ANÁLISE IN VITRO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DAS CASCAS CAULINARES DE *Stryphnodendron adstringens*

Giovanna Rafaela Benate Zanatto (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Bárbara Longhini Gonzalez (Coorientadora), João Carlos Palazzo de Mello (Orientador).
E-mail: gibzanatto@gmail.com / mello@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Ciências da Saúde, Farmácia/ farmacognosia.

Palavras-chave: Barbatimão; Inflamação; Farmacognosia.

RESUMO

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville, conhecido como barbatimão, é uma espécie nativa do Cerrado tradicionalmente utilizada no tratamento de feridas, com propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes. Este estudo avaliou, *in vitro*, os efeitos da fração acetato de etila (FAE) das cascas caulinares de *S. adstringens* sobre a viabilidade celular e a produção de óxido nítrico (NO) em macrófagos RAW 264.7. A FAE foi obtida por partição líquido-líquido do extrato bruto e avaliada pelo ensaio de MTT. As concentrações não citotóxicas de 7,812 e 15,625 µg/mL foram utilizadas para avaliação indireta do NO pelo método de Griess, na presença e ausência de lipopolissacarídeo bacteriano (LPS). A FAE apresentou viabilidade de 125,76 e 117,40%, respectivamente. Sem LPS, os níveis de nitrito foram 7,04 e 6,86 µM, comparados a 8,37 µM no controle. Com LPS, foram 12,26 e 10,45 µM, frente a 12,02 µM no controle positivo. Assim, a FAE não aumentou os níveis basais de nitrito, apresentando resposta semelhante ao controle estimulado, sugerindo potencial de modulação da resposta de macrófagos.

INTRODUÇÃO

O processo inflamatório constitui uma resposta fisiológica essencial à agressão tecidual, envolvendo diferentes mediadores e espécies reativas. Entre esses, destaca-se o óxido nítrico (NO), molécula sinalizadora envolvida na regulação da inflamação, defesa antimicrobiana, angiogênese e reparo tecidual, com efeitos dependentes de sua concentração, fonte e contexto fisiológico (Malone-Povolny, Maloney e Schoenfisch 2019; Chai *et al.*, 2026).

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville, popularmente conhecido como barbatimão, é uma espécie nativa do Cerrado brasileiro, tradicionalmente utilizada no tratamento de feridas e associada a propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e cicatrizantes. Estudos indicam que seus extratos e frações podem modular processos envolvidos no reparo tecidual e na resposta de macrófagos (Pellenz *et al.*, 2019; Carvalho *et al.*, 2020). Diante desse potencial, este estudo avaliou *in vitro* os efeitos da fração acetato de etila (FAE) das cascas caulinares de *S. adstringens* sobre a viabilidade celular e a produção de NO em macrófagos RAW 264.7.

MATERIAL E MÉTODOS

As cascas de *S. adstringens* foram coletadas em março de 2008 em São Jerônimo da Serra (PR) e registradas no herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM-14321). O material foi seco à temperatura ambiente, triturado e cadastrado no SisGen, sob o número A06ADCB (Gonzalez, 2024).

O extrato bruto (EB) foi obtido por turbólise das cascas, utilizando acetona:água (7:3; v/v), durante 20 min, seguido de filtração, rotaevaporação sob pressão reduzida, congelamento e liofilização. A fração acetato de etila (FAE) foi obtida por partição líquido-líquido do EB com acetato de etila e água, seguida de concentração, congelamento, liofilização (Gonzalez, 2024).

A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) em macrófagos RAW 264.7 após 24 h de exposição a diferentes concentrações da FAE. Após incubação com MTT (0,5 mg/mL) por 4 h, adicionou-se dimetilsulfóxido (DMSO) e realizou-se a leitura da absorvância a 570 nm em leitor de microplacas. As concentrações não citotóxicas foram selecionadas para o ensaio de óxido nítrico.

A produção de NO foi avaliada em macrófagos RAW 264.7 tratados com duas concentrações da FAE, na presença ou ausência de lipolissacarídeo (LPS, 1 µg/mL). Após 2 h de incubação com o tratamento, o sobrenadante das culturas estimuladas com e sem LPS foi retirado e a concentração de NO foi determinada indiretamente por meio da construção de curva analítica de nitrito de sódio. Foi utilizado o reagente de Griess, e a leitura da absorvância feita a 540 nm em leitor de microplacas. Os resultados foram submetidos à análise estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da viabilidade celular da FAE de *S. adstringens* em macrófagos RAW 264.7 foi realizada previamente ao ensaio de produção de NO, a fim de estabelecer concentrações que não comprometessem a viabilidade. A FAE apresentou viabilidade celular superior a 100% nas concentrações de 1,953, 3,906, 7,812 e 15,625 µg/mL, com valores de 125,87, 128,15, 125,76 e 117,40%, respectivamente. A partir de 31,25 µg/mL, observou-se redução progressiva da viabilidade, atingindo 96,07 e 44,12% nas concentrações de 31,25 e 62,5 µg/mL, respectivamente. Nas concentrações mais elevadas, a viabilidade permaneceu reduzida. Dessa forma, as concentrações de 7,812 e 15,625 µg/mL foram selecionadas para o ensaio de NO, por apresentarem viabilidade celular de 125,76 e 117,40%, respectivamente, indicando ausência de efeito citotóxico nas condições avaliadas.

A produção de NO foi avaliada em macrófagos RAW 264.7 pelo método de Griess, considerando a concentração de nitrito como medida indireta da produção de NO. Os resultados estão apresentados na Figura 1.

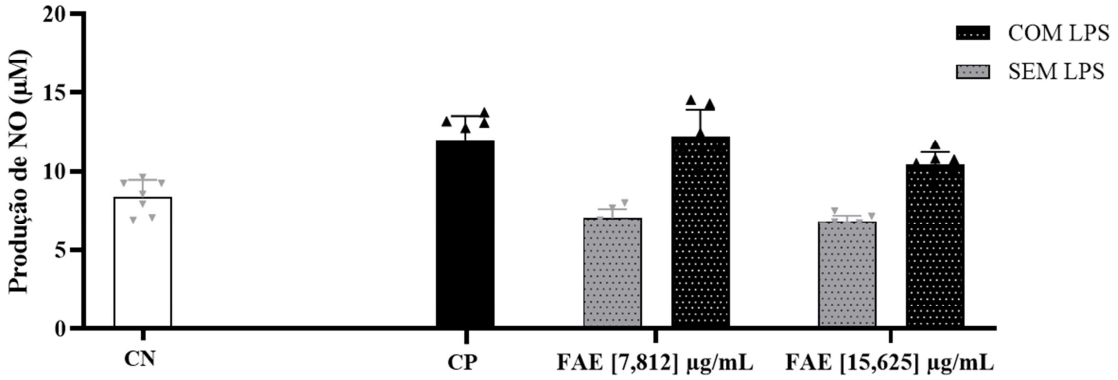


Figura 1 – Produção de óxido nítrico (NO) por macrófagos RAW 264.7 após incubação de 2 h com FAE de *Stryphnodendron adstringens*, determinada pelo método de Griess. CN – Controle negativo, apenas meio de cultura; CP – controle positivo com LPS; FAE – fração acetato de etila; LPS – lipopolissacarídeo bacteriano; NO – óxido nítrico.

Na ausência de LPS, as células tratadas com FAE nas concentrações de 7,812 e 15,625 µg/mL apresentaram concentrações de nitrito de 7,04 e 6,86 µM, respectivamente, enquanto o controle negativo (CN) apresentou 8,37 µM. Após o estímulo com LPS, foram observados valores de 12,26 e 10,45 µM para as respectivas concentrações da FAE, frente a 12,02 µM no controle positivo (CP). Esses resultados indicam que, nas condições avaliadas, a FAE não promoveu aumento dos níveis basais de nitrito e apresentou valores próximos aos observados no controle estimulado com LPS.

A modulação da produção de NO pode ser relevante para a resposta inflamatória e o processo de reparo tecidual, uma vez que essa molécula participa de processos como migração celular, angiogênese e remodelamento tecidual. A regulação desses processos também está relacionada à atividade dos macrófagos durante a resolução da inflamação (Chai *et al*., 2026; Chen *et al*., 2026). Além disso, Carvalho *et al*. (2020) demonstraram que *S. adstringens* pode modular a resposta de macrófagos, reduzindo características associadas ao perfil pró-inflamatório M1 e favorecendo marcadores relacionados ao perfil M2, como CD206 e IL-10.

CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que a FAE de *S. adstringens* não apresentou efeito citotóxico nas concentrações selecionadas para os ensaios posteriores. Nas condições experimentais avaliadas, a FAE não promoveu aumento dos níveis basais de nitrito, enquanto os valores obtidos após estímulo com LPS foram próximos aos do controle positivo. Esses resultados indicam potencial de modulação da resposta de macrófagos, embora sejam necessários outros ensaios para uma caracterização mais abrangente de sua atividade anti-inflamatória e antioxidante.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá, ao CNPq, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e ao Laboratório de Biologia Farmacêutica - PALAFITO.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, J. T. G. de *et al*. Hydroethanolic stem bark extracts of *Stryphnodendron adstringens* impair M1 macrophages and promote M2 polarization. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 254, p. 112684, 2020. DOI: 10.1016/j.jep.2020.112684.

CHAI, L. *et al*. Environmentally activatable hydrogel for spatiotemporally programmed nitric oxide delivery for diabetic wound healing. *Materials Today Bio*, v. 37, p. 102916, 2026. DOI: 10.1016/j.mtbio.2026.102916.

CHEN, T. *et al*. Rocket propulsion-inspired two-stage nitric oxide-releasing hydrogel for phase-matched therapy of diabetic wounds. *Acta Biomaterialia*, v. 217, p. 178-197, 2026. DOI: 10.1016/j.actbio.2026.05.002.

GONZALEZ, B. L. Análise do perfil fitoquímico da casca caulinar de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e avaliação da atividade cicatrizante em células L-929. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Farmácia, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, p. 45-46. 2024.

MALONE-POVOLNY, M. J.; MALONEY, S. E.; SCHOENFISCH, M. H. Nitric oxide therapy for diabetic wound healing. *Advances in Wound Care*, v. 8, n. 9, p. 421-430, 2019. DOI: 10.1089/wound.2018.0856.

PELLENZ, N. L. *et al.* Healing activity of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.), a Brazilian tannin-rich species: a review of the literature and a case series. *Wound Medicine*, v. 26, 100163, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.wndm.2019.100163