



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA



Gabriela Prates Coelho

**EFEITO CARDIOPROTETOR DO EXTRATO DE ALECRIM-DO-CAMPO
(*Baccharis dracunculifolia*) NO DANO CAUSADO PELA CICLOFOSFAMIDA EM
CAMUNDONGOS**

OURO PRETO

2026

Gabriela Prates Coelho

**EFEITO CARDIOPROTETOR DO EXTRATO DE ALECRIM-DO-CAMPO
(*Baccharis dracunculifolia*) NO DANO CAUSADO PELA CICLOFOSFAMIDA EM
CAMUNDONGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Speroni Ceron
Coorientadora: Msc. Grazieli Beatriz de Oliveira Gonçalves.

OURO PRETO

2026

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

C672e Coelho, Gabriela Prates.

Efeito cardioprotetor do extrato de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) no dano causado pela ciclofosfamida em camundongos. [manuscrito] / Gabriela Prates Coelho. - 2026.
43 f.: il.: color..

Orientadora: Profa. Dra. Carla Speroni Ceron.

Coorientadora: Ma. Grazieli Beatriz Gonçalves.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.
Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Ciclofosfamida. 2. Coração. 3. Estresse oxidativo. 4.
Metaloproteases. I. Ceron, Carla Speroni. II. Gonçalves, Grazieli Beatriz.
III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 615.3

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - CRB6/2322



FOLHA DE APROVAÇÃO

Gabriela Prates Coelho

Efeito cardioprotetor do extrato de alecrim-do campo (*Baccharis dracunculifolia*) no dano causado pela ciclofosfamida em camundongos

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico Generalista

Aprovada em 21 de julho de 2026

Membros da banca

Doutora - Carla Speroni Ceron - Orientadora (Universidade Federal de Ouro Preto)
Mestre - Grazieli Beatriz de Oliveira Gonçalves - Coorientadora - (Universidade Federal de Ouro Preto)
Mestre - Juliana Letícia Silva - (Universidade Federal de Ouro Preto)
Mestre - Túlio César Rodrigues Leite - (Universidade Federal de Ouro Preto)

Carla Speroni Ceron, orientadora e do trabalho, e Grazieli Beatriz de Oliveira Gonçalves, coorientadora do trabalho, aprovaram a versão final e autorizaram seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 04/08/2026



Documento assinado eletronicamente por **Carla Speroni Ceron**, **PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 17/08/2026, às 10:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1151729** e o código CRC **BF90F0F7**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por cuidar dos meus caminhos e me permitir chegar até aqui. Aos meus pais, Juliana e Alecxandro, por acreditarem e sempre confiarem em mim, isso não seria possível sem a ajuda e o amor incondicional de vocês. Aos meus irmãos, Anderson e Bruno, por serem meus primeiros amigos e para sempre meus companheiros. Ao LFEC pelo aprendizado e crescimento pessoal, em especial à Carla e à Grazi, que compartilharam comigo todos os seus conhecimentos e confiaram em mim. Aos meus amigos da faculdade Laura, Mariana, Naira e Sandrine, que tornaram esse processo menos doloroso e os dias ficaram mais fáceis e leves. Ao João, que me acompanhou durante toda a jornada e não saiu do meu lado, sempre me ajudou, sou grata demais pela amizade que construímos. Ao Parmalat, que acompanhou neste processo do tcc, e que sempre falou que daria tudo certo e que eu seria capaz, sua presença diária foi essencial. À Laura que foi rede de apoio e sempre me ajudou no que estava ao seu alcance. A República Sonhos, por ser minha casa nesses 4 anos de graduação e por serem minha família. E por último, agradeço à UFOP e as agências financiadoras do projeto: CAPES, CNPq e FAPEMIG.

RESUMO

A ciclofosfamida é um fármaco antineoplásico pertencente à classe das mostardas nitrogenadas. Funciona como um pró-fármaco que após a metabolização hepática, gera metabólito ativo (mostarda fosforamida) e metabólito tóxico (acroleína). A acroleína aumenta estresse oxidativo e citocinas pró-inflamatórias, mecanismo este que contribui para a cardiotoxicidade dose-dependente da ciclofosfamida, como por exemplo, a miopericardite. Sendo assim, compostos fenólicos presentes no extrato da *Baccharis dracunculifolia* são capazes de neutralizar a formação de radicais livres, fazendo com que haja menor produção de espécies oxidativas de oxigênio (ERO), atuando como antioxidantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o possível efeito cardioprotetor do extrato etanólico de *B. dracunculifolia* e da formulação nanoestruturada contendo o extrato, no dano oxidativo cardíaco de animais que receberam ciclofosfamida. Para isso, foram utilizados camundongos da linhagem C57BL/6J, divididos em 6 grupos: controle - controle (n=13), extrato 50mg/kg (Bd50) (n=15), nanoemulsão contendo extrato de Bd 50mg/kg (nBd50) (n=15), ciclofosfamida (n=14) (Cf) e grupos tratados: Cf + extrato de Bd 50mg/kg (Cf+Bd50) (n=12), Cf + nanoemulsão contendo extrato de Bd 50mg/kg (Cf+nBd50) (n=17). Após o pré-tratamento por 7 dias e exposição à ciclofosfamida por 24 horas, os animais foram anestesiados e eutanasiados, retirando-se o coração. Foram realizadas análises bioquímicas para determinação da atividade da SOD e CAT e concentração de TBARS, GSH reduzida e sulfidrilas, além de atividade de metaloproteinases (MMPs). Diferenças significativas foram consideradas quando $p < 0,05$, utilizando Anova *Two Way*. Os animais que receberam ciclofosfamida obtiveram um aumento significativo nos níveis de TBARS e da atividade de MMP-2, além da diminuição na atividade da SOD. No entanto, o extrato aumentou a atividade da SOD e CAT, protegendo contra as alterações da ciclofosfamida. A nanoemulsão contendo o extrato diminuiu os níveis de TBARS, reduzindo o estresse oxidativo. Assim, o pré-tratamento com *B. dracunculifolia* foi capaz de reduzir o dano oxidativo causado pela ciclofosfamida no coração dos camundongos, efeito que foi potencializado pela nanoemulsão.

Palavras-chave: *Baccharis dracunculifolia*, ciclofosfamida, estresse oxidativo, coração, metaloproteinases

ABSTRACT

Cyclophosphamide is an antineoplastic drug belonging to the nitrogen mustard class. It acts as a prodrug that, following hepatic metabolism, generates an active metabolite (phosphoramidate mustard) and a toxic metabolite (acrolein). Acrolein increases oxidative stress and pro-inflammatory cytokine levels, a mechanism that contributes to the dose-dependent cardiotoxicity of cyclophosphamide, including myopericarditis. Phenolic compounds found in *Baccharis dracunculifolia* extract can neutralize free radicals, thereby reducing the production of reactive oxygen species (ROS) and exerting antioxidant effects. This study aimed to evaluate the potential cardioprotective effects of the ethanolic extract of *B. dracunculifolia* and a nanostructured formulation containing the extract against cyclophosphamide-induced cardiac oxidative damage in mice. C57BL/6J mice were divided into six groups: control (n = 13), *B. dracunculifolia* extract at 50 mg/kg (Bd50; n = 15), nanoemulsion containing *B. dracunculifolia* extract at 50 mg/kg (nBd50; n = 15), cyclophosphamide (Cy; n = 14), and two treatment groups: Cy plus *B. dracunculifolia* extract at 50 mg/kg (Cy + Bd50; n = 12) and Cy plus nanoemulsion containing *B. dracunculifolia* extract at 50 mg/kg (Cy + nBd50; n = 17). After seven days of pretreatment and 24 hours of exposure to cyclophosphamide, the animals were anesthetized and euthanized, and their hearts were collected. Biochemical analyses were performed to determine superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities; thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), reduced glutathione (GSH), and sulfhydryl group levels; and matrix metalloproteinase (MMP) activity. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$ using two-way ANOVA. Animals treated with cyclophosphamide showed significantly increased TBARS levels and MMP-2 activity, as well as decreased SOD activity. However, the extract increased SOD activity and CAT activity, protecting against cyclophosphamide-induced alterations. The nanoemulsion containing the extract decreased TBARS levels, thereby reducing oxidative stress. Thus, pretreatment with *B. dracunculifolia* reduced cyclophosphamide-induced oxidative damage in the hearts of mice, and this effect was enhanced by the nanoemulsion.

Keywords: *Baccharis dracunculifolia*, cyclophosphamide, oxidative stress, heart, metalloproteinases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Metabolização da ciclofosfamida.....	15
Figura 2 – Fluxograma das etapas de coleta vegetal e preparação do extrato bruto.....	22
Figura 3 – Fluxograma dos grupos experimentais.....	25
Figura 4 – Concentração de TBARS no coração de camundongos.....	30
Figura 5 – Atividade da SOD no coração de camundongos.....	31
Figura 6 – Atividade da CAT no coração de camundongos.....	32
Figura 7 – Concentração de GSH no coração de camundongos.....	32
Figura 8 – Concentração sulfidrilas no coração de camundongos.....	33
Figura 9 – Atividade da MMP-2 no coração de camundongos.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média da variação de massa corporal dos animais.....	29
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Bd	<i>Baccharis dracunculifolia</i>
Bd50	Extrato de <i>B. dracunculifolia</i> 50mg/kg
BHT	Butil- hidroxitolueno
CaCl ₂	Cloreto de Cálcio
CAT	Catalase
Cat/mg	Catalase por miligrama
Cf	Ciclofosfamida
CEUA	Comitê de Ética de Uso de Animais
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DPOC	Doença Obstrutiva Crônica
EAG	Equivalente ao ácido gálico
ECG	Eletrocardiograma
EPM	Erro padrão da média
ERO	Espécies reativas de oxigênio
EQ	Equivalente à quercetina
FA	Fase aquosa
FBS	Soro Fetal Bovino
FO	Fase oleosa
GSH	Glutathiona
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio

ip	Intraperitoneal
IV	Via intravenosa
IC	Insuficiência Cardíaca
LFEC	Laboratório de Fisiologia Endócrina e Cardiovascular
MDA	Malondialdeído
MEC	Matriz Extracelular
MMPs	Metaloproteinases
MTT	Brometo 3- (4-5-dimetilazol-2-il)- 2, 5-difeniltetrazólico
NaF	Fluoreto de sódio
nBd50	Nanoemulsão contendo extrato Bd 50mg/kg
nm	Nanômetros
nmol/mg	Nanomols por miligrama
PBS	Tampão fosfato salino
PDA	Detector de arranjo de fotodiodos
PDI	Índice de polidispersão
Phe	Fenantrolina
PMSF	Fluoreto de Fenilmetilsulfonil
rpm	Rotação por minuto
SH	Sulfidrilas
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético

TGF	Fator de Crescimento Transformador
TMP	1,1,3,3-tetrametoxipropano
Tris	Tris (hidroximetil/aminometano)
U/mg	Unidade por miligrama
VO	Via oral
v:v	Volume por volume
μL	Microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Ciclofosfamida.....	15
2.2 Sistema redox e ciclofosfamida	17
2.3 Metaloproteinases e ciclofosfamida.....	18
2.4 <i>Baccharis dracunculifolia</i>	19
2.5 Sistemas nano-estruturadas do tipo nanoemulsão	21
3 OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo geral	21
3.2 Objetivos específicos	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1 Coleta do material vegetal e preparo do extrato	22
4.2 Concentração de artepilina C, compostos fenólicos e flavonóides.....	23
4.3 Preparo da formulação nanoestruturada	23
4.4 Animais e grupos experimentais	24
4.6 Avaliação da massa corporal.....	25
4.7 Avaliação do estresse oxidativo	26
4.7.1 Avaliação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	26
4.7.2 Avaliação da atividade da superóxido dismutase (SOD).....	26
4.7.3 Avaliação da atividade da catalase (CAT).....	27
4.7.4 Avaliação da concentração de glutathione reduzida (GSH).....	27
4.7.5 Avaliação de sulfidrilas	27
4.8 Atividade das Metaloproteinases -2 e -9 por zimografia	28
4.9 Análise estatística.....	28
4.10 Uso de Inteligência Artificial	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1 Avaliação da massa corporal.....	29
5.2 Avaliação dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	29
5.3 Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD)	30
5.4 Avaliação da atividade da catalase (CAT).....	31
5.5 Determinação da concentração de glutathione (GSH).....	32
5.6 Determinação da concentração de grupos sulfidrilas	33
5.7 Avaliação da atividade da metaloproteinase 2	34
6 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS.....	36
ANEXOS	42
ANEXO A – Cadastro da <i>Baccharis dracunculifolia</i> no SISGEN	42
ANEXO B – Aprovação do projeto pelo CEUA.....	43

1 INTRODUÇÃO

A ciclofosfamida é um fármaco antineoplásico pertencente à classe das mostardas nitrogenadas, cujo mecanismo de ação é por alquilação do DNA, podendo ser usado também como imunossupressor. Esse fármaco possui diversos usos terapêuticos, sendo utilizado principalmente no tratamento de carcinoma de mama, mieloma múltiplo e a artrite reumatoide (Teles *et al.*, 2017). Embora a ciclofosfamida apresente grande importância no uso clínico, as reações adversas atribuídas a ela são graves, pois podem afetar tecidos saudáveis e gerar toxicidade. Na prática, a cistite hemorrágica é o efeito adverso mais relatado devido à toxicidade causada por metabólitos da ciclofosfamida (Mao *et al.*, 2023).

O medicamento é considerado um pró-fármaco, é absorvido em sua forma inativa necessitando de metabolização hepática para se transformar em sua forma ativa e exercer sua função, e isso é feito com o auxílio das enzimas pertencentes à família do citocromo P450, as CYPs (McDonald *et al.*, 2003). Ao interagir com as enzimas, a ciclofosfamida sofre reações, formando o 4-hidroxi-ciclofosfamida, que por sua vez transforma-se em aldofosfamida. A aldofosfamida contém duas vias de metabolismo, a via enzimática, originando a carboxifosfamida, que não possui efeito citotóxico; e a via não enzimática, que forma a mostarda fosforamida, responsável pelo efeito ativo da molécula e a acroleína, potencialmente capaz de causar toxicidade em diversos órgãos e tecidos, propiciando o aumento do estresse oxidativo (McDonald *et al.*, 2003).

O estresse oxidativo é caracterizado pela produção exagerada de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN) em comparação com a capacidade de defesa antioxidante do organismo (Tsutsui *et al.*, 2011). Em concentrações baixas e controladas, as ERO agem como elementos essenciais para o organismo, participando de diversos processos, como a transmissão de sinais intracelulares, por exemplo. Mas quando em excesso, podem causar oxidação de macromoléculas, culminando em uma alta quantidade de subprodutos oxidativos, como o malondialdeído (MDA). Tais subprodutos podem levar à peroxidação lipídica e podem ser quantificados por meio do ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Darenskaya *et al.*, 2023).

Esse cenário de estresse oxidativo induz a ativação das metaloproteinases (MMPs), enzimas responsáveis por degradar componentes da matriz extracelular

(MEC). A MMP-2 por exemplo, é uma gelatinase constitutiva do coração, sendo assim, estará presente no tecido cardíaco mesmo em condições normais e saudáveis, podendo ser uma

enzima biomarcadora da insuficiência cardíaca (IC), pois ela é capaz de promover degradação de estruturas envolvidas na contração muscular como a troponina I e a cadeia leve da miosina I (Gonçalves *et al.*, 2022).

Concomitantemente a isso, a expressão de MMP-9 é ampla em diferentes alvos do organismo, como neutrófilos, macrófagos, fibroblastos e cardiomiócitos (Moshal *et al.*, 2005). Dessa maneira, ela vai coordenar múltiplos tipos celulares ao longo do tempo, especialmente na fase inflamatória pós-infarto. Trata-se de uma enzima de resposta ao dano e não de manutenção. Assim, a MMP-9 pode ter uma expressão aumentada no miocárdio e desencadear uma sinalização que inicia o remodelamento no tecido cardíaco (Moshal *et al.*, 2005).

A toxicidade da ciclofosfamida no coração é dependente da dose administrada deste fármaco, manifestando-se através de uma combinação de sintomas e sinais de miopericardite. Essa condição pode levar a complicações graves, caracterizado morfológicamente por necrose, hemorragia e posterior desenvolvimento de fibrose. Ademais, ERO estão envolvidas no desenvolvimento da cardiotoxicidade após a administração do medicamento (Mythili *et al.*, 2004).

Por conta da toxicidade observada com o uso da ciclofosfamida faz-se necessária a utilização de citoprotetores. A *Baccharis dracunculifolia* (alecrimdocampo) é uma espécie arbustiva muito utilizada para produção de chás, principalmente para problemas de esôfago, fígado, inflamações e diabetes (Souza, 2007). Extratos e óleo essencial da planta vêm sendo amplamente empregados em terapias farmacológicas devido às diversas atividades biológicas, destacando-se a ação antioxidante (Ferronato *et al.*, 2006).

Quimicamente, a *B. dracunculifolia* é composta principalmente por compostos fenólicos como flavonoides e ácido *p*-cumárico, além de compostos diterpenos e triterpenos (Bohlmann *et al.*, 1981). Como consta na literatura, os flavonoides vêm sendo estudados como agentes capazes de neutralizar a formação de radicais livres, fazendo com que haja menor produção de ERO, atuando como elemento antioxidante (Moraes, 2022).

Dessa maneira, o estudo em questão, busca investigar o possível efeito cardioprotetor do extrato de *B. dracunculifolia*, em animais que receberam ciclofosfamida. Para isso, foi avaliado o extrato bruto etanólico das folhas da planta e uma formulação nanoemulsiva do tipo óleo/água contendo o extrato.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

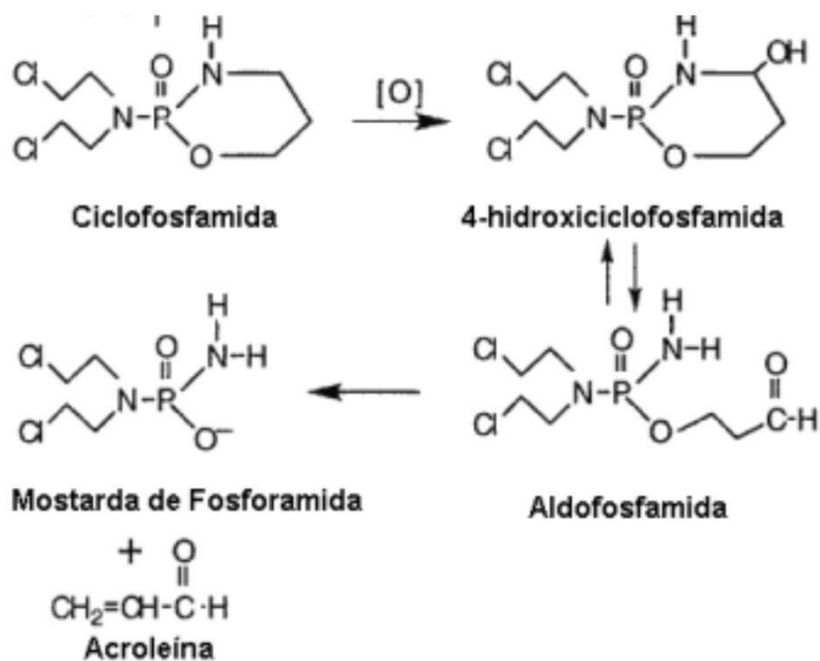
2.1 Ciclofosfamida

A ciclofosfamida é classificada como agente antineoplásico alquilante de DNA e imunossupressor. As indicações aprovadas são principalmente para linfomas, leucemias, câncer de mama, mieloma múltiplo e artrite reumatóide (Jonge *et al.*, 2005). Embora esse medicamento exerça papel terapêutico essencial na conduta clínica em virtude da vasta amplitude de ação, a ciclofosfamida pode acometer tecidos saudáveis e gerar toxicidade que já foram relatadas na literatura, como supressão da medula óssea, urotelioma, disfunção gonadal, teratogenicidade, cardiotoxicidade e toxicidade pulmonar, além de causar vômitos e náuseas (Langford, 1997).

Em relação à farmacocinética, as principais vias de administração da ciclofosfamida são por via oral e via intravenosa, mas ambas apresentam equivalência farmacêutica, alcançando níveis circulantes semelhantes dos metabólitos ativos (Bagley *et al.*, 1973). Além disso, apresenta um nível reduzido de ligação às proteínas plasmáticas. Em relação à eliminação, o tempo de meia-vida em adultos pode chegar a ser de 5 a 9 horas e 68% do medicamento é excretado pela urina (Bagley *et al.*, 1973; Jonge *et al.*, 2005; Struck *et al.*, 1987).

O fármaco é um composto originalmente inativo (pró-fármaco), exercendo sua ação farmacológica por meio de metabólitos secundários. Assim, primeiramente ocorre a ativação pelas enzimas da família do citocromo P450 por meio do metabolismo hepático, convertendo a ciclofosfamida em 4-hidroxíciclofosfamida, que posteriormente é metabolizada em aldofosfamida. Esse metabólito por sua vez se biotransforma em outras duas substâncias cruciais: a mostarda fosforamida, responsável pelo efeito farmacológico, ligando-se ao DNA da célula e impedindo a replicação do material genético e a acroleína, um subproduto responsável pela toxicidade da ciclofosfamida (Ahmed; Hombal, 1984; Colvin, 1999).

Figura 1: Metabolização da ciclofosfamida



Fonte: Adaptado de Gifoni (2008)

Um dos efeitos adversos mais graves da ciclofosfamida é a cistite hemorrágica, essa toxicidade não decorre do fármaco original, mas de seu metabólito reativo gerado que é a acroleína. Assim, a administração da ciclofosfamida é rotineiramente acompanhada pelo uso da mesna como agente citoprotetor, neutralizando a acroleína na bexiga, prevenindo a cistite hemorrágica e carcinogênese na bexiga (Shepherd *et al.*, 1991).

Goldberg *et al.* (1986) foi um dos primeiros autores a estudar sobre a real incidência e a contribuição da ciclofosfamida para a cardiotoxicidade em humanos, demonstrando a importância de se calcular a dose por superfície corporal, confirmando que o dano cardíaco é dose-dependente (Goldberg *et al.*, 1986). Estudos mais recentes, como o conduzido por Alizadehas *et al.* (2024) correlacionou esses mesmos riscos de dose na contribuição da cardiotoxicidade (Alizadehas *et al.*, 2024). Em seguida, surgiram vários estudos na literatura demonstrando que a cardiotoxicidade pode acontecer em indivíduos que receberam entre 120 a 270 mg/kg, dose essa fracionada ao longo de vários dias, levando-os a desenvolver insuficiência cardíaca congestiva grave e frequentemente fatal (Lotan *et al.*, 2012). Conforme Lisa *et al.* (2011), devido à capacidade da ciclofosfamida em causar cardiotoxicidade, é necessário que exista alguns exames de rotina, a fim de monitorar a função cardíaca, como o ecocardiograma (ECO) ou eletrocardiograma (ECG) Holter por 24 horas (Lisa *et al.*, 2011).

De acordo com Duléry *et al.* (2021), a cardiotoxicidade está associada a diversos fatores fisiopatológicos, que compreendem o estresse oxidativo, inflamação tecidual, dano à membrana

do miocárdio e indução de apoptose (Duléry *et al.*, 2021). Isso comprova o que Iqbal *et al.* (2019), descreveram associando esses fatores fisiopatológicos aos danos direto às células do miocárdio (Iqbal *et al.*, 2019).

Sendo assim, é notório que a cardiotoxicidade induzida pela ciclofosfamida estabelece um importante desafio terapêutico e requer investigação do sistema redox, uma vez que o aumento de ERO pode contribuir para lesão cardíaca.

2.2 Sistema redox e ciclofosfamida

O estresse oxidativo é caracterizado como um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a capacidade de neutralização. Os radicais livres são gerados como subprodutos do organismo e em condições normais e fisiológicas são produzidos de forma controlada, desempenhando papéis fundamentais de sinalização celular (Ames *et al.*, 1993). Entre as ERO, destacam-se o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidroxila ($\cdot OH$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Em concentrações elevadas, essas espécies podem causar danos no DNA, proteínas e lipídios, contribuindo para doenças cardiovasculares, envelhecimento, carcinogênese, doenças degenerativas, desordens imunológicas e disfunções cerebrais (Ames *et al.*, 1993; Brookes *et al.*, 2004; He L *et al.*, 2017).

A capacidade de neutralização é representada principalmente, pelos mecanismos antioxidantes e consistem nas enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), além dos componentes não enzimáticos, como a glutathiona reduzida (GSH), vitamina C, carotenoides e vitamina E (Ames *et al.*, 1993; He L *et al.*, 2017).

Como dito anteriormente, as ERO podem danificar as proteínas, carboidratos e os lipídeos, resultando na peroxidação lipídica, sendo o MDA um dos biomarcadores utilizados para verificar esse dano oxidativo lipídico. Estudos biomédicos utilizam o MDA fundamentado em sua reatividade com o ácido tiobarbitúrico (TBA). Essa reação resulta na formação do aduto MDA-TBA 2, o qual apresenta absorção em região visível do espectro. Sendo assim, a quantificação de TBARS, têm sido um parâmetro bioquímico para avaliar a peroxidação lipídica causada pelo estresse oxidativo (Aguilar; Borges, 2020; Soares *et al.*, 2021).

A ciclofosfamida apresenta toxicidade comprovada, sendo o estresse oxidativo o principal fator envolvido. O metabólito responsável pela toxicidade desse antitumoral, a acroleína, apresenta envolvimento no desequilíbrio redox, atuando como um agente supressor das defesas enzimáticas antioxidantes: SOD, CAT e não enzimáticas: a GSH (Li *et al.*, 2022; Moghe *et al.*, 2015).

Ademais, sabe-se que esse desequilíbrio redox é um fator desencadeante da cardiotoxicidade. Concomitantemente a isso, a ciclofosfamida apresenta efeitos cardiotóxicos dose-dependente, resultando em insuficiência cardíaca aguda (Marchetti *et al.*, 2025). Não apenas o coração é acometido pelo estresse oxidativo, mas outros órgãos também podem ficar comprometidos. O cérebro, por exemplo, apresenta sensibilidade ao desequilíbrio redox em razão da capacidade reduzida do sistema antioxidante. Assim, pode ocorrer após administração de ciclofosfamida um aumento significativo nos níveis de MDA no cérebro, causando danos estruturais graves, podendo levar a apoptose e, conseqüentemente, a necrose celular (Okoh; Ogunraku, 2010; Shulman *et al.*, 2004).

Por fim, o desequilíbrio redox correlaciona diretamente com a ativação de MMPs, podendo promover a degradação da MEC, levando a remodelação cardíaca e a lesão tecidual (Koldysheva *et al.*, 2018).

2.3 Metaloproteinases e ciclofosfamida

As MMPs são caracterizadas como proteases e possuem relevância fisiológica relacionada com a sua capacidade de hidrolisar macromoléculas da matriz celular agindo diretamente em sistemas dinâmicos de remodelação tecidual, como, por exemplo, a cicatrização e angiogênese. Ademais, 28 dessas MMPs foram encontradas no ser humano, podendo ser classificadas em: collagenases, gelatinases, matrilisinas, estromelisinases e MMPs do tipo membrana, com base nos domínios protéicos e tipo de substrato da matriz extracelular que degradam. Em condições fisiológicas e normais, a atividade dessas MMPs pode desempenhar papéis importantes para o organismo, no entanto, em excesso pode acarretar em patologias (Visse; Nagase, 2014). As MMPs-2 e -9 são classificadas como gelatinases, pois possuem em seu sítio ativo 3 domínios tipo fibronectina, que aumentam sua afinidade por gelatina, permitindo a sua degradação (Visse; Nagase, 2014).

A MMP-2 é uma gelatinase expressa em todos os tecidos do corpo, como epiteliais, renais, hepáticos, pulmonares, ósseos, sistema nervoso central e coração, onde degrada constituintes da MEC, participando de processos de remodelamento. Além disso, essa MMP possui em sua estrutura um peptídeo sinal, um pró-peptídeo um domínio catalítico com íon zinco (Zn^{2+}) e um domínio hemopexina. Durante um processo de isquemia e reperfusão, há um aumento das espécies reativas, especialmente o peroxinitrito ($ONOO^-$), que reage com o óxido nítrico (NO) atacando o resíduo de cisteína de pró-peptídeo de MMP-2, levando ao rompimento de ligação cisteína Zn^{2+} , sem romper o pró-peptídeo. Isso gera uma MMP-2

intracelular constitutiva ativa (Gonçalves *et al.*, 2022). Em cardiomiócitos, a MMP-2 apresenta distribuição intracelular ampla e, sob exposição a estresse fisiológico ou exposição a agentes tóxicos, sua atividade e localização podem ser moduladas (Bergman *et al.*, 2006; Byulleten *et al.*, 2017; Koldysheva *et al.*, 2018). Já a MMP-9, também conhecida como gelatina B, é uma MMP induzida por processos inflamatórios e migração celular. Sua atividade desregulada tem sido implicada na patogênese de diversas condições, como aterosclerose, Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), asma, neurodegeneração e aneurismas (Huang *et al.*, 2024; Wolosowicz *et al.*, 2025). Os níveis de MMP-9 podem aumentar significativamente durante doenças cardiovasculares. Isso ocorre porque essa MMP ativa o Fator de Crescimento Transformador (TGF) e IL-1 β amplificando o processo inflamatório local e posteriormente, ocorre ativação do TGF- β latente retido na matriz extracelular. Esse estímulo resulta na hiperestimulação de fibroblastos cardíacos, resultando no acúmulo de colágeno e consequente progressão da fibrose no miocárdio (Medeiros; Gomes; Oliveira, 2017).

Quando ocorre lesão cardíaca provocada pela ciclofosfamida, há um aumento significativo na expressão da MMP-2 dentro dos cardiomiócitos. Essa MMP que geralmente é expressa nos núcleos das células musculares, logo após a administração desse fármaco, pode ser detectada também no citoplasma da célula muscular cardíaca, que é uma estrutura fundamental no processo de contração muscular. Como demonstrado no estudo feito por Koldysheva *et al.* (2018), no qual os ratos após um dia de exposição de ciclofosfamida (125 mg/kg) apresentaram um aumento de MMP-2 no núcleo. Além disso, houve expressão dessa protease no citoplasma dos cardiomiócitos, o que comprometeu a capacidade contrátil do tecido cardíaco (Koldysheva *et al.*, 2018).

Sendo assim, a *B. dracunculifolia* surge como potencial antioxidante com capacidade de bloquear os ERO que ativam as MMPs, evitando assim os danos ao tecido cardíaco.

2.4 *Baccharis dracunculifolia*

A *B. dracunculifolia* pertence à família Asteraceae, é nativa da América do Sul, sendo predominantemente encontrada no Brasil em regiões do Sul, Sudeste e CentroOeste. Essa espécie apresenta-se como um arbusto e é conhecida tradicionalmente como

“alecrim-do-campo” ou “vassourinha” (Sforcin *et al.*, 2012). Essa espécie vegetal é uma das principais fontes constituinte da própolis verde, produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera*. As propriedades biológicas da *B. dracunculifolia* são amplamente estudadas e comprovadas por diversos autores como atividades anti-inflamatórias, imunomoduladoras,

neuroprotetoras, antimicrobianas e antioxidante (Santos *et al.*, 2010; Burgos *et al.*, 2022; França *et al.*, 2022; Veiga *et al.*, 2017).

Em relação ao metabolismo secundário vegetal e à ação antioxidante, compostos fenólicos, principalmente os flavonoides, são capazes de neutralizar os radicais livres ou até mesmo promover sua eliminação. Evidências científicas apontam que a composição fitoquímica da *B. dracunculifolia*, associada às suas propriedades biológicas, incluem flavonoides, terpenos e os ácidos fenólicos (Akao *et al.*, 2003; Guimarães *et al.*, 2012; Menezes., 2005;).

De acordo com os resultados apresentados por Guimarães *et al.* (2012), o extrato glicólico de *B. dracunculifolia* demonstrou efeito antioxidante, protegendo lipídeos e proteínas contra o estresse oxidativo no tecido hepático, especificamente em mitocôndrias isoladas de fígado de rato. Acredita-se que o pré-tratamento com o extrato da planta, rico em compostos fenólicos e flavonoides como artepilina C, impediu a degradação das membranas e das proteínas mitocondriais (Guimarães *et al.*, 2012).

Foi verificado por Óses *et al.* (2016) que os flavonoides são compostos químicos encontrados na própolis verde e apresentam elevada atividade antioxidante, neutralizando espécies reativas (Óses *et al.*, 2016). Outros trabalhos também demonstrou essa similaridade na composição química entre ambos (Park *et al.*, 2004; Simões *et al.*, 2004)

Em um estudo, ainda não publicado, dados como o rendimento do extrato, bem como, a concentração de compostos fenólicos, flavonoides e artepilina C foram obtidos por Grazieli (2025). O rendimento do extrato bruto de *B. dracunculifolia* foi de 20,74%; já em relação à concentração de compostos fenólicos e flavonoides, respectivamente, os resultados encontrados foram 115 µg/mg equivalente a ácido gálico (EAG) e 12,1 µg /mg equivalentes à quercetina (EQ). Ademais, a concentração de artepilina C encontrada nesse estudo foi igual a $18 \pm 4,5$ mg/g de extrato. E esse extrato avaliado, também foi aplicado nesse presente trabalho. E comparando a um outro trabalho do mesmo grupo de pesquisa, que utilizou os mesmos procedimentos para a obtenção do extrato vegetal e uma formulação do tipo nanoemulsão contendo o extrato bruto dessa planta, obteve 188 µg/mg EAG e 13 µg/mg EQ, resultados semelhantes ao encontrado nesse estudo (Carlos Batista *et al.*, 2024). Para além, de acordo com resultados encontrados por Rezende *et al.*, (2014) o teor de compostos fenólicos obtidos para o um extrato hidroalcolico de folhas da *B. dracunculifolia* foi próximo (142,90 µg/mg). Assim, é possível perceber que os extratos obtidos das folhas desta espécie apresentam teor elevado de compostos fenólicos, independente da variação no solvente extrator.

2.5 Sistemas nano-estruturadas do tipo nanoemulsão

A nanotecnologia tem sido muito utilizada na área farmacêutica com ênfase em pesquisas que visam aprimorar a farmacocinética dos medicamentos. Nesse aspecto, existem diversos mecanismos utilizados para otimizar este perfil terapêutico dos fármacos, sendo os principais: aumentar a biodisponibilidade ao mimetizar a dispersão molecular de compostos de caráter hidrofóbico, potencializar a taxa de permeabilidade ou o transporte de fármacos de baixa permeabilidade e alterar a disposição sistêmica de compostos ativos, assegurando que o medicamento permaneça no local de ação esperado por um período maior (Date *et al.*, 2010).

Nesse cenário, surgem as nanoemulsões como uma possibilidade altamente eficaz, que baseiam-se em dispersões coloidais compostas por duas fases imiscíveis, podendo ser água em óleo (A/O) ou óleo em água (O/A), assim o que as difere é a fase dispersa (interna) e a fase contínua (externa). Além disso, essas dispersões são estabilizadas por um agente tensoativo, cujas gotículas têm dimensão média de 20-200 nm (Tadros *et al.*, 2003; Constantinides; Chaubal; Shorr, 2007).

Assim, a hipótese deste trabalho é verificar se o pré-tratamento com extrato etanólico de *B. dracunculifolia*, bem como sua formulação nanoestruturada do tipo nanoemulsão, são capazes de reduzir os danos oxidativos causados pela ciclofosfamida no coração. Adicionalmente, acredita-se que a nanoemulsão contendo o extrato seja mais efetiva que o extrato livre ao proteger o tecido cardíaco desse dano.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito cardioprotetor do extrato etanólico de *B. dracunculifolia* e da nanoemulsão contendo o extrato no dano oxidativo do tecido cardíaco de camundongos que receberam ciclofosfamida, e verificar se a formulação nanoestruturada contendo extrato é mais efetiva que o extrato livre.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT, níveis de TBARS e concentração de GSH no tecido cardíaco;

- Avaliar a atividade das MMPs 2 e 9 no tecido cardíaco;
- Comparar os dados obtidos das análises oxidativas e de MMPs no tecido cardíaco entre os tratamentos;
- Verificar se o tratamento com a formulação nanoestruturada possui efeito superior ao do extrato livre.

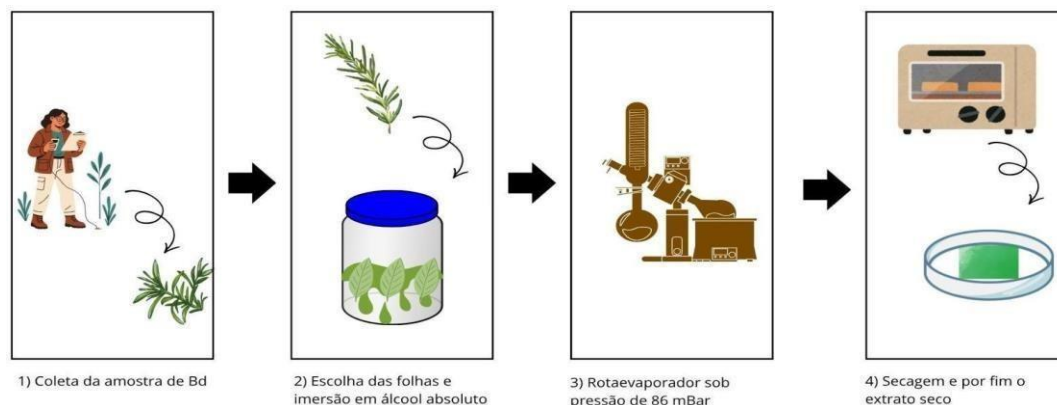
4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta do material vegetal e preparo do extrato

A coleta da amostra de *B. dracunculifolia* ocorreu em fevereiro de 2024, durante o período matutino, no verão, em áreas da mineradora Samarco, em Minas Gerais. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e transportadas ao Laboratório de Fisiologia Endócrina e Cardiovascular (LFEC) para seleção com base em critérios morfológicos de integridade, priorizando folhas inteiras, sem sinais de degradação, seguindo para pesagem das folhas. Concluído esse procedimento inicial, sobre as folhas foi adicionado álcool absoluto (proporção 1:1,5 p/v), ficando em repouso por 10 dias, mantido em temperatura ambiente e protegido da luminosidade por um ciclo total de 30 dias. A cada intervalos de 10 dias, a fase líquida foi filtrada e um novo volume de álcool foi adicionado às folhas, seguindo a mesma proporção, e o processo foi repetido por mais duas vezes nas mesmas condições. Posteriormente, as frações líquidas resultantes foram reunidas e submetidas à concentração em rotaevaporador sob pressão de 86 mBar a aproximadamente 40 °C. O fluido remanescente foi seco em estufa a cerca de 40°C, gerando o extrato etanólico seco da planta. O rendimento da extração foi calculado pela razão entre a massa foliar inicial e a massa do extrato seco resultante.

A identificação botânica foi ratificada pela deposição de um exemplar no herbário institucional da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), cujo código é OUPR46113. Ademais, seu cadastro foi realizado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional (SISGEN), sob o nº A91F793 (Anexo A).

Figura 2: Fluxograma das etapas de coleta vegetal da e preparação do extrato bruto



Fonte: Elaborado pela autora no Canva (2026)

4.2 Concentração de artepilina C, compostos fenólicos e flavonóides

A concentração de artepilina C no extrato foi obtida por Gonçalves (2025), uma vez que foi utilizado o mesmo extrato previamente caracterizado em seu trabalho.

Adicionalmente, o método reproduzido fundamentou-se em um estudo feito por De Souza *et al.* (2009), que verificou a influência da sazonalidade sobre a constituição química da *B. dracunculifolia* em diferentes estados brasileiros, sendo os meses de dezembro a abril os melhores, abrangendo verão e início do outono, pois impacta no perfil fitoquímico da planta, e portanto, nesses meses mencionados há um maior rendimento e maior acúmulo de compostos fenólicos. Para isso, a técnica utilizada foi a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) modelo Waters e2695 acoplado ao detector de arranjo de fotodiodos (PDA Waters): CLAE-DAD. Os parâmetros cromatográficos empregados foram: coluna de fase reversa C18 da marca Waters, modelo XTerra com dimensões de 250 X 4,6 mm e 5 µm de tamanho de partícula; volume de injeção de 15 µL; temperatura de 15 °C; detecção de faixa de 265 a 320 nm; eluição em modo isocrático e gradiente; fluxo de 1 mL/min; e fases móveis constituídas por fase A, composta por ácido acético, acetato de amônio, metanol e água ultrapura na proporção de 0,8; 0,3; 5; 93,9 (p/v), e fase B, composta por acetonitrila. Para o preparo das fases móveis, foram utilizados solventes em grau de CLAE, posteriormente filtrados e degaseificados, sendo também realizado o monitoramento do pH do tampão. Ademais, a dosagem de compostos fenólicos e flavonoides também foi realizada por Gonçalves (2025), utilizando exatamente o mesmo extrato através das técnicas de FolinCiocalteu e cloreto de alumínio (AlCl₃), respectivamente.

4.3 Preparo da formulação nanoestruturada

A formulação foi desenvolvida e patenteada pela equipe de pesquisa do LFEC, sob o Privilégio de Inovação registrado no INPI, cujo número de registro é BR10202201082, com depósito realizado em 02/06/2022. Ela consiste em nanômetros do tipo água/óleo, de uso oral, no qual o componente ativo é o extrato etanólico das folhas de Bd.

A composição envolve uma fase oleosa (FO) estruturada com óleo de girassol e os tensoativos Croduret™ (PEG-40) 50 e o Crill 3 (monoestearato de sorbitol). Quanto à fase aquosa (FA) é composta por água ultrapura. O preparo da formulação consiste em iniciar a solubilização do extrato nos componentes da FO e os tensoativos durante uma hora em banho de ultrassom. Na sequência, ambas as fases foram submetidas a aquecimento independente ($\pm 80^\circ\text{C}$). Após a mistura sob agitação mecânica, o sistema permaneceu em repouso até o equilíbrio térmico com a temperatura ambiente.

Após o preparo, a nanoemulsão foi estabilizada sob refrigeração ($\pm 4^\circ\text{C}$). Decorridas 24 horas, realizou-se a inspeção visual para descartar instabilidades macroscópicas (separação de fases). Como não houve alteração visual, prosseguiu com as características físicas e químicas da formulação de *B. dracunculifolia*, incluindo mensuração do pH, tamanho de gotícula, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta, sendo os três últimos parâmetros avaliados por meio de espectroscopia de correlação de fótons no equipamento Malvern Zetasizer modelo ZS, situado no laboratório do CiPharma.

4.4 Animais e grupos experimentais

Foram utilizados camundongos machos de linhagem C57BL/6J, com idades entre 6 e 8 semanas, pesando entre 20 e 25 g, obtidos do Centro de Ciência Animal (CCA) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) da UFOP (nº: 8522301023), e o mesmo foi realizado no biotério do CCA, onde as condições ambientais são controladas por ar-condicionado ($20\text{-}22^\circ\text{C}$), e os animais tiveram livre acesso à água e ração. Os animais foram distribuídos em 6 grupos, sendo:

Grupo 1: Controle – receberam água (veículo do extrato, v.o) por 7 dias e no sétimo dia, 1 h antes da administração de salina (veículo da ciclofosfamida, i.p (n=13);

Grupo 2: Extrato (Bd50) – receberam o extrato do Bd (50 mg/kg, v.o) veiculado em água, por 7 dias e no sétimo dia, 1h antes da administração de salina (i.p) (n=15);

Grupo 3: Nanoemulsão (nBd50) – receberam a nanoemulsão contendo o extrato (50 mg/kg, v.o) por 7 dias e no sétimo dia, 1 h antes da administração de salina (i.p) (n=15); Grupo 4: Ciclofosfamida (Cf) – receberam água (v.o) por 7 dias e no sétimo dia, 1 h antes da

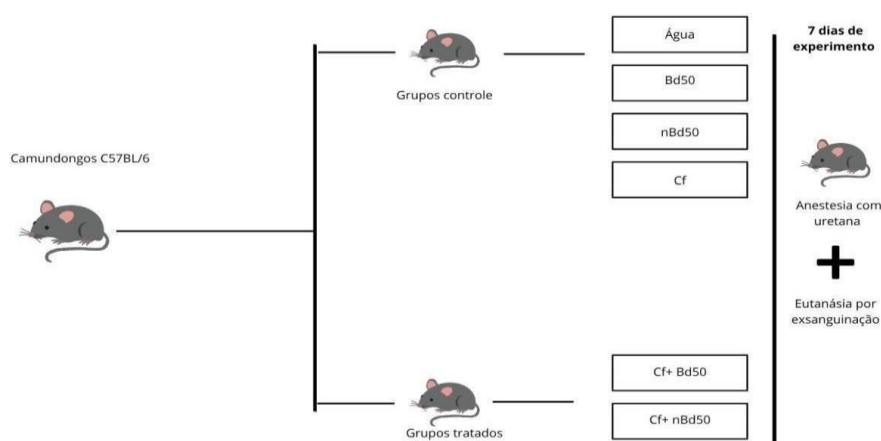
administração em dose única de ciclofosfamida (300 mg/kg, i.p) (n=14); Grupo 5: Ciclofosfamida + extrato (Cf+ Bd50) – receberam o extrato de alecrim-docampo (50 mg/kg, v.o), veiculado em água, por 7 dias e no sétimo dia, 1 h antes da administração em dose única de ciclofosfamida (300 mg/kg, i.p) (n=12);

Grupo 6: Ciclofosfamida + Nanoemulsão (Cf+ nBd50) – receberam a nanoemulsão contendo o extrato (50 mg/kg, v.o) durante 7 dias e no sétimo dia, 1 h antes da administração em dose única de ciclofosfamida (300 mg/kg, i.p) (n=17);

Após o sétimo dia de experimento e 24h após administração da ciclofosfamida, os animais foram anestesiados intraperitonealmente com uretana 1,25g/kg e eutanasiados por exsanguinação. O coração foi submetido a congelamento instantâneo em nitrogênio líquido, transferido para freezer em -80°C, para posterior análises bioquímicas (SOD, CAT, GSH, sulfidrilas e TBARS) e avaliação de MMP-2 através do método de zimografia.

A definição da dosagem de extrato de *B. dracunculifolia* fundamentou-se em resultados anteriores de um grupo de pesquisa do LFEC (Carlos Batista *et al.*, 2024). Já o protocolo de indução com ciclofosfamida, incluindo dose e tempo de exposição foi estruturado a partir de modelos já validados na literatura científica (Abraham, Rabi, 2011; Goudarzi *et al.*, 2017; Temel *et al.*, 2020; Sousa *et al.*, 2021).

Figura 3: Fluxograma da distribuição dos grupos experimentais dos camundongos



Fonte: Elaborado pela autora no Canva (2026)

4.6 Avaliação da massa corporal

Ao longo de todo o período experimental, os camundongos foram mantidos sob regime de dieta padrão, com livre acesso à água e ração. Os animais foram pesados em balança digital

durante três momentos: no início do protocolo (T0), ao encerramento dos tratamentos (T7) e, por fim, 24 horas após a administração da ciclofosfamida (T8), visando verificar possíveis alterações do modelo experimental na massa corporal.

4.7 Avaliação do estresse oxidativo

4.7.1 Avaliação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para a quantificação de TBARS, fragmentos do coração foram homogeneizados em 1 mL de tampão de Tris (pH 7,4), seguidos de centrifugação em 10000 rpm (10 min, 4 °C). A análise prosseguiu conforme a metodologia descrita por Kohn e Liversedga (1944). Para a reação, foram retiradas alíquotas de 250 µL do sobrenadante com ácido tricloroacético (TCA), ácido tiobarbitúrico (TBA) e butil-hidroxitolueno (BHT) em banho seco (95 °C) por 15 minutos. Após o período de incubação, as amostras foram resfriadas em gelo, homogeneizadas em vórtex e novamente centrifugadas. O sobrenadante resultante foi transferido para microplacas de 96 poços e assim, elaborouse uma curva padrão com 1,1,3,3-Tetrametoxipropano (TMP) com quantidade equivalente a 500 µL. Para quantificação, mediu-se em espectrofotômetro a 535 nm e os valores obtidos foram calculados com base na equação da curva padrão e na concentração proteica, sendo expressos em nmol/mg de proteína.

4.7.2 Avaliação da atividade da superóxido dismutase (SOD)

Para avaliar a atividade da SOD, primeiramente uma parte do tecido do coração foi triturado em solução PBS pH 7,4, e posteriormente, centrifugado a 10000 rpm (10 minutos, 4°C). O sobrenadante (1,5 µL) foi transferido para microplacas de 96 poços e adicionou-se 6 µL de MTT, 15 µL de pirogalol e 127 µL de tampão fosfato, e a placa foi levada para incubação (5 minutos, 37°C). No estudo, utilizou-se o sal de tetrazólio, produtor do corante formazan após diminuição de O₂. A taxa de redução de O₂ está linearmente ligada à atividade da xantina oxidase e é impedida pela SOD. Após o período de incubação, foi adicionado dimetilsulfóxido (DMSO), com a finalidade de solubilizar o formazan formado, permitindo verificar a atividade da SOD em espectrofotômetro a 450nm. Os resultados obtidos foram expressos em U/mg de proteína (Marklund; Marklund, 1974).

4.7.3 Avaliação da atividade da catalase (CAT)

Para determinação da atividade da CAT, a amostra de tecido cardíaco foi homogeneizada em PBS pH 7,4, e em seguida centrifugada a 10000 rpm (10 minutos, 4°C.) Após a centrifugação, o sobrenadante foi coletado e submetido à diluição (2:1, v:v) em água ultrapura, e alíquotas de 20 µL foram adicionados a 580 µL de PBS contendo peróxido de hidrogênio (H₂O₂), em cubeta de quartzo, assim, foi possível verificar a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio pela enzima, em até 120 segundos. Por fim, foram feitos os cálculos com base nos valores de absorbância em 240 nm. Desse modo, subtraiu-se a absorbância inicial da absorbância final, sendo apresentados em unidades Cat/mg, a fim de determinar os valores de decomposição (Beers; Sizer, 1952).

4.7.4 Avaliação da concentração de glutathiona reduzida (GSH)

Para determinar a concentração de GSH, primeiramente uma parte do tecido cardíaco foi triturado em solução de tampão fosfato PBS pH 7,4, e, posteriormente, centrifugado por um período de 10 minutos a 10000 rpm e a 4°C. Após a centrifugação, o sobrenadante que foi formado, foi retirado para realização do ensaio. Em seguida, adicionou-se 200 µL de TCA à amostra e centrifugou-se por 15 minutos a 4000 rpm, em 4°C. Para a dosagem de GSH, adicionou-se 220 µL de Tris HCl com 80 µL de amostra. Por fim, colocou-se em uma placa de 96 poços e acrescentou-se 5 µl do reagente DTNB e levou para o Tecan (Molecular Devices), sendo o comprimento de onda de 415 nm (Simplicio *et al.*, 2015).

4.7.5 Avaliação de sulfidrilas

Para avaliar a concentração de sulfidrilas no coração, primeiramente uma amostra do tecido cardíaco foi triturado em solução de tampão fosfato PBS pH 7,4, e, posteriormente, centrifugado por um período de 10 minutos a 10000 rpm e a 4°C. Após a centrifugação, o sobrenadante que foi formado, foi retirado para realização do ensaio. Para a dosagem de sulfidrilas no tecido cardíaco, foi adicionado 72 µL de Tris HCl, 24 µL de DNTB e 384 µL de metanol. Na sequência, homogeneizou-se a mistura em vórtex por 30 minutos e centrifugou por um período de 15 minutos a 13000 rpm. Por fim, pipetou-se 200 µL em uma placa de 96 poços e a leitura das absorbâncias foi realizada em um comprimento de onda de 412 nm. Todas as concentrações foram obtidas em µmol/mg de proteína.

4.8 Atividade das Metaloproteinases -2 e -9 por zimografia

A amostra contendo tecido cardíaco foi homogeneizada utilizando 250 μ L de Tampão Tris pH 7,4 - CaCl_2 (10 mM) [Phe (0,2 M); NaF (0,5 M) e Orto (0,5 M) e PMSF 0,2 M] e, posteriormente, centrifugada a 4000 rpm, durante 15 minutos a 4°C. Na sequência, foi coletado o sobrenadante e separou-se uma alíquota para dosagem das proteínas totais pelo método de Lowry. Utilizou-se 10 μ L dessa amostra, o padrão de Soro Fetal Bovino (FBS) e 10 μ L de tampão não redutor 2 X que foram misturados e submetidos ao banho maria por um período de 15 minutos a 37°C. Após o período de incubação, a mistura foi submetida a corrida eletroforética em gel de poliacrilamida contendo SDS-PAGE. Em seguida, o gel foi incubado durante uma hora em solução de renaturação X-100 (10%) e na sequência em tampão de ativação Tris-HCl (50 mM, pH 7,4) contendo CaCl_2 , em estufa biológica a 37 °C, por 24 horas. No dia posterior, o gel foi imerso em solução corante Coomassie Blue G-250 (0,05%) por 1 hora sob agitação. Para a visualização das bandas de atividade enzimática, utilizou-se uma solução descolorante sobre o gel, para evidenciar as zonas de quebras da gelatina que foram degradadas pela ação das MMPs. Essas bandas foram digitalizadas e quantificadas em unidades arbitrárias (UA) corrigidas pelo FBS no software ImageJ.

4.9 Análise estatística

Os resultados foram analisados pelo programa GraphPad Prism 8 e expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM), quando $p < 0,05$. A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida pelo pós-teste de *Tukey*. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

4.10 Uso de Inteligência Artificial

Ferramentas de inteligência artificial generativa foram utilizadas para apoio de revisão gramatical, revisão do texto e aprimoramento da fluidez textual (Claude IA, Gemini e Perplexity), sob supervisão dos autores, e em conformidade com a portaria do CNPq nº2.664/2026. Todas as decisões e conteúdos são de responsabilidade dos autores.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da massa corporal

Percebe-se que durante a primeira fase (0-7 dias), os animais dos grupos Cf, Cf+Bd50 e Cf+nBd50 não apresentaram alteração de massa corporal. No entanto, na segunda fase (7-8 dias), principalmente os animais dos grupos Cf, Cf+Bd50 e Cf+nBd50 apresentaram perda de massa corporal. Além disso, nota-se que a perda de massa corporal é mais expressiva no grupo Cf, sendo de -3 g. Em analogia com um estudo conduzido por Bhatt, Sebastian e Joshi (2017, p.62-67) os animais que receberam ciclofosfamida sofreram uma perda significativa na massa corporal, o que também foi encontrado nesse estudo (Bhatt; Sebastian; Joshi, 2017, p.62-67).

Tabela 1: Média da variação de massa corporal dos animais (g)

Tempo (dias)	Controle	Bd50	nBd50	Cf	Cf+Bd50	Cf+nBd50
0-7	1	1	1	-	-	-
7-8	1	0	-1	-3	-1	-1

0-7 diferença entre antes de iniciar os tratamentos (T0) e o fim dos tratamentos (T7). E 7-8, diferença entre o fim dos tratamentos (T7) e 24h após Cf 300 mg/kg i.p (T8).

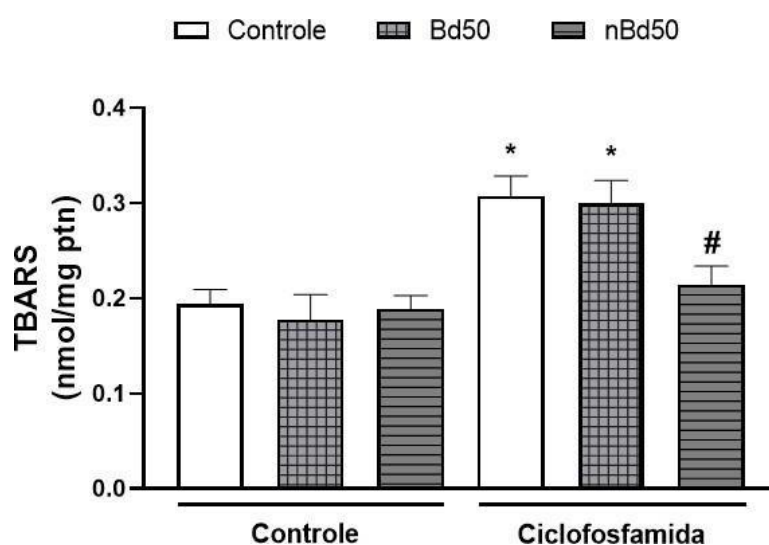
5.2 Avaliação dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

As espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico são marcadores biológicos do estresse oxidativo, sobretudo para a peroxidação lipídica (Aguilar; Borges, 2020). Quando ocorre um desequilíbrio redox, as espécies reativas irão romper os lipídeos da membrana, gerando um produto conhecido como MDA, e este por sua vez reage com o TBA, podendo ser quantificado pela avaliação nos níveis de TBARS (Soares *et al.*, 2021). Assim, percebe-se que o grupo Cf+Bd50 também apresentou um aumento significativo nos níveis de TBARS em relação ao grupo controle. Mas o grupo Cf+nBd50 demonstrou uma diminuição significativa no nível de TBARS em comparação ao grupo Cf (Figura 3). Portanto, Cf induziu peroxidação lipídica no tecido cardíaco e o extrato livre não conseguiu reverter esse dano oxidativo, mas o extrato veiculado na nanoemulsão conseguiu diminuir esse dano.

Um estudo feito por Marchetti *et al.* (2025) mostrou que o aumento de ERO associada à redução da atividade antioxidante causada pela ciclofosfamida favorece o processo de

peroxidação lipídica, causando danos ao coração. Deste modo, os animais que receberam ciclofosfamida desse trabalho, também apresentaram um aumento significativo nos níveis de TBARS no tecido cardíaco, ocasionando maior dano oxidativo. Em relação ao efeito antioxidante do extrato carregado em nanoemulsão, pode-se dizer que a formulação viabilizou o tratamento entregando constituintes químicos que se relacionam com a atividade antioxidante ao tecido cardíaco. E de modo geral, nanoemulsões têm sido utilizadas como instrumento para melhorar a biodisponibilidade de medicamentos que são pouco solúveis em água, facilitando a liberação do medicamento e prolongando o efeito terapêutico por aumentar a absorção no trato gastrointestinal (Kotta *et al.*, 2012). Juntamente à nanoemulsão, o extrato de alecrim-do-campo é rico em antioxidantes, por apresentarem compostos fenólicos (Navarro *et al.*, 2018). Assim, a nanoemulsão contendo o extrato de 50 mg/kg conseguiu reduzir o dano oxidativo por sua ação antioxidante, ao neutralizar as espécies reativas, prevenindo assim a peroxidação lipídica.

Figura 4: Concentração de TBARS no coração de camundongos



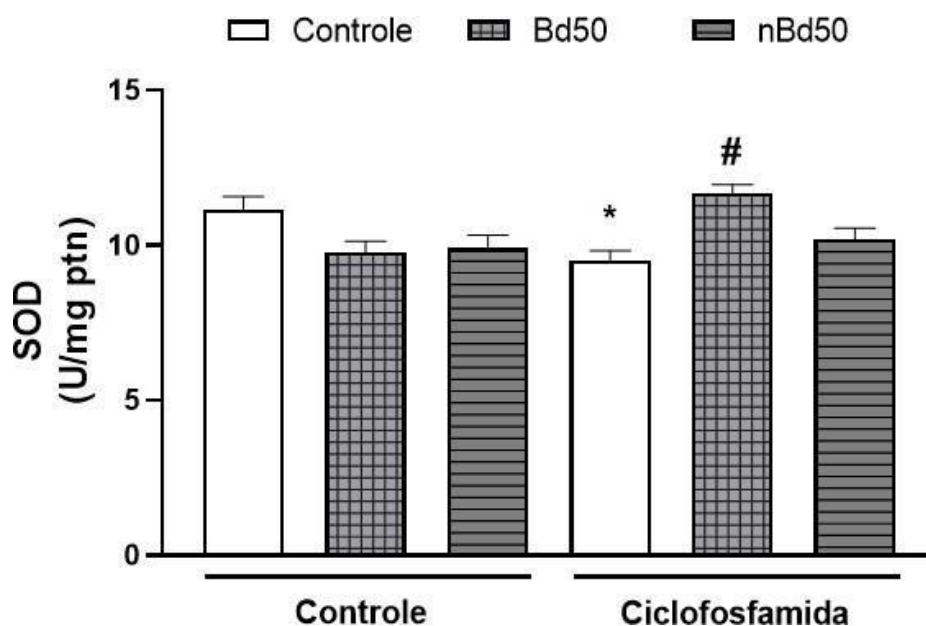
Os resultados são apresentados como média $\pm$ EPM ($n=15$), utilizando ANOVA de duas vias, seguido de pós-teste Tukey, considerando $p < 0,05$. * Diferença significativa em comparação ao grupo controle, # diferença significativa em comparação ao grupo ciclofosfamida

5.3 Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD)

A SOD é uma importante enzima antioxidante, responsável por catalisar a conversão do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio (O_2), a fim de controlar ERO (Halliwell; Gutteridge, 1999). Quando ocorre estresse oxidativo essa enzima pode ficar comprometida, bem como pode ocorrer uma redução da atividade enzimática. Sendo assim, percebe-se que camundongos que receberam ciclofosfamida mostraram uma redução

significativa na atividade da SOD, devido ao desequilíbrio redox, quando comparado com o grupo controle que recebeu Bd50, nBd50 e água. Ademais, os animais do grupo CF+Bd50 apresentaram um aumento significativo na atividade da SOD, sugerindo uma atividade antioxidante do extrato (Figura 4). O extrato de *B. dracunculifolia* apresenta compostos conhecidos como flavonoides, e de acordo com Chimi *et al.*, (1990) estes compostos são potentes antioxidantes capazes de atuar como aceptores de radicais livres ou de íons metálicos (Chimi *et al.*, 1991). Assim, esse composto antioxidante, ao reduzir o estresse oxidativo pela neutralização das ERO e diminuir o desequilíbrio redox, permitirá uma maior atividade da SOD. Portanto, os flavonoides e a SOD são importantes meios para a preservação da defesa antioxidante, diminuindo assim os danos oxidativos.

Figura 5: Atividade da SOD no coração de camundongos.



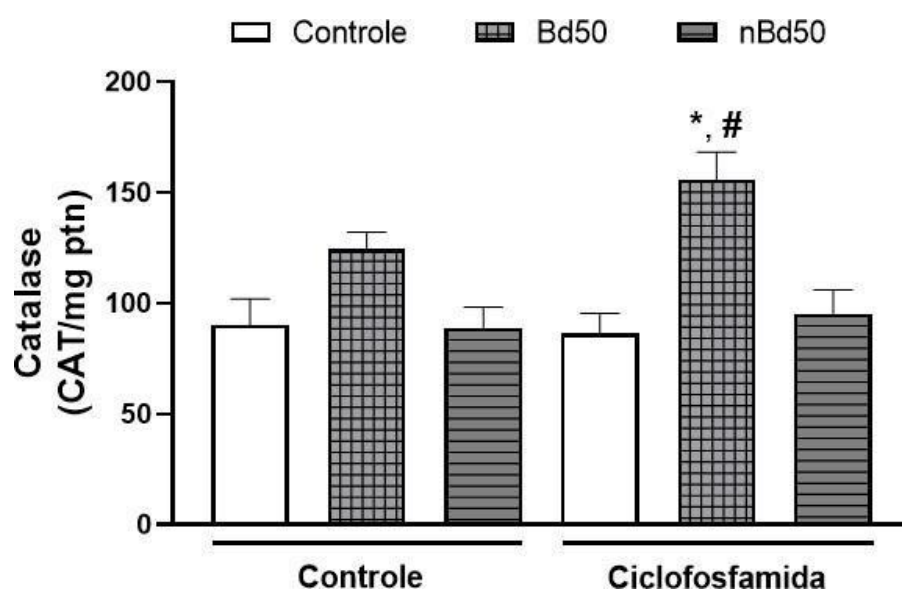
Os resultados são apresentados como média $\pm$ EPM (n= 17), utilizando ANOVA de duas vias, seguido de pós-teste Tukey, considerando $p < 0,05$. * Diferença significativa em comparação ao grupo controle, # diferença significativa em comparação ao grupo ciclofosfamida.

5.4 Avaliação da atividade da catalase (CAT)

A CAT do mesmo modo, é uma enzima antioxidante responsável pela conversão do H_2O_2 em água e oxigênio (O_2). Essa molécula reativa quando em excesso pode causar danos às biomoléculas, como DNA, proteínas e lipídios durante o estresse oxidativo (Halliwell; Gutteridge, 1999). Quando isso ocorre, há uma diminuição na atividade da catalase. Nota-se que os animais que receberam ciclofosfamida não obtiveram diferença significativa em relação ao grupo controle. Entretanto, percebe-se que o grupo Cf+Bd50 apresentaram um aumento

significativo na atividade da enzima em relação ao grupo controle e o grupo Cf (Figura 5). Em um estudo feito por Marchetti *et al.* (2025) mostraram que a atividade antioxidante das enzimas catalase e glutathione peroxidase não foi modificada pela ciclofosfamida no coração (Marchetti *et al.*, 2025). Assim como no presente trabalho, não houve diferença significativa na atividade da CAT em camundongos que receberam ciclofosfamida quando comparados ao grupo controle no tecido cardíaco. Entretanto, o tratamento com o extrato livre aumentou a atividade da enzima, superando níveis basais.

Figura 6: Atividade da CAT no coração de camundongos

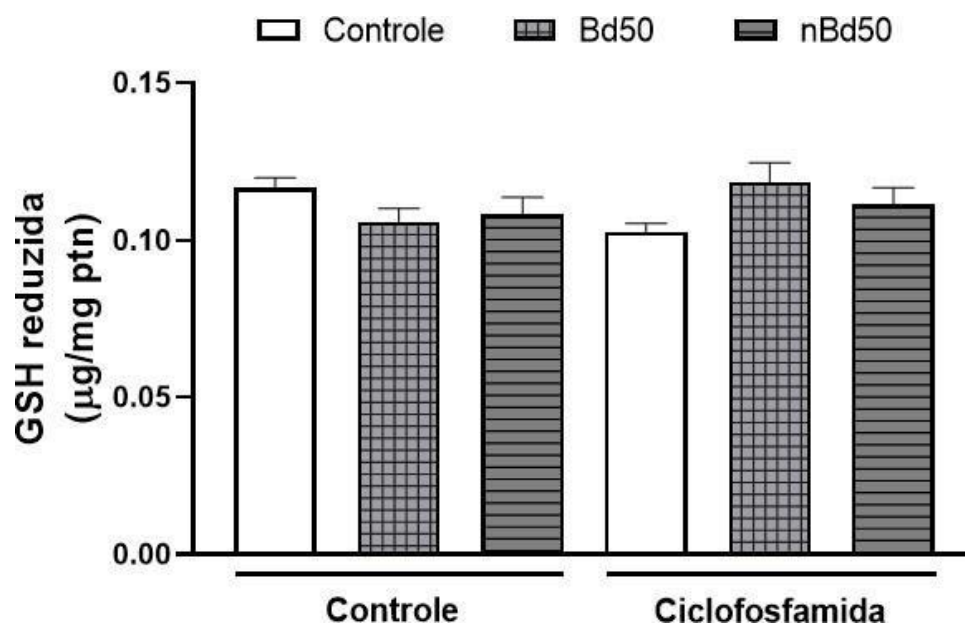


Os resultados são apresentados como média $\pm$ EPM (n= 16), utilizando ANOVA de duas vias, seguido de pós-teste Tukey, considerando $p < 0,05$. * Diferença significativa em comparação ao grupo controle, # diferença significativa em comparação ao grupo ciclofosfamida.

5.5 Determinação da concentração de glutathione (GSH)

A GSH, por sua vez, também apresenta atividade antioxidante, ao ser convertida em sua forma oxidada (GSSH), diminuindo ERO, e consequentemente, o estresse oxidativo (Halliwell; Gutteridge, 1999). Neste ensaio, observa-se que não houve diferença significativa entre os grupos (Figura 6). Não foi possível observar efeito antioxidante do extrato livre e incorporado em nanoemulsão, assim como a depleção de GSH pela ciclofosfamida.

Figura 7: Concentração de GSH no coração de camundongos

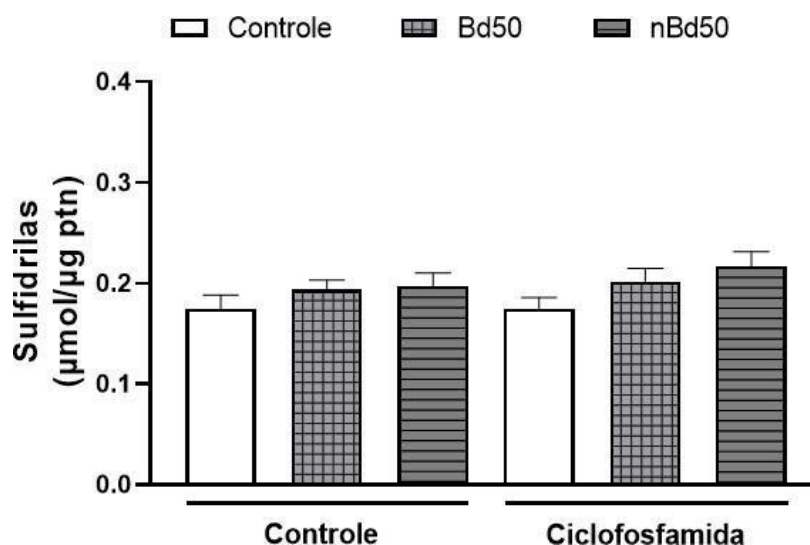


Os resultados são apresentados como média $\pm$ EPM ($n=18$), utilizando ANOVA de duas vias, seguido de pós-teste Tukey, considerando $p < 0,05$. * Diferença significativa em comparação ao grupo controle, # diferença significativa em comparação ao grupo ciclofosfamida.

5.6 Determinação da concentração de grupos sulfidrila

Os grupos sulfidrila (-SH) são uma resposta ao estresse oxidativo, no qual sofrem oxidação para originar dissulfetos mistos (S-tioação), e posteriormente reduzidos ao seu estado original (detioação). Esse ciclo confere à célula uma capacidade antioxidante. Assim, como para GSH, também não houve diferença significativa para sulfidrila no tecido cardíaco (Figura 7). Apesar de que os tióis sejam alvos fáceis para ERO, eles se mantiveram intactos. Talvez porque o coração ainda tenha outras defesas antioxidantes que permaneceram preservadas ou pronunciadas, como observado para SOD e CAT.

Figura 8: Concentração de sulfidrila no coração de camundongos

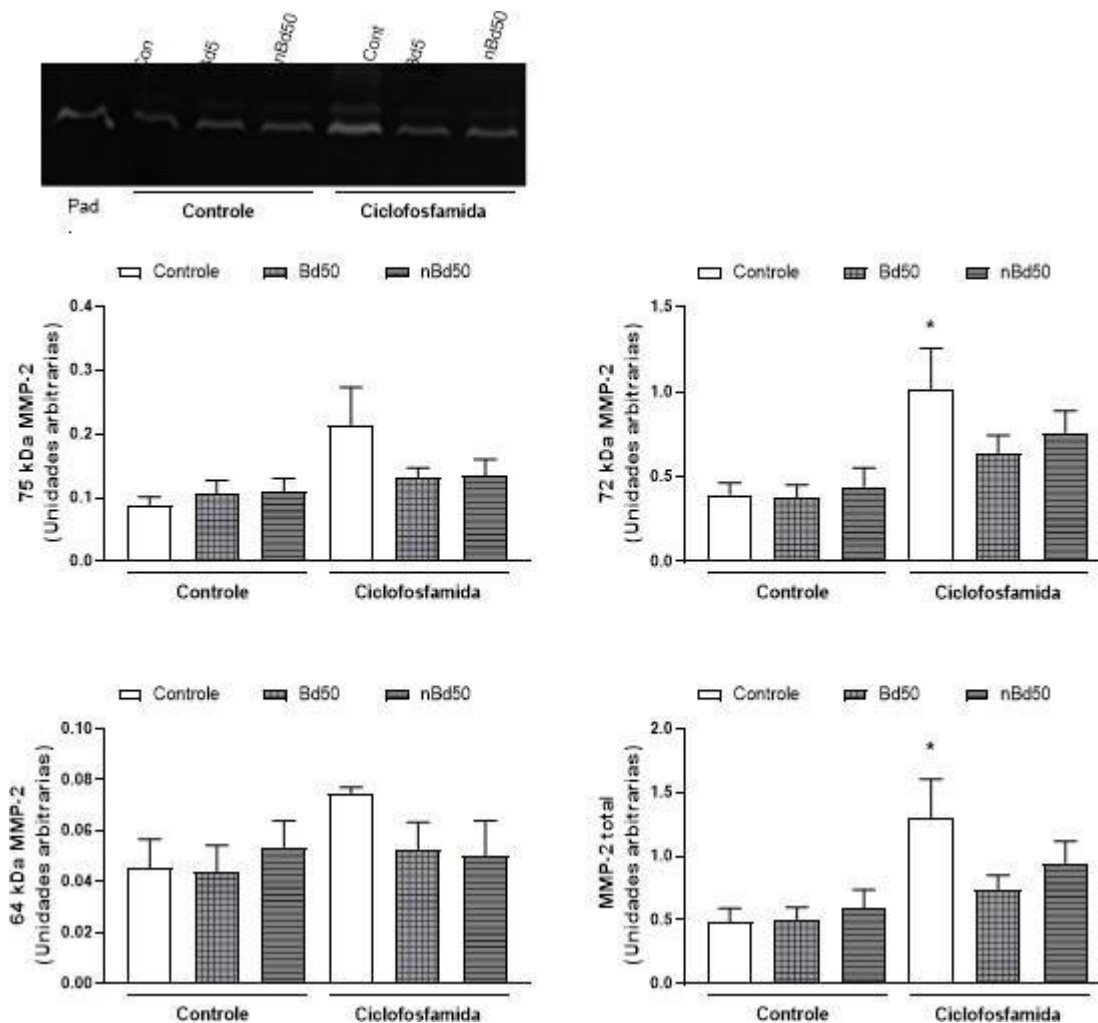


Os resultados são apresentados como média $\pm$ EPM (n=18), utilizando ANOVA de duas vias, seguido de pós-teste Tukey, considerando $p < 0,05$. * Diferença significativa em comparação ao grupo controle, # diferença significativa em comparação ao grupo ciclofosfamida.

5.7 Avaliação da atividade da metaloproteinase 2

Percebe-se que os animais que receberam ciclofosfamida obtiveram uma elevação significativa na expressão de MMP-2 total quando comparado ao grupo controle: água, Bd50 e nBd50. Essa alteração também foi observada na forma latente e inativa da enzima (72kDa), no qual houve um aumento nos níveis de MMP-2, reforçando o papel dessa enzima no remodelamento cardíaco induzido pelo desequilíbrio redox (Koldysheva *et al.*, 2018; Bergman *et al.*, 2007). Além disso, percebe-se que o extrato e a formulação nanoestruturada não foram capazes de reverter significativamente esse processo. No entanto, será necessário aumentar o “n” experimental dessas análises para confirmar esse resultado. Este resultado está de acordo com os estudos conduzidos por Koldysheva *et al.*, 2018, em que os ratos após exposição à ciclofosfamida obtiveram um aumento significativo de MMP-2 nos cardiomiócitos (Koldysheva *et al.*, 2018). Neste trabalho a MMP-9 não foi encontrada.

Figura 9: Atividade da MMP-2 no coração de camundongos



Os resultados são apresentados como média $\pm$ EPM (n=6), utilizando ANOVA de duas vias, seguido de pós-teste Tukey, considerando $p < 0,05$. * Diferença significativa em comparação ao grupo controle, # diferença significativa em comparação ao grupo ciclofosfamida.

6 CONCLUSÃO

Diante do exposto, conclui-se que a ciclofosfamida causou dano oxidativo no coração dos camundongos, aumentando os níveis de TBARS, o que implica em processo de peroxidação lipídica no tecido cardíaco. Em contrapartida, o prétratamento com extrato de *B. dracunculifolia* livre foi capaz de apresentar atividade antioxidante, com base no aumento de atividade das enzimas SOD e CAT. E a nanoemulsão contendo o extrato demonstrou maior efetividade ao diminuir a peroxidação lipídica, diminuindo os níveis de TBARS. Já em relação à MMP-2, os tratamentos demonstraram uma tendência em diminuir MMP-2 nos cardiomiócitos ativada pelo estresse oxidativo induzido pela ciclofosfamida, mas todavia, faz-se necessário aumentar o número amostral para confirmar esse dado.

REFERÊNCIAS

- AHMED, A. R.; HOMBAL, S. M. Cyclophosphamide (Cytoxan): A review on relevant pharmacology and clinical uses. **Journal of the American Academy of Dermatology, Los Angeles**, v. 11, n. 6, p. 1115-1126, dez. 1984. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0190962284801930>. Acesso em: 05 maio 2026.
- AGUILAR DIAZ DE LEON, Jesús; BORGES, Chad R. Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. **Journal of Visualized Experiments**, n. 159, p. 61122, 12 maio 2020.
- AKAO, Yukihiro *et al.* Cell Growth Inhibitory Effect of Cinnamic Acid Derivatives from Propolis on Human Tumor Cell Lines. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 7, p. 1057–1059, 2003.
- ALIZADEHASL, Azin *et al.* Post-transplant cyclophosphamide-induced cardiotoxicity: A comprehensive review. **Journal of Cardiovascular and Thoracic Research**, v. 16, n. 4, p. 211–221, 23 dez. 2024.
- AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 17, p. 7915–7922, set. 1993.
- BABA, Shahid P.; BHATNAGAR, Aruni. Role of thiols in oxidative stress. **Current Opinion in Toxicology**, v. 7, p. 133–139, fev. 2018.
- BAGLEY, C. M.; BOSTICK, F. W.; DEVITA, V. T. Clinical pharmacology of cyclophosphamide. **Cancer Research**, v. 33, n. 2, p. 226–233, fev. 1973.
- BEERS, Roland F.; SIZER, Irwin W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, n. 1, p. 133–140, mar. 1952.
- BERGMAN, Marina R. *et al.* Cardiac matrix metalloproteinase-2 expression independently induces marked ventricular remodeling and systolic dysfunction. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 292, n. 4, p. H1847-1860, abr. 2007.
- BHATT, Laxit; SEBASTIAN, Binu; JOSHI, Viraj. Mangiferin protects rat myocardial tissue against cyclophosphamide induced cardiotoxicity. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 8, n. 2, p. 62–67, abr. 2017.
- BOHLMANN, Ferdinand *et al.* Five diterpenes and other constituents from nine *Baccharis* species. **Phytochemistry**, v. 20, n. 2, p. 281–286, jan. 1981.
- BROOKES, Paul S. *et al.* Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 287, n. 4, p. C817–C833, out. 2004.
- BURGOS, Christa *et al.* Immunomodulatory activity of species of the genus *Baccharis*. **Revista Paraguaya de Reumatología**, v. 8, n. 1, p. 45–50, 30 jun. 2022.

CARLOS BATISTA, Marcos Adriano *et al.* Antihypertensive effect of a nanoemulsion of *baccharis dracunculifolia* leaves extract in sodium-dependent hypertensive rats. **Natural Product Research**, v. 39, n. 23, p. 6865–6872, 2 dez. 2025.

CASAGRANDE, Maira *et al.* Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: In vitro antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 207–219, dez. 2018.

CHIMI, H. *et al.* Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 68, n. 5, p. 307–312, maio 1991.

COLVIN, O. M. An Overview of Cyclophosphamide Development and Clinical Applications. **Current Pharmaceutical Design**, v. 5, n. 8, p. 555–560, ago. 1999.

CONSTANTINIDES, Panayiotis P.; CHAUBAL, Mahesh V.; SHORR, Robert. Advances in lipid nanodispersions for parenteral drug delivery and targeting. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 6, p. 757–767, mar. 2008.

CROUCH, Marie-Laure *et al.* Cyclophosphamide leads to persistent deficits in physical performance and in vivo mitochondria function in a mouse model of chemotherapy late effects. **PLOS ONE**, v. 12, n. 7, p. e0181086, 10 jul. 2017.

DARENSKAYA, Marina *et al.* Diabetic Nephropathy: Significance of Determining Oxidative Stress and Opportunities for Antioxidant Therapies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 15, p. 12378, 3 ago. 2023.

DATE, Abhijit A. *et al.* Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems: Formulation Insights, Applications and Advances. **Nanomedicine**, v. 5, n. 10, p. 1595–1616, dez. 2010.

DE SOUSA, João Paulo B. *et al.* Seasonality Role on the Phenolics from Cultivated *Baccharis dracunculifolia*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, n. 1, p. 464289, jan. 2011.

DOS SANTOS, Diogo A. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 543–550, fev. 2010.

DULÉRY, Rémy *et al.* Early Cardiac Toxicity Associated With Post-Transplant Cyclophosphamide in Allogeneic Stem Cell Transplantation. **JACC: CardioOncology**, v. 3, n. 2, p. 250–259, jun. 2021.

FERRONATTO, Regina *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 224–230, jun. 2007.

FRAISER, Lucy H.; KANEKAL, Sarathchandra; KEHRER, James P. Cyclophosphamide Toxicity: Characterising and Avoiding the Problem. **Drugs**, v. 42, n. 5, p. 781–795, nov. 1991.

FRANÇA, Tauani Caroline Santos *et al.* *Baccharis dracunculifolia* DC Hydroalcoholic Extract Improves Intestinal and Hippocampal Inflammation and Decreases Behavioral Changes of Colitis Mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2022, p. 1–14, 7 mar. 2022.

GIFONI, Markus Andret Cavalcante. Envolvimento da pentraxina 3 (PTX3) na patogênese da cistite hemorrágica induzida por ifosfamida em camundongos. 2008. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

GONÇALVES, Grazieli Beatriz de Oliveira. Efeito do extrato de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) livre e incorporado em nanoemulsão no dano renal induzido pela ciclofosfamida em camundongo. 2025. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2025.

GONÇALVES, Pricila Rodrigues *et al.* Matrix Metalloproteinase 2 as a Pharmacological Target in Heart Failure. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 8, p. 920, 25 jul. 2022.

GOLDBERG, M.A.; ANTIN, J.H.; GUINAN, E.C.; RAPPEPORT, J.M. Cardiotoxicidade da ciclofosfamida: uma análise da dosagem como fator de risco. **Blood**, v. 67, n. 3, p. 829-835, 1986. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article/68/5/1114/164864/Cyclophosphamidecardiotoxicity-an-analysis-of>. Acesso em: 20 abr. 2026.

GUIMARÃES, Natalia S. S. *et al.* *Baccharis dracunculifolia*, the main source of green propolis, exhibits potent antioxidant activity and prevents oxidative mitochondrial damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 3–4, p. 1091–1097, mar. 2012.

Halliwell, B. e Gutteridge, JMC (1999) Radicais livres em biologia e medicina. Em: Halliwell, B. e Gutteridge, JMC, Eds., *Radicais livres em biologia e medicina*, 3ª edição, Oxford University Press, Oxford, 1-25. Disponível em: <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1125453>. Acesso em: 3 jun. 2026.

HE, Long *et al.* Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 44, n. 2, p. 532– 553, 2017.

HUANG, Qiumei *et al.* MMP-9 as a clinical marker for endometriosis: a meta-analysis and bioinformatics analysis. **Frontiers in Endocrinology**, v. 15, p. 1475531, 31 out. 2024.

HUSAIN, S.R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. **Atividade de eliminação de radicais hidroxila em flavonoides. Phytochemistry**, v. 26, n. 9, p. 2489-2491, 1987. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942200838601>. Acesso em: 20 maio 2026.

IQUBAL, Ashif *et al.* Molecular mechanism involved in cyclophosphamide-induced cardiotoxicity: Old drug with a new vision. **Life Sciences**, v. 218, p. 112–131, fev. 2019.

IYER, Rugmani Padmanabhan; JUNG, Mira; LINDSEY, Merry L. MMP-9 signaling in the left ventricle following myocardial infarction. **American Journal of PhysiologyHeart and Circulatory Physiology**, v. 311, n. 1, p. H190–H198, 1 jul. 2016.

DE JONGE, Milly E. *et al.* Clinical Pharmacokinetics of Cyclophosphamide: **Clinical Pharmacokinetics**, v. 44, n. 11, p. 1135–1164, 2005.

JACOTET-NAVARRO, Magali *et al.* What is the best ethanol-water ratio for the extraction of antioxidants from rosemary? Impact of the solvent on yield, composition, and activity of the extracts. **Electrophoresis**, 2 jan. 2018.

KOLDYSHEVA, E. V. *et al.* Role of Matrix Metalloproteinase-2 in the Development of Cyclophosphamide-Induced Cardiomyopathy. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 164, n. 4, p. 483–487, mar. 2018.

KOTTA, Sabna *et al.* Exploring oral nanoemulsions for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 9, n. 5, p. 585–598, maio 2012.

LANGFORD, C. A. Complications of cyclophosphamide therapy. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 254, n. 2, p. 65–72, fev. 1997.

LI, Jinsa *et al.* Visualization of peroxynitrite in cyclophosphamide-induced oxidative stress by an activatable probe. **Talanta**, v. 238, p. 123007, fev. 2022.

MARCHETTI, Barbara M. *et al.* Nebivolol Mitigates the Pro-Oxidative and ProInflammatory Effects of Cyclophosphamide in the Heart. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 39, n. 5, p. e70047, out. 2025.

MARKLUND, Stefan; MARKLUND, Gudrun. Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. **European Journal of Biochemistry**, v. 47, n. 3, p. 469–474, set. 1974.

MCDONALD, George B. *et al.* Cyclophosphamide metabolism, liver toxicity, and mortality following hematopoietic stem cell transplantation. **Blood**, v. 101, n. 5, p. 2043–2048, 1 mar. 2003.

MEDEIROS, N. I.; GOMES, J. A. S.; CORREA-OLIVEIRA, R. Synergic and antagonistic relationship between MMP -2 and MMP -9 with fibrosis and inflammation in Chagas' cardiomyopathy. **Parasite Immunology**, v. 39, n. 8, p. e12446, ago. 2017.

MOGHE, Akshata *et al.* Molecular Mechanisms of Acrolein Toxicity: Relevance to Human Disease. **Toxicological Sciences**, v. 143, n. 2, p. 242–255, fev. 2015.

MORAES, Giovanna Vizzaccaro *et al.* Potencial antioxidante dos flavonoides e aplicações terapêuticas. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, p. e238111436225, 25 out. 2022.

MOSHAL, Karni S. *et al.* Early induction of matrix metalloproteinase-9 transduces signaling in human heart end stage failure. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 9, n. 3, p. 704–713, jul. 2005.

- MULLINS, G. M.; ANDERSON, P. N.; SANTOS, G. W. High dose cyclophosphamide therapy in solid tumors: *Therapeutic, toxic, and immunosuppressive effects*. **Cancer**, v. 36, n. 6, p. 1950–1958, dez. 1975.
- MYTHILI, Y. *et al.* Protective effect of dl- α -lipoic acid on cyclophosphamide induced oxidative cardiac injury. **Chemico-Biological Interactions**, v. 151, n. 1, p. 13–19, dez. 2004.
- PARK, Yong K. *et al.* Chemical Constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the Main Botanical Origin of Southeastern Brazilian Propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1100–1103, 1 mar. 2004.
- REZENDE, Túlio *et al.* Protective Effects of *Baccharis dracunculifolia* Leaves Extract against Carbon Tetrachloride- and Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Experimental Animals. **Molecules**, v. 19, n. 7, p. 9257–9272, 2 jul. 2014.
- SANTOS, G. W. *et al.* The use of cyclophosphamide for clinical marrow transplantation. **Transplantation Proceedings**, v. 4, n. 4, p. 559–564, dez. 1972.
- SFORCIN, J. M.; *et al.* *Baccharis dracunculifolia*: uma das principais fontes vegetais da própolis brasileira. São Paulo: Editora UNESP, 2012.
- SIMÕES, L. M. C. *et al.* Effect of Brazilian green propolis on the production of reactive oxygen species by stimulated neutrophils. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 59–65, set. 2004.
- SHEPHERD, J. D. *et al.* Mesna versus hyperhydration for the prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in bone marrow transplantation. **Journal of Clinical Oncology**, v. 9, n. 11, p. 2016–2020, nov. 1991.
- SHULMAN, Robert G. *et al.* Energetic basis of brain activity: implications for neuroimaging. **Trends in Neurosciences**, v. 27, n. 8, p. 489–495, ago. 2004.
- SOARES, F. A. C. *et al.* Thiobarbituric acid reactive substances in dogs with spontaneous hypercortisolism. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 77, p. 106634, out. 2021.
- STRUCK, R. F. *et al.* Plasma pharmacokinetics of cyclophosphamide and its cytotoxic metabolites after intravenous versus oral administration in a randomized, crossover trial. **Cancer Research**, v. 47, n. 10, p. 2723–2726, 15 maio 1987.
- TADROS, Tharwat *et al.* Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 108–109, p. 303–318, maio 2004.
- TELES, K. A. *et al.* CYCLOPHOSPHAMIDE ADMINISTRATION ROUTINE IN AUTOIMMUNE RHEUMATIC DISEASES: A REVIEW. **Nephrology (Saint-Petersburg)**, v. 22, n. 1, p. 104–113, 1 jan. 2018.
- TSIKAS, Dimitrios. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. **Analytical Biochemistry**, v. 524, p. 13–30, maio 2017.

TSUTSUI, Hiroyuki; KINUGAWA, Shintaro; MATSUSHIMA, Shouji. Oxidative stress and heart failure. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 301, n. 6, p. H2181-2190, dez. 2011.

VEIGA, R. S. *et al.* Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 4, p. 911–920, abr. 2017.

VISSE, Robert; NAGASE, Hideaki. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases: Structure, Function, and Biochemistry. *Circulation Research*, v. 92, n. 8, p. 827–839, 2 maio 2003.

YILDIRIM, Ibrahim *et al.* Contribution of antioxidants to preventive effect of mesna in cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 54, n. 5, p. 469–473, nov. 2004.

WANG, Kai *et al.* Propolis from Different Geographic Origins Decreases Intestinal Inflammation and Bacteroides spp. Populations in a Model of DSS-Induced Colitis. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 17, p. e1800080, set. 2018.

WOLOSOWICZ, Marta; PROKOPIUK, Slawomir; KAMINSKI, Tomasz W. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a Therapeutic Target: Insights into Molecular Pathways and Clinical Applications. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 11, p. 1425, 4 nov. 2025.

ANEXOS

ANEXO A – Cadastro da *Baccharis dracunculifolia* no SISGEN

Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão
Cadastro nº A91F793

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **A91F793**
 Usuário: **carla speroni ceron**
 CPF/CNPJ: **010.654.120-02**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie**Baccharis dracunculifolia**

Título da Atividade: **EFEITO DO EXTRATO DE ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis dracunculifolia*) NO DANO tecidual CAUSADO PELA CICLOFOSFAMIDA EM CAMUNDONGO**

Equipe

carla speroni ceron **UNIFAL-MG**
Leonardo Maximo Cardoso **UFOP**

Data do Cadastro: **20/10/2023 13:04:00**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **13:52** de **07/04/2026**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

ANEXO B – Aprovação do projeto pelo CEUA



Universidade Federal de Ouro Preto

*Comissão de Ética no
Uso de Animais*

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do extrato de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) nos danos teciduais causados pela ciclofosfamida em camundongo", protocolada sob o CEUA nº 8522301023 (ID 000995), sob a responsabilidade de **Carla Speroni Ceron e equipe; Gabriel Tavares do Vale; Grazieli Beatriz O. Gonçalves** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Ouro Preto (CEUA/UFOP) na reunião de 22/03/2024.

We certify that the proposal "Effect of rosemary (*Baccharis dracunculifolia*) extract on tissue damage caused by cyclophosphamide in mice", utilizing 444 Isogenics mice (444 males), protocol number CEUA 8522301023 (ID 000995), under the responsibility of **Carla Speroni Ceron and team; Gabriel Tavares do Vale; Grazieli Beatriz O. Gonçalves** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Ouro Preto Federal University (CEUA/UFOP) in the meeting of 03/22/2024.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **01/2024 a 01/2027** Área: **Ciências Biológicas**

Origem: **Centro de Ciência Animal**

Espécie: **Camundongos isogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **6 a 8 semanas**

Quantidade: **444**

Linhagem: **C57BL/6**

Peso: **20 a 25 g**

UFOP

Ouro Preto, 22 de março de 2024

Prof. Dra. Cintia Lopes de Brito Magalhães
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Wanderson Geraldo de Lima
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Ouro Preto

