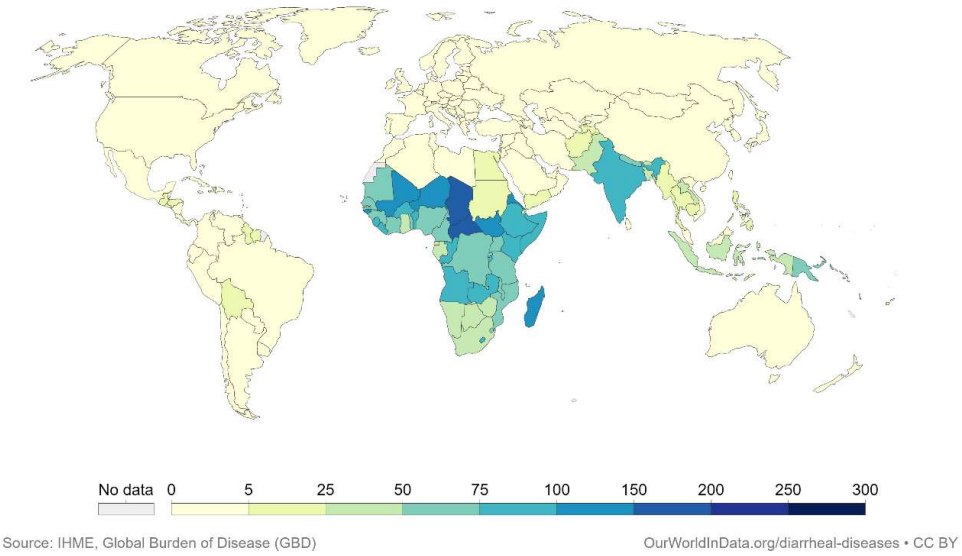
Outro mecanismo de ação envolvido no efeito diarreico do ácido ricinoleico é a estimulação da liberação de óxido nítrico, que aumenta a permeabilidade das células

do TGI ao Ca^{2+} (SADRAEI; ASGHARI; JAMALI, 2018) e regula a produção de prostaglandinas (KIM, 2011).

2.2.3 Dados Epidemiológicos

Nos últimos 30 anos se têm observado uma diminuição progressiva na incidência de casos e, consequentemente, no número de óbitos ocasionados por doenças diarreicas em âmbito global. Apesar do recuo, elas ainda ocupam o 8º lugar no ranking das principais causas de morte do mundo, caindo apenas duas posições em três décadas (RITCHIE; ROSER, 2018). Segundo o levantamento mundial realizado por Dadonaite, Ritchie e Roser (2019), cerca de 1,6 milhão de pessoas morreram em 2017 em decorrência de doenças diarreicas. Dessas, aproximadamente 1,4 milhão ocorreram em países do sul asiático e da África subsaariana, como mostra a figura 1, perfazendo cerca de 87% do total de mortes naquele ano (DADONAITE; RITCHIE; ROSER, 2019).

Figura 3 – Mortes por 100.000 pessoas em razão de doenças diarreicas em 2017



Fonte: DADONAITE; RITCHIE; ROSER (2019).

Sabe-se que os grupos mais vulneráveis à essa condição patológica são crianças e idosos. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2017), 1,7 bilhão de infantes apresentam episódios diarreicos pelo menos uma vez ao ano; entre as crianças com idade inferior a três anos, estima-se que essa frequência seja três vezes maior. Durante décadas essas foram as principais vítimas da diarreia, representando

a terceira maior causa de morte entre crianças menores de 5 anos (RITCHIE; ROSER, 2018). A partir de 2015, no entanto, essa ocorrência passou a acometer majoritariamente idosos acima de 70 anos, levando à óbito 627.021 deles no ano de 2017, seguido pelas crianças menores de cinco anos, com mais de meio milhão de mortes (DADONAITE; RITCHIE; ROSER, 2019).

Seguindo a tendência mundial, de 1990 a 2017 o Brasil reduziu em 84,66% o número de óbitos por diarreia (DADONAITE; RITCHIE; ROSER, 2019). Ainda assim, mais de 125 milhões de brasileiros apresentaram episódios diarreicos em 2017, dos quais 6.562 vieram a óbito (ROTH et al., 2018). Os mais atingidos foram idosos acima de 70 anos e crianças abaixo de cinco anos, respectivamente, conforme observado a nível global. 64,62% dessas mortes foram ocasionadas por diarreia infecciosa, onde o *Rotavirus* foi o principal agente etiológico, seguido por *Shigella* spp., *Norovirus*, *Clostridium difficile*, *Cryptosporidium* spp., *Vibrio cholerae*, *Campylobacter* spp., *Entamoeba histolytica*, *Salmonella* não-tifoide, *Escherichia coli* enterotoxigênica, *Adenovirus*, *Aeromonas* spp. e *E. coli* enteropatogênica (ROTH et al., 2018).

Grande parte das mortes causadas por diarreias infecciosas poderiam ser evitadas pelo acesso à água potável, saneamento básico e medidas de higiene adequadas. No Brasil, pouco mais da metade da população dispõe de tratamento de esgoto (BRASIL, 2019). As regiões brasileiras mais atingidas pela falta de serviços de saneamento são as Norte e Nordeste com, respectivamente, apenas 10,24% e 26,87% dos brasileiros contemplados por esses serviços (BRASIL, 2019). Essas regiões foram responsáveis por mais da metade das internações por diarreia no país em 2018, custando aproximadamente R$ 49,5 milhões em despesas de tratamento de saúde (ITB, 2018). Segundo dados da OMS (2019b), para cada $1,00 gasto com políticas de saneamento, se tem um retorno de $5,50 devido à diminuição de gastos com saúde, diminuição das mortes prematuras e aumento da produtividade.

2.2.4 Tratamento

Tratando-se da diarreia, a maior preocupação dos profissionais de saúde é em relação às consequências cognitivas causada pela perda hidroeletrolítica, sobretudo nos grupos mais acometidos e, não obstante, mais vulneráveis, uma vez que o tratamento inadequado pode levar o indivíduo a óbito (WHO, 2017). Dessa forma, o

tratamento primário visa reestabelecer líquidos e eletrólitos, bem como reduzir os episódios diarreicos (DADONAITE; RITCHIE; ROSER, 2019; PROSS, 2017; WHO, 2017).

2.2.4.1 Terapia de reidratação oral e intravenosa

A escolha entre terapia de reidratação oral (TRO) ou intravenosa (TRI) se baseia a partir de avaliações clínicas que levam em consideração, dentre outros sinais, o estado mental, a frequência cardíaca, a pulsação, a perda de peso e o turgor da pele (SANTILLANES; ROSE, 2018).

Pacientes apresentando irritabilidade, elevação da frequência cardíaca, pulsação diminuída, perda de peso entre 3% e 9% e turgor da pele abaixo de dois segundos são considerados moderadamente desidratados (SANTILLANES; ROSE, 2018). Nesse caso, o tratamento de escolha é a TRO, uma solução de 245 mOsm/L contendo glicose, sódio, potássio, cloreto e citrato (OFEI; FUCHS, 2019; WHO, 2017). A TRO promove a reidratação dos pacientes através do SGLT1, e formação de um gradiente osmótico pela absorção paracelular de íons cloreto, estimulando a absorção de água (OFEI; FUCHS, 2019; THIAGARAJAH; DONOWITZ; VERKMAN, 2015). A suplementação de Zn^{+} nesses pacientes também se mostrou efetiva por reduzir o número de episódios diarreicos (YAZAR; GUVEN; DINLEYICI, 2016), fazendo parte das recomendações da OMS para TRO (WHO, 2017).

Pacientes com sinais de letargia, taquicardia, pulsação fraca, perda de peso acima de 10% e turgor da pele acima de dois segundos são considerados severamente desidratados e demandam a TRI (SANTILLANES; ROSE, 2018; WHO, 2017). A solução isotônica de NaCl a 0,9% é a escolhida nesses casos, que demandam reidratação rápida e eficiente (SANTILLANES; ROSE, 2018; WEINBERG et al., 2016).

A TRO e a TRI objetivam repor a perda hidroeletrolítica, mas sozinhas não resolvem os episódios diarreicos. Para isso, é necessário o emprego de agentes que atuem tanto sobre as possíveis causas dessa condição, a exemplo dos antibióticos, bem como agentes que visem reduzir a frequência de evacuações e a perda hidroeletrolítica, tal qual os agentes antissecretórios e antimotilidade (RIDDLE; DUPONT; CONNOR, 2016).

2.2.4.2 Antimicrobianos, probióticos e bacteriófagos

Embora as infecções sejam a principal causa de desenvolvimento de diarreia, o uso empírico de antibióticos deve ser desestimulado, uma vez que a maioria das diarreias infecciosas são de origem viral (ROTH et al., 2018). No intuito de evitar a resistência microbiana, o emprego de antibióticos é recomendado apenas em episódios sabidamente causados por bactérias, como na desinteria e na diarreia do viajante, condição que afeta visitantes de países menos desenvolvidos (TRIBBLE, 2017). O uso desses agentes deve ter duração máxima de três dias, a depender da persistência dos sintomas, e associado a um agente antimotilidade (CONNOR, 2019).

Outra problemática do uso inapropriado de antimicrobianos é a criação de um ambiente propício ao estabelecimento de patógenos no epitélio intestinal pela depleção da microbiota comensal. Estudos clínicos recentes têm investigado a aplicação de probióticos contendo espécies de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Saccharomyces* no tratamento de diarreias infecciosas e diarreias associadas ao uso de antibióticos, bem como seus usos no reestabelecimento da microbiota intestinal (ALBERDA et al., 2018; ASMAT et al., 2018; BARKER et al., 2017).

Um levantamento bibliográfico de estudos clínicos randomizados realizado por Sniffen e colaboradores (2018) demonstrou que, apesar de reduzir os episódios diarreicos, a eficácia dos probióticos varia de acordo com sua formulação, cepa utilizada e tipo de doença diarreica. Uma outra saída em potencial no tratamento de infecções entéricas por bactérias é pela aplicação de bacteriófagos patógeno-específicos. Tal utilização também tem se mostrado promissora em testes in vitro (BOLOCAN et al., 2016), mas sua aplicação clínica não foi bem sucedida em diarreias infecciosas causadas por *Escherichia coli* em crianças (SARKER et al., 2016).

2.2.4.3 Agentes antimotilidade

Os agentes antimotilidade, por definição, atuam reduzindo a propulsão intestinal, o que permite um contato prolongado entre o quimo e a mucosa, otimizando a absorção de fluidos e eletrólitos (THIAGARAJAH; DONOWITZ; VERKMAN, 2015). O fármaco mais conhecido dessa classe é o loperamida, um agonista de receptores opioides (RIDDLE; DUPONT; CONNOR, 2016; THIAGARAJAH; MARTIN, 2019). No

TGI, esses receptores são expressos nos plexos nervosos, e sua ativação inibe canais de Ca^{+} e ativa canais de K^{+}, o que diminui a liberação dos neurotransmissores excitatórios acetilcolina e Substância P. Dessa forma, há tanto uma redução na motilidade, como na secreção de água e eletrólitos, o que culmina na redução dos episódios diarreicos (GALLIGAN; STERNINI, 2016; THIAGARAJAH; MARTIN, 2019).

Por ser o agente antimotilidade mais empregado no tratamento da diarreia, o loperamida é muitas vezes prescrito e utilizado de forma excessiva, tornando-se uma preocupação (GUNNARSDÓTTIR et al., 2018). Entre os efeitos colaterais do loperamida no TGI estão constipação grave, íleo paralítico e mega cólon (DUDINK; MEARIN; SUKHAI, 2003; LABORATÓRIO GLOBO LTDA., 2014; WALLEY; MILSON, 1990). Apesar de sua baixa ação no sistema nervoso central, esse fármaco também tem sido utilizado para atenuar sintomas de abstinência à opioides, o que pode causar problemas cardíacos e morte (AKEL; BEKHEIT, 2018; WU; JUURLINK, 2017).

Antagonistas dos receptores tipo três de serotonina, como alossetrona, também reduzem a secreção e a motilidade intestinal, sendo os fármacos de escolha no tratamento das diarreias crônicas causadas por doenças inflamatórias intestinais, como a síndrome do intestino irritável, devido à superexpressão desses receptores em seus portadores (BROWNING, 2015; ZHENG et al., 2017). Algumas análises, porém, concluíram que o uso desse fármaco está relacionado ao desenvolvimento de colite isquêmica, ainda que rara (CHANG et al., 2006; TONG et al., 2013).

2.2.4.4 Agentes antissecretórios

Entre os agentes antissecretórios, os mais conhecidos são o bismuto subsalicilado e a racecadotrila (RIDDLE; DUPONT; CONNOR, 2016). O bismuto subsalicilado age através da parte salicilada do seu composto, inibindo a secreção de íons cloreto e estimulando a absorção de sódio (THIAGARAJAH; DONOWITZ; VERKMAN, 2015). Estudos recentes têm demonstrado que esse composto também apresenta atividade frente a patógenos indutores da diarreia infecciosa, podendo auxiliar na redução do uso de antibióticos nesses casos (BOWEN et al., 2019; PITZ et al., 2015). A despeito dos efeitos benéficos, o uso prolongado dessa substância pode causar neurotoxicidade (BORBINHA et al., 2019).

A ação antissecretória da racecadotrila, juntamente com seu metabólito ativo, o tiorfano, se dá por meio da preservação das encefalinas (KANG et al., 2016). A inibição das encefalinases promovida pelo fármaco aumenta a concentração das encefalinas endógenas, que agem em receptores opioides inibindo a secreção (EBERLIN et al., 2018). Tal atividade, porém, parece não ser eficaz em casos de diarreia aguda em crianças menores de cinco anos (EBERLIN et al., 2018).

O crofelemer, um fitofármaco extraído da espécie *Croton lechleri*, é um oligômero de proantrocianidina bloqueador dos canais de cloro dependentes de AMP cíclico e Ca^{+} situados na membrana apical das células intestinais (TRADTRANTIP; NAMKUNG; VERKMAN, 2010). Esse agente antissecretório é o de escolha no tratamento da diarreia crônica de portadores do vírus da imunodeficiência humana causada por antirretrovirais, sendo aplicado também na terapia da diarreia do viajante (DIKMAN et al., 2015; NEE et al., 2019). Estudos recentes têm buscado ainda investigar a eficácia do crofelemer frente à diarreia induzida por quimioterápicos em diferentes tipos de cânceres (GAO et al., 2017; VAN SEBILLE et al., 2018).

2.2.4.5 Plantas medicinais com atividade antidiarreica

Diversos levantamentos etnobotânicos demonstraram a utilização de espécies vegetais no tratamento de afeções diarreicas por comunidades no Brasil e no mundo (CHOUDHURY et al., 2015; JARADAT; AYESH; ANDERSON, 2016; RIBEIRO et al., 2017). Esses estudos deram origem a investigações científicas que buscaram fundamentar e atestar o uso, bem como estabelecer doses seguras e isolar metabólitos ativos, a exemplo do composto crofelemer, descrito previamente (EJEH; ONYEYILI; ABALAKA, 2017; KAUR; SINGH; KUMAR, 2014; MAIGARI et al., 2016).

Rawat, Singh e Kumar (2017) realizaram um levantamento de, aproximadamente, 110 espécies botânicas com propriedades antidiarreicas testadas *in vivo*. Atividades antissecretória, antimotilidade, antimicrobiana, estimuladora da absorção intestinal, antiespasmódica e antiperistáltica foram evidenciadas nesses táxons através das vias nitrérgica, adrenérgica, serotoninérgica e por inibição ou ativação de canais iônicos. Entre as espécies destacadas está a *Psidium guajava*, cuja aplicação em testes clínicos demonstrou reduzir os episódios diarreicos, inclusive em pacientes infectados por *Rotavirus* (LOZOYA et al., 2002; WEI; LI; CHEN, 2000).

2.3 FAMÍLIA Myrtaceae e GÊNERO *Psidium*

A Myrtaceae é uma das mais ricas e diversas famílias botânicas descritas no mundo, contando com aproximadamente 6.000 espécies distribuídas em 132 gêneros (APG, 2016; CHRISTENHUSZ; BYNG, 2016). Sua subclassificação nas subfamílias Psiloxyloideae e Myrtoideae, baseada em aspectos genéticos e características botânicas, descrevem também sua distribuição geográfica. A primeira inclui as mirtáceas concentradas no sudeste do continente africano, integrando as tribos Psiloxyleae e Heteropyxideae. A subfamília Myrtoideae, por sua vez, está amplamente distribuída pelo globo terrestre, sobretudo na Oceania, África Subsaariana, sudoeste asiático e América Latina (THORNHILL et al., 2015).

A tribo Myrteae, uma das 15 tribos que compõe a subfamília Myrtoideae, se destaca pela riqueza em diversidade que agrega à família Myrtaceae. Aproximadamente metade das mirtáceas identificadas atualmente compõem os 50 gêneros que constituem essa tribo. Além disso, todos os táxons identificados em território brasileiro pertencem à tribo Myrteae (LUCAS et al., 2019; THORNHILL et al., 2015; VASCONCELOS et al., 2017b; WILSON et al., 2005).

No Brasil estão presentes 23 gêneros e aproximadamente 1/6 das espécies de mirtáceas identificadas no mundo, das quais cerca de 80% são endêmicas. Dada sua grandiosidade em táxons, a família Myrtaceae está entre as dez maiores famílias de angiospermas identificadas no Brasil (BFG, 2015). É possível encontrar exemplares nas cinco regiões brasileiras, sobretudo nas regiões Sudeste e Nordeste por concentrarem o maior número de espécies. Isso porque o domínio fitogeográfico brasileiro que abriga a maior parte das mirtáceas é a Mata Atlântica (54,08%), seguido pelo Cerrado (19,40%), Amazônia (17,11%), Caatinga (7,56%), Pampa (1,22%) e Pantanal (0,61%) (JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, 2020b). Os gêneros identificados no Brasil, bem como a quantidade de espécies correspondentes e sua distribuição territorial estão dispostos na tabela 1.

O gênero neotropical *Psidium* L. é o 4º maior representante e um dos mais relevantes na família Myrtaceae em território nacional. Isso é atribuído à sua diversidade botânica, onde aproximadamente 65% das espécies desse gênero estão distribuídas pelo Brasil (JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, 2020c; PROENÇA; FARIA; MAZINE, 2017; WCSP, 2020).

Tabela 1 – Distribuição dos gêneros da família Myrtaceae e seus respectivosquantitativo de espécies em território nacional

Gêneros	Número de espécies	Unidades Federativas com Espécies Confirmadas
Eugenia L.	387	Todo território brasileiro
Myrcia DC.	296	Todo território brasileiro
Calyptranthes Sw.	68	Todo território brasileiro, exceto MS e PI
***Psidium* L.**	**65**	**Todo território brasileiro**
Campomanesia Ruiz & Pav.	36	Todo território brasileiro
Plinia L.	33	Todo território brasileiro, exceto RR, RO, MA, PI, PB, SE, MT, DF e GO
Myrceugenia O. Berg	32	BA, DF, GO, MG, ES, SP, RJ, PR, SC e RS
Marlierea Cambess	29	TO, PE, BA, MG, ES, SP, RJ, PR, SC e RS
Myrciaria O. Berg	22	Todo território brasileiro, exceto AP, PB e SE.
Neomitranthes Kausel ex D.Legrand	15	RN, PB, AL, SE, BA, MG, ES, SP, RJ, PR, SC e RS
Calycolpus O. Berg	10	AM, PA, RO, TO, AL, BA, MA, SE, GO e MG
Siphoneugena O. Berg	9	AM, PA, BA, MT, DF, GO, MG, ES, SP, RJ, PR, SC e RS
Myrcianthes O.Berg	7	RR, PE, SE, DF, GO, MS, MG, SP, RJ, PR, SC e RS
Blepharocalyx O. Berg	4	AM, BA, DF, GO, MS, MT, ES, MG, RJ, SP, PR, RS e SC
Syzygium Gaertn.	3	AM, RR, PE, BA, MG, ES, SP, RJ, PR, SC e RS
Algrizea Proença & NicLugh	2	BA e PE
Acca O. Berg	1	MG, RJ, SP, PR, RS e SC
Accara Landrum	1	MG
Curitiba Salywon & Landrum	1	PR e SC
Myrrhinium Schott	1	ES, RJ, SP, PR, SC e RS
Myrteola O. Berg	1	AM
Pimenta Lindl.	1	BA, DF, GO, MS, MG, ES, SP, RJ, PR, SC e RS
Ugni Turcz.	1	AM

Fonte: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO (2020a).

Notas: “AC” - Acre; “AL” - Alagoas; “AM” - Amazonas; “AP” - Amapá; “BA” - Bahia; “CE” - Ceará; “DF” - Distrito Federal; “ES” - Espírito Santo; “GO” - Goiás; “MA” - Maranhão; “MG” - Minas Gerais; “MS” - Mato Grosso do Sul; “MT” - Mato Grosso; “PA” - Pará; “PB” - Paraíba; “PI” - Piauí; “PR” - Paraná; “RJ” - Rio de Janeiro; “RN” - Rio Grande do Norte; “RO” - Rondônia; “RR” - Roraima; “RS” - Rio Grande do Sul; “SC” - Santa Catarina; “SE” - Sergipe; “SP” - São Paulo; e “TO” - Tocantins.

A palavra *Psidium* deriva do grego “*Psidion*”, que significa morder ou triturar, em referência aos saborosos frutos produzidos pela maioria das espécies do gênero (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002). Essa característica confere importância econômica

ao gênero *Psidium*, devido à vasta utilização desses frutos pelas agroindústrias e indústria alimentícia, sobretudo para confecção de doces e geleias (RIBEIRO, 2018).

Outro fator interessante do ponto de vista econômico compete às características botânicas de suas flores. Apesar de hermafroditas, as flores do gênero *Psidium* não realizam autopolinização, fazendo-se necessário a ação dispersores naturais (GRESSLER; PIZO; MORELLATO, 2007; SOARES-SILVA; PROENÇA, 2008). Acredita-se que as abelhas sejam os principais agentes polinizadores do gênero, sendo atualmente empregadas em atividades apícolas e meliponícolas (ALMEIDA; REIS, 2017; FRANZON et al., 2009).

Na comunidade científica, o gênero *Psidium* adquiriu importância pelas atividades farmacológicas demonstradas por suas espécies. Diversos estudos têm reportado a utilização popular de táxons deste gênero com fins terapêuticos através do uso de partes aéreas, frutos, caules, brotos, entre outros, na forma de infusões e/ou decocções (CROVETTO, 2012; CRUZ; KAPLAN, 2004; MAGALHÃES et al., 2019; PEREIRA et al., 2018; SCHULTES; RAFFAUF, 1986). Aproximadamente 20 das 65 espécies do gênero *Psidium* encontradas no Brasil foram investigadas quanto ao potencial farmacológico, tomando como base seus usos etnofarmacológicos, ou estudos quimiotaxonômicos. As atividades relatadas vão desde o tratamento de uma condição febril até propriedades antitumorais, conforme é exposto na tabela 2.

Cerca de 50% das espécies descritas na tabela 2 apresentam indicações de uso popular no tratamento desordens do TGI. Frutos, cascas, brotos, mudas e majoritariamente folhas são as partes utilizadas para fins antidiarreicos, em preparações como infusões e extratos vegetais. Nota-se que mesmo diante desses relatos, o número de espécies desse gênero estudadas cientificamente para atividade antidiarreica ainda é considerado baixo.

Tabela 2 – Nomes vernaculares e aplicações medicinais de espécies do gênero *Psidium*

Espécies	Nome Vernacular	Preparação	Parte da planta	Indicações de Uso Medicinal	Referência
Psidium acutangulum DC.	Araçá, Araçá-boi, Araçá-goiaba, goiabana	Infusão	Raiz	**Antidiarreico**, Dores abdominais	Landrum (2016)
		Decocção	Partes aéreas	Malária	Houël et al., (2015)*
		-	Folhas	Hemorroida	Schultes; Raffauf, (1986)
Psidium australe Cambess.	Araçá-do-campo, araçá-fumaça, araçá-de-folha-marrom	Decocção	Casca	**Antidiarreico**;	Crovetto, (2012);
		Infusão	Folhas	Antioxidante	Takao; Imatomi; Gualtieri, (2015)*
Psidium brownianum Mart. ex DC.	Araçá-pedra	-	Broto	Gripe	Morais-Braga et al., (2016)*
		Extrato	Folhas	Anti-Leishmania	De Souza et al., (2017)*
		Extrato, Decocção e Infusão	Folhas	Anti-Trypanossoma	Machado et al., (2018)*
		Óleo Essencial	Folhas	Analgésica	Sampaio et al., (2020)*
Psidium cattleyanum Sabine	Araçá, Araçá-amarelo, Araçá-de-coroa	-	Brotos, cascas	**Antidiarreico**	Cruz; Kaplan, (2004)
		-	Folhas	**Antidiarreico**	Souza et al., (2004)
		Óleo Essencial	Folhas	Antifúngico, Antioxidante	Castro et al., (2015)*
		Extrato, Óleo Essencial	Folhas	Antimicrobiana	Scur et al., (2016)*
		Extrato	Folhas	Analgésica	Alvarenga et al., (2013)*
		Extrato	Fruto	Antioxidante, Anti-hiperglicemiante e antidislipidemiante	Ribeiro et al., (2014)*; Cardoso et al., (2017)*
		Extrato	Fruto	Anticâncer, Anti-inflamatório e Anti-idade	Pereira et al., (2018)

Tabela 2 – Nomes vernaculares e indicações de uso medicinal de espécies do gênero *Psidium* (continuação)

Espécies	Nome Vernacular	Preparação	Parte da planta	Indicações de Uso Medicinal	Referência
Psidium cattleyanum Sabine	Araçá, Araçá-amarelo, Araçá-de-coroa	Decocção	Fruto imaturo	**Antidiarreico**, Desinteria	Suroowan; Pynee; Mahomoodally, (2019)
Psidium densicomum Mart. ex DC.	Araçá	Extrato e Frações	Folhas	Antimicrobiana e Antibiofilme	Castilho et al., (2013)*
		Maceração	Mudas	**Antidiarreico**	Santos; Lima; Oliveira, (2014)
		-	Frutos secos	“Feridas na boca”	Schultes; Raffauf, (1986)
		Extrato	Folhas, Flores e Partes Aéreas	Antimicrobiana	Moreno et al., (2013)
		Decocção	Folhas	Anti-inflamatório	Messias et al., (2015)
Psidium firmum O.Berg	Goiabinha-do-cerrado	Extrato	Fruto	Antioxidante	Peres et al., (2013)*
		Infusão	Folhas	**Antidiarreico**	Campos, (2010)
		-	Folhas	Cicatrizante	Franzon et al., (2009)
Psidium grandifolium Mart. ex DC.	Araçá, Araçá-felpudo, Guabiroba-peluda	Extrato	Fruto	Antimicrobiana	Bittencourt, (2018)*
		-	Folhas, Frutos, Raízes e Casca	**Antidiarreico**, Cicatrizante	Campos, (2010)

Tabela 2 – Nomes vernaculares e indicações de uso medicinal de espécies do gênero *Psidium* (continuação)

Espécies	Nome Vernacular	Preparação	Parte da planta	Indicações de Uso Medicinal	Referência
Psidium guajava L.	Goiaba	Óleo Essencial	Folhas	Antimicrobiana	Silva et al., (2018)*
		Infusão	Folhas	**Antidiarreico**	Magalhães et al., (2019)
		Extrato	Folhas	**Antidiarreico**	Borah; Dash; Chakraborty, (2018)*
		Extrato	Folhas	Antimicrobiana	Bisi-Johnson et al., (2017)*
		Extrato	Folhas	Antifúngico	Bezerra et al., (2018)*
		Extrato	Folhas	Anti-Trypanossoma e Anti-Leishmania	Souza et al., (2017)*
		Extrato	Folhas	Antioxidante e Antitumoral	Ashraf et al., (2016)*
		Extrato	Folhas	Antidiabético	Vinayagam et al., (2018)*
		Extrato	Folhas	Gastroprotetora	Lira et al., (2020)*
		Extrato	Fruto	Antiglicemiante	Müller et al., (2018)*
		Extrato	Fruto	Remodelação Óssea	Porwal et al., (2017)*
		Extrato	Fruto	Anti-inflamatório e Antioxidante	Vasconcelos et al., (2017)*
Psidium guineense Sw.	Araçá-da-praia, Araçá-mirim, Goiabinha	Óleo Essencial	Folhas	Antioxidante, Antimicobacteriano, anti-inflamatório e Antiproliferativo	Nascimento et al., (2018)*
		Extrato	Folhas	Antiulcerogênica	Sousa, (2016)*
		Extrato	Folhas	Antimicrobiano	Fernandes et al., (2012)*
		-	-	**Antidiarreico**	Anesini; Perez, (1993)
		-	-	Desordens gastrointestinais	Leonti, (2003)

Tabela 2 – Nomes vernaculares e indicações de uso medicinal de espécies do gênero *Psidium* (continuação)

Espécies	Nome Vernacular	Preparação	Parte da planta	Indicações de Uso Medicinal	Referência
Psidium guyanense Pers.	-		Frutos	**Antidiarreico**	Schultes; Raffauf, (1986)
		-	Folhas	Anti-inflamatório	Cruz; Kaplan, (2004)
		-	Folhas	Enfermidades do sistema digestivo	Vera-Marín; Sánchez-Sáenz, (2016)
		Óleo essencial	Folhas	Inibição do trânsito intestinal, depressão do SNC	Santos; Rao; Silveira, (1996)*
		Óleo Essencial	Folhas	Antimicrobiano	Santos et al., (1997)*
		Óleo Essencial	Folhas	Potencializador da Cetamina	Fauth et al., (2002)*
Psidium laruotteanum Cambess.	Araçá-cascudo	Infusão	Folhas	Antioxidante	Takao; Imatomi; Gualtieri, (2015)*
		Extrato	Folhas	Anti-Trypanossoma e Antiplasmodial	Charneau et al., (2016)*
Psidium myrsinites DC.	-	-	Folhas	Cicatrizante	Campos, (2010)
		Óleo Essencial	Folhas	Antimicrobiana, Tóxica	Durães et al., (2017)*
		Extrato	Folhas	Antioxidante	Leite et al., (2016)*
Psidium myrtoides O.Berg	-	Óleo Essencial	Folhas	Antimicrobiano, Antitumoral	Dias et al., (2019)*
Psidium rufum Mart. ex DC.	-	-	Caule e frutos	Laxante	Campos, (2010)

Tabela 2 – Nomes vernaculares e indicações de uso medicinal de espécies do gênero *Psidium* (continuação)

Espécies	Nome Vernacular	Preparação	Parte da planta	Indicações de Uso Medicinal	Referência
Psidium salutare (Kunth) O.Berg	-	Extrato	Folhas	Antimicrobiana	Simonetti et al., (2016)*
		Óleo Essencial	Folhas	Anti-Leishmania	Kauffmann et al., (2016)*
		Óleo Essencial	Folhas	Antifúngica	Macêdo et al., (2018)*
		-	Folhas	Febrífugo	Carbonó-Delahoz; Dib-Diazgranados, (2013)
Psidium sartorianum (O.Berg) Nied.	Goiabinha	Extrato	Fruto	Antimicrobiana	Uribe-Beltrán et al., (2017)*
		Extrato	Fruto	Antifúngica	Camacho-Hernández et al., (2004)*
		Extrato, Fração	Fruto	Antiparasitária	Montes-avila et al., (2017)*
		Infusão	Partes aéreas	Rash cutânea	Esquivel-García et al., (2018)
Psidium striatulum Mart. ex DC.	-	Óleo Essencial	Frutos imaturos	Antimicrobiano, Inibidor da AChE	Moniz et al., (2019)*
		Óleo Essencial	Folhas	Antimicrobiano, Estimulador da AChE	Moniz et al., (2019b)*

Fonte: AUTOR (2020)

Notas: Trabalhos experimentais (*). “SNC” – Sistema Nervoso central; “AChE” – Acetilcolinesterase.

A única espécie do gênero *Psidium* estudada cientificamente para tratar diarreia é a *Psidium guajava* L. (BORAH; DASH; CHAKRABORTY, 2018; HIRUDKAR et al., 2020b; KORIEM; ARBID; SALEH, 2019), devido à potente atividade antidiarreica exercida por extratos e compostos isolados de suas folhas (HIRUDKAR et al., 2020a). Além disso, propriedades farmacológicas relacionadas direta ou indiretamente ao TGI também foram demonstradas por essa espécie, como antimicrobiana (BEZERRA et al., 2018; BISI-JOHNSON et al., 2017), antioxidante (ASHRAF et al., 2016), gastroprotetora (LIRA et al., 2020) e antidiabética (VINAYAGAM et al., 2018).

2.4 *Psidium guineense* SWARTZ

Popularmente conhecida como “araçá-mirim” ou “goiabinha”, a *Psidium guineense* Swartz é uma espécie nativa e amplamente distribuída na América do Sul. Em território brasileiro, está presente em 21 dos 26 estados, como ilustra a figura 4, podendo ser encontrada nos domínios fitogeográficos Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, 2020a).

Figura 4 – Distribuição da espécie *Psidium guineense* Swartz no território brasileiro

Fonte: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO (2020).

Nota: Em cores, estados em que há ocorrência da *Psidium guineense*. Em verde, estados da Região Norte; em laranja, estados da Região Nordeste; em amarelo, estados da Região Centro-Oeste; em vermelho, estados da Região Sudeste; e em lilás, estados da Região Sul. Em branco, estados onde não há ocorrência de *P. guineense*.

2.4.1 Botânica

A *P. guineense* é um arbusto que pode atingir até seis metros de altura, com tronco de casca lisa e descamativa. As flores são pentâmeras, variando de branco a creme, como mostra a figura 5, podendo crescer isoladamente, em pares ou trios partindo da região axial das folhas, com 60 a 320 estames no androceu, e gineceu com ovário ínfero (TULER et al., 2017).

Figura 5 – Fotografia das flores da espécie *Psidium guineense* Swartz.

Fonte: IKABANGA (2017).

O nome “araçá” vem do tupi “ara’sa”, que significa “fruta de olhos para o céu” em referência às sépalas remanescentes nos frutos (ALVARENGA et al., 2016). Estes são arredondados, verdes quando imaturos e amarelos quando maduros, com poupa amarelada, ácida e com sementes variando de 220 a 234 por fruto. Seu caule dispõe de casca lisa e folhas elípticas e pilosas com margens levemente onduladas, como mostra figura 6; (FERREIRA et al., 2011; GONZÁLEZ; GONZÁLEZ; PINTO, 2005; TULER et al., 2017).

Figura 6 – Fotografia das folhas da espécie *Psidium guineense* Swartz.

Fonte: BIDAULT (2012).

2.4.2 Atividades farmacológicas

Na medicina popular, infusões aquosas das folhas jovens e frescas de *P. guineense* são utilizadas para tratar infecções e feridas (TENE et al., 2007). Isso impulsionou pesquisas científicas que buscaram validar a eficácia do uso. Em combinação com beta-lactâmicos, carbapenens e fluoroquinolonas, essas folhas demonstraram efeito sinérgico no combate a cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*, reduzindo a concentração mínima inibitória em até 87,5% (FERNANDES et al., 2012). Um estudo recente verificou que o óleo essencial presente nas folhas de *P. guineense* apresentou ação bacteriostática contra o *Mycobacterium tuberculosis*, além de atividade anti-inflamatória e antioxidante (NASCIMENTO et al., 2018).

A polpa do fruto também foi testada para atividade antioxidante, mensurando sua ação frente aos radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (ARAUJO et al., 2016), peroxil e peroxinitrito (GORDON et al., 2011). Recentemente, extratos brutos hidroalcóolicos dos galhos e folhas dessa espécie foram testados quanto às suas propriedades biológicas, onde foi comprovado efeito antioxidante, citotóxico e antimicrobiano frente

a bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, álcool-ácido resistentes e leveduras (NERYS, 2018).

Estudos etnobotânicos referem o uso popular da *Psidium guineense* para o tratamento de desordens do TGI (ANESINI; PEREZ, 1993; LEONTI, 2003). A ação gastroprotetora do extrato aquoso das folhas foi comprovada pela redução da acidez estomacal e elevação dos níveis basais do muco em camundongos (SOUSA, 2016). As raízes também têm sido relatadas ao longo de anos para fins antidiarreicos (BEZERRA; SILVA-JUNIOR; LIRA-JUNIOR, 2018; GONZÁLEZ; GONZÁLEZ; PINTO, 2005). No entanto, não há, até o presente momento, estudos investigando a atividade antidiarreica das folhas desta espécie botânica.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Folhas da espécie *P. guineense* foram coletadas no mês de junho de 2019 no município do Paulista, Região Metropolitana do Recife, às margens da Estrada velha de Mirueira, na borda da mata, sob as coordenadas geográficas 7º 57’ 14,1” Sul e 34º 52’ 54,7” Oeste. No dia da coleta, o índice pluviométrico foi de 2,2 mm (INSTITUTO AGRONÔMICO DE PERNAMBUCO, 2020) e a temperatura atingiu máxima de 29 °C e mínima de 22 °C (ACCUWEATHER, 2020). A fotografia do arbusto de onde o material botânico foi coletado está disponível na figura 7.

Figura 7 – Fotografia do arbusto e galho da espécie *Psidium guineense* Swartz no qual o material botânico foi coletado

Fonte: AUTOR (2020).

Um fragmento botânico contendo fruto foi coletado e enviado ao herbário Dárdano de Andrade Lima do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA) para identificação botânica.

3.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO

O material coletado foi lavado em água potável corrente e seco com papel absorvente à temperatura ambiente. Em seguida, as folhas de *P. guineense* foram trituradas com o auxílio de um moinho de facas, obtendo-se 150g de material vegetal, que foi embebido em 1.500 ml de solução etanol/água 70% (v/v).

O processo extrativo foi do tipo remaceração dinâmica, onde o material vegetal triturado foi posto em contato com o líquido extrator ao abrigo da luz e à temperatura ambiente durante sete dias sob 20h de agitação. Após as primeiras dez horas de agitações intercaladas em três dias, o extrato foi filtrado à vácuo em papel filtro e o filtrado foi acondicionado ao abrigo da luz à temperatura ambiente. O material retido na filtração foi então ressuspendido em 1.500 ml de solução etanol/água 70% (v/v) e submetido a mais dez horas de agitações intercaladas em quatro dias. Ao final da segunda etapa, o material foi novamente filtrado à vácuo em papel filtro e homogeneizado ao primeiro filtrado, totalizando um volume final de 2.500 ml de extrato hidroetanólico de *Psidium guineense* (EHEPg). Este, por conseguinte, foi concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida à 40°C e 60 rpm, obtendo-se 306 ml de extrato hidroetanólico. O material extrativo concentrado foi congelado a -80°C e enviado ao Laboratório de Imunopatologia Keiso Assami (LIKA) para liofilização. O rendimento total do extrato foi calculado de acordo com Rodrigues e colaboradores (2011) utilizando-se a seguinte fórmula:

$$R = \left(\frac{PE}{PF}\right) \times 100$$

Onde “R” é o rendimento total do extrato expresso em porcentagem; “PE” é o peso do extrato liofilizado em gramas; e “PF” é o peso das folhas frescas trituradas em gramas.

3.3 AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Psidium guineense*

A avaliação fitoquímica foi realizada a partir da quantificação de polifenóis totais, flavonoides e taninos utilizando-se a espectrofotometria (SHIMADZU).

A dosagem de polifenóis totais se deu de acordo com o descrito por Chandra e Mejia (2004). Uma alíquota de 1 ml do EHEPg na concentração de 60 µg/ml foi homogeneizada com 1 ml do reagente de Folin-Ciocalteau cinco minutos antes da adição de 2 ml da solução de $NaCO_3$ 20%. Após dez minutos de incubação à 25 °C foi realizada a leitura da absorbância no comprimento de onda de 730 nm. A quantificação foi realizada a partir da relação dos valores de absorbância encontrados com a concentração de polifenóis da solução, por meio de uma relação matemática obtida pela curva de calibração construída utilizando soluções-padrão de ácido gálico.

A quantificação de flavonoides foi realizada segundo Meda e colaboradores (2005). Homogeneizou-se 1 ml da solução de $AlCl_3$ a 2% em metanol foi a 1ml do EHEPg a 60 µg/ml. Após incubação à 25 °C por dez minutos, foi realizada a leitura da absorbância sob o comprimento de onda de 415 nm, tendo como o branco a solução do EHEPg com o metanol 1:1 apenas. O valor de absorbância obtido foi relacionado com dados matemáticos de uma curva de calibração realizada com o padrão quercetina.

Para os taninos, foi utilizada a metodologia descrita por Makkar e Becker (1993). Uma alíquota de 0,25 ml do EHEPg a 60 µg/ml foi adicionada a 1,5 ml de solução de vanilina a 4% em metanol. Logo após, foi adicionada à solução 0,75 ml de HCl a 37%, que imediatamente foi homogeneizada por agitação em banho-maria à 30°C por quatro segundos. Ao final do período de incubação, a amostra foi submetida à leitura da absorbância sob o comprimento de onda de 500 nm, onde o valor obtido foi relacionado com dados matemáticos de uma curva de calibração realizada com o padrão catequina.

3.4 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

O presente estudo foi realizado em concordância com o Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), aprovado sob o número de protocolo 0091/2019. Uma cópia digitalizada do parecer de aprovação do CEUA está disponível no Anexo A.

Para a realização dos testes de toxicidade aguda e antidiarreico, foram utilizados 68 camundongos albinos da linhagem Swiss, espécie *Mus musculus*, com seis a oito semanas de vida, sendo 12 fêmeas e 56 machos, pesando entre 25g-30g,

provenientes do Biotério do Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental (LAFAC) da UFPE.

Os animais foram mantidos no referido biotério até a execução dos protocolos experimentais, distribuídos aos trios, quando fêmeas, e em quartetos, quando machos, em gaiolas de polipropileno forradas com maravalha e cobertas com grades de aço inoxidável, à temperatura de 22°C ± 2°C, com ciclo claro/escuro de 12h, além de receberem ração padrão da Presence©, linha laboratório para ratos e camundongos, e água potável filtrada *ad libitum*. Os camundongos foram submetidos a jejum pré-experimentação por períodos determinados em cada protocolo experimental a ser executado.

3.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DETERMINAÇÃO DA DOSE LETAL 50%

Para verificar a segurança no uso do EHEPg para atividade antidiarreica, foi realizado o teste de toxicidade aguda seguindo as recomendações do protocolo 423 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico - OCDE (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2002). A dose escolhida, 2.000 mg/kg, foi a mais alta entre as quatro predeterminadas pelo referido protocolo, dada a existência de estudos etnobotânicos que relatam o uso popular das folhas desta espécie (ANESINI; PEREZ, 1993).

Seis camundongos albinos Swiss fêmeas nulíparas da espécie *Mus musculus* com oito semanas de vida foram distribuídas, uniformemente de acordo com o peso, em dois grupos de três animais, sendo um Grupo Controle e um Grupo EHEPg. Ao Grupo Controle foi administrado o veículo água destilada por via oral (v.o.) na proporção de 1 ml para cada 100 g de peso corpóreo. Ao Grupo EHEPg foi administrado o EHEPg por v.o. na dose de 2.000 mg/kg. Os animais ficaram em jejum por quatro horas antes e duas horas após a administração do extrato ou veículo, tendo, no entanto, livre acesso à água.

Durante 60 minutos a partir da administração das substâncias, foram avaliados 51 sinais comportamentais relacionados ao SNC e ao SNA. Após esse período, as avaliações foram realizadas vespertinamente a cada 24 h por 14 dias, realizando o acompanhamento ponderal dos animais, bem como o consumo de água e ração. Ao

final dos 14 dias, os animais foram anestesiados com uma associação de ketamina e xilazina (2:1; v/v) por via intraperitoneal. Uma vez atingido o plano de anestesia profundo, procedeu-se a toracotomia, com abertura da cavidade torácica para exposição do coração e, com o auxílio de afastadores e pinças, o ventrículo esquerdo foi puncionado com agulha 30G acoplada à seringa de 1 ml para coleta sanguínea e posterior execução das análises laboratoriais. Imediatamente após a eutanásia, realizou-se a laparotomia para excisão de fígado, baço, rins e pulmões para avaliações macroscópicas, bem como para a determinação dos seus respectivos pesos relativos, calculados a partir da seguinte fórmula:

$$Pr = \frac{Po}{Pa} \times 100$$

Onde “Pr” é peso relativo do órgão; “Po” é peso do órgão em gramas; “Pa” é peso do animal em gramas; e 100 é a constante.

Após a pesagem, fragmentos com dimensões semelhantes destes órgãos foram excisados para realização da análise histológica.

Todo o experimento foi repetido nas mesmas condições para confirmação dos resultados, como sugere o protocolo 423 da OCDE.

3.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIARREICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Psidium guineense*

O ensaio de atividade antidiarreica foi realizado segundo o modelo proposto por Izzo et al. (1992). 56 camundongos albinos Swiss machos da espécie Mus musculus com oito semanas de vida foram mantidos em jejum por 12 h e pesados imediatamente antes do início dos experimentos. Os animais foram divididos em sete grupos de oito animais cada, sendo um Grupo Normal, um Grupo Controle, um Grupo Loperamida e três grupos EHEPg.

Antes da indução da diarreia, os animais foram tratados de acordo com seus respectivos grupos: Controle e Normal receberam água destilada por v.o.; ao Grupo Loperamida foi administrado o fármaco loperamida na dose de 3 mg/kg por v.o.; e os EHEPg receberam o referido extrato nas doses de 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg e 400 mg/kg por v.o. Após 60 minutos, a diarreia foi induzida em todos os grupos por

meio de 0,2 ml de óleo de rícino por animal por v.o., com exceção do Grupo Normal, que recebeu 0,2 ml de azeite de oliva por animal. Os animais foram alocados em caixas individuais e observados durante quatro horas para análise do quantitativo de evacuações, sua consistência, bem como para a mensuração da latência diarreica, definida como o período entre a administração do agente indutor e o primeiro episódio diarreico. Quanto à consistência das fezes eliminadas, essas foram classificadas em sólidas, semissólidas ou líquidas, e a partir do seu quantitativo foi calculado o índice de evacuação (IE), a partir da seguinte fórmula:

$$IE = (Nº\ de\ fezes\ sólidas\ \times 1) + (Nº\ de\ fezes\ semissólidas\ \times 2) + (Nº\ de\ fezes\ líquidas\ \times 3)$$

Após o período de observação, os animais foram novamente pesados e anestesiados com uma associação de ketamina e xilazina (2:1; v/v) por via intraperitoneal. Uma vez atingido o plano de anestesia profundo, procedeu-se a toracotomia, com abertura da cavidade torácica para exposição do coração e, com o auxílio de afastadores e pinças, o ventrículo esquerdo foi puncionado com agulha 30G acoplada à seringa de 1 ml para coleta sanguínea e posterior execução das análises laboratoriais. Imediatamente após a eutanásia, procedeu-se a laparotomia para excisão de um fragmento de 2 cm do íleo distal, mensurado com o auxílio de um paquímetro a partir da junção íleocecal de cada animal, para realização de análises histológicas.

3.7 ANÁLISES LABORATORIAIS

3.7.1 Análise bioquímica

As amostras sanguíneas coletadas foram submetidas às análises bioquímicas do soro e análises hematológicas do sangue total. Para análise bioquímica, o sangue coletado em tubo de 0,5 ml com ativador de coágulo e gel separador foi centrifugado a 3.000 rpm por dez minutos. O soro foi separado e utilizado para fazer as dosagens de ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT).

Para a dosagem de ureia, foi utilizado o kit “Uréia UV – Liquiform” da Labtest®, seguindo-se o protocolo do fabricante. Uma alíquota de 10 µl do soro foi homogeneizado com 1 ml do reagente de trabalho, incubado previamente durante um minuto a 37 °C. A mistura foi submetida à medição da absorbância no comprimento de onda de 415 nm aos trinta e noventa segundos após a homogeneização. A concentração de ureia foi calculada a partir da multiplicação do fator de calibração do teste com a absorbância resultante da diferença das duas medições. O resultado foi dado em mg/dL.

A dosagem de creatinina também foi realizada seguindo o protocolo da Labtest® constante no kit “Creatinina”. Uma alíquota de 50 µl do soro foi homogeneizado com 50 µl do tampão do fabricante e 100 µl de ácido pícrico, e incubado a 37°C durante dez minutos. Passado esse período, foi mensurada a primeira absorbância no comprimento de onda de 510 nm. Logo após, foi adicionado 20 µl de ácido acético a 11,4 mol/L, e incubado a temperatura ambiente por cinco minutos antes de fazer a segunda leitura no mesmo comprimento de onda. A concentração de creatinina, em mg/dL, foi calculada a partir da multiplicação do fator de calibração do teste com o valor de absorbância resultante da diferença das duas medições. Do resultado foi subtraído 0,25 mg/dL, índice de correção do teste.

AST e ALT foram dosadas seguindo o protocolo do kit “Transaminases” da empresa Doles. Pipetou-se 100 µl dos substratos AST e ALT e procedeu-se a incubação a 37 °C por dois minutos. Logo após, 20 µl e 40 µl do soro foram homogeneizados aos substratos AST e ALT, respectivamente, e incubados por trinta minutos a 37 °C. Passado esse período, 100 µl do reagente de cor foi adicionado ao sistema, e incubado durante vinte minutos a temperatura ambiente. Ao final desse período, 1 ml de hidróxido de sódio 0,4 M foi adicionado ao sistema e, após dois minutos, foi realizada a leitura das absorbâncias no comprimento de onda de 505 nm. A atividade enzimática, em U/L foi calculada a partir da multiplicação do fator de calibração do teste com a absorbância obtida.

3.7.2 Análise hematológica

As análises hematológicas foram realizadas através de métodos manuais, onde o sangue coletado em tubo de 0,5 ml contendo EDTA foi avaliado para os seguintes

parâmetros: número de hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), contagem de leucócitos, contagem diferencial de neutrófilos, eosinófilos, monócitos e linfócitos típicos, e contagem de plaquetas.

Para a determinação do hematócrito, preencheu-se 80% de um capilar com sangue total e procedeu-se a centrifugação em microcentrífuga a dez mil rotações por minuto durante dez minutos. Ao final, o capilar foi comparado com uma escala, e teve seu resultado em porcentagem.

Na dosagem de hemoglobina, uma alíquota de 20 µl da amostra de sangue total foi homogeneizada em 5 ml do líquido de Drabkin e incubada por cinco minutos em temperatura ambiente. Logo após, foi realizada leitura da absorbância no comprimento de onda de 540 nm, que ao ser multiplicada pelo fator de calibração, resultou na concentração de hemoglobina em g/dL.

A contagem de hemácias foi realizada na câmara de Neubauer, onde uma alíquota de sangue total foi diluída em solução de Hayen (isotônica), na proporção de 1:200 e em seguida visualizada ao microscópio ótico para realizar a contagem das hemácias em cinco campos. O valor final foi multiplicado por dez mil, obtendo-se o resultado em células/mm³.

Os valores de VCM, HCM e CHCM foram obtidos através dos valores de hemoglobina, hematócrito e contagem de hemácias a partir das seguintes fórmulas:

$$VCM = \frac{Hematócrito\ (\%) \times 10}{Hemácias\ (milhões/\mu l)} \qquad HCM = \frac{Hemoglobina\ (g/dL) \times 10}{Hemácias\ (milhões/\mu l)}$$

$$CHCM = \frac{Hemoglobina\ (g/dL) \times 100}{Hematócrito\ (\%)}$$

A contagem de leucócitos totais também foi realizada através da câmara de Neubauer. Uma alíquota de sangue total foi diluída no líquido de Turk (hemolítico) na proporção de 1:20. O resultado, em células/mm³, foi obtido a partir da multiplicação do valor da contagem pelo fator de multiplicação. A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada pela visualização do esfregaço sanguíneo, corado por coloração panótica, em microscópio ótico.

As plaquetas foram contabilizadas a partir do método de Fônio. Neste método, as plaquetas são contabilizadas em relação à contagem de eritrócitos. A contagem foi realizada em dez campos contendo aproximadamente duzentas hemácias cada. Ao final, aplicou-se a regra de três simples para chegar ao valor total de plaquetas/mm³.

3.7.3 Processamento e análise histológica

Uma vez obtidos os fragmentos dos órgãos previamente comentados, estes foram imediatamente imersos em solução de formaldeído 10% em recipientes contendo dez vezes o volume total das peças, permanecendo nestes por 24 horas. Decorrido esse período, procedeu-se a lavagem das peças em água corrente por seis horas, e estas foram acondicionadas em solução de etanol 70% até a realização das etapas subsequentes.

3.7.3.1 Inclusão, emblocamento e microtomia

Empregando-se a metodologia rotineira do Laboratório de Citologia e Histomorfometria (LCH) da UFPE, procedeu-se a desidratação das peças em série crescente de etanol nas concentrações de 70%, 80%, 90% e 100%, por aproximadamente trinta minutos em cada solução alcoólica. Logo após, as peças foram clarificadas duas vezes em xilol (PROC 9 Indústria, PA), durante trinta minutos cada. Após a clarificação, procedeu-se a impregnação em parafina líquida, em estufa a 58 °C ± 1 °C, a partir de dois banhos de trinta minutos cada, e em seguida foi realizada a emblocagem em parafina.

Dos blocos obtidos de cada animal, escolheu-se aleatoriamente dois representantes dos testes de toxicidade aguda, sendo um do Grupo Controle e um do Grupo EHEPg, e 14 dos testes de atividade antidiarreica, sendo dois de cada grupo, para a realização da microtomia. Para essa etapa, foi utilizado o micrótomo Spencer-AO do LCH-UFPE, provido com navalha de aço inoxidável de 16 cm. Após a microtomia, foram obtidos cortes de 6 µm cada, seguindo-se seus estiramentos em banho histológico a 40 °C. Uma vez estirados, cada corte foi disposto sobre uma lâmina previamente albuminada. Tais preparações foram postas em suporte para

secagem à temperatura ambiente e posteriormente permaneceram na estufa por 30 minutos, a 58ºC ± 1°C para retirada do excesso de parafina.

3.7.3.2 Coloração

Os cortes histológicos foram desparafinizados em xilol a partir de dois banhos de três minutos cada, e em seguida passaram pelo processo de reidratação sequencial em etanol 100%, 90%, 80% e 70%, durante três minutos cada. Ao final dessa etapa, as lâminas foram lavadas três vezes com água destilada e submetidas ao processo de coloração com Hematoxilina por um minuto, seguido da Eosina por dez minutos.

Finalizada a coloração, as lâminas foram submetidas à desidratação em série crescente de etanol 70%, 80% 90% e 100% por dez segundos em cada um deles, e clarificadas em xilol, de acordo com a rotina do LCH-UFPE, para posterior aplicação da lamínula por sobre a preparação histológica utilizando a resina Entellan®. As preparações histológicas utilizadas nesse estudo foram analisadas empregando um microscópio Zeiss Axiolab do LCH-UFPE. As fotomicrografias foram capturadas com o auxílio do software TCapture®.

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados obtidos foram expressos como média ± desvio padrão, e foram analisados utilizando o GraphPad PRISM® versão 8.0. Os dados foram comparados e analisados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) ou regressão linear, onde valores de P <0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

4 RESULTADOS

4.1 IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA, RENDIMENTO E ANÁLISE FITOQUÍMICA

O material botânico foi identificado como sendo da espécie *Psidium guineense* sob o número de tombo 93536. A ficha de identificação botânica apresentada pelo herbário Dárdano de Andrade Lima do IPA, bem como a exsicata, estão disponíveis nos Anexo C e D, respectivamente.

Ao final do processo de liofilização, obteve-se aproximadamente 11 g do EHEPg, significando um rendimento de 7,3%. A análise fitoquímica quantitativa do extrato, como mostra a tabela 3, demonstrou a presença de 13,09% de polifenóis totais e 2,78% de flavonoides. Os taninos condensados, no entanto, apresentaram-se em valores não quantificáveis.

Tabela 3 – Análise fitoquímica quantitativa preliminar do extrato hidroetanólico de folhas da *Psidium guineense*

Metabólitos avaliados	µg EQ/60 µg de EHEPg	Teor encontrados (%)
Polifenóis totais	7,85	13,09
Flavonoides	1,67	2,78
Taninos	Não quantificável	0,00

Fonte: AUTOR, 2020.

4.2 TOXICIDADE AGUDA

4.2.1 Análise hipocrática

Durante sessenta minutos após a administração do extrato a 2.000 mg/kg no Grupo EHEPg e do veículo no Grupo Controle, foi realizada a análise hipocrática dos animais para sinais relacionados ao SNC e SNA. Observou-se onze dos dezoito sinais relacionados à estimulação do SNC, conforme mostra a tabela 4.

Nos primeiros trinta minutos, os animais que receberam o EHEPg apresentaram aumento da frequência respiratória e movimentos circulares, o que não foi observado no Grupo Controle. Após trinta minutos houve regresso de tais efeitos no Grupo EHEPg.

Irritabilidade, expansão do pavilhão auricular, movimento de vibrissas, movimento estereotipado e postura em garra também foram observados durante os primeiros trinta minutos no Grupo EHEPg com intensidade moderada. Tais sinais foram também observados moderadamente no Grupo Controle, excetuando-se o movimento de vibrissas e a postura em garra, que se manifestaram de forma leve e intensa, respectivamente.

Tabela 4 – Avaliação hipocrática dos sinais estimulantes do SNC em camundongos submetidos à toxicidade aguda do EHEPg na dose de 2.000 mg/kg

Sinais estimulantes do SNC Avaliados	Até 30 minutos		Até 60 minutos	
	Grupo Controle	Grupo EHEPg	Grupo Controle	Grupo EHEPg
Hiperatividade	+++	+++	+++	++
Irritabilidade	++	++	++	++
Aumento da frequência respiratória	-	+	-	-
Convulsões	-	-	-	-
Ereção de cauda	++	-	++	-
Exoftalmia	-	-	-	-
Expansão do pavilhão auricular	++	++	++	+
Marcha em monobloco	-	-	-	-
Movimento circular	-	+	-	-
Movimento de vibrissas	+	++	++	+
Movimento estereotipado	++	++	++	+++
Ondulação de cauda	-	-	-	-
Piloereção	+	+	+	+
Postura de ataque	-	-	+	-
Postura em garra	+++	++	+++	++
Salto	-	-	-	-
Taquicardia	-	-	-	-
Tremores	-	-	-	-

Fonte: MALLONY (1977). Adaptado.

Nota: Sinal ausente (-); Sinal presente (+); Sinal moderado (++); Sinal intenso (+++). “SNC” – Sistema Nervoso Central; e “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*.

Nos trinta minutos subsequentes, os animais do Grupo Controle permaneceram com irritabilidade moderada, e postura em garra acentuada, enquanto o Grupo EHEPg permaneceu apresentando tais efeitos moderadamente. A expansão do pavilhão auricular e o movimento de vibrissas, no entanto, diminuíram sua intensidade no Grupo EHEPg, enquanto o Grupo Controle os apresentou em estado moderado.

Quanto ao movimento estereotipado, o Grupo EHEPg o demonstrou intensamente, ao passo que nos animais do Grupo Controle esse comportamento se manteve moderado.

A hiperatividade foi evidenciada nos primeiros trinta minutos de observação em ambos os grupos. Contudo, passada a primeira fase de observação, o Grupo EHEPg passou a apresentá-lo moderadamente, enquanto no Grupo Controle não houve mudança no padrão comportamental.

Ao analisar os sinais comportamentais depressores do SNC, observou-se a presença de apenas um dos dez sinais avaliados. O Grupo EHEPg apresentou fotofobia durante os sessenta minutos de observação, comportamento não manifestado pelos animais do Grupo Controle, demonstrado na tabela 5.

Tabela 5 – Avaliação hipocrática dos sinais depressores do SNC em camundongos submetidos à toxicidade aguda do EHEPg na dose de 2.000 mg/kg

Sinais depressores do SNC Avaliados	Até 30 minutos		Até 60 minutos	
	Grupo Controle	Grupo EHEPg	Grupo Controle	Grupo EHEPg
Analgesia	-	-	-	-
Catatonia	-	-	-	-
Fotofobia	-	+	-	+
Inversão de marcha	-	-	-	-
Perda do reflexo auricular	-	-	-	-
Perda do reflexo corneal	-	-	-	-
Prostração	-	-	-	-
Ptose palpebral	-	-	-	-
Resposta ao toque diminuído	-	-	-	-
Sedação	-	-	-	-

Fonte: MALLONY (1977). Adaptado.

Nota: Sinal ausente (-); Sinal presente (+); Sinal moderado (++); Sinal intenso (+++). “SNC” – Sistema Nervoso Central; e “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*.

No tocante ao SNA, apenas quatro dos quinze sinais comportamentais avaliados se mostraram presentes em ambos os grupos, como mostra a tabela 6. Durante os sessenta minutos de observação, os animais do Grupo EHEPg apresentaram micção e postura estática. Estes mesmos sinais foram apresentados no Grupo Controle de modo diferente: a micção esteve presente nos primeiros trinta

minutos e passou a se apresentar moderadamente no período subsequente, enquanto o padrão de postura estática só esteve presente durante os trinta minutos finais.

Tabela 6 – Avaliação hipocrática dos sinais relacionados ao SNA em camundongos submetidos à toxicidade aguda do EHEPg na dose de 2.000 mg/kg

Sinais do SNA Avaliados	Até 30 minutos		Até 60 minutos	
	Grupo Controle	Grupo EHEPg	Grupo Controle	Grupo EHEPg
Cianose	-	-	-	-
Constipação	-	-	-	-
Defecação	+	++	-	-
Diarreia	-	-	-	-
Distensão abdominal	-	-	-	-
Micção	+	+	++	+
Espasmos musculares	-	-	-	-
Força para agarrar	-	-	-	-
Lacrimejamento	-	-	-	-
Palidez	-	-	-	-
Postura estática	-	+	+	+
Reação de fuga	+++	+++	+++	+++
Refluxo	-	-	-	-
Respiração forçada	-	-	-	-
Salivação	-	-	-	-

Fonte: MALLONY (1977). Adaptado.

Nota: Sinal ausente (-); Sinal presente (+); Sinal moderado (++); Sinal intenso (+++). “SNA” – Sistema Nervoso Autonômico; e “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*.

No Grupo EHEPg houve evacuação moderada na primeira metade do período de avaliação, estando esse efeito ausente no intervalo posterior. A redução de intensidade desse sinal também foi observada no Grupo Controle, cuja excreção ocorreu apenas nos primeiros trinta minutos. Todos os grupos manifestaram reação de fuga intensamente durante os sessenta minutos de observação.

Outros comportamentos relacionados ao sistema nervoso também foram observados, conforme mostra a tabela 7. Todos os grupos demonstraram um intenso padrão de ambulação durante o período de observação. A autolimpeza também foi apresentada durante toda a avaliação por ambos os grupos, sendo exibido moderadamente pelo Grupo Controle. Essas mesmas características de tempo e intensidade persistiram no referido grupo para o comportamento de escalar.

Diferentemente, o Grupo EHEPg apresentou esse padrão comportamental moderadamente na primeira metade da observação, e diminuiu sua intensidade nos trinta minutos finais. Ao fim período observado, não houve óbito em ambos os grupos.

Tabela 7 – Avaliação hipocrática de outros comportamentos dos camundongos submetidos à toxicidade aguda do EHEPg na dose de 2.000 mg/kg

Outros Comportamentos Avaliados	Até 30 minutos		Até 60 minutos	
	Grupo Controle	Grupo EHEPg	Grupo Controle	Grupo EHEPg
Abdução das patas do trem posterior	-	-	-	-
Ambulação	+++	+++	+++	+++
Autolimpeza	++	+	++	+
Contorções abdominais	-	-	-	-
Escalar	++	++	++	+
Limpeza	-	-	-	-
Sacudir a cabeça	-	-	-	-
Vocalização	-	-	-	-
Mortalidade	0	0	0	0

Fonte: MALLONY (1977). Adaptado.

Nota: Sinal ausente (-); Sinal presente (+); Sinal moderado (++); Sinal intenso (+++). “SNA” – Sistema Nervoso Autonômico; e “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*.

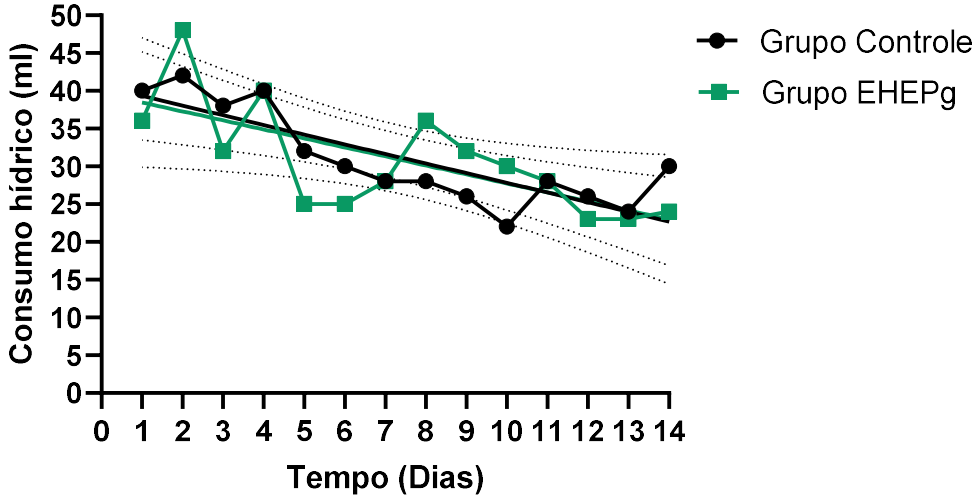
4.2.2 Consumo de água, ração e variação ponderal

Finalizada a avaliação hipocrática, os animais passaram a ser acompanhados a cada 24 h, durante catorze dias, quanto ao consumo de água, ração e variação ponderal. A administração do EHEPg na dose de 2.000 mg/kg não alterou significativamente a ingestão hídrica dos animais quando comparado com o Grupo Controle ($P > 0,05$). Os maiores volumes ingeridos aconteceram nos primeiros quatro dias de observação em ambos os grupos, havendo picos de ingestão nos dias dois e quatro, como evidencia o gráfico 1. A análise do padrão de ingestão hídrica por regressão linear demonstrou redução do consumo durante os catorze dias de observação para os Grupos Controle ($Y = -1,28x + 40,6$ e $R^2 = 0,68$) e EHEPg ($Y = -1,20x + 39,65$ e $R^2 = 0,47$).

O EHEPg também não alterou significativamente ($P > 0,05$) o consumo de ração dos animais submetidos à avaliação toxicológica. A regressão linear dos Grupos Controle ($Y = -0,23x + 16,71$ e $R^2 = 0,32$) e EHEPg ($Y = -0,16x + 14,20$ e $R^2 = 0,09$)

indicaram leve diminuição de consumo em ambos os grupos no decorrer do período de observação, como mostra o gráfico 2.

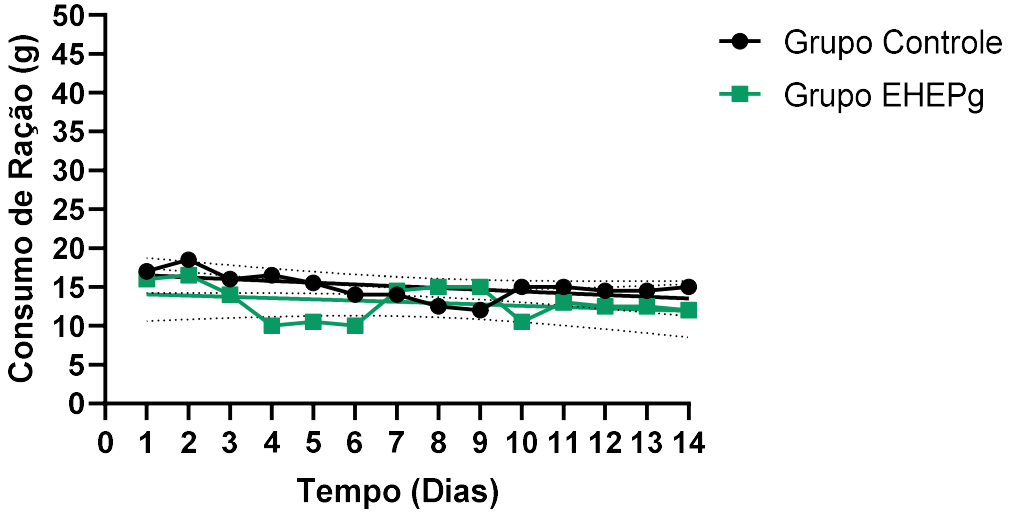
Gráfico 1 – Consumo de água dos Grupos Controle e EHEPg durante 14 dias de observação.



Fonte: AUTOR (2020).

Nota: “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*.

Gráfico 2 – Consumo de ração dos Grupos Controle e EHEPg durante 14 dias de observação na repetição.

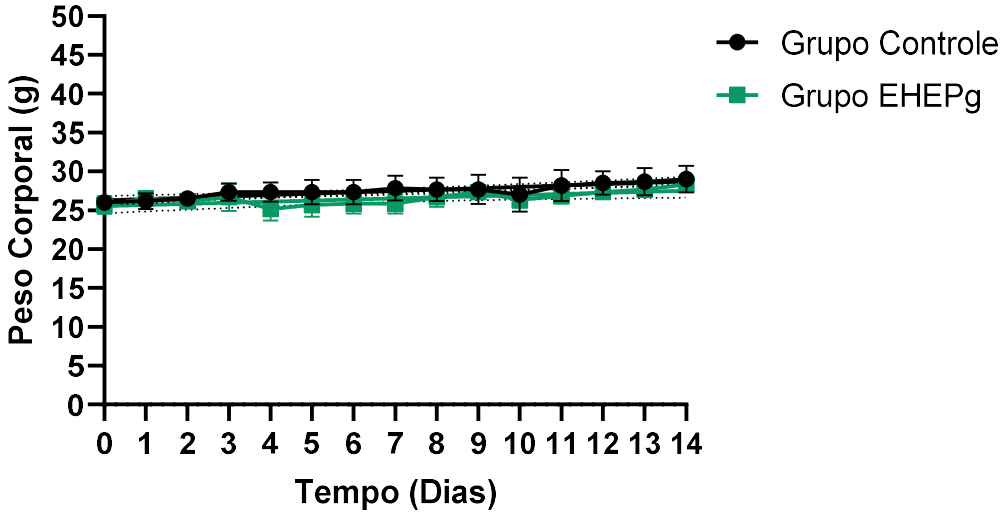


Fonte: AUTOR (2020).

Nota: “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*.

No tocante ao acompanhamento ponderal, os animais do Grupo EHEPg apresentaram resultados semelhantes aos do Grupo Controle ($P > 0,05$), como mostra o gráfico 3. Constatou-se que houve ganho de peso corporal no decorrer dos catorze dias de observação nos animais do Grupo Controle ($Y = 0,18x + 26,27$ e $R^2 = 0,82$) e EHEPg ($Y = 0,14x + 25,54$ e $R^2 = 0,54$).

Gráfico 3 – Variação ponderal dos Grupos Controle e EHEPg durante 14 dias de observação.



Fonte: AUTOR (2020)

Nota: “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*.

4.2.3 Análises bioquímicas e hematológicas

As análises bioquímicas das amostras sanguíneas revelaram que não houve diferenças significativas entre os grupos ($P > 0,05$) nos analitos quantificados, embora o Grupo EHEPg demonstrasse valores levemente inferiores ao Grupo Controle, como mostra a tabela 8. Quanto à avaliação hematológica, no entanto, observou-se que a contagem de plaquetas nas amostras do Grupo EHEPg foram significativamente superiores às do Grupo Controle ($P < 0,0001$), como demonstrada na tabela 8. Em relação aos demais parâmetros hematológicos, apesar de estarem levemente elevados nos animais do Grupo EHEPg, não foram estatisticamente diferentes das contagens do Grupo Controle ($P > 0,05$).

Tabela 8 – Avaliação bioquímica e hematológica de amostras sanguíneas pós toxicidade aguda

Parâmetros Avaliados	Grupo Controle	Grupo EHEPg
Bioquímicos		
Ureia (mg/dL)	19,70 ±1,25	14,33 ± 2,40
Creatinina (mg/dL)	0,36 ± 0,04	0,33 ± 0,03
AST (U/L)	11,93 ± 5,84	8,47 ± 5,66
ALT (U/L)	13,90 ± 6,71	10,33 ± 6,65
Hematológicos		
Hemácias (milhões/µL)	4,74 ± 0,27	4,94 ± 0,32
Hemoglobina (g/dL)	14,10 ± 0,85	14,87 ± 1,21
Hematócrito (%)	42,33 ± 2,52	44,67 ± 3,51
VCM (fL)	90,27 ± 1,62	90,10 ± 1,25
HCM (pg)	29,73 ± 0,64	30,00 ± 0,00
CHCM (%)	33,10 ± 0,17	33,00 ± 0,00
Leucócitos (cél/mm³)	5.900,00 ± 264,58	6.833,33 ± 650,64
Segmentados (%)	44,33 ± 1,15	42,33 ± 2,52
Eosinófilos (%)	1,33 ± 0,58	1,67 ± 0,58
Linfócitos Típicos (%)	51,67 ± 1,53	53,67 ± 2,52
Monócitos (%)	2,67 ± 1,53	2,33 ± 0,58
Plaquetas (cél/mm³)	172.333,33 ± 3.785,94	193.666,67 ± 11.239,81****

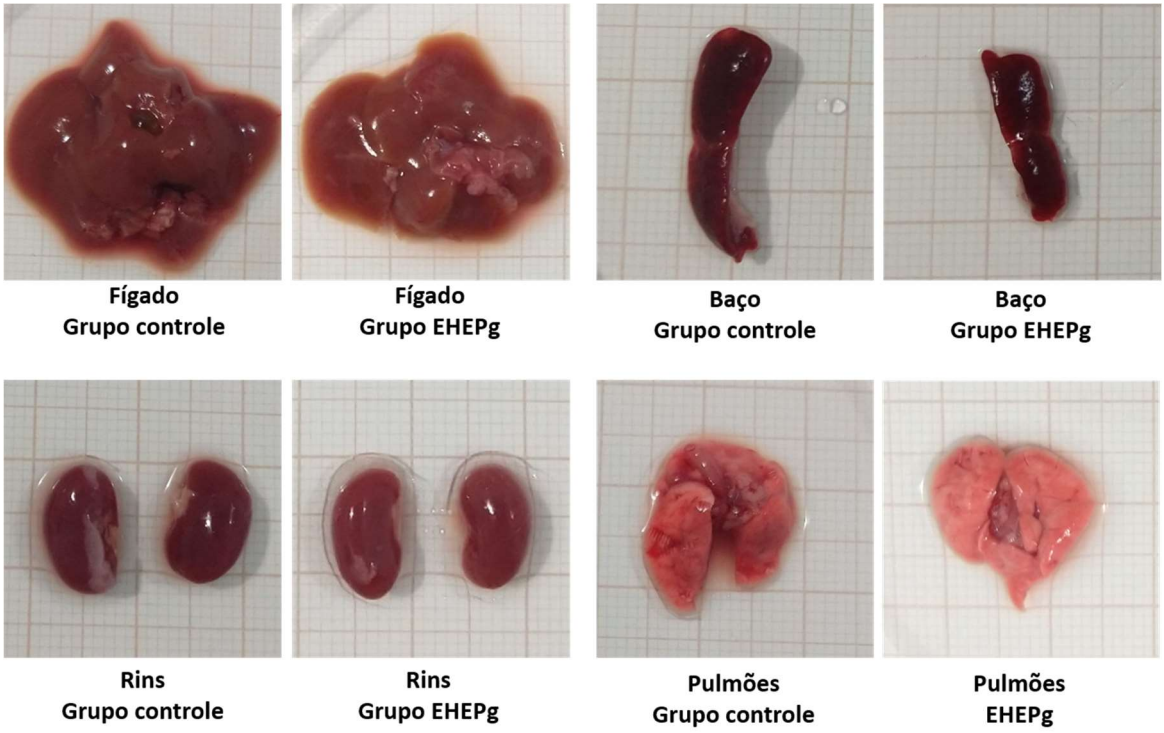
Fonte: AUTOR (2020).

Nota: “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*; “AST” – Aspartato Aminotransferase; “ALT” – Alanina Aminotransferase; “VCM” – Volume Corpuscular Médio; “HCM” – Hemoglobina Corpuscular Média; e “CHCM” – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n=8). ANOVA de duas vias e pós-teste de Sidak de múltiplas comparações; P<0,0001 (****) em comparação com o Grupo Controle.

4.2.4 Análise macroscópica dos órgãos

A partir da avaliação macroscópica dos órgãos dos animais de ambos os grupos, não foram observadas anormalidades quanto à cor, forma, tamanho, consistência e odor, bem como presença de petéquias ou hemorragias, como pode ser observado na figura 8. Com base no peso relativo obtido dos órgãos excisados, constatou-se que não houve diferença estatística entre os grupos (P > 0,05), conforme apresenta a tabela 9.

Figura 8 – Macroscopia dos órgãos dissecados na toxicidade aguda



Fonte: AUTOR (2020).
Nota: “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*.

Tabela 9 – Peso relativo dos órgãos dos Grupos Controle e EHEPg após eutanásia

Órgãos	Peso Absoluto (g)		Peso Relativo (%)	
	Grupo Controle	Grupo EHEPg	Grupo Controle	Grupo EHEPg
Fígado	1,712 ± 0,418	1,395 ± 0,040	5,153 ± 0,345	4,923 ± 0,114
Baço	0,148 ± 0,050	0,108 ± 0,008	0,443 ± 0,080	0,383 ± 0,028
Rins	0,370 ± 0,079	0,338 ± 0,014	1,123 ± 0,074	1,190 ± 0,026
Pulmões	0,198 ± 0,020	0,187 ± 0,011	0,610 ± 0,055	0,663 ± 0,029

Fonte: AUTOR (2020).

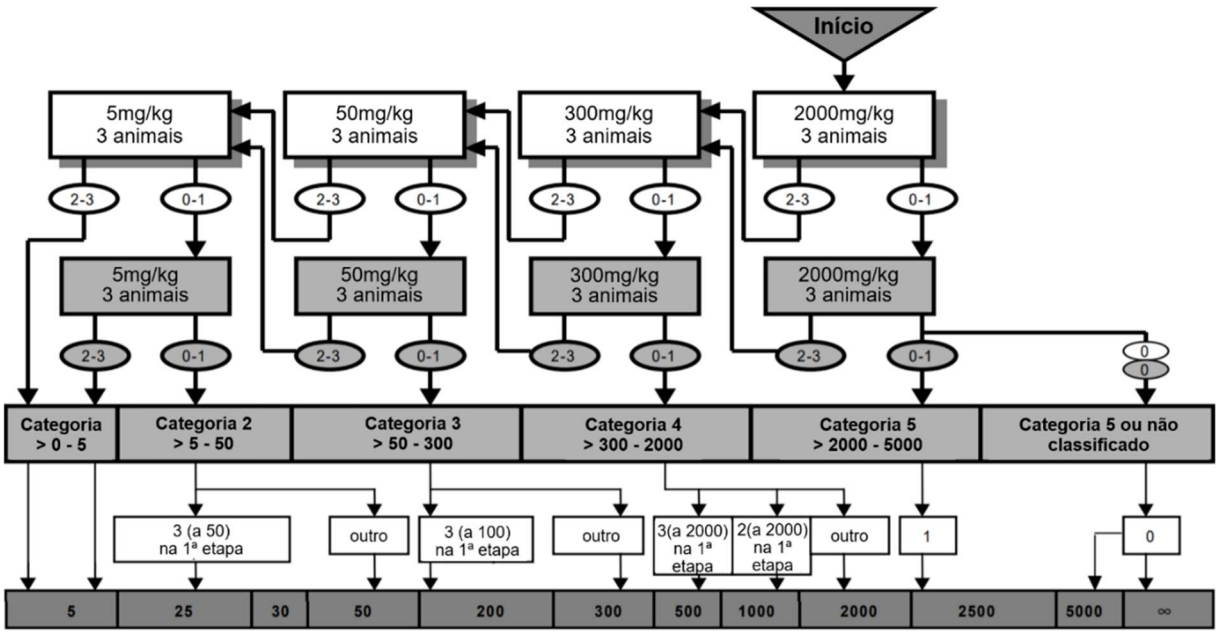
Nota: “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n=8). ANOVA de duas vias e pós-teste de Sidak; $P<0,05$ em comparação com o Grupo Controle.

4.2.5 Análises histológicas

Ao final do processamento histológico verificou-se que a qualidade da fixação, de modo geral, não se esteve em boas condições, o que impossibilitou a análise dos fragmentos coletados dos respectivos órgãos.

A administração do EHEPg na dose de 2.000 mg/kg não causou letalidade, durante o período de observação, inclusive na repetição. Segundo a OCDE 423 (2011), substâncias testadas na dose de 2.000 mg/kg e que não causam mortalidade, são classificadas na Categoria de Risco 5, como ilustra a figura 9. Dessa forma, a DL_{50} é definida como um valor entre 2.000 mg/kg e 5.000 mg/kg.

Figura 9 – Esquema de categorização de risco de substâncias pela OCDE 423



Fonte: OCDE 423 (2011). Adaptado.

4.3 ATIVIDADE ANTIDIARREICA INDUZIDA POR ÓLEO DE RÍCINO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Psidium guineense*

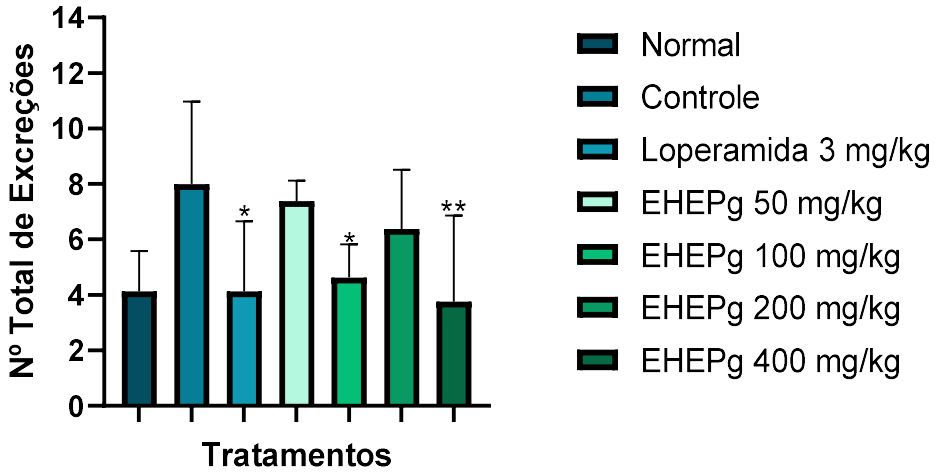
As doses do EHEPg testadas foram determinadas após o ensaio toxicológico. A partir de 10% da dose de 2.000 mg/kg foram estabelecidas doses que representassem progressões geométricas crescente e decrescente de razão 2. Dessa forma, o EHEPg foi testado nas doses de 50, 100, 200 e 400 mg/kg.

4.3.1 Avaliação antidiarreica

Duas das quatro doses do EHEPg testadas levaram à diminuição no número total de evacuações causada pela administração do óleo de rícino nos animais. O extrato na dose de 100 mg/kg, tal qual o loperamida 3 mg/kg, reduziu

significativamente (P < 0,05) o número de fezes excretadas em relação ao Grupo Controle. O EHEPg na dose de 400 mg/kg também reduziu substancialmente o número de evacuações totais (P < 0,01), sendo estatisticamente mais eficaz que o loperamida 3 mg/kg, como é possível observar no gráfico 4.

Gráfico 4 – Efeito da administração oral de EHEPg e Loperamida na excreção total de fezes em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos



Fonte: AUTOR (2020).

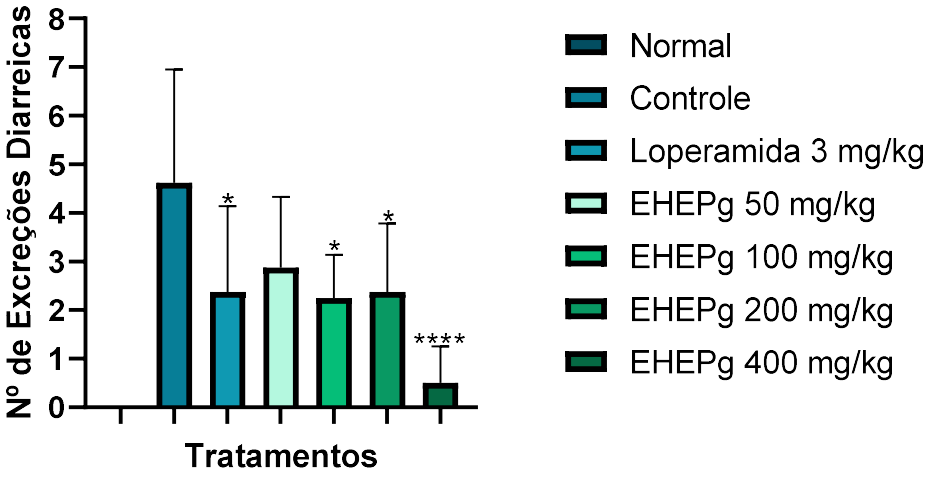
Nota: “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n=8). ANOVA de uma via, seguido do pós-teste de Tukey de múltiplas comparações; P<0,05 (*); P<0,01 (**) em comparação ao controle.

O EHEPg também foi eficaz na redução do número de excreções diarreicas, onde apenas a dose de 50 mg/kg não se mostrou eficaz. O loperamida e o EHEPg nas doses de 100 mg/kg e 200 mg/kg provocaram reduções similares no número de episódios diarreicos em relação ao Grupo Controle (P < 0,05). O EHEPg 400 mg/kg, por sua vez, reduziu intensamente a excreção de fezes líquidas (P < 0,0001), mais uma vez de modo superior ao loperamida, conforme mostra o gráfico 5.

Além da avaliação dos parâmetros previamente descritos, também foi calculado o IE, que leva em consideração não só os episódios diarreicos, como também as excreções sólidas e semissólidas dos animais. As três maiores doses do EHEPg administradas demonstraram IE menores que o obtido pelo Grupo Controle. Destas a mais eficaz foi a dose de 400 mg/kg (P < 0,0001), seguida pela de 100 mg/kg (P < 0,001) e 200 mg/kg (P < 0,05), como mostra o gráfico 6. O fármaco loperamida na

dose de 3 mg/kg também reduziu significativamente ($P < 0,001$) o IE em comparação ao Grupo Controle.

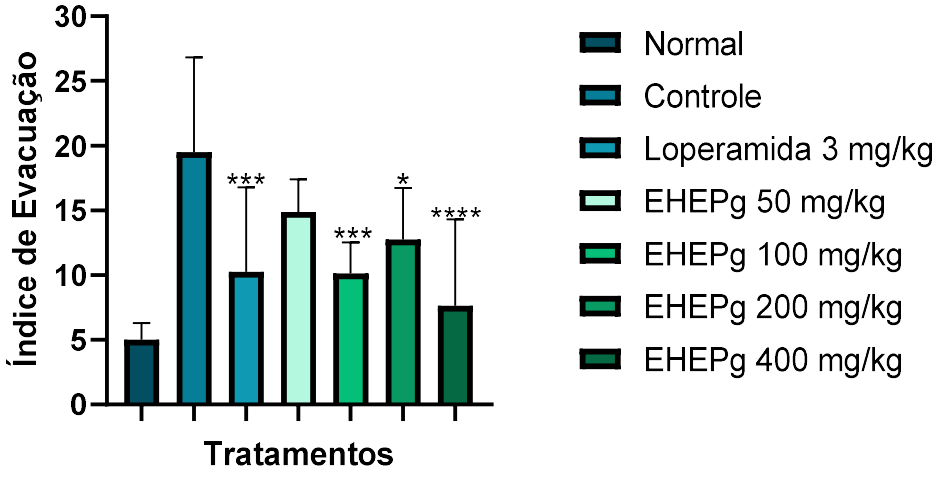
Gráfico 5 – Efeito da administração oral de EHEPg e Loperamida na excreção diarreica em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos



Fonte: AUTOR (2020).

Nota: "EHEPg" – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n=8). ANOVA de uma via, seguido do pós-teste de Tukey de múltiplas comparações; $P<0,05$ (*); $P<0,0001$ (****) em comparação ao controle.

Gráfico 6 – Índice de evacuação na excreção diarreica em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos

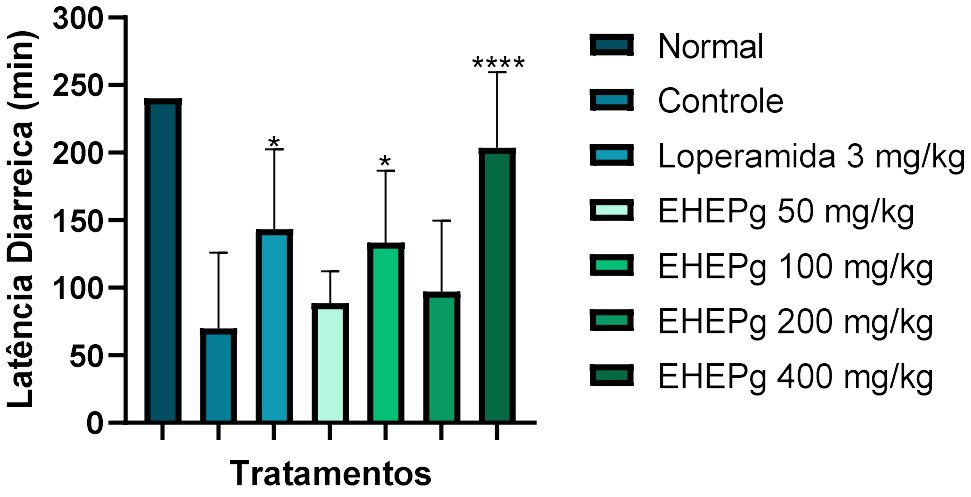


Fonte: AUTOR (2020).

Nota: "EHEPg" – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n=8). ANOVA de uma via, seguido do pós-teste de Tukey de múltiplas comparações; $P<0,05$ (*); $P<0,001$ (***); $P<0,0001$ (****) em comparação ao controle.

Ao avaliar a latência diarreica, constatou-se novamente que o EHEPg na dose de 400 mg/kg foi o mais eficaz em prolongar o surgimento diarreico entre os tratamentos administrados, retardando em duzentos minutos, em média, a primeira manifestação diarreica. As doses de 50 mg/kg e 200 mg/kg do extrato apresentaram latência diarreica de 88 e 97 minutos, respectivamente, período semelhante ao demonstrado no Grupo Controle. A eficácia do EHEPg na dose de 100 mg/kg foi mais uma vez similar à do fármaco loperamida na dose de 3 mg/kg, que retardaram em 133 e 143 minutos, respectivamente, o surgimento da diarreia. Esses dados podem ser melhor visualizados no gráfico 7.

Gráfico 7 – Efeito da administração oral de EHEPg e Loperamida na latência diarreica em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos



Fonte: AUTOR (2020).

Nota: “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n=8). ANOVA de uma via, seguido do pós-teste de Tukey de múltiplas comparações; *P*<0,05 (*); *P*<0,0001 (****) em comparação ao controle.

Durante a avaliação da atividade antidiarreica, foram observadas evacuações líquidas e mucoides, características da diarreia induzida por óleo de rícino. Observou-se também que durante as quatro horas de observação, seis dos oito camundongos tratados com EHEPg 400 mg/kg não urinaram, e que o EHEPg não teve atividade dependente da dose. Os valores absolutos de excreções totais, excreções diarreicas, índice de evacuação e latência diarreica estão dispostos na tabela 10, bem como a porcentagem de inibição diarreica demonstrada por cada tratamento.

Tabela 10 – Efeito da administração oral de EHEPg e de Loperamida na diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos

Grupos	Excreções Totais	Excreções Diarreicas	Inibição Diarreica (%)	Latência Diarreica (minutos)
Normal	4,13 ± 1,46	0,00 ± 0,00	-	240,00 ± 0,00
Controle	8,00 ± 2,98	4,63 ± 2,33	-	69,88 ± 56,04
Loperamida 3 mg/kg	4,13 ± 2,53*	2,38 ± 1,77*	48,59	143,40 ± 58,95*
EHEPg 50 mg/kg	7,38 ± 0,74	2,88 ± 1,46	37,79	88,63 ± 23,50
EHEPg 100 mg/kg	4,63 ± 1,19*	2,25 ± 0,89*	51,40	133,25 ± 53,30*
EHEPg 200 mg/kg	6,38 ± 2,13	2,38 ± 1,41*	48,59	97,15 ± 52,38
EHEPg 400 mg/kg	3,75 ± 3,11**	0,50 ± 0,76****	89,20	203,6 ± 55,95****

Fonte: AUTOR (2020).

Nota: ”EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n=8). ANOVA de uma via, seguido do pós-teste de Tukey de múltiplas comparações; *P*<0,05 (*); *P*<0,01 (**); *P*<0,0001 (****) em comparação ao controle.

4.3.2 Avaliação bioquímica e hematológica

Após quatro horas de observação, foram realizadas as coletas de sangue para as análises bioquímicas e hematológicas. Na dosagem dos analitos referentes à função renal, não houve diferenças significativas entre os grupos. Em relação às dosagens de AST e ALT, apesar de o grupo tratado com o fármaco padrão ter revelado níveis baixos em relação ao Grupo Normal, como mostra a tabela 11, não houve diferença significativa (*P* > 0,05).

Tabela 11 – Dosagens bioquímicas de amostras sanguíneas coletadas após finalização da atividade antidiarreica

Grupos	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)
Normal	19,74 ± 1,98	0,39 ± 0,08	24,83 ± 12,04	27,53 ± 12,12
Controle	20,00 ± 2,43	0,44 ± 0,09	17,56 ± 2,98	20,73 ± 03,06
Loperamida 3 mg/kg	20,89 ± 2,97	0,42 ± 0,08	12,29 ± 3,94	14,43 ± 04,46
EHEPg 50 mg/kg	19,80 ± 1,90	0,45 ± 0,09	22,75 ± 8,61	26,20 ± 08,59
EHEPg 100 mg/kg	20,60 ± 2,97	0,40 ± 0,05	22,15 ± 3,19	24,00 ± 03,29
EHEPg 200 mg/kg	21,51 ± 2,88	0,48 ± 0,13	21,51 ± 12,19	24,79 ± 12,82
EHEPg 400 mg/kg	21,18 ± 3,80	0,47 ± 0,11	17,23 ± 10,52	20,14 ± 10,90

Fonte: AUTOR (2020).

Nota: “AST” – Aspartato Aminotransferase; “ALT” – Alanina Aminotransferase; e “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n=8). ANOVA de uma via e pós-teste de Tukey de múltiplas comparações. *P* < 0,05 em comparação ao Grupo Normal.

Nas análises hematológicas da série vermelha, os grupos não demonstraram alterações significativas em comparação ao Grupo Normal, como mostra a tabela 12. Na série branca, o único parâmetro que apresentou variação entre os grupos foi a série plaquetária. Os camundongos tratados com o EHEPg na dose de 100 mg/kg demonstraram contagem de plaquetas inferiores àquelas contabilizadas no Grupo Normal. Já os animais tratados com o EHEPg nas doses de 200 e 400 mg/kg apresentaram valores de plaquetas superiores aos demais grupos, como demonstra a tabela 13. Apesar da variação na contagem de plaquetas entre os grupos, todos foram estatisticamente semelhantes para esse parâmetro. ($P > 0,05$).

Ao realizar a extração do fragmento ileal de 2 cm para avaliação histológica, percebeu-se que os seis animais do grupo tratado com EHEPg na dose de 400 mg/kg que não haviam urinado durante o período de observação apresentaram bexigoma, termo que designa a distensão da bexiga por acúmulo de urina.

Tabela 12 – Avaliação hematológica da série vermelha de amostras coletadas após finalização da atividade antidiarreica

Grupos	Hm (10^6/µL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)
Normal	4,99 ± 0,39	15,05 ± 1,38	45,25 ± 4,17	91,20 ± 1,82	29,78 ± 0,48	33,08 ± 0,12
Controle	5,04 ± 0,45	15,19 ± 1,54	45,63 ± 4,63	92,01 ± 1,98	29,96 ± 0,40	33,09 ± 0,14
Loperamida 3 mg/kg	5,04 ± 0,44	15,18 ± 1,47	45,63 ± 4,44	92,51 ± 2,24	30,00 ± 0,42	33,24 ± 0,18
EHEPg 50 mg/kg	5,19 ± 0,73	15,78 ± 2,39	47,38 ± 7,17	91,63 ± 3,18	29,95 ± 0,40	33,08 ± 0,09
EHEPg 100 mg/kg	5,08 ± 0,42	15,30 ± 1,40	46,00 ± 4,24	92,45 ± 1,77	29,99 ± 0,42	33,13 ± 0,18
EHEPg 200 mg/kg	4,88 ± 0,24	14,61 ± 0,83	43,88 ± 2,47	91,43 ± 2,02	29,91 ± 0,38	33,06 ± 0,12
EHEPg 400 mg/kg	4,97 ± 0,34	14,94 ± 1,12	44,88 ± 3,40	92,18 ± 2,42	29,94 ± 0,39	33,05 ± 0,11

Fonte: AUTOR (2020).

Nota: “Hm” – Hemácias; “Hb” – Hemoglobina; “Ht” – Hematócrito; “VCM” – Volume Corpuscular Médio; “HCM” – Hemoglobina Corpuscular Média; “CHCM” – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; e “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n=8). ANOVA de duas vias e pós-teste de Tukey; $P<0,05$ em comparação ao Grupo Normal.

Tabela 13 – Avaliação hematológica da série vermelha de amostras sanguíneas pós atividade antidiarreica

Grupos	Leu (cél/mm³)	Seg (%)	Eosi (%)	LT (%)	Mono (%)	Plaq (cél/mm³)
Normal	7.225,00 ± 1.303,57	45,38 ± 1,60	2,25 ± 2,82	51,25 ± 1,49	1,88 ± 0,64	173.625,00 ± 32.749, 86
Controle	6.800,00 ± 971,01	45,13 ± 1,73	1,88 ± 0,83	51,88 ± 1,64	1,62 ± 0,92	176.625,00 ± 12.397,44
Loperamida 3 mg/kg	6.575,00 ± 1.702,73	44,38 ± 2,88	2,25 ± 0,89	51,38 ± 3,16	2,00 ± 0,76	174.625,00 ± 26.424,76
EHEPg 50 mg/kg	6.387,50 ± 777,24	45,00 ± 2,93	2,13 ± 0,99	51,00 ± 2,39	1,88 ± 0,83	178.875,00 ± 8.887,19
EHEPg 100 mg/kg	6.262,50 ± 1.175,87	44,63 ± 2,33	1,75 ± 0,89	51,25 ± 1,83	2,38 ± 1,60	143.725,00 ± 52.285,25
EHEPg 200 mg/kg	6.712,50 ± 807,89	41,75 ± 2,19	2,63 ± 0,92	53,63 ± 1,85	2,00 ± 0,76	193.250,00 ± 39.281,95
EHEPg 400 mg/kg	7.012,50 ± 1.062,93	42,38 ± 1,69	2,00 ± 0,76	54,13 ± 1,46	1,50 ± 0,93	189.250,00 ± 31.513,04

Fonte: AUTOR (2020).

Nota: “Leu” - Leucócitos; “Seg” - Segmentados; “Eosi” - Eosinófilos; “LT” - Linfócitos Típicos; “Mono” - Monócitos; “Plaq” - Plaquetas; e “EHEPg” – Extrato Hidroetanólico de *Psidium guineense*. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão (n=8). ANOVA de duas vias e pós-teste de Tukey; $P<0,05$.

4.3.3 Análises histológicas

As preparações histológicas dos íleos dos camundongos do Grupo Normal não apresentaram alterações estruturais e mantiveram a arquitetura tecidual preservada. O padrão estrutural das vilosidades não sofreu alterações, estando revestidas com o epitélio colunar simples, constituído predominantemente por células absortivas e células caliciformes, como mostra a figura 10.

Figura 10 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo Normal em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino

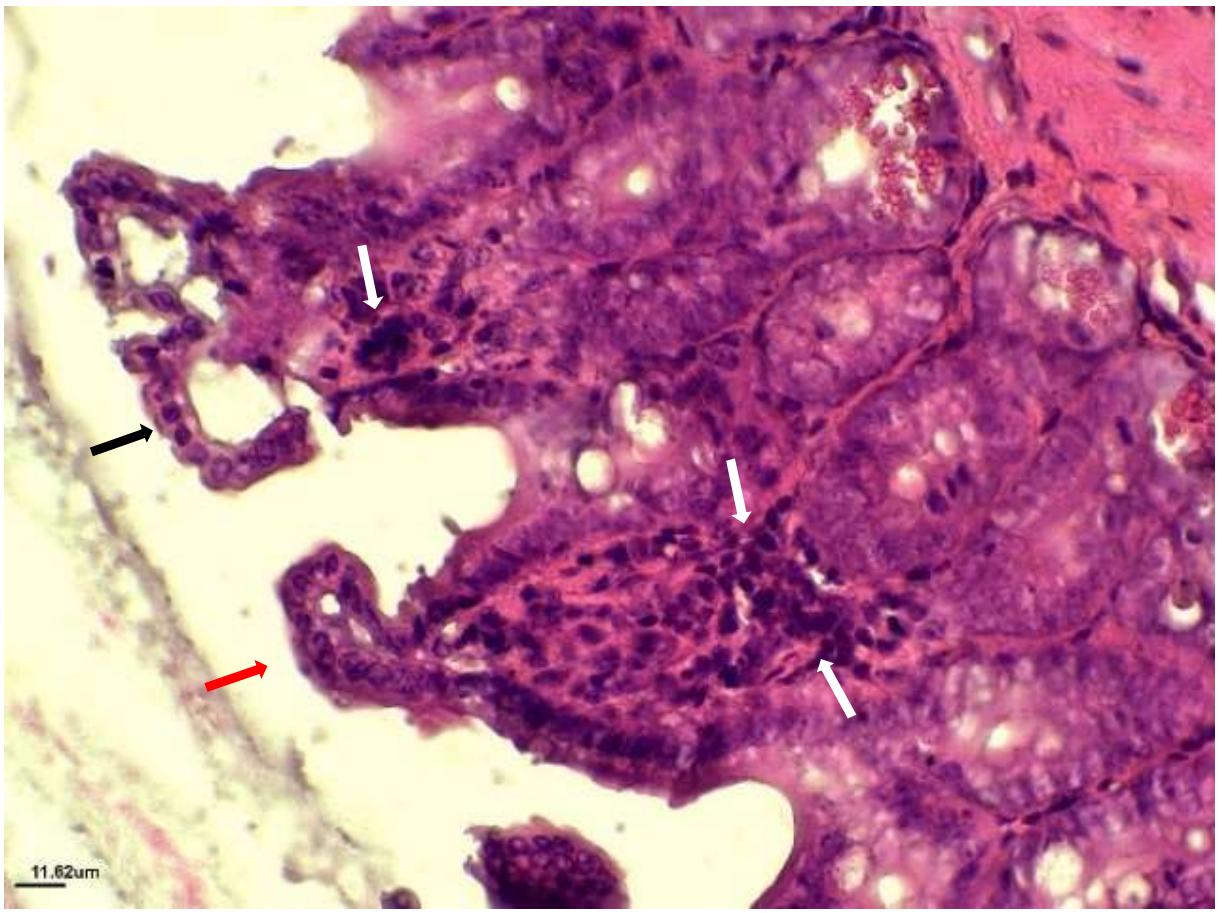
Fonte: AUTOR (2020).

Nota: Observam-se as vilosidades com organização estrutural típica, projetando-se para o lúmen. “L” – Lúmen; “GI” – Glândulas intestinais; “CM” – Camada muscular. Coloração com Hematoxilina e Eosina. Aumento de 100x.

As preparações histológicas do Grupo Controle demonstraram processo inflamatório na mucosa intestinal. Em alguns campos microscópicos, observou-se

alterações na morfologia das vilosidades, tais como redução na altura, aplainamento, estreitamento e curvatura da porção apical, conforme figura 11.

Figura 11 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo Controle em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino

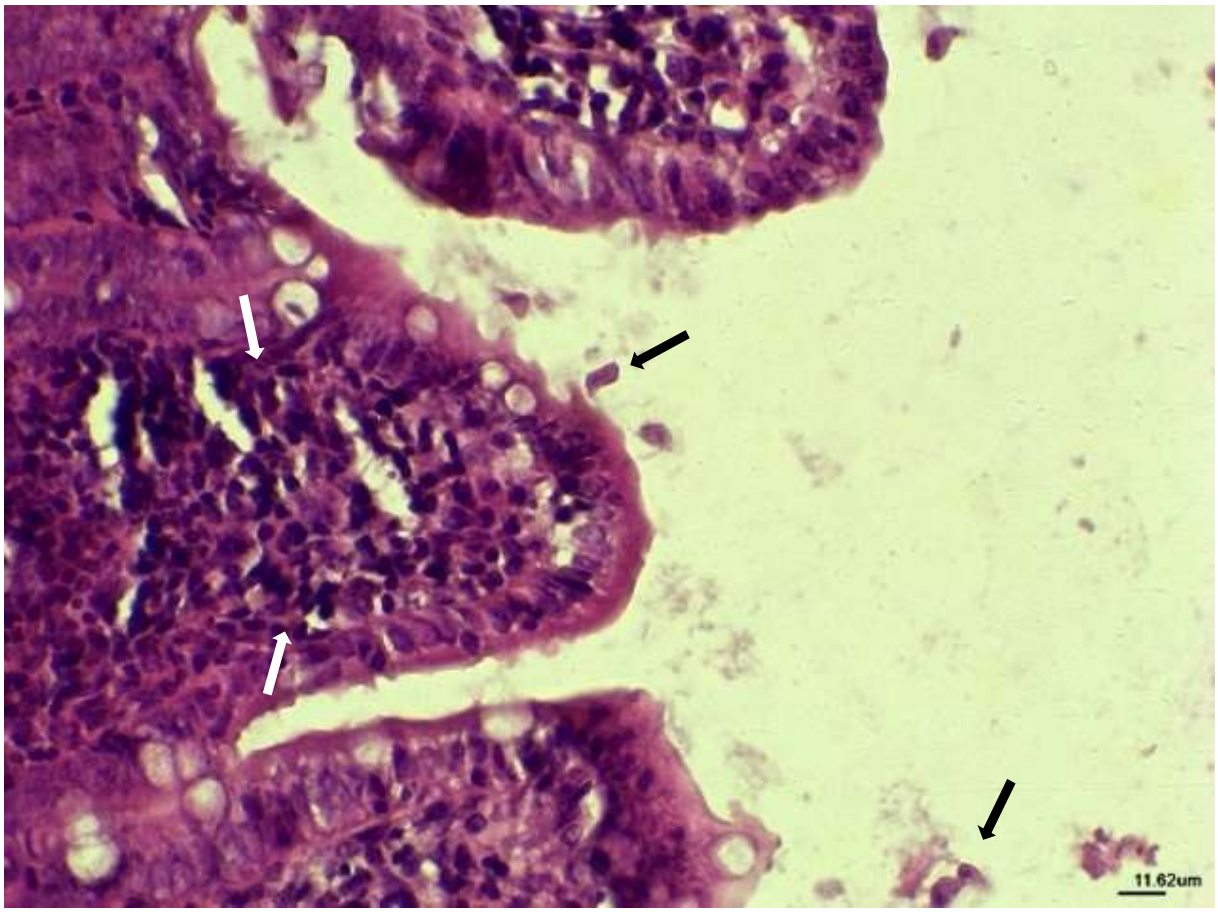


Fonte: AUTOR (2020).

Nota: Vilosidades com alterações morfológicas, apresentando porção apical aplainada (seta preta), estreita e curvada (seta vermelha). Nota-se também a presença de infiltrados inflamatórios (setas brancas). Coloração com Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400x.

Nos Grupos Loperamida 3 mg/kg e EHEPg 50 mg/kg foram observados áreas com intenso infiltrado de células inflamatórias na lâmina própria da porção central das vilosidades. A avaliação qualitativa do grau de inflamação indica semelhança entre esses dois grupos. Para tal, entretanto, faz-se necessário um estudo histomorfométrico. No epitélio de revestimento das vilosidades observou-se também erosão epitelial com numerosas células descamadas, como demonstram as figuras 12 e 13.

Figura 12 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo Loperamida 3 mg/kg em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino



Fonte: AUTOR (2020).

Nota: Vilosidade situada centralmente com intenso infiltrado de células inflamatórias na lâmina própria (setas brancas). Restos de células epiteliais (setas pretas) são vistos na superfície desta vilosidade e no lúmen. Coloração com Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400x.

A análise das preparações histológicas do Grupo EHEPg 100 mg/kg revelou menor intensidade no processo inflamatório em relação ao Grupo EHEPg 50 mg/kg. A fotomicrografia do Grupo EHEPg 100 mg/kg encontra-se na figura 14.

Devido ao baixo estado de fixação do fragmento de íleo coletado do Grupo EHEPg 200 mg/kg, não foi possível observar com clareza as características teciduais de tal grupo, o que impediu sua análise fidedigna.

Figura 13 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo EHEPg 50 mg/kg em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino

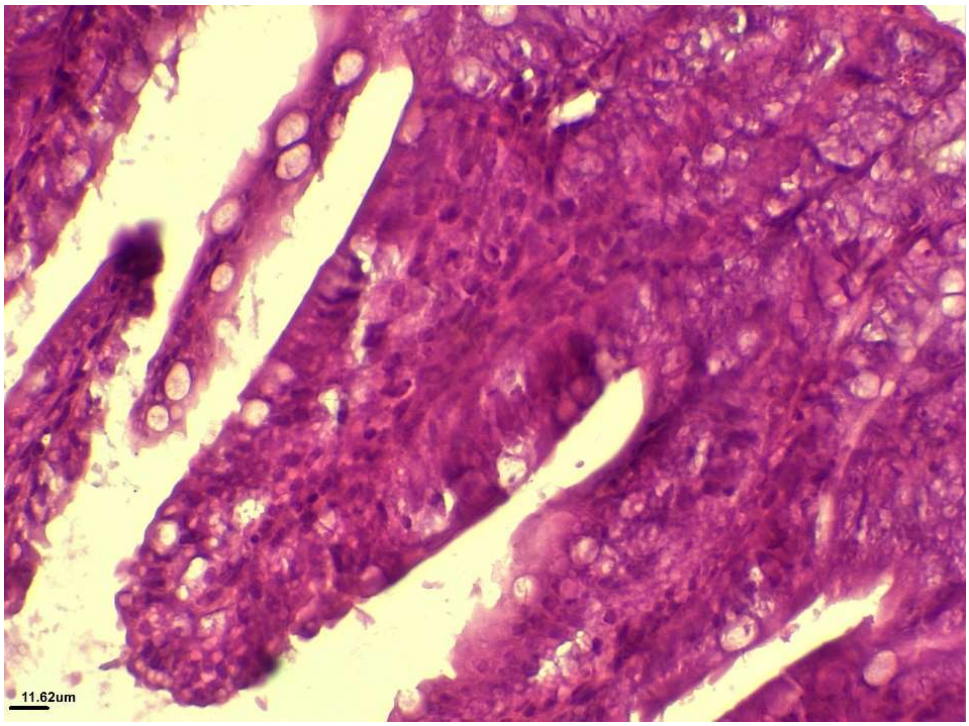
Fonte: AUTOR (2020).

Nota: É possível observar a presença de fragmentos epiteliais (seta preta) e infiltrados inflamatórios (seta brancas). Coloração com Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400x.

O tratamento com o EHEPg na dose de 400 mg/kg propiciou processos inflamatórios ainda menos intensos na mucosa ileal dos camundongos quando comparado ao observado no grupo tratado com EHEPg na dose de 100 mg/kg, como demonstra a figura 15. Tais observações indicam, mais uma vez, que o extrato foi eficaz em minimizar os ação do óleo de rícino na mucosa intestinal dos camundongos.

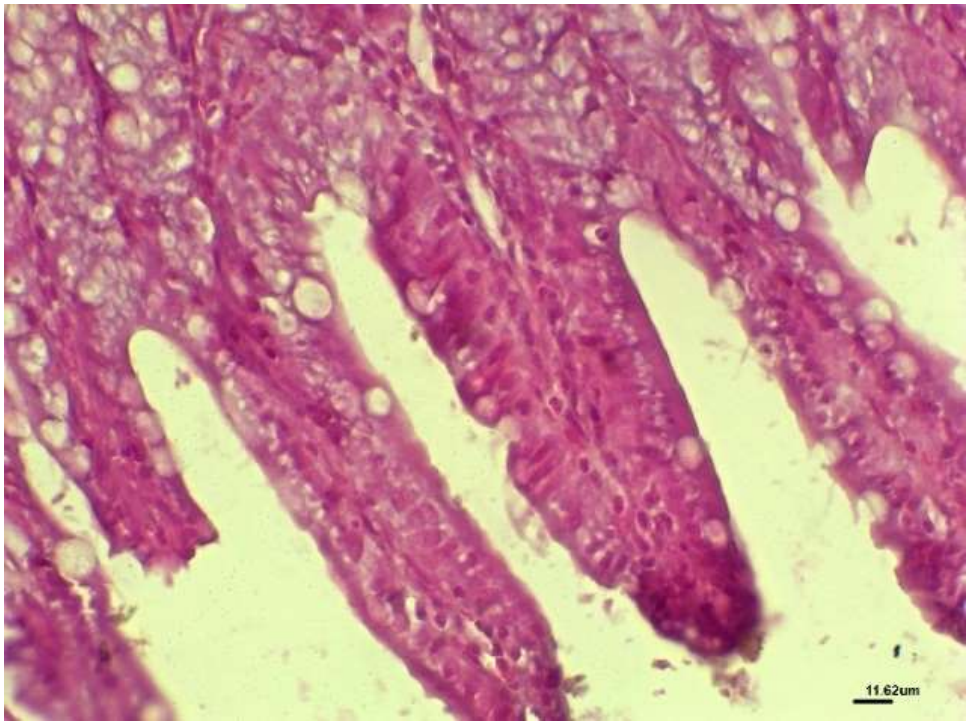
A análise qualitativa das preparações dos Grupos EHEPg 100 mg/kg e EHEPg 400 mg/kg sinaliza que ambos os grupos apresentam vilosidades com morfologia semelhante àquela observada no Grupo Normal.

Figura 14 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo EHEPg 100 mg/kg em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino



Fonte: AUTOR (2020).
Nota: Coloração com Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400x.

Figura 15 – Fotomicrografia do íleo distal de camundongo do Grupo EHEPg 400 mg/kg em modelo de diarreia induzida por óleo de rícino



Fonte: AUTOR (2020).
Nota: Coloração com Hematoxilina e Eosina. Aumento de 400x.

5 DISCUSSÃO

Apesar das plantas medicinais serem fontes terapêuticas em comunidades ao redor do mundo, algumas espécies podem trazer riscos a quem as utiliza (GUPTA et al., 2016; PATIL, 2016). Estudos toxicológicos são, portanto, necessários para garantir a segurança no uso de tais espécies, pois a partir da avaliação toxicológica são estabelecidos os principais efeitos adversos, bem como são definidos parâmetros importantes para o estabelecimento da dosagem terapêutica. Embora levantamentos etnobotânicos revelem a utilização popular da espécie *Psidium guineense* (DAS et al., 2009; LEONTI, 2003), é importante verificar se suas propriedades farmacológicas resultam em prejuízos à saúde de seus usuários.

A administração do EHEPg por v.o. na dose de 2.000 mg/kg não causou óbitos, tampouco reações comportamentais significativas nos camundongos submetidos ao teste em comparação aos do Grupo Controle, que recebeu apenas o veículo. Resultados semelhantes foram obtidos com as espécies *P. cattleianum*, *P. guajava* e *P. brownianum* a partir de diferentes preparações, porém poucos trabalhos buscaram investigar as possíveis ações tóxicas da *P. guineense* (CASTRO et al., 2015; MANEKENG et al., 2019; SAMPAIO et al., 2020).

Os achados de Souza (2016) acerca da toxicidade por via oral da espécie *P. guineense* corrobora com o que foi observado no presente estudo, embora a dose do extrato foliar aquoso aplicada no referido estudo tenha sido 400 vezes menor que a do EHEPg utilizada, de 2.000 mg/kg. Dessa forma, fica evidente a importância de trabalhos que buscam conhecer os limites do uso da espécie *P. guineense* em diferentes preparações, doses e vias de administração.

Na triagem farmacológica comportamental, entre os sinais de estimulação do SNC, foram observados postura em garra, movimento estereotipado, hiperatividade e irritabilidade. Tais manifestações em ambos os grupos, apresentadas moderada e/ou intensamente, é um possível resultado da influência de fatores inerentes ao protocolo experimental, como a contenção animal e a administração intragástrica das substâncias a serem testadas. Além disso, o procedimento preconizado pela OCDE recomenda a submissão dos animais a um jejum prévio de quatro horas. O estado não alimentado também pode ter influenciado na manifestação desses comportamentos em ambos os grupos, uma vez que a privação alimentar modula a

liberação de corticosterona, um glicocorticoide liberado em situação de estresse pelo córtex adrenal de roedores (HORMAN et al., 2018). Recentemente, um estudo evidenciou que a fome pode gerar comportamentos agressivos e impulsivos, que são acentuados em condições estressantes, como as condições experimentais previamente comentadas (MACCORMACK; LINDQUIST, 2019).

O consumo de água e ração, e a variação ponderal, também são critérios que expressam toxicidade, ainda que não haja óbito nos grupos no período de avaliação considerado (NGUEGUIM et al., 2015). A partir desses aspectos, o EHEPg demonstrou segurança de uso, posto que não houve diferenças significativas entre os grupos tratados com veículo e com EHEPg na dose de 2.000 mg/kg durante os catorze dias de análise.

Outros parâmetros enquadrados na avaliação toxicológica são a macroscopia e o peso relativo de órgãos, cujas alterações morfológicas e de coloração podem indicar dano (NGUEGUIM et al., 2015). Por outro lado, análises sanguíneas de parâmetros bioquímicos e hematológicos podem revelar processos de danos teciduais que ainda não foram expressos morfologicamente nos órgãos, sendo, portanto, parâmetros importantes de serem mensurados na toxicidade aguda (DAHHAM et al., 2016).

A análise macroscópica do fígado e dos rins em associação às dosagens bioquímicas de AST e ALT, e Ureia e Creatinina, respectivamente, indicaram que não houve injuria tecidual provocada pelo EHEPg na dose de 2.000 mg/kg. O baço e os pulmões também não demonstraram características anormais, tampouco apresentaram pesos relativos com diferenças estatísticas aos observados nos animais do Grupo Controle. Resultados semelhantes também foram obtidos por Sousa (2016), embora tenha utilizado a dose de 50 mg/kg do extrato foliar aquoso.

A confirmação de integridade tecidual, no entanto, só poderia ser afirmada por meio de análises histopatológicas. No presente estudo, essa análise foi impedida pelo baixo estado de fixação dos fragmentos de cada órgão excisado. A utilização da solução de formalina a 10% no processo de fixação traz algumas desvantagens, apesar do custo-benefício, como fixação lenta e pouco penetrante (CAMPOS; TAFURI; PINTO, 2016). Para diminuir tais interferentes, Buesa (2008) recomenda que esse processo seja executado em temperaturas próximas aos 40 °C. No presente

estudo, o processo de fixação com formalina a 10% foi realizado em temperatura ambiente, podendo ser esta uma das causas para sua baixa qualidade.

Entre os achados laboratoriais de toxicidade aguda, houve elevação plaquetária nos animais que receberam o EHEPg na dose de 2.000 mg/kg por v.o. ($P < 0,05$). Anteriormente outra espécie do gênero *Psidium*, a *Psidium guajava*, também apresentou efeito trombocitopoietico. Ahmad e colaboradores (2019) demonstraram que o extrato hidroetanólico dessa espécie, bem como suas frações aquosa e butanoica, recuperaram a contagem de plaquetas a níveis normais em animais previamente tratados com busulfan, um agente trombocitopênico. Outro estudo elucidou que essa ação é devido ao trombinol, uma fração bioativa do extrato foliar hidroetanólico 70% da *P. guajava*, que estimulou a produção e a secreção de trombopoetina em células de hepatoma humano (BERLIAN; TANDRASASMITA; TJANDRAWINATA, 2017). Tais achados, associados à contagem plaquetária do presente estudo, embasam a hipótese de que a *P. guineense* deve possuir vias metabólicas de produção de compostos com atividade semelhante. Para tanto, faz-se necessário a execução de estudos fitoquímicos mais robustos, bem como a verificação da atividade antitrombocitopênica em ensaios específicos.

Partindo para a investigação antidiarreica, as folhas da espécie *Psidium guineense*, sob a forma do EHEPg, apresentaram atividade farmacológica em camundongos. Apesar dos relatos de uso popular desta espécie no tratamento da diarreia (ANESINI; PEREZ, 1993; DAS et al., 2009), até então não havia registros de investigações científicas para essa finalidade. Pesquisas etnobotânicas e farmacológicas já haviam evidenciado o potencial farmacológico do gênero *Psidium* para afecções do TGI , incluindo a diarreia (BORAH; DASH; CHAKRABORTY, 2018; CROVETTO, 2012; LANDRUM, 2016; MAGALHÃES et al., 2019; SUROOWAN; PYNEE; MAHOMOODALLY, 2019), o que motivou tal investigação nesse estudo.

O efeito antidiarreico do EHEPg foi proeminente em duas doses testadas, 100 mg/kg e 400 mg/kg, indicando efeito não dose-dependente. Essas doses foram eficazes em retardar o início e diminuir a frequência dos episódios diarreicos provocados pela administração do óleo de rícino em camundongos, de modo que a maior dose apresentou efeito superior ao fármaco utilizado. Situação semelhante foi observada no estudo de atividade antidiarreica realizada por Zhao e colaboradores (2018), onde a fração butanoica do extrato das cascas de *Punica granatum* L nas

doses de 100 mg/kg e 400 mg/kg estenderam a latência diarreica por períodos similares; além disso, apenas a menor dose, 100 mg/kg, foi capaz de reduzir consideravelmente o número de evacuações líquidas nos camundongos.

O óleo de rícino, consolidado agente indutor da diarreia em trabalhos científicos, proporciona seu efeito laxante através da estimulação da motilidade intestinal, bem como induzindo a secreção gastrointestinal (AL-AWQATI; GREENOUGH, 1972; MASCOLO et al., 1994; PHILLIPS et al., 1965). Uma vez que o EHEPg foi eficaz em reduzir os efeitos diarreicos do óleo de rícino, acredita-se que sua atividade antidiarreica vem de ações antissecretórias e/ou antimotilidade.

Ojewole, Awe e Chiwororo (2008) verificaram que o extrato aquoso das folhas de *Psidium guajava* na dose de 400 mg/kg por v.o. inibiu a motilidade intestinal e a secreção de fluidos intestinais na diarreia induzida pelo óleo de rícino. Recentemente, um estudo verificou que o extrato foliar hidroetanólico 70/30 dessa mesma espécie foi capaz de recuperar os íons Na^+, K^+ e Cl^- a níveis séricos normais em ratos cuja diarreia havia sido induzida pelo óleo de rícino, indicando o mecanismo antissecretório envolvido (KORIEM; ARBID; SALEH, 2019).

Um estudo realizado por Mascolo e colaboradores (1994) demonstrou que ratos tratados com bloqueadores da síntese de óxido nítrico tardaram em desenvolver a diarreia induzida pelo óleo de rícino, além de impedir o acúmulo de fluidos e reduzir o trânsito intestinal. Isso sinaliza que um dos meios pelo qual o EHEPg possa ter agido no presente estudo também seja pelo bloqueio da via nitrérgica.

Observações importantes na bexiga de alguns animais durante a análise da atividade antidiarreica trouxeram indicativos de um possível mecanismo de ação do EHEPg. A administração em doses elevadas de substâncias com ação em receptores opioides, como a loperamida, além de levar à constipação grave e prostração, pode causar intensa retenção urinária (LABORATÓRIO GLOBO LTDA., 2014). 75% dos animais que receberam EHEPg por v.o. na maior dose (400 mg/kg) apresentaram o efeito supracitado, levando-nos a crer que o EHEPg provavelmente age como agonista de receptores opioides de fibras musculares lisas, reduzindo a motilidade intestinal, tal qual o loperamida. É possível ainda que a espécie *Psidium guineense* tenha ação satisfatória em diarreias infecciosas e diarreias associadas ao uso de antibióticos, uma vez que também apresenta efeito sinérgico com quinolonas, beta-

lactâmicos e carbapenens em micro-organismos resistentes (FERNANDES et al., 2012).

Metabolitos secundários são compostos produzidos por espécies vegetais, indispensáveis para sua sobrevivência e permanência em seu ambiente. Grande parte das atividades farmacológicas apresentadas por espécies vegetais tem origem nos metabólitos secundários produzidos por estas (AZIZ et al., 2016). A avaliação do perfil fitoquímico da *Psidium guineense*, atualmente, está focado sobre os óleos essenciais produzidos pelas folhas dessa espécie (FIGUEIREDO et al., 2018; LIMA et al., 2020; NASCIMENTO et al., 2018), enquanto aqueles voltados aos extratos foliares estão escassos (FERNANDES et al., 2012; MACAÚBAS-SILVA et al., 2019).

A investigação fitoquímica do EHEPg demonstrou ausência de taninos, classe de metabólito secundário relacionado à atividade antidiarreica exibida por plantas medicinais (RUSSO et al., 2018). No entanto, polifenóis e flavonoides, metabólitos que também estão envolvidos no desempenho da atividade antidiarreica de espécies medicinais, foram identificadas no extrato. Hirudkar e colaboradores (2020a) demonstraram que o flavonoide quercetina, isolado da *Psidium guajava*, foi capaz de inibir a diarreia infecciosa por *Shigella flexneri* ao agir sobre uma protease microbiana envolvida na patogênese diarreica. Um estudo prévio revelou que esse flavonoide também tem ação antissecretória no TGI, modulando canais de cloro dependentes de cálcio (YU et al., 2016). A quercetina também foi identificada em outras espécies do gênero *Psidium* (CUI et al., 2016; SOBRAL-SOUZA et al., 2019), inclusive nas folhas da *P. guineense* (MACAÚBAS-SILVA et al., 2019), mesma parte utilizada para a produção do EHEPg. Essa pode ser uma das alternativas para a atividade antidiarreica exibida pelo extrato.

6 CONCLUSÃO

- A análise da atividade antidiarreica em camundongos demonstrou que a espécie *Psidium guineense* apresentou atividade nas três maiores doses testadas do EHEPg, das quais as doses de 100 mg/kg e 400 mg/kg demonstraram melhor eficácia;
- Polifenóis totais e flavonoides foram detectados no EHEPg, os quais podem estar relacionados à atividade antidiarreica demonstrada pela *Psidium guineense* dado ao efeito semelhante obtido em outras espécies do gênero;
- O teste de toxicidade aguda revelou que a DL_{50} do EHEPg é acima de 2.000 mg/kg, demonstrando seguridade no uso por via oral em camundongos.

REFERÊNCIAS

ACCUWEATHER. **Condições Meteorológicas Mensais em Paulista, Pernambuco, Brasil**. Disponível em: https://www.accuweather.com/pt/br/paulista/40330/june-weather/40330?year=2019. Acesso em: 27 ago. 2020.

AHMAD, A. et al. Antithrombocytopenic potential of bioactivity guided fractions of traditionally used *Psidium guajava* Linn. leaves in busulfan induced-thrombocytopenic rats. **Pharmacognosy Magazine**, v. 15, n. 66, p. 440-448, 2019. http://dx.doi.org/10.4103/pm.pm_608_18.

AKEL, T.; BEKHEIT, S. Loperamide cardiotoxicity: “A Brief Review”. **Annals of Noninvasive Electrocardiology**, v. 23, n. 2, p. 1–4, mar. 2018. http://dx.doi.org/10.1111/anec.12505

AL-AWQATI, Q.; GREENOUGH, W. B. Prostaglandins inhibit Intestinal Sodium Transport. **Nature New Biology**, v. 238, n. 79, p. 26–27, jul. 1972. http://dx.doi.org/10.1038/newbio238026a0

ALBERDA, C. et al. Feasibility of a Lactobacillus casei Drink in the Intensive Care Unit for Prevention of Antibiotic Associated Diarrhea and *Clostridium difficile*. **Nutrients**, v. 10, n. 5, p. 539, 26 abr. 2018.

ALJARALLAH, K. M. Conventional and alternative treatment approaches for *Clostridium difficile* infection. **International Journal of Health Sciences**, v. 11, n. 1, p. 1–10, 2017.

ALMEIDA, A. M.; REIS, V. D. A. DOS. **Diagnóstico da apicultura e da meliponicultura em comunidades ribeirinhas do Pantanal**. Corumbá: [s.n.].

ALVARENGA, F. Q. et al. In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 1, p. 280–284, out. 2013.

ALVARENGA, F. Q. et al. Atividade antimicrobiana in vitro das folhas de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) contra micro-organismos da mucosa oral. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 45, n. 3, p. 149–153, 14 jun. 2016.

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

APG. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, p. 1–20, 2016.

ARAUJO, L. C. A. DE et al. Profile of Antioxidant Activity of Fruits of the Savana Brazilian. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 100, p. 95, nov. 2016.

ASHRAF, A. et al. Chemical composition, antioxidant, antitumor, anticancer and

cytotoxic effects of *Psidium guajava* leaf extracts. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 10, p. 1971–1981, out. 2016.

ASMAT, S. et al. Clinical Efficacy Comparison Of *Saccharomyces boulardii* And Lactic Acid As Probiotics In Acute Pediatric Diarrhea. **Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan**, v. 28, n. 3, p. 214–217, 16 mar. 2018.

AZIZ, M. A. et al. A review on the elemental contents of Pakistani medicinal plants: Implications for folk medicines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 188, p. 177–192, jul. 2016.

BARKER, A. K. et al. A randomized controlled trial of probiotics for *Clostridium difficile* infection in adults (PICO). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 11, p. 3177–3180, 1 nov. 2017.

BARRETT, K. E. Anatomia funcional do trato gastrintestinal e dos órgãos que drenam nele. In: **Fisiologia Gastrintestinal**. 2. ed. Porto Alegre: AMGR, 2015. p. 336.

BERLIAN, G.; TANDRASASMITA, O. M.; TJANDRAWINATA, R. R. Trombinol, a bioactive fraction of *Psidium guajava*, stimulates thrombopoietin expression in HepG2 cells. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 5, p. 437–442, maio 2017.

BERNARDINI, S. et al. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. **Natural Product Research**, v. 32, n. 16, p. 1926–1950, 18 ago. 2018.

BEUBLER, E.; JUAN, H. Effect of ricinoleic acid and other laxatives on net water flux and prostaglandin E release by the rat colon. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 31, n. 1, p. 681–685, set. 1979.

BEZERRA, C. F. et al. Analysis by UPLC-MS-QTOF and antifungal activity of guava (*Psidium guajava* L.). **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, n. May, p. 122–132, 2018.

BEZERRA, J. E. F.; SILVA-JUNIOR, J. F.; LIRA-JUNIOR, J. S. *Psidium guineense*: Araçá. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. (Eds.). . **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial Plantas para o Futuro - Região Nordeste**. 1. ed. Brasília: Ministério de Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade, 2018. p. 1311.

BFG, T. B. F. G. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085–1113, 2015.

BIDAULT, Ehoarn. **Psidium guineense Sw.** 2012. Tropicos.org. Disponível em: http://legacy.tropicos.org/Image/100228069. Acesso em: 25 maio 2020.

BISI-JOHNSON, M. A. et al. Antibacterial activity of crude extracts of some South African medicinal plants against multidrug resistant etiological agents of diarrhoea. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 1–9, 2017.

BITTENCOURT, G. M. **Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá (*Psidium grandifolium* Mart. ex DC.) obtidos por líquido pressurizado (PLE) e por fluido supercrítico (SFE)**. Pirassununga: Universidade de São Paulo, 1 nov. 2018.

BOLOCAN, A. S. et al. Phage therapy targeting *Escherichia coli*— a story with no end? **FEMS Microbiology Letters**, v. 363, n. 22, nov. 2016.

BORAH, U.; DASH, B.; CHAKRABORTY, J. Assessment of Periodic Dissimilarity of Phytochemical and Antidiarrheal Activity of Ethanolic Extract of *Psidium guajava* Linn (Myrtaceae) Leaves Using Wistar Albino Rats. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 11, n. 1, p. 431, 2018.

BORBINHA, C. et al. Bismuth encephalopathy- a rare complication of long-standing use of bismuth subsalicylate. **BMC Neurology**, v. 19, n. 1, p. 212, 29 dez. 2019.

BOWEN, A. et al. Effect of Bismuth Subsalicylate vs Placebo on Use of Antibiotics Among Adult Outpatients With Diarrhea in Pakistan. **JAMA Network Open**, v. 2, n. 8, p. e199441, 16 ago. 2019.

BRANDT, K. G.; DE CASTRO ANTUNES, M. M.; DA SILVA, G. A. P. Acute diarrhea: evidence-based management. **Jornal de Pediatria**, v. 91, n. 6, p. S36–S43, nov. 2015.

BRASIL. **Brasil tem 48% da população sem coleta de esgoto, diz Instituto Trata Brasil**. Disponível em: <https://www12.senado.leg.br/noticias/materias/2019/09/25/brasil-tem-48-da-populacao-sem-coleta-de-esgoto-diz-instituto-trata-brasil>. Acesso em: 17 jun. 2020.

BROWNING, K. N. Role of central vagal 5-HT3 receptors in gastrointestinal physiology and pathophysiology. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, n. 413, p. 1–10, 29 out. 2015.

BUESA, R. J. Histology without formalin? **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 12, n. 6, p. 387–396, dez. 2008.

BULA-RUDAS, F. J.; RATHORE, M. H.; MARAQA, N. F. *Salmonella* Infections in Childhood. **Advances in Pediatrics**, v. 62, n. 1, p. 29–58, ago. 2015.

CAMACHO-HERNÁNDEZ, I. L. et al. Antifungal activity of fruit pulp extract from *Psidium sartorianum*. **Fitoterapia**, v. 75, n. 3–4, p. 401–404, jun. 2004.

CAMILLERI, M.; SELLIN, J. H.; BARRETT, K. E. Pathophysiology, Evaluation, and Management of Chronic Watery Diarrhea. **Gastroenterology**, v. 152, n. 3, p. 515-532.e2, fev. 2017.

CAMPOS, L. S.; TAFURI, W. L.; PINTO, A. J. W. Avaliação de diferentes fixadores na preservação das características histológicas de pele de orelha de cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 5, p. 1212–1218, out. 2016.

CAMPOS, L. Z. DE O. **Etnobotânica do Gênero *Psidium* L. (Myrtaceae) no Cerrado Brasileiro**. [s.l.] Universidade de Brasília, 2010.

CARBONÓ-DELAHOZ, E.; DIB-DIAZGRANADOS, J. C. PLANTAS MEDICINALES USADAS POR LOS COGUI EN EL RÍO PALOMINO, SIERRA NEVADA DE SANTA MARTA (COLOMBIA). **Caldasia**, v. 35, n. 2, p. 333–350, 2013.

CARDOSO, J. DE S. et al. Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance. **Redox Report**, v. 23, n. 1, p. 41–46, 31 jan. 2017.

CASTILHO, A. L. DE et al. New trends in dentistry: plant extracts against *Enterococcus faecalis*. The efficacy compared to chlorhexidine. **Brazilian Oral Research**, v. 27, n. 2, p. 109–115, abr. 2013.

CASTRO, M. R. et al. Essential oil of *Psidium cattleianum* leaves: Antioxidant and antifungal activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 2, p. 242–250, 25 fev. 2015.

CHANDRA, S.; MEJIA, E. G. Polyphenolic Compounds, Antioxidant Capacity, and Quinone Reductase Activity of an Aqueous Extract of *Ardisia compressa* in Comparison to Mate (*Ilex paraguariensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3583–3589, jun. 2004.

CHANG, L. et al. Incidence of Ischemic Colitis and Serious Complications of Constipation Among Patients Using Alosetron: Systematic Review of Clinical Trials and Post-Marketing Surveillance Data. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 101, n. 5, p. 1069–1079, 2006.

CHARNEAU, S. et al. In vitro investigation of Brazilian Cerrado plant extract activity against *Plasmodium falciparum* , *Trypanosoma cruzi* and *T. brucei gambiense*. **Natural Product Research**, v. 30, n. 11, p. 1320–1326, 2 jun. 2016.

CHAUKE, N. P.; MUKAYA, H. E.; NKAZI, D. B. Chemical modifications of castor oil: A review. **Science Progress**, v. 102, n. 3, p. 199–217, 10 set. 2019.

CHOUDHURY, P. R. et al. Plant utilization against digestive system disorder in Southern Assam, India. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 175, p. 192–197, 2015.

CHRISTENHUSZ, M. J. M.; BYNG, J. W. The number of known plants species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, v. 261, n. 3, p. 201, 20 maio 2016.

CONNOR, B. A. **Travelers' Diarrhea**. Disponível em: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/preparing-international-travelers/travelers-diarrhea#table210>. Acesso em: 23 jun. 2020.

CRAWFORD, S. E. et al. Rotavirus infection. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 17083, 9 dez. 2017.

CROVETTO, R. N. M. Estudios etnobotánicos v. Nombres de plantas y su utilidad según los mbya guaraní de misiones, argentina. **Bonplandia**, v. 21, n. 2, p. 109–133, 2012.

CRUZ, A. VALÉRIA DE M.; KAPLAN, M. A. C. Uso Medicinal De Espécies Das Famílias Myrtaceae Melastomataceae no brasil. **Floresta e Ambiente**, v. 11, n. 1, p. 47–52, 2004.

CUI, H. et al. [Flavonoids from leaves of *Psidum littorale*]. **Yao xue xue bao = Acta pharmaceutica Sinica**, v. 51, n. 11, p. 1745–50, 2016.

D'AMICO, F. et al. Diarrhea During COVID-19 Infection: Pathogenesis, Epidemiology, Prevention, and Management. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 18, n. 8, p. 1663–1672, jul. 2020.

DADONAITE, B.; RITCHIE, H.; ROSER, M. **Diarrheal diseases**. Disponível em: <https://ourworldindata.org/diarrheal-diseases>. Acesso em: 16 jun. 2020.

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

DAS, H. B. et al. Ethnobotanical uses of some plants by Tripuri and Reang tribes of Tripura. **Natural Product Radiance**, v. 8, n. 2, p. 172–180, 2009.

DEANE, A. M. et al. Pathophysiology and Treatment of Gastrointestinal Motility Disorders in the Acutely Ill. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 34, n. 1, p. 23–36, 2019.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. São Paulo: UNESP, 2002.

DIAS, A. L. B. et al. Chemical composition and in vitro antibacterial and antiproliferative activities of the essential oil from the leaves of *Psidium myrtoides* O. Berg (Myrtaceae). **Natural Product Research**, v. 33, n. 17, p. 2566–2570, 2 set. 2019.

DIKMAN, A. E. et al. Human Immunodeficiency Virus-Associated Diarrhea: Still an Issue in the Era of Antiretroviral Therapy. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 60, n. 8, p. 2236–2245, 14 ago. 2015.

DUDINK, J.; MEARIN, L. M.; SUKHAI, R. N. [Ileus after the use of loperamide in a child with acute diarrhea]. **Nederlands tijdschrift voor geneeskunde**, v. 147, n. 14, p. 670–2, 5 abr. 2003.

DUPONT, H. L. Persistent Diarrhea. **JAMA**, v. 315, n. 24, p. 2712, 28 jun. 2016.

DURÃES, E. R. B. et al. Phytochemical study, toxicity and antimicrobial activity of *Psidium myrsinites* DC. (Myrtaceae) leaves. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 5, p. 1305–1313, 2017.

EBERLIN, M. et al. Racecadotril in the treatment of acute diarrhea in children: a systematic, comprehensive review and meta-analysis of randomized controlled trials. **BMC Pediatrics**, v. 18, n. 1, p. 124, 3 dez. 2018.

EJEH, S. A.; ONYEYILI, P.; ABALAKA, S. E. Anti-diarrhea activity of the aqueous

root bark extract of *Byrsocarpus coccineus* on castor oil-induced diarrhea in Wistar rats. **Veterinary World**, v. 10, n. 7, p. 743–747, 2017.

ESQUIVEL-GARCÍA, R. et al. Ethnomedicinal plants used for the treatment of dermatological affections on the Purépecha Plateau, Michoacán, Mexico. **Acta Botanica Mexicana**, n. 125, p. 95–132, 3 out. 2018.

FACCIOLÀ, A. et al. Campylobacter: from microbiology to prevention. **Journal of preventive medicine and hygiene**, v. 58, n. 2, p. 79–92, jun. 2017.

FAUTH, S. et al. Efeitos de óleos essenciais de plantas no tempo de sono induzido por cetamina em camundongos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 112–113, 2002.

FERNANDES, T. G. et al. In vitro synergistic effect of *Psidium guineense* (Swartz) in combination with antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Strains. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 7, 2012.

FERREIRA, P. R. B. et al. Morphoanatomy, Histochemistry and Phytochemistry of *Psidium guineense* Sw. (Myrtaceae) Leaves. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 4, p. 942–944, 2011.

FIGUEIREDO, P. L. B. et al. Chemical variability in the essential oil of leaves of Araçá (*Psidium guineense* Sw.), with occurrence in the Amazon. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2018.

FRANZON, R. C. et al. Araçás do Gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. **Araçás do Gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos**, p. 48, 2009.

GALLIGAN, J. J.; STERNINI, C. Insights into the Role of Opioid Receptors in the GI Tract: Experimental Evidence and Therapeutic Relevance. In: MEERVELD, B. G.-V. (Ed.). . **Handbook of Experimental Pharmacology**. 1. ed. Oklahoma: Springer International Publishing, 2016. p. 363–378.

GAO, J. J. et al. HALT-D: A Phase II Evaluation of Crofelemer for the Prevention and Prophylaxis of Diarrhea in Patients With Breast Cancer on Pertuzumab-Based Regimens. **Clinical Breast Cancer**, v. 17, n. 1, p. 76–78, fev. 2017.

GAO, J.; SUN, N.; WANG, F. [Effects of castor oil-diet on the synthesis of prostaglandin E2 in pregnant rats]. **Zhonghua fu chan ke za zhi**, v. 34, n. 3, p. 147–9, mar. 1999.

GOMES, T. A. T. et al. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 3–30, dez. 2016.

GONZÁLEZ, A. M. N.; GONZÁLEZ, M. B. R.; PINTO, N. L. S. Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales. **Rev Cubana Plant Med**, v. 10, n. 3–4, p. 11, 2005.

GORDON, A. et al. Phenolic Constituents and Antioxidant Capacity of Four Underutilized Fruits from the Amazon Region. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 14, p. 7688–7699, 27 jul. 2011.

GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, L. P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 4, p. 509–530, 2007.

GUNNARSDÓTTIR, A. K. et al. [Loperamide Abuse - Constipation or Heart Attack?]. **Læknablaðið**, v. 2018, n. 12, p. 543–548, 6 dez. 2018.

GUPTA, A. et al. Acute accidental mass poisoning by *Jatropha curcas* in Agra, North India. **Egyptian Journal of Forensic Sciences**, v. 6, n. 4, p. 496–500, dez. 2016.

HIRUDKAR, J. R. et al. Quercetin a major biomarker of *Psidium guajava* L. inhibits SepA protease activity of *Shigella flexneri* in treatment of infectious diarrhoea. **Microbial Pathogenesis**, v. 138, p. 103807, jan. 2020a.

HIRUDKAR, J. R. et al. The antidiarrhoeal evaluation of *Psidium guajava* L. against enteropathogenic *Escherichia coli* induced infectious diarrhoea. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 251, abr. 2020b.

HORMAN, T. et al. An exploration of the aversive properties of 2-deoxy-D-glucose in rats. **Psychopharmacology**, v. 235, n. 10, p. 3055–3063, 15 out. 2018.

HOSSEINZADEH, S. et al. The Application of Medicinal Plants in Traditional and Modern Medicine: A Review of *Thymus vulgaris*. **International Journal of Clinical Medicine**, v. 6, n. 9, p. 635–642, 2015.

HOUËL, E. et al. Antiplasmodial and anti-inflammatory effects of an antimalarial remedy from the Wayana Amerindians, French Guiana: Takamalaimë (*Psidium acutangulum* Mart. ex DC., Myrtaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 166, p. 279–285, 2015.

IKABANGA, Davy. **Psidium guineense Sw.** 2017. Tropicos.org. Disponível em: http://legacy.tropicos.org/Image/100558200. Acesso em: 25 maio 2020.

Instituto Agronômico de Pernambuco. **Sessão de Índices Pluviométricos**. Disponível em: http://www.ipa.br/indice_pluv.php. Acesso em: 27 ago. 2020

ITB. **Painel Saneamento Brasil**. Disponível em: <http://tratabrasil.com.br/estudos/estudos-itb/itb/ranking-do-saneamento-2020>. Acesso em: 17 jun. 2020.

JARADAT, N. A.; AYESH, O. I.; ANDERSON, C. Ethnopharmacological survey about medicinal plants utilized by herbalists and traditional practitioner healers for treatments of diarrhea in the West Bank/Palestine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 182, p. 57–66, 2016.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, . ***Psidium guineense* in Flora do Brasil 2020 em Construção**. Disponível em:

<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10867>. Acesso em: 25 mar. 2020a.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, . **Myrtaceae in Flora do Brasil 2020 em contrução**. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>. Acesso em: 15 mar. 2020b.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, . ***Psidium* in Flora do Brasil 2020 em construção**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>. Acesso em: 19 mar. 2020c.

JAZAYERI, S. B. et al. A preliminary investigation of anticholinesterase activity of some Iranian medicinal plants commonly used in traditional medicine. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, n. 1, p. 17, 8 dez. 2014.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.. O Trato Digestivo. In: JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.. **Histologia Básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. Cap. 15, p. 302.

KANG, G. et al. Racecadotril in the management of rotavirus and non-rotavirus diarrhea in under-five children: Two randomized, double-blind, placebo-controlled trials. **Indian Pediatrics**, v. 53, n. 7, p. 595–600, 27 jul. 2016.

KAUFFMANN, C. et al. Potential Antileishmanial Activity of Essential Oils of Native Species from Southern Brazil. **Environment and Natural Resources Research**, v. 6, n. 4, p. 18, 16 out. 2016.

KAUR, M.; SINGH, A.; KUMAR, B. Comparative antidiarrheal and antiulcer effect of the aqueous and ethanolic stem bark extracts of *Tinospora cordifolia* in rats. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research**, v. 5, n. 3, p. 122–128, 2014.

KIELA, P. R.; GHISHAN, F. K. Physiology of Intestinal Absorption and Secretion. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 30, n. 2, p. 145–159, abr. 2016.

KIM, S. F. The role of nitric oxide in prostaglandin biology; update. **Nitric Oxide**, v. 25, n. 3, p. 255–264, out. 2011.

KISHIDA, K. et al. Nutrient sensing by absorptive and secretory progenies of small intestinal stem cells. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 312, n. 6, p. G592–G605, 1 jun. 2017.

KORIEM, K. M. M.; ARBID, M. S.; SALEH, H. N. Antidiarrheal and protein conservative activities of *Psidium guajava* in diarrheal rats. **Journal of integrative medicine**, v. 17, n. 1, p. 57–65, 2019.

LABORATÓRIO GLOBO LTDA. Cloridrato de loperamida [Bula]. . 2014, p. 1–12.

LANDRUM, L. R. Re-evaluation of *Psidium acutangulum* (Myrtaceae) and a new

combination in Psidium. **Brittonia**, v. 68, n. 4, p. 409–417, 28 dez. 2016.

LEITE, N. F. et al. Efecto citoprotector de extractos de *Eugenia jambolana* y *Psidium myrsinites* DC. A. contra peroxidación lipídica inducida por hierro II. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 24, n. 3, p. 187–192, 2016.

LEONTI, M. Antiquity of medicinal plant usage in two Macro-Mayan ethnic groups (México). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, n. 2–3, p. 119–124, out. 2003.

LIMA, E. M. et al. First complete NMR data and theoretical study of an antimicrobial formylated dihydrochalcone from *Psidium guineense* Sw. **Natural Product Research**, p. 1–5, 11 jun. 2020.

LIRA, C. R. et al. Efeito Gastroprotetor das Folhas de *Psidium guajava* L. em Camundongos Albinos Swiss. In: ONE, G. M. DA C.; PORTO, M. L. S. (Eds.). . **Farmácia: Tecnologia a Serviço da Saúde**. 1. ed. João Pessoa: Instituto Medeiros de Educação Avançada, 2020. p. 417–436.

LOZOYA, X. et al. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, n. 1–2, p. 19–24, nov. 2002.

LUCAS, E. J. et al. A New Subtribal Classification of Tribe Myrteae (Myrtaceae). **Systematic Botany**, v. 44, n. 3, p. 560–569, 6 set. 2019.

MACAÚBAS-SILVA, C. et al. **Araçain, a tyrosol derivative and other phytochemicals from *Psidium guineense* SwNatural Product Research**. [s.l: s.n.].

MACCORMACK, J. K.; LINDQUIST, K. A. Feeling hangry? When hunger is conceptualized as emotion. **Emotion**, v. 19, n. 2, p. 301–319, mar. 2019.

MACÊDO, D. G. et al. Effect of seasonality on chemical profile and antifungal activity of essential oil isolated from leaves *Psidium salutare* (Kunth) O. Berg. **PeerJ**, v. 6, p. e5476, 1 nov. 2018.

MACHADO, A. J. T. et al. Antiparasitic effect of the *Psidium guajava* L. (guava) and *Psidium brownianum* MART. EX DC. (araçá-de-veado) extracts. **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, n. January, p. 275–280, set. 2018.

MÃE, V. H. **O paraíso são os outros**. 2. ed. Rio de Janeiro: Biblioteca Azul, 2018. 64 p.

MAGALHÃES, K. DO N. et al. Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 237, p. 314–353, 2019.

MAIGARI, F. U. et al. Effect of *Jatropha curcas* Leaf Extract on Castor Oil Induced Diarrhea in Albino Rats. **International Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v. 10, n. 1, p. 28–31, 2016.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Vanillin-HCl method for condensed tannins: Effect

of organic solvents used for extraction of tannins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 4, p. 613–621, abr. 1993.

MANEKENG, H. T. et al. Evaluation of Acute and Subacute Toxicities of *Psidium guajava* Methanolic Bark Extract: A Botanical with In Vitro Antiproliferative Potential. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, p. 1–13, 11 dez. 2019.

MASCOLO, N. et al. Nitric oxide and castor oil-induced diarrhea. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 268, n. 1, p. 291–5, jan. 1994.

MEDA, A. et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 91, n. 3, p. 571–577, jul. 2005.

MEERVELD, B. G.-V.; JOHNSON, A. C.; GRUNDY, D. Gastrointestinal Physiology and Function Beverley. In: **Handbook of Experimental Pharmacology**. [s.l: s.n.]. p. 1–16.

MESSIAS, M. C. T. B. et al. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 1, p. 76–104, mar. 2015.

MIRJALILI, S. A. et al. Gastrointestinal Physiology. In: **Physiology for General Surgical Sciences Examination (GSSE)**. [s.l: s.n.]. p. 37–54.

MONIZ, A. M. H. et al. Biological Evaluation of Essential Oil from Green Fruits of Psidium striatulum of the Roraima State, Brazil. **Chemical Engineering Transactions**, v. 75, p. 379–384, 2019a.

MONIZ, A. M. H. et al. Chemical Composition and Biological Evaluation of the Essential Oil of the leaves of *Psidium striatulum* in the Amazon Region. **Chemical Engineering Transactions,** v. 75, p. 385–390, 2019b.

MONTES-AVILA, J. et al. Bioguided study of the in vitro parasitocidal effect on adult Hymenolepis nana of the *Psidium sartorianum* (O. Berg Nied.) fruit methanol extract. **Medicinal Chemistry Research**, v. 26, n. 11, p. 2845–2852, 19 nov. 2017.

MORAIS-BRAGA, M. F. B. et al. High-performance liquid chromatography-diodic array detector, fungistatic, and anti-morphogenical analysis of extracts from *Psidium brownianum* mart. Ex DC. Against yeasts of the genus *Candida*. **International Journal of Food Properties**, v. 19, n. 8, p. 1837–1857, 2016.

MORENO, P. R. H. et al. Native Brazilian Plants Against Nosocomial Infections: A Critical Review on their Potential and the Antimicrobial Methodology. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 24, p. 3040–3078, 31 dez. 2013.

MÜLLER, U. et al. In Vitro and In Vivo Inhibition of Intestinal Glucose Transport by Guava (*Psidium guajava*) Extracts. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 62, n. 11, p. 1–28, 2018.

NASCIMENTO, K. F. et al. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, n. August 2017, p. 351–358, 2018.

NEE, J. et al. Randomized Clinical Trial. **Clinical and Translational Gastroenterology**, v. 10, n. 12, p. e00110, dez. 2019.

NEGREIROS, P. DOS S. et al. Antidiarrheal activity of α-terpineol in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 110, p. 631–640, fev. 2019.

NERI, I. et al. Castor oil for induction of labour: a retrospective study. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 31, n. 16, p. 2105–2108, 18 ago. 2018.

NERYS, L. DE C. R. **Potencial Citotóxico e Antimicrobiano de Bioativos de Syzygium Cumini, Syzygium Malacceense e Psidium Guineese**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

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

OFEI, S. Y.; FUCHS, G. J. Principles and Practice of Oral Rehydration. **Current Gastroenterology Reports**, v. 21, n. 12, p. 67, 7 dez. 2019.

OJEWOLE, J. A. O.; AWE, E. O.; CHIWORORO, W. D. H. Antidiarrhoeal activity of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract in rodents. **Journal of Smooth Muscle Research**, v. 44, n. 6, p. 195–207, 2008.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method**. [s.l.] OECD, 2002.

PATEL, V. R. et al. Castor Oil: Properties, Uses, and Optimization of Processing Parameters in Commercial Production. **Lipid Insights**, v. 9, p. LPI.S40233, 7 jan. 2016.

PATIL, M. M. An Arrow Poison (*Abrus precatorius*) Causing Fatal Poisoning in a Child. **Journal of clinical and diagnostic research**, v. 10, n. 3, p. 3–4, 2016.

PEREIRA, E. DOS S. et al. *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. **Food Chemistry**, v. 258, p. 95–103, 2018.

PERES, M. T. L. P. et al. Phytotoxic and antioxidant activity of seven native fruits of Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 836–846, dez. 2013.

PHILLIPS, R. A. et al. Cathartics and the Sodium Pump. **Nature**, v. 206, n. 4991, p. 1367–1368, jun. 1965.

PITZ, A. M. et al. Antimicrobial activity of bismuth subsalicylate on *Clostridium difficile*, *Escherichia coli* O157:H7, norovirus, and other common enteric pathogens. **Gut Microbes**, v. 6, n. 2, p. 93–100, 4 mar. 2015.

PORWAL, K. et al. Guava fruit extract and its triterpene constituents have osteoanabolic effect: Stimulation of osteoblast differentiation by activation of mitochondrial respiration via the Wnt/β-catenin signaling. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 44, p. 22–34, 2017.

PROENÇA, C. E. B.; FARIA, J. E. Q.; MAZINE, F. F. A new species and a new name in Myrtaceae (Myrteae) from Southeastern Brazil. **Phytotaxa**, v. 308, n. 2, p. 259, 7 jun. 2017.

PROSS, N. Effects of Dehydration on Brain Functioning: A Life-Span Perspective. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 70, n. 1, p. 30–36, 2017.

RAO, M.; GERSHON, M. D. The bowel and beyond: the enteric nervous system in neurological disorders. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 13, n. 9, p. 517–528, 20 set. 2016.

RAO, M.; GERSHON, M. D. Enteric nervous system development: what could possibly go wrong? **Nature Reviews Neuroscience**, v. 19, n. 9, p. 552–565, 25 set. 2018.

RAWAT, P.; SINGH, P. K.; KUMAR, V. Evidence based traditional anti-diarrheal medicinal plants and their phytocompounds. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 96, n. October, p. 1453–1464, 2017.

RIBEIRO, A. B. et al. *Psidium cattleianum* fruit extracts are efficient in vitro scavengers of physiologically relevant reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chemistry**, v. 165, p. 140–148, dez. 2014.

RIBEIRO, C. **A goiabada vence a crise: gigante brasileira espera crescer 20%**. Disponível em: <https://revistagloborural.globo.com/Noticias/Empresas-e-Negocios/noticia/2018/07/goiabada-vence-crise-gigante-brasileira-espera-crescer-20porcento.html>. Acesso em: 23 maio. 2020.

RIBEIRO, R. V. et al. Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 205, p. 69–102, jun. 2017.

RIDDLE, M. S.; DUPONT, H. L.; CONNOR, B. A. ACG Clinical Guideline: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Acute Diarrheal Infections in Adults. **American Journal of Gastroenterology**, v. 111, n. 5, p. 602–622, maio 2016.

RITCHIE, H.; ROSER, M. **Causes of Death**. Disponível em: <https://ourworldindata.org/causes-of-death>. Acesso em: 17 jun. 2020.

RODRIGUES, T. S. et al. Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 13, n. Especial, p. 587–590, 2011.

ROSADO, J. L. [Lactose intolerance]. **Gaceta medica de Mexico**, v. 152 Suppl, p. 67–73, set. 2016.

ROSEN, M. J.; DHAWAN, A.; SAEED, S. A. Inflammatory Bowel Disease in Children and Adolescents. **JAMA Pedriatr.**, v. 169, n. 11, p. 1053–1060, 2015.

ROTH, G. A. et al. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. **The Lancet**, v. 392, n. 10159, p. 1736–1788, nov. 2018.

RUSSO, M. et al. Oral administration of tannins and flavonoids in children with acute diarrhea: a pilot, randomized, control-case study. **Italian Journal of Pediatrics**, v. 44, n. 1, p. 1–6, 4 dez. 2018.

SADRAEI, H.; ASGHARI, G.; JAMALI, H. Antidiarrheal action of *Zataria multiflora* hydroalcoholic and hexane extracts in mice. **Journal of HerbMed Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 22–28, 2018.

SAMPAIO, R. DE S. et al. Antinociceptive activity of the *Psidium brownianum* Mart ex DC. leaf essential oil in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, n. November 2019, p. 111053, 2020.

SANTILLANES, G.; ROSE, E. Evaluation and Management of Dehydration in Children. **Emergency Medicine Clinics of North America**, v. 36, n. 2, p. 259–273, maio 2018.

SANTOS, F. A. et al. Antibacterial activity of essential oils from *Psidium* and *Pilocarpus* species of plants. **Phytotherapy Research**, v. 11, n. 1, p. 67–69, fev. 1997.

SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Studies on the Neuropharmacological Effects of *Psidium guyanensis* and *Psidium pohlianum* Essential Oils. **Phytotherapy Research**, v. 10, n. 8, p. 655–658, dez. 1996.

SANTOS, M. R. A.; LIMA, M. R.; OLIVEIRA, C. L. L. G. Medicinal plants used in Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 3 suppl 1, p. 707–720, 2014.

SARKER, S. A. et al. Oral Phage Therapy of Acute Bacterial Diarrhea With Two Coliphage Preparations: A Randomized Trial in Children From Bangladesh. **EBioMedicine**, v. 4, p. 124–137, fev. 2016.

SCHILLER, L. R.; PARDI, D. S.; SELLIN, J. H. Chronic Diarrhea: Diagnosis and Management. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 15, n. 2, p. 182-193.e3, fev. 2017.

SCHULTES, R. E.; RAFFAUF, R. F. Ethnopharmacological and alkaloid al notes on plants of the northwest amazon. **Caldasia**, v. 15, n. 71, p. 331–363, 1986.

SCUR, M. C. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and different plant extracts of *Psidium cattleianum* Sabine. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 1, p. 101–108, 12 fev. 2016.

SEIDLER, U.; NIKOLOVSKA, K. Slc26 Family of Anion Transporters in the Gastrointestinal Tract: Expression, Function, Regulation, and Role in Disease. In: **Comprehensive Physiology**. [s.l.] Wiley, 2019. p. 839–872.

SHANKS, G. D. Lethality of First Contact Dysentery Epidemics on Pacific Islands. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 2, p. 273–277, 3 ago. 2016.

SILVA, E. A. J. et al. Antibacterial and antiproliferative activities of the fresh leaf essential oil of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 4, p. 697–702, 2018.

SIMONETTI, E. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 1, p. 9–18, mar. 2016.

SNIFFEN, J. C. et al. Choosing an appropriate probiotic product for your patient: An evidence-based practical guide. **PLOS ONE**, v. 13, n. 12, p. e0209205, 26 dez. 2018.

SOARES-SILVA, L. H.; PROENÇA, C. E. B. A new species of *Psidium* L. (Myrtaceae) from southern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 158, n. 1, p. 51–54, set. 2008.

SOBRAL-SOUZA, C. E. et al. LC–MS analysis and cytoprotective effect against the mercurium and aluminium toxicity by bioactive products of *Psidium brownianum* Mart. ex DC. **Journal of Hazardous Materials**, v. 370, p. 54–62, maio 2019.

SOUSA, A. K. A. DE. **Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* Swartz**. [s.l.] Universidade Federal do Maranhão, 2016.

SOUZA, C. E. S. et al. Anti- Trypanosoma , anti- Leishmania and cytotoxic activities of natural products from *Psidium brownianum* Mart. ex DC. and *Psidium guajava* var. Pomifera analysed by LC–MS. **Acta Tropica**, v. 176, n. July, p. 380–384, dez. 2017.

SOUZA, G. C. DE et al. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 1, p. 135–143, jan. 2004.

SUROOWAN, S.; PYNEE, K. B.; MAHOMOODALLY, M. F. A comprehensive review of ethnopharmacologically important medicinal plant species from *Mauritius*. **South African Journal of Botany**, v. 122, p. 189–213, maio 2019.

TAKAO, L. K.; IMATOMI, M.; GUALTIERI, S. C. J. Antioxidant activity and phenolic content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna). **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 4, p. 948–952, 10 nov. 2015.

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

THIAGARAJAH, J. R. et al. Advances in Evaluation of Chronic Diarrhea in Infants. **Gastroenterology**, v. 154, n. 8, p. 2045- 2059.e6, 2018.

THIAGARAJAH, J. R.; DONOWITZ, M.; VERKMAN, A. S. Secretory diarrhoea: Mechanisms and emerging therapies. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 12, n. 8, p. 446–457, 2015.

THIAGARAJAH, J. R.; MARTIN, M. G. **Pathogenesis of acute diarrhea in children**. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/pathogenesis-of-acute-diarrhea-in-children?search=ThiagarajahJR, MartinMG. Pathogenesis of acute diarrhea in children&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H2800476765>. Acesso em: 21 jun. 2020.

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

TONG, K. et al. A 9-year evaluation of temporal trends in alosetron postmarketing safety under the risk management program. **Theraputic Advances in Gastroenterology**, v. 6, n. 5, p. 344–357, 2013.

TRADTRANTIP, L.; NAMKUNG, W.; VERKMAN, A. S. Crofelemer, an Antisecretory Antidiarrheal Proanthocyanidin Oligomer Extracted from *Croton lechleri*, Targets Two Distinct Intestinal Chloride Channels. **Molecular Pharmacology**, v. 77, n. 1, p. 69–78, jan. 2010.

TRIBBLE, D. R. Antibiotic Therapy for Acute Watery Diarrhea and Dysentery. **Military Medicine**, v. 182, n. S2, p. 17–25, set. 2017.

TULER, A. C. et al. Flora of Espírito santo: *Psidium* (Myrtaceae). **Rodriguesia**, v. 68, n. 5, p. 1791–1805, 2017.

TUNARU, S. et al. Castor oil induces laxation and uterus contraction via ricinoleic acid activating prostaglandin EP3 receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 23, p. 9179–9184, 5 jun. 2012.

URIBE-BELTRÁN, M. DE J. et al. High prevalence of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates from children with and without diarrhoea and their susceptibility to the antibacterial activity of extracts/fractions of fruits native to Mexico. **Journal of Medical Microbiology**, v. 66, n. 7, p. 972–980, 1 jul. 2017.

VAN SEBILLE, Y. Z. A. et al. Dacomitinib-induced diarrhea: Targeting chloride secretion with crofelemer. **International Journal of Cancer**, v. 142, n. 2, p. 369–380, 15 jan. 2018.

VASCONCELOS, A. G. et al. Lycopene rich extract from red guava (*Psidium guajava* L.) displays anti-inflammatory and antioxidant profile by reducing suggestive hallmarks of acute inflammatory response in mice. **Food Research International**, v. 99, n. 2, p. 959–968, set. 2017a.

VASCONCELOS, T. N. C. et al. 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, 2017b.

VERA-MARÍN, B.; SÁNCHEZ-SÁENZ, M. Plantas medicinales y predictibilidad de uso en algunas veredas del corregimiento de San Cristóbal (Antioquia), Colombia Medicinal plants and predictability of use in some villages of San Cristobal Township (Antioquia), Colombia. **Sáenz Actual Biol**, v. 38, n. 105, p. 167–180, 2016.

VINAYAGAM, R. et al. Guava leaf inhibits hepatic gluconeogenesis and increases glycogen synthesis via AMPK/ACC signaling pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 103, n. April, p. 1012–1017, 2018.

WALLEY, T.; MILSON, D. Loperamide related toxic megacolon in *Clostridium difficile* colitis. **Postgraduate Medical Journal**, v. 66, n. 777, p. 582–582, 1 jul. 1990.

WATSON, W. C. et al. The Absorption and Excretion of Castor Oil in Man. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 15, n. 1, p. 183–188, set. 1963.

WCSP. **Psidium in World Checklist of Selected Plant Families (WCSP)**. Disponível em: <https://wcsp.science.kew.org/qsearch.do>. Acesso em: 20 mar. 2020.

WEI, L.; LI, Z.; CHEN, B. [Clinical study on treatment of infantile rotaviral enteritis with *Psidium guajava* L]. **Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi = Chinese journal of integrated traditional and Western medicine**, v. 20, n. 12, p. 893–5, dez. 2000.

WEIL, A. A.; BECKER, R. L.; HARRIS, J. B. *Vibrio cholerae* at the Intersection of Immunity and the Microbiome. **mSphere**, v. 4, n. 6, 27 nov. 2019.

WEINBERG, L. et al. Plasma-Lyte 148: A clinical review. **World Journal of Critical Care Medicine**, v. 5, n. 4, p. 235, 2016.

WHO. **Drinking-water**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>. Acesso em: 17 jun. 2020a.

WHO. **Sanitation**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sanitation>. Acesso em: 17 jun. 2020b.

WHO, W. H. O. **Diarrhoeal disease**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>. Acesso em: 16 jun. 2020.

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

WU, P. E.; JUURLINK, D. N. Clinical Review: Loperamide Toxicity. **Annals of Emergency Medicine**, v. 70, n. 2, p. 245–252, ago. 2017.

YAN, J. et al. Acupuncture plus Chinese Herbal Medicine for Irritable Bowel Syndrome with Diarrhea: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, p. 1–16, 14 abr. 2019.

YAZAR, A. S.; GUVEN, S.; DINLEYICI, E. C. Effects of zinc or synbiotic on the duration of diarrhea in children with acute infectious diarrhea. **The Turkish Journal of Gastroenterology**, v. 27, n. 6, p. 537–540, 12 maio 2016.

YU, B. et al. Role of Quercetin in Modulating Chloride Transport in the Intestine. **Frontiers in Physiology**, v. 7, n. 549, p. 1–12, 23 nov. 2016.

ZHAO, S.-S. et al. Antidiarrheal effect of bioactivity-guided fractions and bioactive components of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 30, n. 7, p. e13364, jul. 2018.

ZHENG, Y. et al. Efficacy and safety of 5-hydroxytryptamine 3 receptor antagonists in irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **PLOS ONE**, v. 12, n. 3, p. e0172846, 14 mar. 2017.

ZIMMER, K.-P. et al. Endocytosis in enterocytes. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v. 166, n. 7–8, p. 205–210, 18 maio 2016.

ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DE USO ANIMAL

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

Recife, 25 de setembro de 2019

Ofício nº 54/19

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Ivone Antônia de Souza**
Departamento de Antibioticos
Universidade Federal de Pernambuco
Processo **nº 0091/2019**

Certificamos que a proposta intitulada **"Avaliação fitoquímica e antidiarreica do extrato hidroetanólico de folhas de *Psidium guineense* Swartz".** registrado com o **nº 0091/2019** sob a responsabilidade de **Prof. Ivone Antônia de Souza** o 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 24/09/2019

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Agosto de 2019 a julho 2020
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogenicos
Nº de animais	280
Peso/Idade	25-30g/ 08 semanas
Sexo	Femea (12) Macho (216)
Origem: Biotério de Criação	Bioterio do Departamento de Antibioticos UFPE.
Destino: Biotério de Experimentação	Bioterio do Departamento de Antibioticos da UFPE.

Atenciosamente,

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

ANEXO B – CARTA DE ANUENCIA DA INSTITUIÇÃO

Departamento de Antibióticos

UFPE

CARTA DE ANUÊNCIA DA INSTITUIÇÃO

Declaramos para os devidos fins que aceitamos o desenvolvimento do projeto de pesquisa intitulado "Avaliação Fitoquímica e Antidiarreica do Extrato Hidroetanólico de Folhas de *Psidium guineense* Swartz", do aluno de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Celso Rodrigues de Lira, o qual está sob orientação da Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza, disponibilizando a infraestrutura do Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental do Departamento de Antibióticos para o desenvolvimento do projeto.

A aceitação está condicionada ao cumprimento do pesquisador aos requisitos do Comitê de Ética de Uso Animal e suas complementares, comprometendo-se a utilizar os dados coletados, exclusivamente para os fins da pesquisa.

Recife, 02 de setembro de 2019.

Profª Dra. Ivone Antônia de Souza
Prof. Pós-Graduação Farmacêuticas PPGCF/UFPE
SIAPE: 1139537
Vice-Coordenadora

Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza
Responsável

Profa. Dra. Ana Maria Souto Maior
Chefe do Departamento de Antibióticos

Departamento de Antibióticos - Centro de Biociências - Universidade Federal de Pernambuco
Rua Professor Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50.70-520, Recife-PE, Brasil.
Telefone: +55 81 2126 8347 / +55 81 2126 8866

ANEXO C – IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DA ESPÉCIE ESTUDADA

Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária — PERNAMBUCO GOVERNO DO ESTADO

HERBÁRIO IPA – DÁRDANO DE ANDRADE LIMA
FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

FIB N° 61/2019

	N° de Tombo	Nome popular	Família	Nome Científico	Identificada por
1	**93536**	Araçá	Myrtaceae	*Psidium guineense* Sw.	F. Gallindo

Drª. Rita de Cássia Pereira
Curadora do Herbário IPA

Consulta: Celso Rodrigues de Lira tel.: 81 - 996576727
E mail: celsolira07@gmail.com
Coletor: o mesmo.
Data da coleta: 07/07/2019.
Data da entrada no Herbário IPA: 08/07/2019.
Procedência: PE – Paulista – Estrada velha da Mirueira. Na borda da mata, às margens da rodovia Estrada do Frio.
Determinada em: 19/07/2019.

Obs.: Material botânico em estudo dissertação de Mestrado PPG em Ciências Farmacêuticas, no Dept° de Antibióticos da UFPE, sob a orientação da Professora Dra. Ivone Antônia de Souza.

Resultado encaminhado por e mail: celsolira07@gmail.com em 06.08.2019.

Instituto Agronômico de Pernambuco - IPA
Vinculado à Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária
Av. Gal. San Martin, 1371 – Bongi – 50761-000 – Recife – PE – C.P. 1022
CNPJ 10.912.293/0001-37 – PABX: (81) 3184-7200 – Fax: (81) 3184-7211
Home Page: www.ipa.br / E-mail: ipa@ipa.br

IPA – 77 anos semeando conhecimento

ANEXO D – EXSICATA DA ESPÉCIE ESTUDADA