

UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL COM ÊNFASE EM
PRODUTOS BIOATIVOS

WELLINGTON GIDEÃO MACHADO DE LIMA

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA APÓS ADMINISTRAÇÃO
CRÔNICA DO EXTRATO SECO DA CASCA DE *PLINIA CAULIFLORA* EM RATOS
WISTAR**

Umuarama
2026

WELLINGTON GIDEÃO MACHADO DE LIMA

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA APÓS ADMINISTRAÇÃO
CRÔNICA DO EXTRATO SECO DA CASCA DE *PLINIA CAULIFLORA* EM RATOS
WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com área de concentração em Saúde Única.

Orientação: Dr. Salviano Tramontin Bellettini

Ficha Catalográfica

L732a Lima, Wellington Gideão Machado de.

Avaliação hematológica e bioquímica após administração crônica do extrato seco da casca de *Plinia cauliflora* em ratos wistar / Wellington Gideão Machado de Lima. – Umuarama: Universidade Paranaense – UNIPAR, 2026.

56 f.

Orientador: Dr. Salviano Tramontin Bellettini.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense – UNIPAR.

1. Jabuticaba. 2. Toxicologia. 3. Extrato vegetal. 4. Toxicidade crônica. 5. Hematologia. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 583.765

O presente trabalho foi realizado no Laboratório Biotério de Pesquisa Pré-Clínica de Produtos Naturais e Bioativos da Universidade Paranaense (UNIPAR), do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense e na Unidade de Umuarama da Universidade Paranaense como requisito para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – Área de Concentração Saúde Única, sob orientação do Prof. Dr. Salviano Tramontin Bellettini

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA APÓS ADMINISTRAÇÃO
CRÔNICA DO EXTRATO SECO DA CASCA DE *PLINIA CAULIFLORA* EM RATOS
WISTAR**

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto às agências e órgãos de fomento à pesquisa abaixo relacionadas:

- 1 CAPES: Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior
- 2 CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

WELLINGTON GIDEÃO

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA APÓS ADMINISTRAÇÃO
CRÔNICA DO EXTRATO SECO DA CASCA DE *PLINIA CAULIFLORA* EM RATOS
WISTAR**

Trabalho de conclusão do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos aprovado como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos pela Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Dr. Salviano Tramontin Bellettini

Doutora em Ciência Animal – Universidade Paranaense - UNIPAR
Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR (orientador)

Dr. Marcos Vinícius de Souza

Doutorado em Ciências Veterinárias - Universidade Federal de Uberlândia – UFU
Docente do Centro Universitário UNIFACIG

Dr. André Giarola Boscarato

Doutor em Ciência Animal – Universidade Paranaense - UNIPAR
Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR

Umuarama, 21 de agosto de 2026.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, expresso minha mais profunda gratidão ao meu orientador, Professor Doutor Salviano Tramontin Bellettini, por sua dedicação, paciência e por compartilhar comigo seu vasto conhecimento ao longo desta jornada. Sua orientação firme, foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu crescimento acadêmico e pessoal. Agradeço por acreditar no meu potencial e por me inspirar a buscar sempre a excelência em tudo o que faço.

Aos meus amados pais, deixo meu mais sincero agradecimento. Foram vocês que me ensinaram o valor do esforço, da honestidade e da perseverança. Cada conquista desta caminhada é, antes de tudo, um reflexo do amor, das renúncias e do exemplo que vocês me deram ao longo da vida.

Por fim, agradeço a Deus, fonte de toda sabedoria e força. Foi Ele quem me sustentou nos momentos de incerteza, me deu serenidade nas dificuldades e iluminou meu caminho em cada etapa desta jornada. Sem a Sua presença constante, nada disso teria sido possível. A Ele entrego toda honra, glória e gratidão por tornar real este grande sonho.

“O sucesso da pesquisa científica nasce da curiosidade, da disciplina e da persistência diante dos desafios.” — Marie Curie, 1903.

LIMA, Wellington Gideão Machado. **Avaliação hematológica e bioquímica após administração crônica do extrato seco da casca de *Plinia Cauliflora* em ratos Wistar.** Orientador: Salviano Tramontin Bellettini. 2026. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2026.

RESUMO

Plinia cauliflora (jabuticaba) é uma espécie nativa da Mata Atlântica cujas cascas apresentam compostos fenólicos e outros metabólitos secundários associados a atividades biológicas, incluindo efeitos antioxidantes. Entretanto, a avaliação da segurança após exposição prolongada é necessária para subsidiar o uso de preparações derivadas dessa espécie. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da administração oral crônica do extrato seco da casca de *P. cauliflora* sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratos Wistar. Foram utilizados 64 ratos *Rattus norvegicus*, sendo 32 machos e 32 fêmeas, distribuídos aleatoriamente, por sexo, em quatro grupos ($n = 8/\text{sexo}$): controle e grupos tratados com 3, 30 ou 300 mg/kg do extrato, administrado diariamente por gavagem durante 180 dias. Ao final do período experimental, foram avaliados parâmetros hematológicos e bioquímicos relacionados às funções renal e hepática, além do perfil lipídico. De modo geral, não foram observadas alterações hematológicas relevantes nas fêmeas. Nos machos, foi identificada redução significativa na contagem de leucócitos no grupo tratado com 300 mg/kg, sem alterações concomitantes significativas na contagem diferencial. Entre os parâmetros bioquímicos, as fêmeas apresentaram alterações significativas nos valores de creatinina, ureia e ALT, enquanto os machos apresentaram alterações nos valores de AST e ALT. Nas fêmeas, observaram-se aumentos de creatinina nas doses de 3 e 30 mg/kg e reduções de ureia nas doses de 30 e 300 mg/kg, além de redução de ALT na maior dose. Nos machos, observou-se redução de ALT com o aumento da dose, enquanto a dose de 300 mg/kg promoveu aumento de AST. As alterações observadas não apresentaram, de maneira geral, padrão dose-resposta consistente e não foram acompanhadas por alterações hematológicas generalizadas ou por evidências bioquímicas de comprometimento orgânico progressivo. Nas condições experimentais avaliadas, a administração diária do extrato seco da casca de *P. cauliflora* por 180 dias apresentou perfil de tolerabilidade hematológica e bioquímica favorável, sem evidências de toxicidade sistêmica relevante nos parâmetros avaliados. Estudos adicionais, incluindo avaliação histopatológica e marcadores específicos de função orgânica, são necessários para ampliar a caracterização do perfil toxicológico da espécie.

Palavras-chave: Jabuticaba, Toxicologia, Extrato vegetal, Toxicidade crônica, Hematologia.

LIMA, Wellington Gideão Machado. Investigation of the Systemic Hematological and biochemical evaluation following chronic administration of *Plinia cauliflora* bark dry extract in Wistar rats. Advisor: Salviano Tramontin Bellettini. 2026. 56 p. Dissertation (master's degree in animal science with Emphasis on Bioactive Products) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2026.

ABSTRACT

Plinia cauliflora (jabuticaba) is a species native to the Atlantic Forest whose fruit peel contains phenolic compounds and other secondary metabolites associated with biological activities, including antioxidant effects. However, safety assessment following prolonged exposure is necessary to support the use of preparations derived from this species. This study aimed to evaluate the effects of chronic oral administration of dry *P. cauliflora* peel extract on hematological and biochemical parameters in Wistar rats. A total of 64 *Rattus norvegicus* rats, comprising 32 males and 32 females, were randomly allocated by sex into four groups ($n = 8/\text{sex}$): control and groups treated with 3, 30, or 300 mg/kg of the extract, administered daily by gavage for 180 days. At the end of the experimental period, hematological and biochemical parameters related to renal and hepatic function, as well as lipid profile, were evaluated. Overall, no relevant hematological changes were observed in females. In males, a significant reduction in total leukocyte count was observed in the 300 mg/kg group, without concomitant significant changes in the differential leukocyte count. Regarding biochemical parameters, females showed significant changes in creatinine, urea, and ALT levels, whereas males showed changes in AST and ALT levels. In females, increased creatinine levels were observed at doses of 3 and 30 mg/kg, together with reduced urea levels at doses of 30 and 300 mg/kg and reduced ALT levels at the highest dose. In males, ALT levels decreased with increasing doses, whereas the 300 mg/kg dose was associated with increased AST levels. Overall, these changes did not show a consistent dose-response pattern and were not accompanied by generalized hematological alterations or biochemical evidence of progressive organ dysfunction. Under the experimental conditions evaluated, daily administration of dry *P. cauliflora* peel extract for 180 days showed a favorable hematological and biochemical tolerability profile, with no evidence of relevant systemic toxicity in the parameters assessed. Further studies, including histopathological evaluation and specific markers of organ function, are warranted to further characterize the toxicological profile of this species.

Keywords: Jabuticaba, Toxicology, Plant extract, Chronic toxicity, Hematology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de literatura - Investigação dos efeitos sistêmicos da administração crônica do extrato de *Plinia cauliflora* em *Ratos wistar*.

Figura 1 - Frutos de *Plinia cauliflora* (jabuticaba), evidenciando as características morfológicas externas do fruto, incluindo o formato globoso, a coloração predominantemente roxo-escura a negra da casca quando maduro e a superfície lisa e brilhante. A casca do fruto maduro, caracterizada pela intensa pigmentação, foi a parte vegetal utilizada para a obtenção do extrato empregado no presente estudo..... 21

LISTA DE TABELAS

Artigo - Avaliação Dos Parâmetros Hematológicos E Bioquímicos De Ratos Submetidos Ao Uso Crônico De *Plinia Cauliflora*.

Tabela 1 –	Parâmetros bioquímicos de fêmeas Wistar. Grupos controle e tratados com diferentes doses de <i>Plinia cauliflora</i> (3, 30 e 300 mg/kg).....	35
Tabela 2 –	Parâmetros bioquímicos de machos Wistar. Grupos controle e tratados com diferentes doses de <i>Plinia cauliflora</i> (3, 30 e 300 mg/kg).....	36
Tabela 3 –	Hemograma de fêmeas Wistar. Grupos controle e tratados com diferentes doses de <i>Plinia cauliflora</i> (3, 30 e 300 mg/kg).....	37
Tabela 4 –	Hemograma de machos Wistar. Grupos controle e tratados com diferentes doses de <i>Plinia cauliflora</i> (3, 30 e 300 mg/kg).....	38

LISTA DE SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ALT – Alanina Aminotransferase

AST – Aspartato Aminotransferase

BD – Becton Dickinson

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CEPEEA – Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal

CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

FA – Fosfatase Alcalina

GGT – Gama Glutamil Transferase

HCM – Hemoglobina Corpuscular Média

HDL – *High Density Lipoprotein*

ISSN – *International Standard Serial Number*

K2-EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-acético Dipotássico

LDL – *Low Density Lipoprotein*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PNPIC – Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

PNPMF – Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

SISGEN – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

UNIPAR – Universidade Paranaense

USA – *United States of America*

VCM – Volume Corpuscular Médio

VLDL – *Very Low Density Lipoprotein*

LISTA DE SÍMBOLOS

°C – Graus Celsius

% – Porcentagem

± – Mais ou menos

α – Alfa

β – Beta

< – Menor que

= – Igual a

g – Grama

g/dL – Gramas por decilitro

kg – Quilograma

km² – Quilômetros quadrados

mL – Mililitro

mg – Miligrama

mg/dL – Miligramas por decilitro

mg/kg – Miligramas por quilograma

m/mm³ – Milhões por milímetro cúbico

n – Número amostral

O₂⁻ – Ânion superóxido

p – Nível de significância estatística

pg – Picograma

U/L – Unidades por litro

SUMÁRIO

1	CAPITULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
1.1	Introdução.....	16
1.2	Revisão da Literatura.....	17
1.2.1	Fitoquímica e uso terapêutico da <i>P. cauliflora</i>.....	20
1.2.2	Família Myrtaceae.....	21
1.2.3	Conclusão.....	22
1.3	Referências.....	22
1.4	Objetivo.....	25
2	CAPITULO 2 – ARTIGO.....	26
	ARTIGO - AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E	27
	BIOQUÍMICOS DE RATOS SUBMETIDOS AO USO CRÔNICO DE	
	<i>Plinia cauliflora</i>.....	
	RESUMO.....	28
	ABSTRACT.....	29
2.1	Introdução	30
2.2	Metodologia.....	31
2.2.1	Animais.....	31
2.2.2	Extrato de <i>P. cauliflora</i>	32
2.2.3	Ética.....	32
2.2.4	Avaliação hematológica.....	32
2.2.4.1	Hemograma.....	32
2.2.4.2	Análises Bioquímicas.....	33
2.2.5	Eutanásia.....	33
2.2.6	Análise estatística.....	34

2.3	Resultados.....	34
2.3.1	Análises Bioquímicas.....	34
2.3.2	Hemograma.....	37
2.4	Discussão.....	39
2.5	Conclusão.....	43
2.6	Referências.....	44
3	CONCLUSÃO	46
4	ANEXOS.....	47
	ANEXO 1 - Normas de Publicação Revista <i>Regulatory Toxicology and</i>	48
	<i>Pharmacology</i>	

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

**POTENCIAL BIOATIVO DE COMPOSTOS NATURAIS PRESENTES EM
*PLINIA CAULIFLORA***

O capítulo 1 foi editado de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT.

POTENCIAL BIOATIVO DE COMPOSTOS NATURAIS PRESENTES EM *PLINIA CAULIFLORA*

1.1 Introdução

Os produtos naturais têm sido amplamente utilizados ao longo da história, tanto como fonte de alimento, quanto como matéria-prima para a produção de medicamentos. O uso terapêutico dessas substâncias vem crescendo mundialmente, despertando crescente interesse da indústria farmacêutica por plantas tradicionalmente empregadas na medicina popular, com vistas ao desenvolvimento de fitoterápicos e suplementos (Calixto, 2000). As plantas frutíferas e medicinais foram, e continuam sendo, amplamente empregadas em diferentes regiões do mundo, em razão de seu potencial econômico e de suas propriedades terapêuticas (Petrovska, 2012). Entretanto, o fato de serem de origem natural não garante segurança ou benefícios à saúde. Algumas espécies vegetais contêm compostos potencialmente tóxicos ao organismo, tornando indispensáveis estudos científicos que determinem seus níveis de toxicidade, o tempo seguro de uso, as doses adequadas e a possibilidade de interação com outros medicamentos (Bonil; Bueno, 2017).

Uma das espécies vegetais que tem despertado crescente interesse científico é a *Plinia cauliflora*, popularmente conhecida como jabuticaba. Pertencente à família Myrtaceae, essa espécie encontra-se amplamente distribuída no território brasileiro, sendo nativa do bioma mata atlântica (Citadin *et al.*, 2010). Seus frutos podem ser consumidos *in natura* ou utilizados na elaboração de diversos produtos, como licores, vinagres, vinhos, sucos e geleias (Inada; Oliveira; Revorêdo, 2015).

Diversos estudos têm investigado a eficácia terapêutica da *P. cauliflora*. demonstrou que o extrato das cascas dessa espécie apresenta relevante atividade antioxidante e capacidade de inibição da acetilcolinesterase, o que amplia as perspectivas de aplicação nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia. O autor também apontou a casca da jabuticaba como potencial candidata a investigações no contexto de prevenção do câncer. Ademais, verificou-se que o extrato não promoveu alterações significativas nas funções respiratória, cardiovascular ou no sistema nervoso central (Palozi *et al.*, 2020). De acordo com Palozi *et al.* (2020), a utilização de *P. cauliflora* não ocasionou mudanças na temperatura corporal, na atividade elétrica cardíaca ou na frequência respiratória, tampouco interferiu em parâmetros bioquímicos, hematológicos, gasométricos ou na regulação endócrina. Adicionalmente, Romão *et al.* (2019) avaliaram os efeitos cardioprotetores de

extratos de *P. cauliflora* em coelhos com insuficiência cardíaca e observaram que o tratamento preveniu a cardiotoxicidade induzida por doxorubicina, reduziu os danos decorrentes da formação de espécies reativas de oxigênio e demonstrou expressivo potencial como terapia adjuvante na prevenção da cardiotoxicidade associada a esse quimioterápico.

Entretanto, a maioria das investigações foi conduzida com períodos relativamente curtos de administração do extrato, o que limita conclusões acerca de sua segurança em uso prolongado. Considerando essa lacuna, torna-se fundamental avaliar os possíveis efeitos decorrentes da exposição crônica. Nesse contexto, nosso grupo propôs investigar as repercussões da administração diária de *P. cauliflora* ao longo de 180 dias, a fim de ampliar o conhecimento sobre sua segurança e seus impactos fisiológicos em longo prazo.

1.2 Revisão da Literatura

O Brasil abriga a maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, concentrando parcela expressiva da biodiversidade mundial. Nesse contexto, a química de produtos naturais consolidou-se como uma das áreas de pesquisa mais tradicionais no país (Pinto *et al.*, 2002). Durante a segunda guerra mundial, investigações voltadas às estruturas químicas e às moléculas bioativas, especialmente no âmbito militar, impulsionaram avanços significativos no tratamento de diversas enfermidades (Viegas Junior; Bolzani; Barreiro, 2006). Entre os benefícios atribuídos aos compostos bioativos, destacam-se evidências científicas que demonstram sua eficácia no combate a diferentes doenças e na neutralização de radicais livres. Nesse cenário, as frutas tropicais merecem especial atenção, por serem reconhecidas como importantes fontes de substâncias associadas à prevenção de enfermidades e à promoção da longevidade (Meira *et al.*, 2016).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em razão da pobreza e do acesso limitado aos serviços de saúde convencionais, aproximadamente 65% a 80% da população que vive em países em desenvolvimento depende quase exclusivamente de produtos naturais para a atenção primária à saúde. Nesse contexto, observa-se um interesse crescente da indústria farmacêutica por espécies vegetais tradicionalmente utilizadas na medicina popular, com o objetivo de desenvolver fitoterápicos e novos produtos terapêuticos (Calixto, 2000).

Desse modo, as pesquisas com produtos naturais, além de valorizarem o conhecimento tradicional, contribuem para o desenvolvimento de novos fármacos ao fornecerem bases científicas para sua prospecção, bem como para o fortalecimento da indústria farmacêutica

nacional (Francischi, 2005). Adicionalmente, os fitoterápicos tendem a apresentar ampla aceitação pelas comunidades, uma vez que integram um repertório terapêutico tradicional, construído e transmitido culturalmente ao longo de gerações (Farnsworth, 1985).

O Brasil apresenta ampla diversidade de plantas medicinais distribuídas em todo o seu território, reflexo de sua expressiva biodiversidade. Em 2006, foi instituída a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, por meio do Decreto nº 5.813, com o propósito de organizar e fomentar o setor. Posteriormente, suas diretrizes foram detalhadas no Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, estabelecido pela Portaria Interministerial nº 2.960/2008. Essa política tem como objetivo “garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (BRASIL, 2006).

Os profissionais da saúde precisam manter atualização contínua quanto ao uso e às evidências científicas relacionadas às plantas medicinais. Nesse contexto, um estudo realizado no estado do Paraná com profissionais da área demonstrou que, embora a maioria reconheça a importância dessas terapias e afirme que as utilizaria como adjuvantes no tratamento de doenças, apenas uma parcela reduzida se considerava devidamente capacitada e apta para prescrevê-las (Bruning, 2012).

Zeni *et al.* (2017) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o uso de remédios caseiros na Atenção Primária à Saúde no município de Blumenau, bem como identificar as variáveis que influenciam a escolha desse tipo de terapia pelos usuários. Os resultados demonstraram que 21,8% dos entrevistados relataram utilizar remédios caseiros, sendo as plantas medicinais as mais mencionadas (96%), totalizando a citação de 55 espécies diferentes. Entretanto, muitas dessas plantas são empregadas pela população sem que haja validação científica quanto à sua eficácia, segurança, mecanismos de ação e possíveis efeitos toxicológicos. Dessa forma, torna-se fundamental disponibilizar informações claras e acessíveis à população, além de incentivar a ampliação de pesquisas que fundamentem o uso seguro dessas terapias.

Atualmente, a prospecção de fontes naturais de compostos antioxidantes, bem como o desenvolvimento de métodos eficientes para sua extração, constitui um campo de intensa investigação científica, estimulando investimentos das indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica (Lima, 2009). A atividade antioxidante presente em alimentos como frutas,

vegetais, vinhos e chás tem sido associada à redução do risco de câncer e de doenças cardiovasculares, sobretudo em razão de sua capacidade de neutralizar radicais livres. Esse efeito protetor está relacionado à presença de substâncias como o α -tocoferol (vitamina E), o β -caroteno (pró-vitamina A), o ácido ascórbico (vitamina C) e compostos fenólicos, incluindo flavonoides e poliflavonoides (Rezende, 2010).

Entre os principais agentes fitoquímicos, destacam-se os terpenos, os alcaloides e os compostos fenólicos, também denominados polifenóis, cujo modelo estrutural básico apresenta um grupo fenol, constituído por um anel aromático hidroxilado (Nascimento, 2010). Os compostos fenólicos exercem importante influência nas características sensoriais e tecnológicas dos alimentos, podendo conferir amargor, adstringência, cor, sabor, odor e maior estabilidade oxidativa aos produtos (Naczka; Shahidi, 2004). Os polifenóis são classificados em diferentes grupos, dentre os quais se destacam os ácidos fenólicos, os flavonoides e os taninos (Nascimento, 2010).

A eficiência da extração desses compostos a partir de matrizes vegetais depende de diversos fatores, incluindo sua natureza química, o método de extração utilizado, o tamanho das partículas da amostra, o tempo e as condições de armazenamento, além da presença de substâncias interferentes (Naczka; Shahidi, 2004). As antocianinas, pertencentes à classe dos flavonoides, são pigmentos responsáveis pela coloração característica de muitas flores e frutas (Romão *et al.*, 2019).

Além de contribuírem para a palatabilidade dos alimentos, apresentam propriedades antimutagênicas e quimiopreventivas, com potencial influência sobre doenças como câncer, diabetes tipo 2 e doença de Alzheimer, o que torna os extratos ricos nesses compostos promissores para aplicações terapêuticas. Os taninos, por sua vez, são polifenóis encontrados em diversas frutas, como uva, jabuticaba e romã, sendo responsáveis pelo sabor amargo e adstringente presente principalmente nas cascas, sementes e caules de frutos ainda verdes (Borges; Conceição; Silveira, 2014).

1.2.1 Fitoquímica e uso terapêutico da *P. cauliflora*

Estudos indicam que os principais efeitos terapêuticos dos frutos de *P. cauliflora* estão relacionados à sua casca, considerada uma importante fonte de antocianinas e taninos (Pitz *et al.*, 2016; Cavalcanti *et al.*, 2011). Entre os constituintes químicos predominantes nos

preparados obtidos dessa espécie, destacam-se os depsídeos, os flavonoides e os taninos hidrolisáveis. No Brasil, seu uso medicinal tradicional está associado, sobretudo, ao tratamento de distúrbios gastrointestinais, especialmente diarreia (Gasparotto Junior; Souza; Livero, 2019).

Em seus estudos, Palozi *et al.* (2020) observaram que a atividade antioxidante da espécie *P. cauliflora*, atribuída principalmente às antocianinas e aos taninos presentes na casca do fruto, apresentou efeitos cardioprotetores em ensaios de curta duração. Esses efeitos foram evidenciados pela redução de marcadores inflamatórios, como a proteína C-reativa, pela ação sequestradora de espécies reativas de oxigênio, especialmente o ânion superóxido (O_2^-), além da manutenção de parâmetros hematológicos e dos níveis de oxigenação avaliados por meio da gasometria.

As antocianinas, integrantes da classe dos flavonoides, apresentam elevada relevância biológica, uma vez que esses pigmentos fenólicos estão associados a efeitos preventivos contra diferentes enfermidades. Evidências científicas indicam sua atuação na redução do risco de câncer, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, além de demonstrarem atividade antitumoral (Benvenuti *et al.*, 2021; Castangia *et al.*, 2021; Souza *et al.*, 2022).

Os taninos são classificados em duas principais categorias: condensados (proantocianidinas) e hidrolisáveis (galotaninos e elagitaninos) (Abe, 2007). Esses compostos apresentam diversos efeitos benéficos à saúde, incluindo potente atividade antioxidante, ação preventiva contra o câncer, propriedades antimicrobianas e efeito cardioprotetor (Gu *et al.*, 2008). Embora seus benefícios sejam amplamente descritos, a caracterização dos taninos em estudos com frutos é fundamental, uma vez que esses compostos podem interagir com proteínas alimentares, formando complexos insolúveis. Essa interação pode resultar em redução da digestibilidade proteica e inibição enzimática, ocasionando possíveis efeitos adversos (Lima *et al.*, 2008). O ácido elágico e o ácido gálico são exemplos de taninos hidrolisáveis (Carvalho; Gosmann; Schenkel, 2002). Em estudo conduzido por Abe (2007) sobre o teor de ácido elágico em alimentos regionais brasileiros, foram identificadas concentrações significativas desse composto em frutas como jabuticaba, grumixama e cambuci, com níveis comparáveis ou até superiores aos encontrados em *berries*, grupo reconhecido pelo elevado potencial antioxidante.

Em razão da ampla diversidade de compostos químicos presentes em diferentes partes das plantas, como folhas, raízes e flores, e do crescente interesse da população pelo consumo de alimentos, cosméticos e produtos medicinais de origem natural, têm sido desenvolvidos e aprimorados novos processos para a obtenção de extratos vegetais e para a prospecção de

substâncias bioativas (Veggi, 2009). Segue abaixo imagem de Imagem de frutos de *P. cauliflora* (Figura 1).

Figura 1 - Frutos de *Plinia cauliflora* (jabuticaba), evidenciando as características morfológicas externas do fruto, incluindo o formato globoso, a coloração predominantemente roxo-escura a negra da casca quando maduro e a superfície lisa e brilhante. A casca do fruto maduro, caracterizada pela intensa pigmentação, foi a parte vegetal utilizada para a obtenção do extrato empregado no presente estudo.



Fonte: SÍTIO DA MATA. *Jabuticaba (P. cauliflora 2026)*.

1.2.2 Família Myrtaceae

Entre as diversas frutas nativas do Brasil, destacam-se aquelas pertencentes à família Myrtaceae (Meira *et al.*, 2016). Os frutos e as folhas das espécies dessa família são amplamente empregados na medicina tradicional, o que tem motivado numerosos estudos científicos voltados à comprovação de suas propriedades terapêuticas, especialmente em virtude da expressiva atividade antioxidante e do elevado teor de antocianinas observados em várias espécies (Borges; Conceição; Silveira, 2014; Dexheimer; Pozzobon, 2017). A família Myrtaceae figura entre as mais representativas da flora brasileira, compreendendo 23 gêneros e aproximadamente 1.000 espécies distribuídas em diferentes biomas, com destaque para a Floresta Atlântica, a Restinga e o Cerrado (Souza; Lorenzi, 2005).

Estudo conduzido com extratos e óleos essenciais de espécies da família Myrtaceae demonstrou uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo efeitos citotóxicos, antinociceptivos, anti-inflamatórios, analgésicos, antibacterianos, antifúngicos e antilarvais (Dexheimer; Pozzobon, 2017). A relevância econômica dessa família também é expressiva, evidenciada pelo uso de diferentes espécies em variados setores. Destacam-se a aplicação na indústria de especiarias, como o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), na indústria madeireira e na produção de papel, lenha, carvão vegetal e energia (*Eucalyptus* spp.), além do emprego na

indústria farmacêutica e cosmética, envolvendo espécies como *Pimenta racemosa*, *Melaleuca* spp., *Callistemon* e *Leptospermum* (Souza; Lorenzi, 2005).

Adicionalmente, a família Myrtaceae reúne diversas espécies frutíferas comestíveis amplamente conhecidas, entre elas a goiaba (*Psidium guajava*), a jabuticaba (*Plinia cauliflora*), a pitanga (*Eugenia uniflora*), a guabiroba (*Campomanesia* spp.), o araçá (*Psidium cattleianum*) e o cambuci (*Campomanesia phaea*) (Souza; Lorenzi, 2005).

1.2.3 Conclusão

A revisão da literatura demonstra que a *Plinia cauliflora*, pertencente à família *Myrtaceae*, apresenta elevado potencial bioativo, especialmente em razão da presença de compostos fenólicos como antocianinas e taninos, associados a efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e cardioprotetores. Embora os estudos indiquem benefícios terapêuticos relevantes, ainda existem lacunas quanto à segurança do uso prolongado, reforçando a necessidade de investigações pré-clínicas que avaliem os possíveis efeitos sistêmicos da administração crônica, a fim de garantir respaldo científico para seu uso seguro e racional como fitoterápico.

1.3 Referências

- ABE, L. T. **Ácido elágico em alimentos regionais brasileiros**. 2007. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- BONIL, L. N.; BUENO, S. M. Plantas Medicinais: Benefícios e malefícios. **Revista Científica UNILAGO [Internet]**, v. 1, p. 12, 2017.
- BORGES, L. L.; CONCEIÇÃO, E. C.; SILVEIRA, D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus. **Food Chemistry**. v. 153, p. 224-233, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-ppnpmf/politica-e-programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos>. Acesso em: 20 ago. 2019
- CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 179-189, 2000.
- CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. **Compostos fenólicos simples e heterosídeos**. In: SIMÕES, M. O. *et al.* Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. 4. ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da universidade UFRGS / UFSC, 2002. p. 443-459.

CAVALCANTI, R.N.; VEGGI, P.C.; MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction with a modifier of antioxidant compounds from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) byproducts: economic viability. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1672-1678, 2011.

CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jabuticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, 2010.

DEXHEIMER, G. M.; POZZOBON, A. Atividade biológica de plantas da família Myrtaceae: revisão sistemática de artigos entre 1989 e 2015. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 22, n. 2, p. 1-22, 2017.

FRANCISCHI, J. N. **A farmacologia em nossa vida**. 1. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2005.

GASPAROTTO JUNIOR, A.; SOUZA, P.; LIVERO, F. A. R. *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel: A comprehensive ethnopharmacological review of a genuinely Brazilian species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 245, p. 112169, 2019.

GU, H. *et al.* Structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp. **Food Research International**, v. 41, p. 208-217, 2008.

INADA, K. O. P. *et al.* Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422-433, 2015.

LIMA, A. J. B. **Caracterização e atividade antioxidante da jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]**. 2009. 159f. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

LIMA, A. J. B. *et al.* Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 58, n. 4, p. 416-421, 2008.

MEIRA, N. A. N. *et al.* Flavonoides e antocianinas em *Myrciaria cauliflora* (jabuticaba) visando à aplicabilidade cosmética. **Visão Acadêmica**, v. 17, n. 3, p. 50-65, 2016.

MEIRA, N. A. N. *et al.* Flavonoides e antocianinas em *Myrciaria cauliflora* (jabuticaba) visando à aplicabilidade cosmética. **Visão Acadêmica**, v. 17, n. 3, p. 50-65, 2016.

MENDONÇA DE ASSIS, P. *et al.* *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel: toxicological assays, biological activities, and elemental analysis of organic compounds. **Natural Product Research**, v. 35, n. 10, p. 1727-1731, 2021.

NASCIMENTO, K. S. **Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e propriedades físico-químicas de méis de *Apis Mellifera* do estado do Rio Grande do Sul**. 2010. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 2004.

PALOZI, R. A. C. *et al.* From general toxicology to DNA disruption: A safety assessment of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 258, p. 112916, 2020.

PETROVSKA, Biljana Bauer. Historical review of medicinal plants' usage. **Pharmacognosy Reviews**, v. 6, n. 11, p. 1, 2012.

PINTO A. C. *et al.* Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.

PITZ, H. S. *et al.* **Assessment of in vitro biological activities of anthocyanins-rich plant species based on *Plinia cauliflora* study model**. In: Protocols for In Vitro Cultures and Secondary Metabolite Analysis of Aromatic and Medicinal Plants, Second Edition. New York: Humana Press, 2016. p. 65-80.

REZENDE, L. C. **Avaliação da atividade antioxidante e composição química de seis frutas tropicais consumidas na Bahia**. 2010. 118f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

ROMÃO, P. V. M. *et al.* Cardioprotective effects of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel in a rabbit model of doxorubicin-induced heart failure. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 242, p. 112042, 2019.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.

VEGGI, P. C. **Obtenção de extratos vegetais por diferentes métodos de extração: estudo experimental e simulação dos processos**. 2009. 143f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

ZENI, A. L. B.; PARISOTTO, A. V.; MATTOS, G.; SANTA HELENA, E. T. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 8, p. 2703-2712, 2017.

1.4 Objetivo

Conduzir um estudo pré-clínico para avaliar a segurança do uso crônico do extrato seco da casca de *Plinia cauliflora*, administrado por gavagem durante 180 dias, por meio do monitoramento de parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos, a fim de identificar possíveis alterações relacionadas ao tratamento e contribuir para a caracterização do perfil toxicológico do extrato.

CAPÍTULO 2

ARTIGO

**INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS SISTÊMICOS DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA
DO EXTRATO DE *PLINIA CAULIFLORA* EM RATOS WISTAR**

Artigo editado de acordo com as normas de publicação Revista Regulatory Toxicology and Pharmacology – ISSN 0273-2300.

RESUMO

Plinia cauliflora (jabuticaba) é uma espécie nativa da Mata Atlântica cujas cascas apresentam compostos fenólicos e outros metabólitos secundários associados a atividades biológicas, incluindo efeitos antioxidantes. Entretanto, a avaliação da segurança após exposição prolongada é necessária para subsidiar o uso de preparações derivadas dessa espécie. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da administração oral crônica do extrato seco da casca de *P. cauliflora* sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratos Wistar. Foram utilizados 64 ratos *Rattus norvegicus*, sendo 32 machos e 32 fêmeas, distribuídos aleatoriamente, por sexo, em quatro grupos ($n = 8/\text{sexo}$): controle e grupos tratados com 3, 30 ou 300 mg/kg do extrato, administrado diariamente por gavagem durante 180 dias. Ao final do período experimental, foram avaliados parâmetros hematológicos e bioquímicos relacionados às funções renal e hepática, além do perfil lipídico. De modo geral, não foram observadas alterações hematológicas relevantes nas fêmeas. Nos machos, foi identificada redução significativa na contagem de leucócitos no grupo tratado com 300 mg/kg, sem alterações concomitantes significativas na contagem diferencial. Entre os parâmetros bioquímicos, as fêmeas apresentaram alterações significativas nos valores de creatinina, ureia e ALT, enquanto os machos apresentaram alterações nos valores de AST e ALT. Nas fêmeas, observaram-se aumentos de creatinina nas doses de 3 e 30 mg/kg e reduções de ureia nas doses de 30 e 300 mg/kg, além de redução de ALT na maior dose. Nos machos, observou-se redução de ALT com o aumento da dose, enquanto a dose de 300 mg/kg promoveu aumento de AST. As alterações observadas não apresentaram, de maneira geral, padrão dose-resposta consistente e não foram acompanhadas por alterações hematológicas generalizadas ou por evidências bioquímicas de comprometimento orgânico progressivo. Nas condições experimentais avaliadas, a administração diária do extrato seco da casca de *P. cauliflora* por 180 dias apresentou perfil de tolerabilidade hematológica e bioquímica favorável, sem evidências de toxicidade sistêmica relevante nos parâmetros avaliados. Estudos adicionais, incluindo avaliação histopatológica e marcadores específicos de função orgânica, são necessários para ampliar a caracterização do perfil toxicológico da espécie.

Palavras-chaves: Antioxidantes; Bioquímica; Fitoterapia; Hematologia; Jabuticaba.

ABSTRACT

Plinia cauliflora (jabuticaba) is a species native to the Atlantic Forest whose fruit peel contains phenolic compounds and other secondary metabolites associated with biological activities, including antioxidant effects. However, safety assessment following prolonged exposure is necessary to support the use of preparations derived from this species. This study aimed to evaluate the effects of chronic oral administration of dry *P. cauliflora* peel extract on hematological and biochemical parameters in Wistar rats. A total of 64 *Rattus norvegicus* rats, comprising 32 males and 32 females, were randomly allocated by sex into four groups (n = 8/sex): control and groups treated with 3, 30, or 300 mg/kg of the extract, administered daily by gavage for 180 days. At the end of the experimental period, hematological and biochemical parameters related to renal and hepatic function, as well as lipid profile, were evaluated. Overall, no relevant hematological changes were observed in females. In males, a significant reduction in total leukocyte count was observed in the 300 mg/kg group, without concomitant significant changes in the differential leukocyte count. Regarding biochemical parameters, females showed significant changes in creatinine, urea, and ALT levels, whereas males showed changes in AST and ALT levels. In females, increased creatinine levels were observed at doses of 3 and 30 mg/kg, together with reduced urea levels at doses of 30 and 300 mg/kg and reduced ALT levels at the highest dose. In males, ALT levels decreased with increasing doses, whereas the 300 mg/kg dose was associated with increased AST levels. Overall, these changes did not show a consistent dose-response pattern and were not accompanied by generalized hematological alterations or biochemical evidence of progressive organ dysfunction. Under the experimental conditions evaluated, daily administration of dry *P. cauliflora* peel extract for 180 days showed a favorable hematological and biochemical tolerability profile, with no evidence of relevant systemic toxicity in the parameters assessed. Further studies, including histopathological evaluation and specific markers of organ function, are warranted to further characterize the toxicological profile of this species.

Keywords: *Plinia cauliflora*; jabuticaba; hematological parameters; biochemical parameters; toxicity; Wistar rats.

2.1 Introdução

A utilização de produtos naturais como terapias alternativas vem de tempos primórdios, o conhecimento empírico relacionado a estes está atrelado a diversas áreas do conhecimento da medicina moderna, desde a sua utilização *in natura*, até servido como base para a produção de diversos medicamentos (Bernardini *et al.*, 2018; Calixto, 2019; Dias; Urban; Roessner, 2012).

Os produtos naturais são hoje vistos como compostos derivados de fontes naturais, podendo ser de plantas, animais, seres marinhos, ou até micro-organismos (Bernardini *et al.*, 2018); com base nestes produtos a indústria farmacêutica produz inúmeras drogas, sendo elas tanto com o produto natural extraído em sua forma mais básica, como os chás liofilizados e infusões, quanto de forma mais elaborada, como a extração de moléculas de metabólitos secundários para a produção de um medicamento (Calixto, 2019; Dias; Urban; Roessner, 2012; Newman; Cragg, 2020).

A popularização dos produtos naturais vem crescendo a cada dia. Nesse contexto, com o objetivo de ampliar e estimular o acesso seguro e responsável às práticas integrativas e complementares e ao uso de plantas medicinais e fitoterápicos no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), foram instituídas a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF). A PNPIC tem como finalidade ampliar as opções terapêuticas oferecidas pelo SUS, promovendo práticas integrativas e complementares de forma segura, eficaz e com base em conhecimentos tradicionais e evidências científicas. Já a PNPMF busca garantir o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, além de promover o desenvolvimento de pesquisas, a conservação da biodiversidade e o fortalecimento da cadeia produtiva relacionada a esses recursos naturais (Brasil, 2006a,b).

Um dos incentivos às pesquisas relacionadas aos produtos naturais é a grande biodiversidade brasileira e seus componentes ainda não estudados ou subexplorados, dentre eles plantas tipicamente brasileiras e seus frutos. Um exemplo de fruto tipicamente brasileiro que tem seus compostos subexplorados em pesquisas é a *Plinia cauliflora*, popularmente conhecida como jabuticaba (Biazotto *et al.*, 2019). Estas árvores são nativas da mata atlântica e seus frutos utilizados para fabricação de geleias e bebidas (Citadin; Danner; Sasso, 2010). A *Plinia cauliflora* também retém grande interesse da indústria farmacêutica devido a seu alto teor de substâncias antioxidantes e antitumorais, ou que possuem efeitos relativos a prevenção de doenças cardiovasculares e de doenças neurodegenerativas (Benvenutti *et al.*, 2021; Castangia *et al.*, 2021; Citadin; Danner; Sasso, 2010; Souza *et al.*, 2022).

Apesar da importância e do consumo recorrente destes produtos naturais com base em conhecimentos empíricos, suas indicações e o seu uso indiscriminado, sob a perspectiva de não toxicidade apenas por se tratar de um produto com origem em plantas nativas, devem ser feitos de maneira cautelosa, pois estes produtos em demasia podem causar efeitos adversos (Lüde *et al.*, 2016). Por este motivo, o objetivo do presente trabalho foi aviar os parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratos *Wistar* após exposição crônica à diferentes doses de extrato de casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*), pois estes estudos fazem parte da avaliação de estudos não clínicos das diretrizes da ANVISA de 2013, versão 2 (ANVISA, 2013).

2.2 Metodologia

2.2.1 Animais

Foram utilizados 64 animais, sendo 32 machos e 32 fêmeas de *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, com idade entre 90 e 100 dias. Os animais foram mantidos no Biotério de Pesquisa Pré-Clínica de Produtos Naturais e Bioativos da Universidade Paranaense (UNIPAR), em condições controladas de alojamento e manejo, de acordo com os princípios de bem-estar

animal e com as normas e diretrizes estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Os animais foram alocados em caixas apropriadas para a espécie, em grupos de quatro animais por gaiola, respeitando-se a densidade de alojamento e as necessidades comportamentais e fisiológicas dos animais. Foram adotadas medidas destinadas a minimizar fatores ambientais capazes de provocar estresse, desconforto ou alterações comportamentais, mantendo-se temperatura ambiente controlada em 22 ± 2 °C, ciclo claro/escuro de 12 horas, com iluminação das 7h às 19h, além de adequada ventilação e condições higiênico-sanitárias.

Os animais tiveram acesso *ad libitum* à água potável filtrada e à ração comercial apropriada à espécie. Como enriquecimento ambiental foi empregado no interior das caixas a utilização de tubos de policloreto de vinila (PVC) como estrutura de abrigos, exploração e refúgio. O manejo dos animais foi realizado por equipe devidamente capacitada, com manipulação cuidadosa e redução de procedimentos desnecessários, buscando minimizar medo, estresse e desconforto e favorecer a expressão de comportamentos compatíveis com a espécie.

Durante o período experimental, os animais foram submetidos a observação regular quanto às condições gerais de saúde e bem-estar, incluindo comportamento, atividade, postura, aparência do pelame, ingestão de alimento e água, sinais de dor ou desconforto e alterações clínicas relevantes. Eventuais alterações observadas foram registradas e avaliadas pela equipe responsável, com adoção das medidas cabíveis para prevenção ou redução de sofrimento. O acompanhamento teve como objetivo assegurar que os procedimentos experimentais fossem conduzidos de maneira responsável, priorizando a integridade física e comportamental dos animais e a aplicação dos princípios dos 3Rs (substituição, redução e refinamento), conforme as diretrizes aplicáveis à experimentação animal.

O manejo, alojamento e utilização dos animais foram realizados sob supervisão da equipe responsável e em conformidade com o protocolo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da instituição, observando-se as normas vigentes do CONCEA relativas à manutenção, manejo, utilização e promoção do bem-estar de animais utilizados em atividades de ensino e pesquisa.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente, por sexo, em quatro grupos experimentais, com oito animais machos e oito animais fêmeas por grupo ($n = 8/\text{sexo}$), totalizando 16 animais em cada grupo. A distribuição aleatória foi realizada previamente ao início dos tratamentos, de modo a reduzir potenciais vieses relacionados à alocação dos animais. Os tratamentos foram administrados diariamente, durante 180 dias consecutivos, por meio de gavagem, utilizando técnica padronizada e realizada por equipe capacitada, com o objetivo de minimizar estresse, dor, desconforto e risco de lesões decorrentes da manipulação.

Os grupos experimentais foram denominados: Grupo Controle, que recebeu o veículo (amido); grupo *Plinia cauliflora* 3 mg/kg, que recebeu o extrato de *Plinia cauliflora* na dose de 3 mg/kg; grupo *Plinia cauliflora* 30 mg/kg, que recebeu o extrato na dose de 30 mg/kg; e grupo *Plinia cauliflora* 300 mg/kg, que recebeu o extrato na dose de 300 mg/kg.

2.2.2 Extrato de *P. cauliflora*

A jabuticaba foi coletada no noroeste do estado do Paraná, na latitude -23.8949 e longitude -53.4098. Após a coleta, a fruta foi trazida para o laboratório de farmacologia da Unipar em Umuarama, onde foi separada a casca do fruto. Em seguida, a casca foi seca em estufa de circulação forçada e enviada para o laboratório “Ervas Curam” em Curitiba/PR, onde foi preparado o extrato seco da casca da jabuticaba. A *P. cauliflora* está cadastrada no Sisgen (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado) com o número A672209.

2.2.3 Ética

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEPEEA) da Universidade do Paraná (UNIPAR) sob protocolo no. 1005/2021.

2.2.4 Avaliação hematológica

2.2.4.1 Hemograma

Uma alíquota de aproximadamente 1 mL de sangue do plexo ocular foi coletada com auxílio de capilares de vidro, em tubos de ensaio contendo anticoagulante K2-EDTA (BD Vacutainer®). As coletas foram realizadas no final dos experimentos, uma única vez. As amostras foram devidamente homogeneizadas e armazenadas em geladeira (cerca de 4°C) até o processamento, que foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Paranaense (UNIPAR), campus sede – Umuarama, PR. Foram determinados em analisador hematológico automatizado (Abbott Cell Dyn 3500, Abbott Diagnostics, USA): o número total de hemácias (m/mm³), leucócitos (m/mm³), contagem diferencial de leucócitos (%), a concentração de hemoglobina (g/dl), concentração de proteínas totais (g/dL), determinação do hematócrito (%) e os índices hematimétricos, sendo eles: volume corpuscular médio (VCM, fl), hemoglobina corpuscular média (HCM, pg) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM, %).

2.2.4.2 Análises Bioquímicas

Para a realização das análises bioquímicas, 3 a 4 mL de sangue total foram coletados em um tubo de ensaio contendo gel separador com ativador de coágulo (BD SST II® Advance® BD) e centrifugados em até 2 horas após a coleta para obtenção do soro. As amostras de soro foram armazenadas em freezer (-20°C), descongeladas e processadas em um analisador

bioquímico automatizado (Selectra E, Vital Scientific, Holanda). Os íons foram determinados utilizando um sistema semi-automatizado MH-Lab Ise – Íon Seletivo.

Os parâmetros bioquímicos analisados foram: uréia (mg/dL), creatinina (mg/dL), colesterol VLDL (mg/dL) colesterol LDL (mg/dL), colesterol total (mg/dL), colesterol HDL (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL), fosfatase alcalina (U/L), bilirrubina total (mg/dL), bilirrubina direta (mg/dL), bilirrubina indireta (mg/dL), aspartato amino transferase (AST, U/L), alanina amino transferase (ALT, U/L) e Gama Glutamil Transferase (GGT) (U/L).

2.2.5 Eutanásia

Um dia após o último tratamento, os animais foram encaminhados para avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos. Após a coleta das amostras sanguíneas, foram realizadas as análises de ureia e creatinina, utilizadas como parâmetros bioquímicos relacionados à função renal. Em seguida, os animais foram encaminhados para eutanásia. Doze horas antes da eutanásia, os animais foram privados de alimentos, mantendo apenas o acesso livre a água. Os ratos foram anestesiados por via inalatória com isoflurano. Em seguida sofreram eutanásia por decapitação em guilhotina (Diretriz da Prática de Eutanásia Do CONCEA, 2015, p. 25).

2.2.6 Análise estatística

Dados paramétricos foram analisados por análise de variância (ANOVA) unidirecional e as diferenças entre os grupos foram avaliados seguindo do teste de Bonferroni.

2.3 Resultados

2.3.1 Análises Bioquímicas

Conforme pode-se observar nas tabelas 1 e 2, os parâmetros bioquímicos avaliados em sua maioria tiveram seus resultados normais. Nos animais fêmeas (tabela 1) tivemos diferença

significativa (valor de $p = 0.05$) no valor da creatinina quando comparados o grupo controle com os grupos 3 mg/kg e 300 mg/kg.

Tabela 01 - Parâmetros bioquímicos de fêmeas Wistar. Grupos controle e tratados com diferentes doses de *Plinia cauliflora* (3, 30 e 300 mg/kg).

	Grupo controle	Dose 3mg/kg	Dose 30mg/kg	Dose 300mg/kg
Creatinina mg/dL	0,26 ± 0,05	0,42 ± 0,06 *	0,43 ± 0,03 *	0,36 ± 0,02
GGT /l	1,00 ± 0,0	1,50 ± 0,50	2,12 ± 1,12	1,00 ± 0,0
AST U/L	200,9 ± 40,95	242,9 ± 76,79	113,5 ± 5,985	90,00 ± 17,86
ALT U/L	158,0 ± 22,17	159,3 ± 15,66***	106,9 ± 15,44	53,75 ± 3,972***,***
Ureia mg/dL	104,9 ± 24,20	84,88 ± 22,62	42,38 ± 1,60*	38,86 ± 2,84*
FA U/l	85,38 ± 5,86	82,13 ± 13,44	64,88 ± 3,87	81,13 ± 5,49
Colesterol Total mg/dL	89,25 ± 3,26	93,13 ± 5,80	86,75 ± 4,92	97,00 ± 6,55

Valores expressos como a média ± E.P.M. Significativo pela ANOVA. (*, **, ***). Diferenças entre os grupos foram analisadas por ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Bonferroni. * $p < 0,05$ quando comparado com o grupo controle

O valor de ALT também foi significativo entre o grupo controle e o grupo III, e entre os grupos I e III. Já entre os animais machos (tabela 2), houve diferença significativa no valor de AST entre os grupos I e III. O valor de ALT também foi significativo entre o grupo controle, e o grupo III.

Tabela 02 – Parâmetros bioquímicos de machos wistar. Grupos controle e tratados com diferentes doses de *Plinia cauliflora* (3, 30 e 300 mg/kg).

	Grupo Controle	Dose 3mg/kg	Dose 30mg/kg	Dose 300mg/kg
Creatinina mg/dL	1,11 ± 0,26	1,29 ± 0,39	0,89 ± 0,18	1,60 ± 1,04
GGT UL	1,00 ± 0,0	0,62 ± 0,18	4,62 ± 3,09	1,000 ± 0,0
AST U/L	100,6 ± 18,55	56,71 ± 21,52	111,6 ± 14,63	130,6 ± 31,56*
ALT U/L	166,4 ± 27,05	124,3 ± 28,56	116,1 ± 13,32	94,14 ± 10,76*
Ureia mg/dL	31,00 ± 6,44	37,75 ± 3,29	42,13 ± 2,54	27,13 ± 1,61
FA U/L	83,25 ± 12,38	69,50 ± 10,21	78,75 ± 6,18	79,50 ± 4,13
Colesterol Total mg/dL	120,1 ± 3,44	129,0 ± 7,75	121,8 ± 4,62	113,1 ± 2,41

Valores expressos como a média ± E.P.M. Significativo pela ANOVA. (, **, ***). Diferenças entre os grupos foram analisadas por ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Bonferroni. * $p < 0,05$ quando comparado com o grupo controle.*

2.3.2 Hemograma

Os índices do hemograma das fêmeas (tabela 03) foram todos normais, entre todos os grupos experimentais.

Tabela 03 - Hemograma de fêmeas Wistar. Grupos controle e tratados com diferentes doses de *Plinia cauliflora* (3, 30 e 300 mg/kg).

	Grupo Controle	Dose 3mg/kg	Dose 30mg/kg	Dose 300mg/kg
Hemácias m/mm³	6,60 ± 0,092	6,76 ± 0,110	6,63 ± 0,231	6,42 ± 0,293
Hemoglobina g/dl	14,38 ± 0,183	14,83 ± 0,232	14,50 ± 0,480	13,90 ± 0,631
Hematócrito %	41,33 ± 1,626	37,50 ± 0,597	36,88 ± 1,274	35,43 ± 1,913
VCM fl	65,13 ± 2,302	55,25 ± 0,366	55,63 ± 0,460	55,25 ± 0,453
HCM pg	21,75 ± 0,411	21,88 ± 0,350	22,00 ± 0,267	21,63 ± 0,183
CHCM %	33,88 ± 1,445	39,75 ± 0,590	39,25 ± 0,313	39,25 ± 0,313
Proteínas totais g/dL	8,40 ± 0,151	8,32 ± 0,194	8,43 ± 0,075	8,10 ± 0,086
Leucócitos totais mm³	45,00 ± 3,105	45,38 ± 1,936	47,25 ± 0,860	39,00 ± 5,628
Basófilos	0	0	0	0
Eosinófilos	0	0	0	0
Linfócitos	45,00 ± 3,105	45,38 ± 1,936	47,25 ± 0,8609	39,00 ± 5,628
Monócitos	4,75 ± 0,411	4,12 ± 0,742	4,75 ± 0,453	4,62 ± 0,705
Neutrófilos	49,13 ± 2,906	49,25 ± 1,532	47,13 ± 0,8332	42,63 ± 6,170

Valores expressos como a média ± E.P.M. Significativo pela ANOVA. (*, **, ***). Diferenças entre os grupos foram analisadas por ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Bonferroni. * p<0,05.

Os resultados do hemograma dos ratos Wistar machos pertencentes aos grupos controle e tratados com diferentes doses do extrato seco da casca de *Plinia cauliflora* (3, 30 e 300 mg/kg) estão apresentados na Tabela 4. De modo geral, não foram observadas alterações significativas na maioria dos parâmetros hematológicos avaliados, sendo identificada diferença estatisticamente significativa apenas na contagem de leucócitos totais no grupo tratado com a dose de 300 mg/kg ($p < 0,05$), quando comparado ao grupo controle.

Tabela 04. Hemograma de machos Wistar. Grupos controle e tratados com diferentes doses de *Plinia cauliflora* (3, 30 e 300 mg/kg).

	Grupo Controle	Dose 3mg/kg	Dose 30mg/kg	Dose 300mg/kg
Hemácias m/mm³	7,125 ± 0,125	7,288 ± 0,159	7,288 ± 0,224	7,000 ± 0,0
Hemoglobina g/dl	15,13 ± 0,125	15,13 ± 0,895	15,13 ± 0,398	15,38 ± 0,183
Hematócrito %	48,00 ± 1,763	50,00 ± 0,566	48,50 ± 1,239	50,00 ± 0,654
VCM fl	67,50 ± 2,486	68,75 ± 1,461	66,75 ± 1,840	71,38 ± 0,905
HCM pg	21,00 ± 0,378	20,88 ± 1,202	20,88 ± 0,515	21,75 ± 0,366
CHCM %	31,88 ± 1,394	30,13 ± 1,757	31,25 ± 1,161	30,88 ± 0,515
Proteínas totais g/dl	8,750 ± 0,115	8,663 ± 0,113	8,600 ± 0,122	8,050 ± 0,075
Leucócitos totais mm³	7556 ± 912,1	12450 ± 1500	8700 ± 1730	6913 ± 1169*
Basófilos	0	0	0	0
Eosinófilos	0	0	0	0
Linfócitos Totais	44,38 ± 2,236	53,25 ± 2,136	57,13 ± 4,760	57,50 ± 1,658
Monócitos	4,500 ± 0,462	3,250 ± 0,491	1,625 ± 0,419	2,875 ± 0,580
Neutrófilos	50,00 ± 2,104	43,38 ± 2,251	40,88 ± 4,537	38,75 ± 1,521

Valores expressos como a média ± E.P.M. Significativo pela ANOVA. (*, **, ***). Diferenças entre os grupos foram analisadas por ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Bonferroni. * $p < 0,05$ quando comparado com o grupo controle

2.4 Discussão

A avaliação da segurança de produtos de origem vegetal requer a investigação integrada de parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos, especialmente em estudos de administração repetida. Embora a origem natural seja frequentemente associada à segurança, a composição complexa dos extratos vegetais pode determinar efeitos biológicos distintos de acordo com a espécie vegetal, parte utilizada, método de extração, dose, duração da exposição e características dos animais estudados (Calixto, 2000; Lüde et al., 2016). Nesse contexto, o presente estudo avaliou os efeitos hematológicos e bioquímicos da administração oral diária do extrato seco da casca de *Plinia cauliflora* durante 180 dias, nas doses de 3, 30 e 300 mg/kg, em ratos Wistar machos e fêmeas.

A escolha da casca de *P. cauliflora* é particularmente relevante, pois essa fração do fruto apresenta elevada concentração de compostos fenólicos, incluindo flavonoides, taninos, antocianinas e derivados de ácidos fenólicos. Estudos fitoquímicos demonstram que extratos da casca da jabuticaba podem apresentar compostos como quercetina, taninos, ácido gálico, ácido elágico e outros derivados fenólicos, substâncias associadas a diferentes atividades biológicas, principalmente antioxidante (Gasparotto Junior et al., 2019; Pinc et al., 2023). Pinc et al. (2023), especificamente, demonstraram que diferentes métodos de extração da casca de *P. cauliflora* produzem extratos com composição química e atividade antioxidante distintas, reforçando que a caracterização do processo de obtenção do extrato é fundamental para a interpretação de estudos toxicológicos.

No presente estudo, a administração crônica do extrato não produziu alterações hematológicas de grande magnitude. Nas fêmeas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos para os parâmetros eritrocitários, índices hematimétricos, proteínas totais ou contagem diferencial de leucócitos. Nos machos, a maioria dos parâmetros também permaneceu semelhante entre os grupos. A única diferença

estatisticamente significativa observada no hemograma dos machos ocorreu na contagem de leucócitos totais no grupo tratado com 300 mg/kg, que apresentou valor inferior ao grupo controle. Esse achado deve ser interpretado de maneira individualizada e não necessariamente representa toxicidade hematológica, principalmente porque não foi acompanhado por alterações significativas nas demais séries celulares ou por alterações consistentes na contagem diferencial.

A ausência de alterações relevantes na série eritrocitária é importante porque modificações persistentes no número de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito e índices hematimétricos poderiam indicar alterações na eritropoiese, perda sanguínea, hemólise ou alterações nutricionais decorrentes da exposição ao composto testado. No presente estudo, entretanto, não houve padrão compatível com anemia ou alteração eritrocitária induzida pelo tratamento. A manutenção desses parâmetros sugere que a exposição prolongada ao extrato, nas doses avaliadas, não interferiu de maneira relevante na homeostase eritrocitária.

A interpretação dos resultados hematológicos deve, entretanto, considerar que parâmetros fisiológicos podem variar de acordo com linhagem, sexo, idade, condições ambientais, alimentação, manejo e metodologia analítica. Lima et al. (2014) ressaltam a importância da utilização de valores de referência específicos para ratos Wistar provenientes de condições experimentais controladas. Dessa forma, a comparação dos resultados deste estudo com valores de referência e, principalmente, com o grupo controle experimental, é mais apropriada do que a utilização isolada de intervalos gerais descritos para a espécie.

A alteração observada na contagem total de leucócitos dos machos tratados com 300 mg/kg merece atenção, mas não deve ser interpretada isoladamente como indicativa de efeito imunotóxico. O grupo apresentou redução da contagem de leucócitos em relação ao controle; entretanto, os valores de linfócitos, monócitos e neutrófilos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Além disso, não foi observado padrão progressivo de redução

leucocitária entre as três doses. A ausência de uma relação dose-resposta linear reduz a força da hipótese de que essa alteração tenha sido diretamente causada pelo extrato. Estudos adicionais, com avaliação seriada do hemograma e de marcadores imunológicos específicos, seriam necessários para determinar a relevância biológica dessa diferença.

Os resultados bioquímicos também demonstraram, de maneira geral, boa tolerabilidade do extrato. Nas fêmeas, foram observadas diferenças significativas para creatinina, ALT e ureia, enquanto nos machos foram observadas diferenças para AST e ALT. Entretanto, a interpretação dessas alterações deve considerar não apenas a significância estatística, mas também a magnitude da alteração, sua relação com a dose, a comparação com os valores de referência e a presença ou ausência de alterações concordantes em outros marcadores.

Nas fêmeas, a creatinina apresentou aumento nos grupos tratados com 3 e 30 mg/kg em relação ao grupo controle, enquanto a dose de 300 mg/kg apresentou valor intermediário. Esse comportamento não demonstra uma relação dose-resposta consistente. Além disso, a alteração não foi acompanhada por aumento da ureia; ao contrário, houve redução significativa da ureia nas doses de 30 e 300 mg/kg. Dessa forma, o conjunto dos resultados não sustenta a hipótese de comprometimento renal progressivo decorrente da administração do extrato.

A creatinina é um marcador utilizado na avaliação da função renal, porém sua interpretação isolada deve ser realizada com cautela, pois pode sofrer influência de fatores extrarrenais, incluindo massa muscular, estado de hidratação e características individuais dos animais. A avaliação da função renal em estudos toxicológicos é mais robusta quando realizada mediante a interpretação conjunta de creatinina, ureia, alterações histopatológicas renais e, quando pertinente, outros marcadores de função glomerular e tubular. Portanto, a alteração isolada observada na creatinina das fêmeas não permite caracterizar nefrotoxicidade associada ao extrato.

A redução da ureia observada nas fêmeas tratadas com 30 e 300 mg/kg também não deve ser interpretada automaticamente como evidência de efeito nefroprotetor. A concentração sérica de ureia pode ser influenciada por fatores relacionados à ingestão proteica, metabolismo hepático, hidratação e excreção renal. No presente estudo, a ausência de elevação concomitante da creatinina e a manutenção dos demais parâmetros avaliados não fornecem evidências suficientes para estabelecer um efeito protetor renal. Assim, é mais adequado interpretar o resultado como uma alteração bioquímica observada durante o tratamento, cuja relevância fisiológica necessita de investigação específica.

Em relação aos marcadores hepáticos, as fêmeas apresentaram redução de AST e ALT principalmente nas doses de 30 e 300 mg/kg. A ALT apresentou redução particularmente evidente, passando de $158,0 \pm 22,17$ U/L no grupo controle para $53,75 \pm 3,97$ U/L no grupo tratado com 300 mg/kg. A AST também apresentou redução, de $200,9 \pm 40,95$ U/L no grupo controle para $113,5 \pm 5,98$ U/L e $90,0 \pm 17,86$ U/L nas doses de 30 e 300 mg/kg, respectivamente.

Nos machos, entretanto, o comportamento foi parcialmente distinto. A ALT apresentou redução progressiva conforme o aumento da dose, passando de $166,4 \pm 27,05$ U/L no grupo controle para $94,14 \pm 10,76$ U/L na dose de 300 mg/kg. Em contrapartida, a AST apresentou aumento no grupo tratado com 300 mg/kg, atingindo $130,6 \pm 31,56$ U/L, diferença que ocorreu principalmente na comparação entre os grupos de 30 e 300 mg/kg. Essa diferença entre os sexos demonstra que a resposta bioquímica ao extrato não foi completamente uniforme e reforça a importância de analisar machos e fêmeas separadamente em estudos toxicológicos.

A redução de ALT e AST observada em alguns grupos não deve ser descrita, isoladamente, como evidência de hepatoproteção. Embora essas enzimas sejam importantes marcadores de lesão hepatocelular, valores reduzidos não constituem, por si só, demonstração de proteção hepática. Para estabelecer hepatoproteção seria necessário demonstrar,

preferencialmente, redução de alterações histopatológicas, preservação da arquitetura hepática, modulação de marcadores de estresse oxidativo ou proteção frente a uma agressão hepática experimental. Portanto, no presente estudo, a interpretação mais conservadora é que o extrato não promoveu elevação consistente de enzimas indicativas de lesão hepatocelular e apresentou redução de ALT em determinados grupos.

Essa interpretação é compatível com estudos anteriores sobre a segurança de *P. cauliflora*. Palozi et al. (2019) avaliaram um extrato da casca do fruto em coelhos e observaram ausência de alterações relevantes em diversos parâmetros fisiológicos, incluindo sistemas cardiovascular, respiratório e nervoso central. Os autores utilizaram doses de 200 e 2000 mg/kg e encontraram um perfil de segurança favorável para a preparação estudada.

Em outro estudo, Palozi et al. (2020) avaliaram uma infusão da casca de *P. cauliflora* utilizando diferentes abordagens toxicológicas. Os autores não observaram alterações significativas nos parâmetros hematológicos e bioquímicos avaliados após tratamento, além de não identificarem efeitos endócrinos, mutagênicos ou genotóxicos relevantes nas condições experimentais empregadas. A composição química do preparado incluía derivados de ácido elágico, flavonóis, antocianidinas, ácido cítrico e ácido gálico. Esses resultados fornecem importante evidência pré-clínica de tolerabilidade da espécie, embora a comparação com o presente estudo deva considerar as diferenças entre preparação, dose, espécie animal e período de exposição.

A comparação com esses trabalhos é particularmente relevante porque demonstra que os resultados obtidos no presente estudo não estão isolados na literatura. Entretanto, não é adequado afirmar que os estudos anteriores comprovam a segurança absoluta da espécie. Estudos toxicológicos são dependentes das condições experimentais, e a ausência de alterações em determinada preparação não significa necessariamente que todas as formas de utilização da planta apresentarão o mesmo perfil. Gasparotto Junior et al. (2019), em revisão

etnofarmacológica de *P. cauliflora*, destacaram justamente a diversidade fitoquímica e farmacológica da espécie, bem como a necessidade de considerar diferenças entre partes da planta e tipos de extrato.

A composição fitoquímica da casca oferece uma possível explicação para a ausência de alterações sistêmicas relevantes observada no presente estudo. Pinc et al. (2023) identificaram flavonoides, taninos, quercetina e outros compostos fenólicos em extratos da casca de *P. cauliflora*, além de demonstrarem atividade antioxidante nos preparados obtidos. Esses compostos podem atuar como sequestradores de espécies reativas de oxigênio e modular diferentes vias relacionadas ao estresse oxidativo. Entretanto, a presença desses constituintes não permite estabelecer diretamente que as alterações bioquímicas observadas nos animais sejam consequência de um mecanismo antioxidante específico. Para demonstrar essa relação seriam necessários estudos mecanísticos direcionados, incluindo determinação de marcadores de estresse oxidativo e atividade de enzimas antioxidantes.

A complexidade fitoquímica do extrato também pode explicar, ao menos em parte, a ausência de uma relação dose-resposta linear para alguns parâmetros. Extratos vegetais são misturas complexas contendo diferentes constituintes que podem apresentar efeitos farmacológicos distintos e até opostos. Assim, a resposta biológica pode não aumentar proporcionalmente à concentração administrada. No presente estudo, esse aspecto é particularmente evidente para alguns marcadores bioquímicos, nos quais a dose de 30 mg/kg não reproduziu exatamente o comportamento observado nas doses de 3 ou 300 mg/kg. Portanto, não se deve interpretar a ausência de linearidade como inconsistência experimental sem considerar a complexidade do fitocomplexo.

Outro aspecto relevante é a diferença entre os resultados observados neste estudo e aqueles descritos para outras espécies vegetais. Araújo et al. (2018), por exemplo, avaliaram a toxicidade oral de *Tropaeolum majus* durante 90 dias em roedores e lagomorfos e também

observaram um perfil toxicológico favorável. Ribeiro et al. (2021), por sua vez, avaliaram a toxicidade oral por doses repetidas de *Vitex megapotamica* durante 90 dias. Esses estudos demonstram a importância dos modelos de exposição repetida para caracterizar a segurança de produtos naturais, mas não devem ser utilizados como comprovação direta da segurança de *P. cauliflora*, uma vez que as espécies vegetais, composição química e condições experimentais são diferentes.

No presente estudo, o período de exposição de 180 dias constitui um aspecto relevante. A administração prolongada permite identificar alterações que poderiam não ser evidenciadas em estudos de curta duração. Nesse sentido, a ausência de alterações hematológicas importantes após seis meses de tratamento representa um achado favorável para a tolerabilidade do extrato. Contudo, a duração do experimento também implica que os animais apresentavam idade superior ao final do protocolo, o que pode interferir em determinados parâmetros fisiológicos e bioquímicos. Dessa forma, alterações relacionadas ao processo de maturação ou envelhecimento devem ser consideradas na interpretação dos resultados.

A idade dos animais também é relevante para a comparação entre os grupos, pois os parâmetros bioquímicos e hematológicos podem sofrer alterações relacionadas ao crescimento e à idade. Como todos os grupos foram acompanhados durante o mesmo período experimental, o grupo controle constitui a principal referência para a avaliação do efeito do tratamento. Ainda assim, estudos futuros poderiam incorporar avaliações basais e seriadas, permitindo acompanhar a evolução individual dos parâmetros ao longo do tempo e distinguir com maior precisão alterações relacionadas ao envelhecimento daquelas potencialmente associadas ao extrato.

Outro ponto importante é a utilização simultânea de animais machos e fêmeas. A resposta observada neste estudo apresentou algumas diferenças entre os sexos, particularmente nos parâmetros bioquímicos. As fêmeas apresentaram redução mais evidente de AST, ALT e

ureia, enquanto nos machos foi observada redução de ALT acompanhada de aumento de AST na dose de 300 mg/kg. Essas diferenças sugerem que o sexo pode influenciar a resposta fisiológica à administração crônica do extrato. Embora o presente estudo não tenha sido desenhado especificamente para investigar mecanismos de dimorfismo sexual, esse achado reforça a importância da inclusão de ambos os sexos em estudos pré-clínicos.

A avaliação hematológica também permite considerar a possibilidade de ausência de efeitos sobre o sistema imune e hematopoiético. A manutenção das contagens de hemácias, hemoglobina, hematócrito e índices hematimétricos indica ausência de evidências de comprometimento significativo da eritropoiese. Da mesma forma, a ausência de alterações generalizadas na contagem diferencial de leucócitos sugere que não houve resposta inflamatória ou imunológica sistêmica evidente associada ao tratamento. A redução isolada dos leucócitos nos machos tratados com 300 mg/kg deve, portanto, ser considerada um achado pontual, que necessita de confirmação em estudos adicionais antes de receber interpretação toxicológica específica.

A literatura disponível sobre *P. cauliflora* apresenta resultados que, em geral, apontam para um perfil de tolerabilidade favorável. Entretanto, estudos com outras partes da planta demonstram que a segurança não deve ser generalizada automaticamente. Por exemplo, estudos in vitro com extratos das folhas identificaram atividade citotóxica em determinadas linhagens celulares hepáticas, apesar da ausência de mutagenicidade ou formação de micronúcleos nos ensaios empregados. Esse resultado demonstra que diferentes órgãos vegetais e diferentes modelos experimentais podem produzir respostas biológicas distintas. Portanto, os resultados do presente estudo devem ser especificamente relacionados ao extrato seco da casca utilizado, às doses administradas e ao modelo de ratos Wistar.

De maneira geral, os resultados obtidos demonstram que a administração crônica do extrato seco da casca de *P. cauliflora*, nas doses de 3, 30 e 300 mg/kg, não provocou alterações

hematológicas ou bioquímicas generalizadas compatíveis com toxicidade sistêmica evidente. As alterações estatisticamente significativas observadas em creatinina, ureia, AST, ALT e leucócitos devem ser interpretadas considerando sua magnitude, a ausência de padrão dose-resposta consistente em alguns casos e a inexistência de alterações concomitantes que indiquem comprometimento orgânico progressivo.

É importante ressaltar, contudo, que a ausência de alterações nos parâmetros avaliados não equivale à demonstração de ausência absoluta de toxicidade. O presente estudo avaliou predominantemente parâmetros hematológicos e bioquímicos ao final do período experimental. A caracterização toxicológica completa de um produto vegetal requer a integração desses resultados com avaliação clínica, consumo de água e alimento, peso corporal, massa relativa dos órgãos, histopatologia e, quando pertinente, marcadores específicos de função renal, hepática, imunológica e de estresse oxidativo. Assim, os resultados deste estudo devem ser compreendidos como parte da caracterização pré-clínica do perfil de segurança do extrato.

Além disso, a caracterização química do extrato utilizado é fundamental para a reprodutibilidade do estudo. Como demonstrado por Pinc et al. (2023), diferentes métodos de extração podem modificar o rendimento e a concentração dos constituintes fenólicos da casca de *P. cauliflora*. Dessa maneira, estudos futuros devem, sempre que possível, associar os resultados toxicológicos à padronização fitoquímica do extrato, permitindo estabelecer relações mais precisas entre composição química, dose administrada e resposta biológica.

Em conjunto, os achados do presente estudo ampliam as informações disponíveis sobre a exposição prolongada à casca de *P. cauliflora*. Enquanto estudos anteriores demonstraram boa tolerabilidade após períodos menores de exposição e em diferentes modelos animais, os resultados obtidos neste trabalho acrescentam dados referentes à administração diária durante 180 dias em ratos Wistar de ambos os sexos. A ausência de alterações hematológicas generalizadas e de alterações bioquímicas compatíveis com lesão orgânica significativa indica

um perfil toxicológico favorável nas condições avaliadas. Entretanto, a confirmação desse perfil requer estudos complementares que incluam avaliação histopatológica, marcadores específicos de função orgânica, análise fitoquímica quantitativa e, quando pertinente, estudos de toxicidade reprodutiva, genotoxicidade e exposição prolongada.

Portanto, os resultados não sustentam a afirmação de que *P. cauliflora* exerça necessariamente efeito hepatoprotetor ou nefroprotetor. Sustentam, de forma mais consistente, que o extrato seco da casca, administrado por via oral nas doses estudadas durante 180 dias, apresentou boa tolerabilidade hematológica e bioquímica, sem evidências de toxicidade sistêmica relevante nos parâmetros avaliados. Essa interpretação é mais compatível com os princípios de avaliação toxicológica e evita extrapolações terapêuticas que não foram diretamente investigadas neste estudo.

2.5 Conclusão

Nas condições experimentais avaliadas, a administração oral diária do extrato seco da casca de *P. cauliflora*, nas doses de 3, 30 e 300 mg/kg durante 180 dias, não promoveu alterações hematológicas ou bioquímicas de magnitude compatível com toxicidade sistêmica evidente.

2.6 Referências

Albuquerque, B.R., Pereira, C., Calhelha, R.C., Alves, M.J., Abreu, R.M.V., Barros, L., Oliveira, M.B.P.P., Ferreira, I.C.R.F., 2020. Jaboticaba residues (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) are rich sources of valuable compounds with bioactive properties. *Food Chemistry*, vol. 309, pp. 125735.

Anvisa. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. 31 de jan de 2013. Versão 2.

Araújo, V.O., Andreotti, C.E.L., Reis, M.P., de Lima, D.A., Pauli, K.B., Nunes, B.C., Gomes, C., Germano, R.M., Cardozo Junior, E.L., Gasparotto Junior, A., Lourenço E.L.B., 2018. 90-Day Oral Toxicity Assessment of *Tropaeolum majus* L. in Rodents and Lagomorphs. *J Med Food*, 8, 823-831.

Benvenuti, L., Zielinski, A. A. F., Ferreira, S. R. S. 2021. Jaboticaba (*Myrtaceae cauliflora*) fruit and its by-products: Alternative sources for new foods and functional components. Trends in Food Science & Technology, 112, 118-136.

Bernardini, S., Tiezzi, A., Laghezza Masci, V., Ovidi, E. 2018. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. Natural product research, 32, 1926-1950.

Biazotto, K. R., de Souza Mesquita, L. M., Neves, B. V., Braga, A. R. C., Tangerina, M. M. P., Vilegas, W., Mercadante, A. Z. De Rosso, V. V. 2019. Brazilian biodiversity fruits: discovering bioactive compounds from underexplored sources. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 67, 1860-1876.

Brasil. 2006a. Ministério da Saúde. Portaria no. 971. 03 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. DOU. Poder Executivo. Brasília. DF. 04 mai.

Brasil. 2006b. Presidência da República. Decreto no. 5813 de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. DOU. Poder Executivo. Brasília. DF. 23 jun.

Calixto, J. B. 2019. The role of natural products in modern drug discovery. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 91.

Castangia, I., Manca, M. L., Allaw, M., Hellström, J., Granato, D., Manconi, M. 2021. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel as a sustainable source of anthocyanins and ellagitannins delivered by phospholipid vesicles for alleviating oxidative stress in human keratinocytes. Molecules, 26(21), 6697.

Citadin, I., Danner, M. A., Sasso, S. A. Z. 2010. Jabuticabeiras. Revista Brasileira de Fruticultura, 32, 346-656.

Dias, D. A., Urban, S., & Roessner, U. 2012. A historical overview of natural products in drug discovery. Metabolites, 2, 303-336.

Gasparotto, F. M. ; Palozi, R. A. C. ; Silva, C. H. F. ; Pauli, K. B. ; Donadel, G. ; Lourenco, B. H. L. B. ; Nunes, B. C. ; Livero, F. A. R. ; Souza, L. M. ; Lourenço, E. L. B. ; Gasparotto Jr, A. ; Kassuya, Cândida Aparecida Leite . Antiatherosclerotic Properties of *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltdl.) Micheli: From Antioxidant and Lipid-Lowering Effects to an Anti-Inflammatory Role. JOURNAL OF MEDICINAL FOOD, p. 112042-112043, 2019.

Lüde, S., Vecchio, S., Sinno-Tellier, S., Dopter, A., Mustonen, H., Vucinic, S., Müller, B. J. D., Fruchtengarten, L. V. G., Hruby, K., Nascimento, E. S., Lorenzo, C., Restani, P., Kupferschmidt, H., Ceschi, A. 2016. Adverse effects of plant food supplements and plants consumed as food: results from the poisons centres-based PlantLIBRA study. Phytotherapy Research, 30, 988-996.

Newman, D. J., Cragg, G. M. 2020. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. Journal of natural products, 83, 770-803.

Palozi, R. A. C., Guarnier, L. P., Romão, P. V. M., Nocchi, S. R., Dos Santos, C. C., Lourenço, E. L. B., Silva, D. B., Gasparotto, F. M., Gasparotto Junior, A. (2019). Pharmacological safety of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel in rabbits. *Toxicology Reports*, 6, 616-624.

Ribeiro, Rita De Cássia Lima ; Donadel, Guilherme ; Ames, Maria Leticia ; Nunes, Bruna ; Dalmagro, Mariana ; Belettini, Salviano Tramontin ; Soares, Andreia Assunção ; Jacomassi, Ezilda ; Gasparotto Junior, Arquimedes ; Alberton, Odair ; Lorenço, Emerson Luiz Botelho . Repeated dose 90-day oral toxicity study of *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke. *DRUG AND CHEMICAL TOXICOLOGY*, v. 1, p. 1-9, 2021.

Souza, T. M., de Araújo, B. C., Lopes, J. C. 2022. Efeito carcinogênico ou anticarcinogênico do extrato aquoso da casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*): uma revisão integrativa. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 8, 421-437.

LIMA, A. J. B. *et al.* Extraction methods, chemical characterization, and in vitro biological activities of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel peels. *Pharmaceuticals*, v. 16, n. 8, p. 1173, 2023.

FARIA, A. F. *et al.* Phytochemical profile and antioxidative properties of *Plinia trunciflora* fruits: a new source of nutraceuticals. *Food Chemistry*, 2019.

DIAS, K. A. *et al.* Jabuticaba (*Plinia cauliflora*) as a source of bioactive phenolics: extraction and microencapsulation by spray drying. *Journal of Food Science*, 2026. DOI: 10.1111/1750-3841.71126.

MANNINO, G.; PERRONE, A.; CAMPOBENDETTO, C.; SCHITTONE, A.; BERTEA, C. M.; GENTILE, C. Phytochemical profile and antioxidative properties of *Plinia trunciflora* fruits: a new source of nutraceuticals. *Food Chemistry*, v. 307, p. 125515, 2020. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125515.

PINC, M. M.; DALMAGRO, M.; PEREIRA, E. C. A.; DONADEL, G.; THOMAZ, R. T.; SILVA, C.; MACRUZ, P. D.; JACOMASSI, E.; GASPAROTTO JUNIOR, A.; ALBERTON, O. Extraction methods, chemical characterization, and *in vitro* biological activities of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel peels. *Pharmaceuticals*, v. 16, n. 8, p. 1173, 2023. DOI: 10.3390/ph16081173.

3 CONCLUSÕES

Nas condições experimentais avaliadas, a administração oral diária do extrato seco da casca de *P. cauliflora*, nas doses de 3, 30 e 300 mg/kg durante 180 dias, não promoveu alterações hematológicas ou bioquímicas de magnitude compatível com toxicidade sistêmica evidente. Os resultados sustentam que o uso do extrato seco da casca de *P. cauliflora* possui um perfil toxicológico favorável nas condições experimentais avaliadas.

4. ANEXOS

ANEXO 1 - Normas de Publicação Revista Regulatory Toxicology and Pharmacology

Description

Regulatory Toxicology and Pharmacology publishes peer reviewed articles that involve the generation, evaluation, and interpretation of **experimental animal and human data** that are of direct importance and relevance for regulatory authorities with respect to **toxicological** and **pharmacological regulations in society**. All peer-reviewed articles that are published should be devoted to improve the protection of human health and environment. Reviews and discussions are welcomed that address legal and/or regulatory decisions with respect to **risk assessment** and **management** of toxicological and pharmacological compounds on a scientific basis. It addresses an international readership of scientists, risk assessors and managers, and other professionals active in the field of human and environmental health.

Types of peer-reviewed articles published:

- **Original research articles** of relevance for regulatory aspects covering aspects including, but not limited to:
 - ☐ Factors influencing human sensitivity
 - ☐ Exposure science related to risk assessment
 - ☐ Alternative toxicological test methods
 - ☐ Frameworks for evaluation and integration of data in regulatory evaluations
 - ☐ Harmonization across regulatory agencies
 - ☐ Read-across methods and evaluations
- **Contemporary Reviews** on policy related Research issues
- **Letters to the Editor**
- **Guest Editorials (by Invitation)**

News on recent or upcoming policy related Research issues, outcomes of regulatory expert meetings with implications for risk assessment and management

RTP Tobacco policy

Regulatory Toxicology and Pharmacology, as the journal serving developments for improvement of human health and environment, will not consider manuscripts that have been supported by tobacco companies.