

# ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE *PSIDIUM GUINEENSE* SW

en la mucosa bucal  
de ratas BIOU: Wistar

*Anti-inflammatory activity of Psidium guineense Sw  
in the buccal mucosa of BIOU: Wistar rats*

POR

LAURA **CONTRERAS**<sup>1</sup>

BELKIS **QUIÑONEZ**<sup>2</sup>

ROSALBA **FLORIDO**<sup>2</sup>

ELIX **IZARRA**<sup>3</sup>

SARA **PÁSCUALE**<sup>4</sup>

WANDA **LEÓN**<sup>5</sup>

1 Odontólogo. Ejercicio privado. Guayaquil, Ecuador.

 [orcid.org/0009-0009-4563-502X](https://orcid.org/0009-0009-4563-502X)

2 Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología. Departamento de Biopatología. Mérida, Venezuela.

 [orcid.org/0000-0001-7002-5965](https://orcid.org/0000-0001-7002-5965)

3 Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología. Departamento de Investigación. Mérida, Venezuela.

 [orcid.org/0000-0002-6832-4461](https://orcid.org/0000-0002-6832-4461)

4 Universidad de Los Andes. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Departamento de Galénica. Mérida, Venezuela.

5 Universidad de Los Andes. Facultad de Medicina. Departamento de Farmacología y Toxicología. Mérida, Venezuela.

 [orcid.org/0000-0002-1347-4171](https://orcid.org/0000-0002-1347-4171)

**Autor de correspondencia:** Belkis Quiñónez M. Departamento de Farmacología y Toxicología. Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes. Avenida Don Tulio Febres Cordero. Mérida, estado Mérida. Venezuela.

[quibel@ula.ve](mailto:quibel@ula.ve); [belkisqm@gmail.com](mailto:belkisqm@gmail.com)

## Resumen

La inflamación es la reacción local del tejido conjuntivo vascularizado a la agresión. El tratamiento tradicional para este tipo de reacciones incluye la administración sistémica o tópica de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES), como la bencidamina. Los resultados de estudios preclínicos sugieren que la planta *Psidium guineense Sw*, comúnmente conocida como guayabo agrio es útil para tratar diversas patologías, como las afecciones inflamatorias. Sin embargo, no se hallaron investigaciones sobre el efecto antiinflamatorio de esta especie vegetal en la mucosa bucal, por lo que se planteó determinar el efecto antiinflamatorio de *Psidium guineense Sw* como alternativa al tratamiento de la inflamación en cavidad bucal de ratas BIOU: Wistar. Se realizó un estudio experimental en el que se utilizaron 112 ratas machos distribuidas en ocho grupos, a las cuales se les indujo la inflamación mediante el test orofacial de la formalina inyectando solución de formalina al 5% en la Almohadilla Interna del Labio Inferior (AILI) de las ratas y se les aplicó por vía tópica gel de *P. guineense Sw*, gel placebo o ungüento de bencidamina, antes o después de inducir la inflamación. Se determinó el volumen de la AILI y se realizó el estudio histopatológico de muestras de este tejido. El análisis estadístico de los resultados demostró que la formalina induce una respuesta inflamatoria en la AILI, en comparación con la inyección de agua destilada (t de student,  $p < 0,05$ ). La administración del gel de *Psidium guineense Sw*, de manera preventiva y curativa produjo efecto antiinflamatorio, disminuyendo el volumen de la AILI (ANOVA,  $p < 0,05$ ), y la cantidad de infiltrado inflamatorio; la bencidamina solo ejerció efecto antiinflamatorio curativo. Se concluye que el gel de *Psidium guineense SW* posee un potencial terapéutico como alternativa para prevenir y tratar la inflamación.

**PALABRAS CLAVE:** *Psidium guineense Sw*, inflamación, antiinflamatorios, bencidamina, ratas BIOU: Wistar, test de formalina.

## Abstract

Inflammation is a local reaction of vascularized connective tissue due to aggression. The traditional treatment for this type of reactions includes systemic or topical administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), such as benzydamine. Preclinical studies suggest that the plant *Psidium guineense Sw*, commonly known as sour guava is useful to treat various pathologies, such as inflammatory conditions. However, no research was found on the anti-inflammatory effect of this plant on the buccal mucosa. Therefore, it was proposed to determine the anti-inflammatory effect of *Psidium guineense Sw* as an alternative to the treatment of inflammation in the buccal cavity of BIOU: Wistar rats. An experimental study was conducted in 112 male rats distributed in eight groups, in which inflammation was induced by the injection of orofacial 5% formalin test in the Lower Internal Lip Pad (AILI) of the rat. Topical gel of *P. guineense Sw*, placebo gel or benzydamine ointment was applied topically before or after inducing inflammation. The volume of the AILI was determined and the histopathological study of samples of this tissue was carried out. The statistical analysis of the results showed that formalin induces an inflammatory response in the AILI, in comparison with the injection of distilled water (student's t,  $p < 0.05$ ). The administration of the gel of *Psidium guineense Sw*, preventively and curatively produced anti-inflammatory effect, decreasing the volume of the AILI (ANOVA,  $p < 0.05$ ), and the amount of inflammatory infiltrate. Benzidamine alone exerted an anti-inflammatory healing effect. It is conclude that the gel of *Psidium guineense SW* has a therapeutic potential as an alternative to prevent and treat inflammation.

**KEY WORDS:** *Psidium guineense Sw*, inflammation, anti-inflammatories, benzydamine, rats BIOU: Wistar, formalin test.

## Introducción

La inflamación es una respuesta protectora del organismo ante un estímulo físico, químico, biológico o infeccioso. El proceso inflamatorio involucra la activación del sistema inmune y la subsecuente liberación de mediadores endógenos que desencadenan la aparición de un estado reactivo de hipere-mia y exudación de los vasos sanguíneos, caracterizado por enrojecimiento, calor, edema y dolor<sup>1</sup>.

En la cavidad bucal, la inflamación es una reacción frecuente ante la acción de irritantes locales, procesos infecciosos, enfermedades sistémicas, farmacoterapia y como consecuencia de agresiones a los tejidos bucofaciales, durante diversos procedimientos odontológicos<sup>2</sup>.

El tratamiento tradicional para esta condición es el uso sistémico o local de fármacos antiinflamatorios esteroideos (glucocorticoides) y antiinflamatorios no esteroideos (AINES), como la bencidamina. Sin embargo, además de los fármacos convencionales se cuenta con alternativas como la fitoterapia, la cual ofrece al profesional y al paciente una nueva opción para el control y tratamiento de diversas afecciones del organismo<sup>3</sup>. El uso de plantas medicinales con el fin de prevenir y tratar diversas patologías, incluyendo la inflamación bucal, ha aumentado considerablemente<sup>1,4</sup>. Actualmente existe interés en la producción de fórmulas terapéuticas de origen natural por su efectividad, biocompatibilidad, poca toxicidad y bajo costo<sup>5</sup>.

La especie vegetal *Psidium guineense* Sw, conocida con el nombre común de guayabo agrio, pertenece a la familia Myrtaceae. Diversos estudios han demostrado que la decocción, preparación de infusiones y jaleas con sus hojas son usadas por la población para el tratamiento de diferentes enfermedades<sup>6</sup>. En estudios *in vitro*, se ha evidenciado su potencial contra varios microorganismos que afectan la cavidad bucal, entre estos *S. mutans*, agente causal de caries dental<sup>7</sup>. Igualmente, se le atribuyen propiedades antiinflamatorias y analgésicas, ambas observadas en estudios *in vivo* realizados en animales de laboratorio. En este sentido, inicialmente Santos, *et al.*<sup>8</sup> reportaron que el aceite esencial de las hojas frescas de *Psidium guineense* Sw inhibió en forma dosis dependiente el edema en la pata de ratas Wistar, mostrando una actividad antiinflamatoria similar a la de la indometacina. Posteriormente, do Nascimento, *et al.* reportaron la actividad antiinflamatoria del aceite esencial y del extracto de las hojas de *Psidium guineense* Sw en el modelo de inyección de carragenina en la pata de ratones<sup>9,10</sup>.

En animales de experimentación, la inflamación es inducida en la región buco-maxilofacial mediante la inyección de irritantes químicos. Específicamente en ratas de laboratorio, sustancias como el aceite de mostaza, carragenina y el adyuvante completo de Freund han sido utilizadas para producir inflamación en la articulación temporomandibular<sup>11,12</sup>. Con propósito similar se ha aplicado la capsaicina en la pulpa dental de ratas<sup>13</sup>.

Asimismo, la inyección de solución de formalina en la mucosa labial de ratas y ratones constituye un modelo ampliamente utilizado para estudiar los mecanismos fisiopatológicos del dolor orofacial inflamatorio y el efecto de terapias analgésicas y antiinflamatorias<sup>14,15</sup>. Se ha demostrado que la inyección de formalina en el labio de animales de experimentación desencadena una reacción inflamatoria, debida a la liberación de mediadores proinflamatorios como prostaglandinas, bradiquinina, óxido nítrico, aminas simpaticomiméticas y citoquinas, así como a la extravasación de plasma<sup>16,17,18</sup>.

Aun cuando se ha investigado el efecto antiinflamatorio de *Psidium guineense* Sw en modelos preclínicos de inflamación plantar, la actividad terapéutica de esta especie vegetal ante la inflamación bucal no ha sido estudiada en humanos, ni en animales de experimentación. Considerando que la investigación médica en sujetos humanos debe estar basada en pruebas *in vitro* adecuadamente realizadas y en experimentos con animales, el objetivo de este trabajo fue investigar el efecto antiinflamatorio de *Psidium guineense* Sw en la inflamación bucal inducida experimentalmente, mediante la inyección de solución de formalina en ratas BIOU: Wistar.

## **Materiales y métodos**

### **Material vegetal**

#### ***Procedencia***

Se recolectaron las hojas de *Psidium guineense* Sw en el Municipio Jáuregui, Ciudad de La Grita, estado Táchira, Venezuela. Se trasladaron al Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, donde fue certificada la identificación taxonómica de la especie.

#### ***Identificación fitoquímica***

Las hojas de *P. guineense* Sw fueron separadas de la planta y colocadas en estufa para secarlas a 40 °C, luego se procedió a moler hasta obtener un polvo fino del cual se pesaron 50 g para realizar la extracción en un sistema de reflujo con una mezcla de etanol:agua (60:40) a 40 °C. La solución obtenida se filtró y concentró en un rotavapor a presión reducida a una temperatura no mayor a 45 °C para realizar las pruebas de identificación.

Para la caracterización química de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroetanólico de las hojas de *P. guineense* Sw se efectuaron pruebas químicas cualitativas de coloración y precipitación como: reacción con el reactivo de Dragendorff, Mayer y Wagner (alcaloides), reacción de Shinoda (flavonoides), reacción con hidróxido de amonio (cumarinas), reacción de Börntrager (Antraquinonas), tricloruro férrico (fenoles y taninos), reacción de Liebermann-Buchard (triterpenoides y esteroides) y prueba de la

espuma (saponinas), siguiendo la metodología descrita por Marcano y Hasegawa<sup>19</sup>.

#### **Preparación del gel**

Las hojas de *Psidium guineense* Sw fueron secadas a 45 °C durante 8 días y trituradas manualmente para macerar 50 g en 800 mL del disolvente (alcohol absoluto 99,5%, reducido hasta 60° Gay Lussac, con agua destilada). La mezcla se dejó en reposo protegida de la luz y aire durante 7 días. Posteriormente se filtró el extracto fluido utilizando filtros Millipore® y se evaporó el solvente en una estufa abierta a baja temperatura, para evitar la ebullición y obtener el volumen igual al peso inicial en gramos.

Se preparó un gel de carboximetilcelulosa al 5% con glicerina al 10%, metilparabeno (Nipagin®) al 0,18%, propilparabeno (Nipazol®) al 0,02% y agua destilada hasta completar 100 mL. La mitad del gel (50 mL) se mezcló con el extracto de *Psidium guineense* Sw a una concentración del 50%. El gel placebo se preparó a igual concentración de gel de carboximetilcelulosa y agua destilada, agregando colorantes comestibles para obtener una coloración similar al gel de *Psidium guineense* Sw. Ambos geles fueron almacenados y refrigerados en envases de color ámbar, previamente esterilizados y rotulados.

## **Animales**

Se utilizaron 112 ratas machos de la línea BIOU: Wistar, con un peso promedio de 283 g, suministradas por el Bioterio de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. Ocho días antes del inicio del experimento fueron trasladadas al Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Los Andes, donde se alojaron y alimentaron con perrarina y agua a libre demanda, según las normas éticas establecidas para el cuidado y uso de los animales de laboratorio en el Código de Ética para la Vida, República Bolivariana de Venezuela<sup>20</sup>. Durante este período los animales se adaptaron a las condiciones del laboratorio (luz, humedad, ventilación, ruidos y temperatura). El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del Bioterio de la Universidad de Los Andes CEBIOULA/102-2017.

#### **Procedimiento experimental**

Los 112 animales fueron distribuidos aleatoriamente en 8 grupos (A1, A2, B1, B2, C1, C2, D1, D2) cada grupo conformado por 14 ejemplares. Cada rata fue pesada e identificada en la cola con un aro de color, dependiendo del grupo al que pertenecía.

#### **Inducción de la inflamación**

Los animales se anestesiaron con ketamina 75 mg/kg combinada con xilacina 10 mg/kg, por vía intraperitoneal, seguidamente se preparó una solución de

formalina al 5% en agua destilada, a partir de una solución madre de formaldehído al 37% (Laboratory Chemicals-Cer Diagnostic, Caracas, Venezuela). Se inyectó un volumen de 0.1 mL con una jeringa de insulina con capacidad de 0,3 mL y aguja ultrafina de 31G \* 8 mm de longitud. Con el fin de estandarizar la profundidad de la inyección en el tejido (2 mm), se insertó en la guja un tope de goma previamente calibrado. La solución de formalina se administró en el lado izquierdo del maxilar inferior, en la Almohadilla Interna del Labio Inferior (AILI) de la rata, de acuerdo a los grupos de estudio de la siguiente manera: en los grupos A1 (gel *Psidium guineense Sw*), B1 (gel placebo) y C1 (bencidamina, control positivo) la inflamación se indujo 30 minutos después de aplicar los tratamientos. En los grupos A2 (gel *Psidium guineense Sw*), B2 (gel placebo) y C2 (bencidamina) la inflamación se indujo 30 minutos antes de aplicar los tratamientos. Por otra parte, se incluyeron los grupos D1 (formalina) y D2 (agua destilada) para validar el modelo de inflamación bucal.

#### **Aplicación de tratamientos**

Los tratamientos, gel de *Psidium guineense Sw*, gel placebo y bencidamina se administraron con un micro aplicador desechable sobre la superficie de la AILI, cada 12 horas hasta completar las 72 horas del experimento.

## **Evaluación del efecto de los tratamientos**

#### **Fase clínica**

La evaluación clínica comprendió cinco periodos, partiendo de un tiempo cero donde se observaron las condiciones bucales normales de los animales previamente anestesiados, y una vez que se indujo la inflamación, a las 3, 24, 48 y 72 horas, completando así los tres días de observación.

Se midió el volumen de la AILI con sondas periodontales de la OMS marca Hu Friedy, colocando topes de goma de uso endodóntico, con el fin de fijar la medida tomada y luego cotejarla con un calibrador de metal graduado en milímetros. Tomando como referencia la forma similar a un elipsoide que posee la AILI (FIGURA 1) se tomaron tres medidas (FIGURA 2): largo (entre el borde anterior y posterior de la AILI), ancho (desde el borde derecho al izquierdo de la AILI, teniendo como referencia los incisivos centrales inferiores) y espesor (a nivel de los incisivos centrales inferiores, colocando la sonda en el fondo del surco vestibular sin presión para definir la medida con el tope de goma). Se calculó el volumen en milímetros cúbicos mediante la fórmula<sup>21</sup>:  $V = \frac{4}{3} \pi \cdot rL \cdot rA \cdot rE$

#### **Fase histológica**

El estudio histológico se realizó en cuatro periodos, a las 3, 24, 48 y 72 horas. En cada periodo de observación fueron sacrificados dos animales por grupo experimental, administrando una sobredosis de enflurano. Se tomó la mues-

FIGURA 1. Forma de la AILI.



FIGURA 2. Toma de medidas de la AILI.



tra de la AILI mediante biopsia excisional, abarcando el tejido inflamado en su totalidad (marcado con tinta negra indeleble) y tejido sano circundante. Las muestras fueron sumergidas en formol al 10% en envases rotulados, luego fueron embebidas y bloqueadas en parafina para ser cortadas en el micrótopo con un espesor promedio de 3 micras y coloreadas con Hematoxilina-Eosina (HE). El grupo al que pertenecía cada muestra estuvo enmascarado para el especialista en Anatomía Patológica. Se describió cualitativamente la cantidad de vasos sanguíneos (escasos, moderados o severos), la densidad y tipo de infiltrado inflamatorio presente en cada muestra (ausencia de infiltrado, mononuclear, polimorfonuclear o mixto) y la densidad de tejido conectivo (normal, laxo o denso).

#### **Análisis estadístico**

Se verificó la homogeneidad inicial del volumen de la AILI mediante la prueba estadística ANOVA.

Para los grupos D1 (formalina) y D2 (agua destilada), se comparó la evolución del volumen de la AILI en cada momento de observación dentro de cada grupo mediante la prueba estadística ANOVA y pruebas *a posteriori* de Bonferroni. Para contrastar entre ambos grupos los volúmenes de cada periodo de observación se realizaron pruebas “*t student*” para muestras independientes.

La comparación del volumen promedio entre los grupos con tratamiento pre (A1 gel *Psidium guineense* Sw, B1 gel placebo y C1 Bencidamina) y post (A2 *Psidium guineense* Sw, B2 gel placebo y C2 Bencidamina), se efectuó mediante un análisis de varianza ANOVA en cada momento de observación (inicial, 3, 24, 48 y 72 horas) al evidenciar diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) se realizaron pruebas a posteriori de Bonferroni, para identificar la magnitud de diferencia entre grupos. Se utilizó el software estadístico informático IBM SPSS para Windows, versión 19.

## Resultados

En la **TABLA 1** se muestran los resultados de las pruebas químicas cualitativas de coloración y/o precipitación del extracto hidroetanólico obtenido de las hojas de *P. guineense* Sw.

**TABLA 1.** Tamizaje fitoquímico del extracto hidroetanólico de las hojas de *Psidium guineense* Sw.

Metabolitos	Reacción de coloración y/o precipitación	EHE
Alcaloides	Dragendorff/Mayer/Wagner	-
Flavonoides	Shinoda	+
Cumarinas	Hidróxido de amonio concentrado	-
Antraquinonas	Börntrager	-
Taninos/fenoles	Gelatina 1%	+
Triterpenos/esteroles	Liebermann- Burchard	-
Saponinas	Prueba de Espuma	+

EHE: extracto hidroetanólico. (+) Presencia del metabolito. (-) Ausencia del metabolito.

En la **FIGURA 3** se presenta la evolución del volumen de la AILI de los grupos D1 y D2 en función del tiempo. La inyección de la solución de formalina aumentó en forma sostenida el volumen de la AILI hasta las 48 horas en el grupo D1, con disminución marcada a las 72 horas con diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.0001$ ) desde el periodo 2 al 5 de observación con respecto al volumen inicial. En contraste, en el grupo D2, la inyección de agua destilada, aumentó el volumen solo a las 3 horas posterior a la inyección ( $p < 0.05$ ).

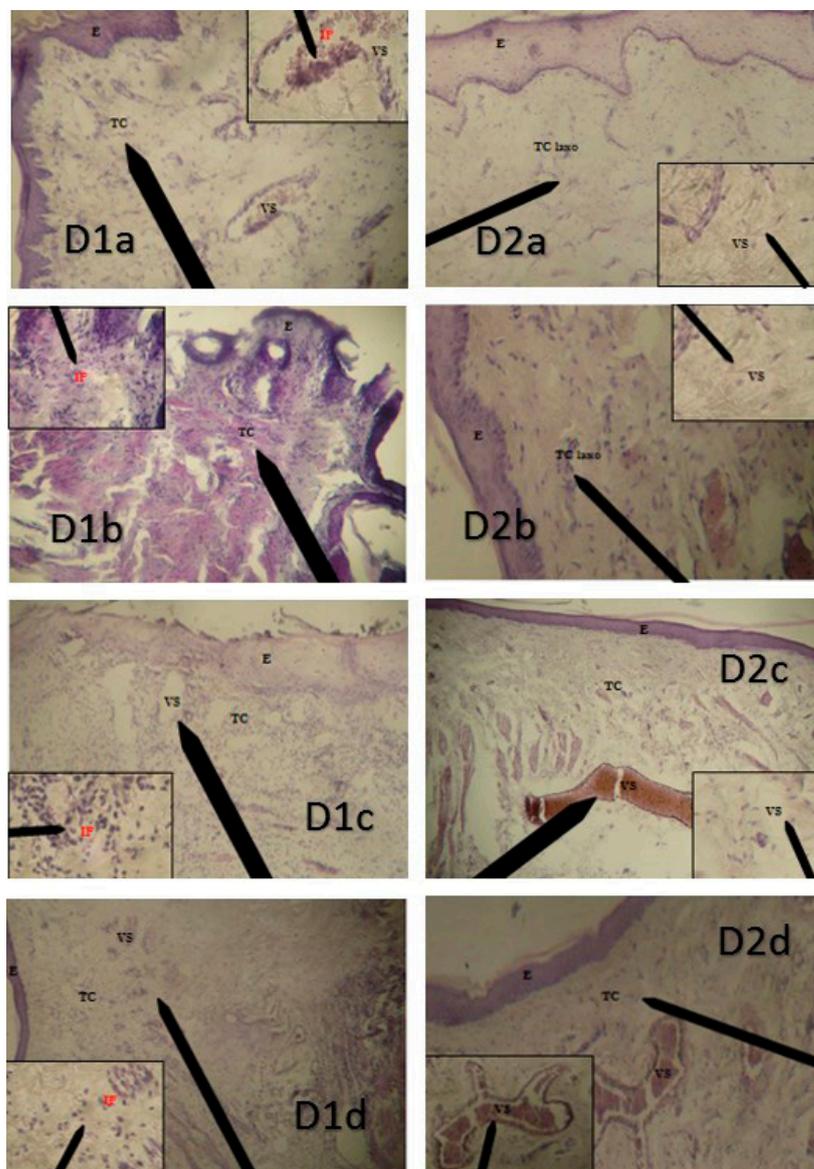
El contraste intergrupar del volumen de la AILI indicó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.01$ ) en los cuatro periodos post inyección.

En la **FIGURA 4** se muestra la comparación fotográfica de las características histológicas de ambos grupos en los distintos periodos de observación. En el grupo D1 a las 3 horas, se observaron abundantes vasos sanguíneos con escaso infiltrado inflamatorio mononuclear y tejido conectivo denso, a diferencia el grupo D2 presentó moderada cantidad de vasos sanguíneos, ausencia de infiltrado inflamatorio y tejido conectivo laxo (**FIGURA 4**, D1a y D2a). A las 24 horas, disminuyó la cantidad de vasos sanguíneos en el grupo D1, el infiltra-

**FIGURA 3.** Volumen de la AILI en función del tiempo de evaluación en los grupos D1 y D2.



**FIGURA 4.** Imágenes fotográficas de los cortes histológicos preparados con HE correspondientes a los diferentes periodos de observación de los grupos D1 y D2. En las fotos, los recuadros pequeños indican la observación microscópica con objetivo de 40X y los recuadros grandes reflejan la observación microscópica con objetivo de 10X. Lo señalado con las letras significa: E epitelio; IF infiltrado inflamatorio, TC tejido conectivo, VS vaso sanguíneo.

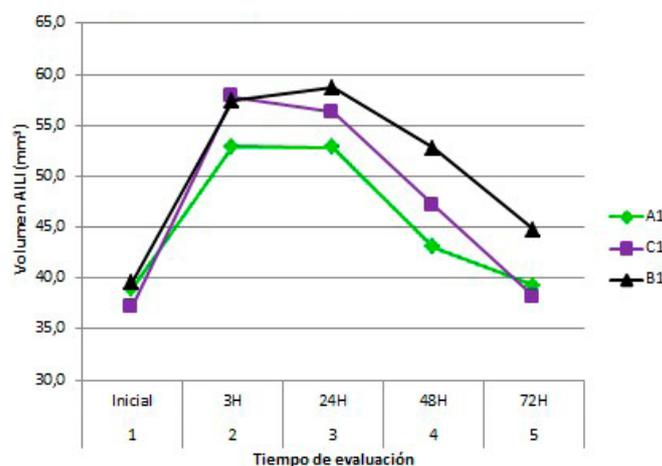


do inflamatorio fue mixto y el tejido conectivo laxo; mientras que en el grupo D2 no hubo variaciones, excepto que la densidad de tejido conectivo se observó normal (FIGURA 4, D1b y D2b).

Durante los siguientes periodos, la cantidad de vasos sanguíneos fue moderada para el grupo D1 y escasa en D2; el primero mantuvo el infiltrado inflamatorio mixto y el tejido conectivo fue laxo a las 48 horas y normal a las 72 horas, mientras que en el grupo D2 no se observó infiltrado y presentó tejido conectivo normal (FIGURA 4, D1c, D1d, D2c, D2d).

La evolución del volumen de la AILI en función del tiempo en los grupos que recibieron tratamiento preventivo puede observarse en la FIGURA 5, se evidencia homogeneidad en el volumen inicial y un aumento considerable de la AILI desde las 3 horas, el cual se mantiene hasta las 24 horas y desciende a las 48 y 72 horas, alcanzando los grupos A1 y C1 un volumen similar al inicial en el último periodo.

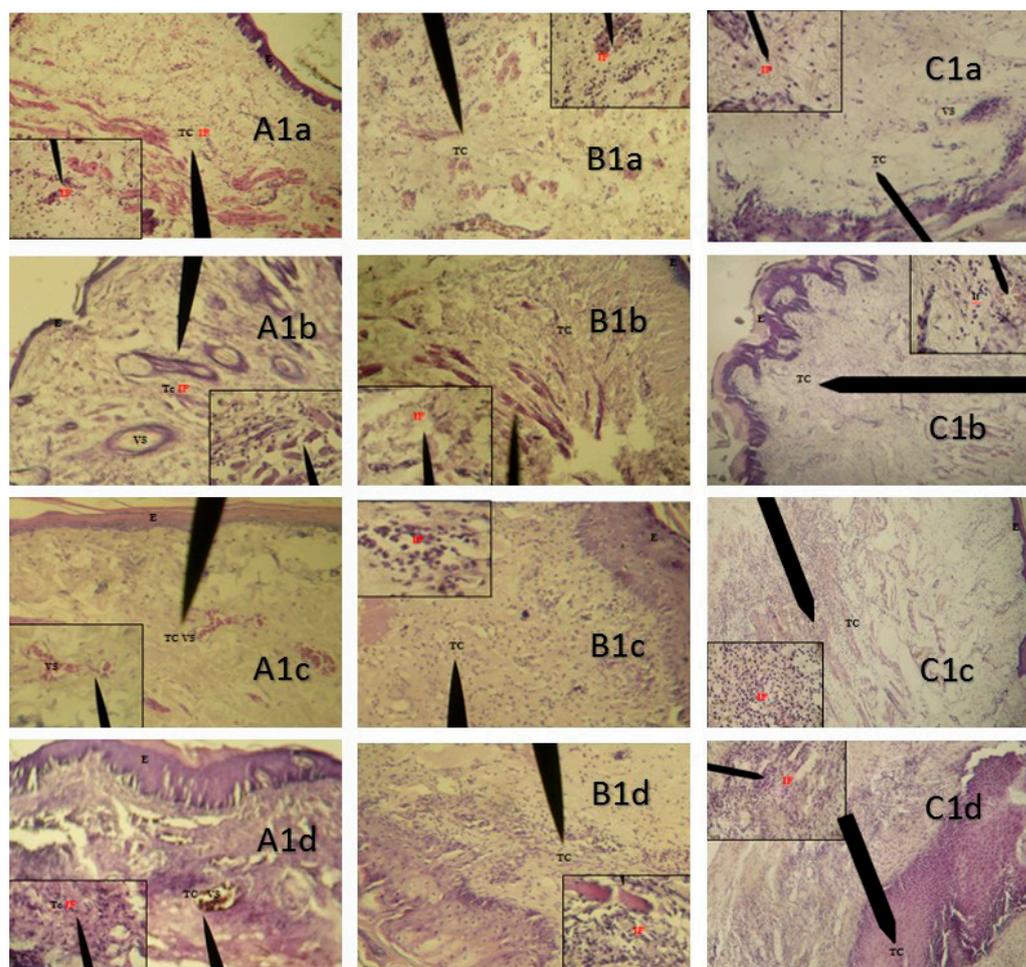
**FIGURA 5.** Volumen de la AILI en función del tiempo de evaluación en los grupos A1, B1 y C1.



El ANOVA evidenció diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.033$ ) entre A1 y B1 para la cuarta observación que corresponde a las 48 horas.

En el estudio histológico se observa que a las 3 horas los grupos presentaron moderados vasos sanguíneos, para los grupos A1 y B1 el infiltrado fue mixto, y mononuclear para C1, La densidad de tejido conectivo fue laxo en A1, normal en B1 y denso en C1 (FIGURA 6 A1a, B1a y C1a). Para las 24 horas hubo un aumento de la cantidad de vasos sanguíneos en B1 y C1. Los tres grupos presentaron infiltrado mixto; sin embargo, su densidad fue moderada para A1 y B1, y abundante en C1 (FIGURA 6 A1b, B1b y C1b). Para las 48 horas A1 y B1 presentan moderados vasos sanguíneos, el infiltrado es mixto para todos los grupos, siendo abundante para los grupos B1 y C1 y muy escaso en el grupo A1. Con respecto a la densidad, del tejido conectivo se observó normal para el grupo C1, laxo para el grupo B1 y denso para A1 (FIGURA 6 A1c, B1c y

**FIGURA 6.** Imágenes fotográficas de los cortes histológicos preparados con HE correspondientes a los diferentes periodos de observación de los grupos A1, B1 y C1. Los recuadros pequeños indican la observación microscópica con objetivo de 40X y los recuadros grandes reflejan la observación microscópica con objetivo de 10X. Lo señalado con las letras significa: E epitelio; IF infiltrado inflamatorio, TC tejido conectivo, VS vaso sanguíneo.

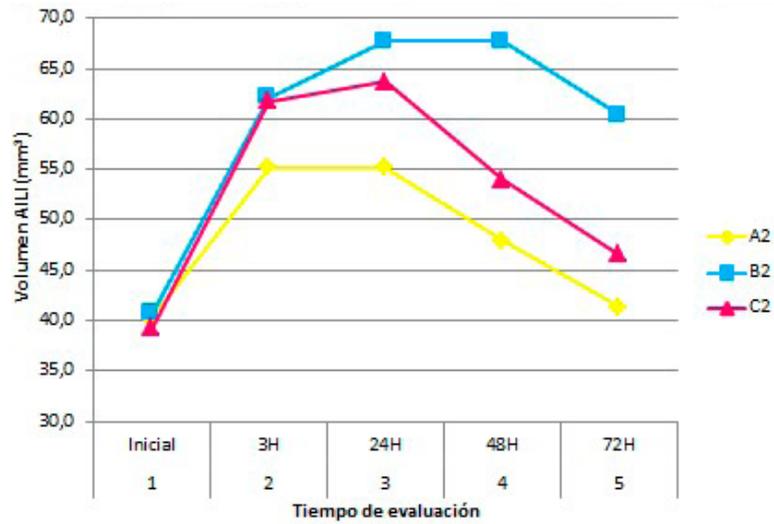


C1c). A las 72 horas los vasos sanguíneos fueron muy escasos en A1, mientras que en B1 y C1 hubo moderada cantidad. El infiltrado mononuclear en A1 fue escaso y mixto, muy abundante en B1 y C1. La densidad de tejido conectivo se mantuvo para A1 y B1, mientras que cambio a denso para C1 (FIGURA 6 A1d, B1d y C1d).

Al evaluar clínicamente los grupos tratados post inducción de la inflamación se evidenció un aumento marcado de las mediciones a las 3 horas, siendo menor en el grupo A2, valor que se mantuvo para las 24 horas y luego descendió progresivamente hasta alcanzar a las 72 horas, un valor similar al inicial, con diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) con respecto a los grupos B2 y C2 a las 24 y 48 horas. En contraste, en estos grupos (B2 y C2), el volumen de la AILI presentó un ascenso a las 24 horas, el cual disminuyó para los siguientes periodos de observación en C2, mientras que en el grupo B2 el volumen máximo se mantuvo hasta las 48 horas y disminuyó discretamente a las 72 horas (FIGURA 7).

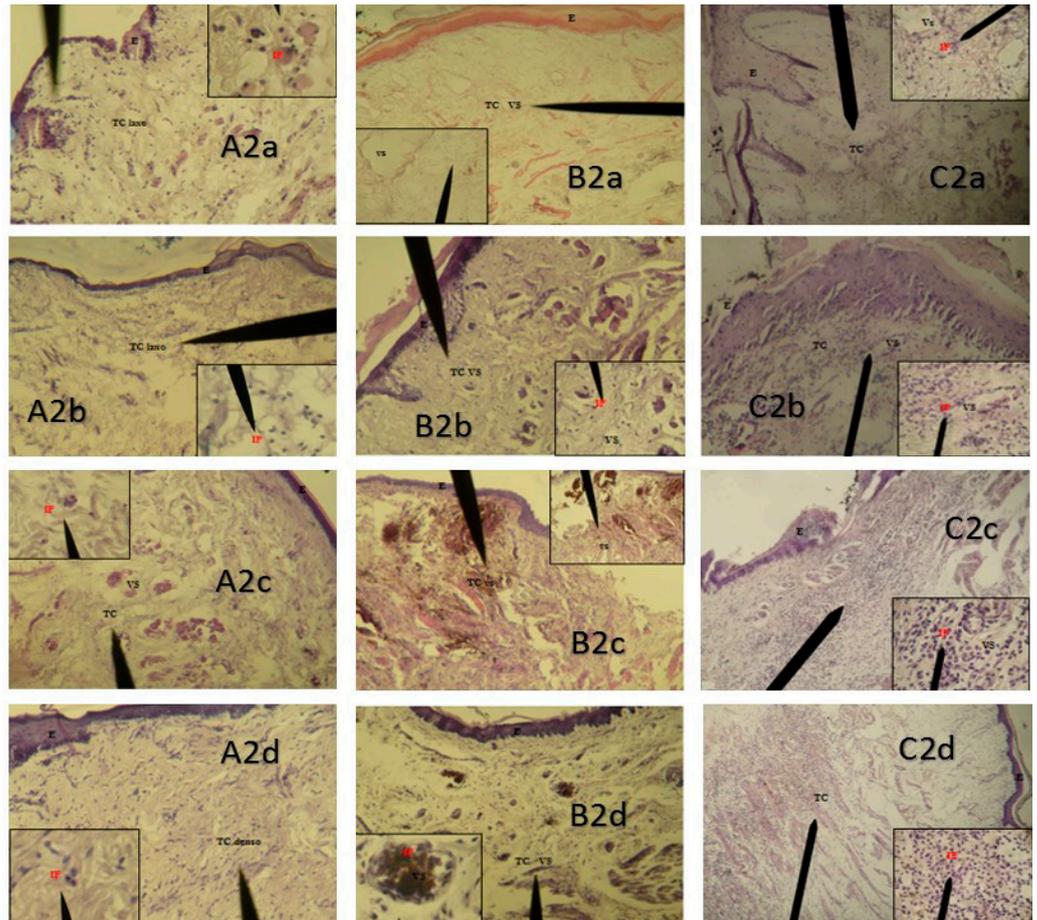
El análisis de las muestras de tejido evidenció a las 3 horas post inducción de la inflamación que los grupos A2 y C2 presentaron escasos vasos sanguí-

**FIGURA 7.** Volumen de la AILI en función del tiempo de evaluación en los grupos A2, B2 y C2.



neos e infiltrado inflamatorio mononuclear escaso, mientras que en el grupo B2 se observó moderada cantidad de vasos sanguíneos e infiltrado inflamatorio tipo mixto; en cuanto a la densidad del tejido conectivo en A2 y B2 fue normal y en C2 laxo (FIGURA 8 A2a,B2a y C2a). Para las 24 horas en los grupos A2 y

**FIGURA 8.** Imágenes fotográficas de los cortes histológicos correspondientes a los diferentes periodos de observación de los grupos A2, B2 y C2. Los recuadros pequeños indican la observación microscópica con objetivo de 40X y los recuadros grandes reflejan la observación microscópica con objetivo de 10X. Lo señalado con las letras significa: E epitelio; IF infiltrado inflamatorio, TC tejido conectivo, VS vaso sanguíneo.



C2 la cantidad de vasos sanguíneos aumentó a moderada y abundante respectivamente, a diferencia en B2 disminuyó a escasa. Con respecto a la densidad y tipo de infiltrado, para los tres grupos en este momento de observación fue moderada de tipo mixto, el grupo C2 presentó un tejido conectivo laxo, mientras que en A2 y B2 fue normal (FIGURA 8 A2b, B2b y C2b). A las 48 horas se observaron escasos vasos sanguíneos en A2, moderados en B2 y C2 mantuvo abundantes vasos sanguíneos. En cuanto al tipo de infiltrado inflamatorio en B2 y C2 fue mixto, siendo escaso y abundante respectivamente, a diferencia de A2 donde el infiltrado fue mononuclear muy escaso. La densidad del tejido conectivo se observó laxa en el grupo A2 y densa para los otros grupos (FIGURA 8 A2c, B2c y C2c). En el último periodo de observación tanto A2 como B2 presentaron escasos vasos sanguíneos y se observaron células mononucleares escasas en A2 y moderadas en B2 con tejido conectivo denso, mientras que C2 mantuvo abundante cantidad de vasos sanguíneos, infiltrado inflamatorio mixto y tejido conectivo de apariencia normal (FIGURA 8 A2d, B2d y C2d).

## Discusión

Con el propósito de validar científicamente el efecto antiinflamatorio de *Psidium guineense Sw*, conocido con el nombre común de “guayabo agrio” se realizó la presente investigación en el modelo animal del test de la formalina, en el que se incluyó el tratamiento con bencidamina como un control positivo, debido a que este AINE comúnmente es usado por vía tópica para tratar la inflamación en cavidad bucal.

La inyección de solución de formalina al 5% en la AILI de ratas BIOU: Wistar causó un aumento sostenido del volumen del tejido a partir de las 3 horas, el cual se extendió hasta las 48 horas de observación, lo que evidencia que la formalina indujo una respuesta inflamatoria. En estudios previos, la aplicación de este modelo experimental en las extremidades posteriores de roedores ha permitido caracterizar la respuesta inflamatoria y demostrar que la formalina actúa como un irritante local, que genera la liberación de mediadores inflamatorios como la histamina, serotonina, prostaglandinas, bradiquinina y el óxido nítrico<sup>22,23,24</sup>.

En la región orofacial, Chichorro *et al.*<sup>25</sup>, demostraron que la inyección de formalina en el labio superior de ratas también desencadena una respuesta inflamatoria que involucra la liberación de bradiquinina, citoquinas, aminas simpaticomiméticas y prostaglandinas. Posteriormente se confirmó que la liberación de prostaglandinas está estrechamente relacionada con el dolor y la inflamación inducida por la inyección de formalina en el labio<sup>26</sup>. Adicionalmente, se ha demostrado la participación del factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) y de los canales iónicos sensibles a ácido (ASICs) en la respuesta provocada por la inyección de formalina en la región orofacial<sup>27</sup>.

Desde el punto de vista histológico, en la respuesta inflamatoria inicial (3 horas post inyección de formalina) se observaron numerosos vasos sanguíneos acorde a los primeros cambios del proceso inflamatorio descritos en la literatura. La presencia de abundante infiltrado inflamatorio mixto en los siguientes periodos de observación (24, 48 y 72 horas) indica la progresión de la respuesta inflamatoria a la fase celular, caracterizada por el movimiento de leucocitos, en particular neutrófilos de la circulación al sitio de la lesión. Adicionalmente, la densidad del tejido conectivo laxo refleja el aumento de permeabilidad capilar propio de la inflamación aguda<sup>28,29,30</sup>.

Estos hallazgos coinciden con los reportados por Clavelou *et al.*<sup>31</sup> en el primer estudio en el que se aplicó el test orofacial de la formalina, y se observó que la inyección de solución de formalina al 2,5% en el labio superior de ratas produjo extravasación del plasma, siendo más acentuada a las 6 horas post inyección. Asimismo, en ese estudio, la inyección de formalina al 5% en el labio superior de ratas Sprague Dawley indujo signos histológicos de inflamación tisular, como degranulación de mastocitos y extravasación de granulocitos. En concordancia, Frade *et al.*<sup>30</sup> en un estudio similar inyectaron intraoralmente carragenina en el carrillo de ratas Wistar y observaron 24 horas después gran cantidad de células mononucleares y polimorfonucleares.

En contraste, en el grupo de ratas inyectadas en la AILI con agua destilada, solo hubo aumento del volumen a las 3 horas, e histológicamente se observó un tejido conectivo laxo con moderada cantidad de vasos sanguíneos, resultado que indica que en este grupo también hubo respuesta inflamatoria pero de menor intensidad y duración. Este hallazgo también fue descrito por Clavelou *et al.*<sup>31</sup> en su estudio pionero, en el que se observó inflamación leve en las ratas del grupo control a las que les fue inyectada solución salina en el labio.

Una de las acciones terapéuticas que se le atribuyen a *Psidium guineense* Sw es el efecto antiinflamatorio, además del antioxidante, antibacteriano y diurético<sup>9,10</sup>.

En la presente investigación el gel *Psidium guineense* Sw, preparado a partir de las hojas de la planta, aplicado en forma tópica, tanto antes como después de la inducción del proceso inflamatorio, disminuyó el volumen de la AILI en forma significativa en comparación con el gel placebo; evidenciando así el efecto antiinflamatorio de *Psidium guineense* Sw. en la mucosa bucal de ratas BIOU: Wistar.

El efecto hallado coincide con los reportes de otros autores, quienes han demostrado que las hojas de *Psidium guineense* Sw poseen actividad antiinflamatoria. Esta propiedad terapéutica fue inicialmente demostrada por Santos *et al.*<sup>8</sup>, quienes observaron en animales de experimentación el efecto antiinflamatorio del aceite esencial obtenido por destilación al vapor de las hojas

frescas de la planta, el cual inhibió en forma dosis dependiente el edema inducido por carragenina en la pata de las ratas Wistar, mostrando efectividad comparable a la indometacina.

De manera similar, do Nascimento *et al.*<sup>9,10</sup>, demostraron la actividad antiinflamatoria, de *Psidium guineense* Sw y su principal componente el sesquiterpeno espatulenol, al administrar el aceite esencial y el extracto obtenido de hojas de esta especie vegetal una hora antes de inducir la inflamación, mediante la inyección de carragenina en la pata de ratones. Estos autores observaron que la administración de *Psidium guineense* Sw inhibió significativamente el edema en la primera hora de observación, manteniendo su efecto hasta la cuarta hora.

El mecanismo a través del cual la planta en estudio ejerce acción antiinflamatoria no está completamente establecido. Sin embargo, se ha reportado que distintas especies del género *Psidium* tienen efecto antiinflamatorio y se han propuesto varios mecanismos para explicar esta acción terapéutica. En este sentido, Houël *et al.*<sup>32</sup> utilizaron *Psidium acutangulum* y observaron inhibición *in vitro* de la secreción de las citoquinas proinflamatorias TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 y óxido nítrico en macrófagos. Por otra parte, Ghaderi *et al.*<sup>33</sup> demostraron que el extracto hidroalcohólico de *Psidium guajava*, una especie estrechamente relacionada con *Psidium guineense* Sw y ampliamente estudiada por sus propiedades biológicas, inhibe la expresión de la IL-6.

En otro estudio, la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de la guayaba común fue atribuida a la inhibición de la producción de óxido nítrico y de la síntesis de prostaglandinas<sup>34</sup>, mediadores éstos relacionados con la respuesta inflamatoria inducida por la inyección de formalina<sup>26</sup>. Adicionalmente, se ha propuesto que la actividad antiinflamatoria de *Psidium guajava* se debe a su contenido de flavonoides, terpenoides, taninos, catequinas, ácido gálico, resveratrol, enzimas y vitaminas A y C<sup>33</sup>.

Es probable que el efecto antiinflamatorio observado en la presente investigación se deba a que *Psidium guineense* Sw posee mecanismos de acción similares a los descritos para *Psidium guajava*, tomando en cuenta la relación filogenética que existe entre ambas especies, la cual ha sido evidenciada por la similitud de las secuencias del ADN y sus características morfológicas<sup>35</sup>. Asimismo, la composición química de los aceites esenciales obtenidos de ambas especies es similar<sup>36</sup>. Los componentes químicos presentes tanto en el fruto como en las hojas de *Psidium guineense* Sw incluyen terpenos, aldehídos, fenoles, esteroides, taninos, flavonoides y glicósidos<sup>6,37</sup>.

La presencia de compuestos flavonoides, fenoles, taninos y saponinas demostrada en el presente estudio mediante el análisis fitoquímico del extracto hidroetanólico de las hojas de *P. guineense* Sw (TABLA 1), explica el efecto antiinflamatorio observado. Los flavonoides son metabolitos secundarios comu-

nes en el reino vegetal considerados sustancias bioactivas, relativamente no tóxicas, que presentan gran variedad de efectos farmacológicos incluyendo la actividad antiinflamatoria, debida a que interfieren en las vías de señalización de la reacción inflamatoria sobre enzimas claves como las ciclooxigenasas, con la consecuente inhibición de la liberación mediadores proinflamatorios<sup>38</sup>. De igual forma, a los compuestos fenólicos, como los taninos y a las saponinas, se les describe la propiedad antiinflamatoria, además del efecto antineoplásico y hepatoprotector<sup>39</sup>.

En estudio previo<sup>9</sup> se determinaron 38 compuestos en el aceite esencial de las hojas de *P. guineense* de los cuales el hallado en mayor proporción es el sesquiterpeno espatulenol (80,71%). Recientemente, se demostró que este compuesto inhibió el edema plantar inducido por la inyección de formalina en ratones<sup>40</sup>.

Aun cuando en el presente estudio el gel de *Psidium guineense* Sw ejerció acción antiinflamatoria en los grupos con tratamiento pre y post inducción de inflamación, el efecto fue más prolongado en el grupo al cual se le aplicó el gel media hora después de la inyección de formalina, mientras que en el grupo que recibió el tratamiento previo a la inducción de la inflamación solo hubo efecto antiinflamatorio significativo en el cuarto periodo de observación. Esta diferencia sugiere que los componentes de la hoja de *P. guineense* Sw poseen mayor efectividad para bloquear los mediadores ya presentes en el tejido inflamado que para inhibir la síntesis y liberación inicial de los mismos. Los resultados hallados sugieren la capacidad inhibitoria del gel sobre la migración de polimorfonucleares; sin embargo, futuros estudios son necesarios para revelar el mecanismo específico de la acción antiinflamatoria de esta planta.

La bencidamina, administrada por vía tópica como control positivo en la presente investigación, mostró su máxima actividad antiinflamatoria a las 72 horas en el grupo al que se le aplicó este tratamiento antes de la inyección de formalina; sin embargo, este efecto no fue estadísticamente significativo ( $p > 0.05$ ) con respecto al gel placebo. Por el contrario, la bencidamina disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ) el volumen de la AILI en los grupos tratados después de la inducción de la inflamación, a las 48 y 72 horas en comparación al grupo control. Sin embargo, el efecto antiinflamatorio del gel de *P. guineense* Sw fue significativamente superior ( $p > 0.05$ ) al de la bencidamina solo en el tercer periodo de observación (24 horas), en el que histológicamente se observó mayor cantidad de vasos sanguíneos y tejido conectivo laxo en el grupo bencidamina.

El efecto antiinflamatorio de la bencidamina confirma la sensibilidad del modelo de inflamación por formalina a la acción de los AINES. El efecto de estos fármacos sobre la inflamación provocada por la formalina en la región

orofacial también fue demostrada por Padi *et al.*<sup>26</sup>, quienes administraron el ketorolac y el diclofenac por vía intraperitoneal y subcutánea, antes de inyectar la formalina en la mucosa labial de ratas, observando efecto antiinflamatorio con ambos fármacos y vías de administración. Adicionalmente. Miranda *et al.*<sup>17</sup> reportaron el efecto terapéutico de la administración intraperitoneal de diclofenac, dexketoprofen, piroxicam and metamizol o dipirona, antes de la inyección de formalina en el labio superior de ratones de experimentación.

La efectividad del gel de *Psidium guineense* Sw para prevenir y tratar la inflamación observada en este estudio sugiere su estudio en humanos, para confirmar la utilidad de las hojas de esta planta como alternativa natural, debido al menor costo y mayor perfil de seguridad que poseen los productos naturales de origen vegetal, en comparación con los fármacos convencionales.

## Bibliografía

1. Ysrafil Y, Sapiun Z, Slamet NS, Mohamad F, Hartati H, Damiti SA, et al. Anti-inflammatory activities of flavonoid derivatives. ADMET DMPK. 2023; 11(3): 331-359. doi: 10.5599/admet.1918.
2. Canul A. (2022). Mecanismo de los AINES y antiinflamatorios derivados para el control del dolor y la inflamación. Uso de antiinflamatorios en odontología. Revista ADM. 2022; 79(1): 38-47. doi: 10.35366/103817.
3. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. 2013. Disponible en <https://www.who.int/es/publications/i/item/9789241506096>.
4. Menezes ACDS, Alves LDB, Goldemberg DC, de Melo AC, Antunes HS. Anti-inflammatory and wound healing effect of Copaiba oleoresin on the oral cavity: A systematic review. Heliyon. 2022; 8(2): e08993. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e08993.
5. Thatyana M, Dube NP, Kemboi D, Manicum AE, Mokgalaka-Fleischmann NS, Tembu JV. Advances in Phytonanotechnology: A Plant-Mediated Green Synthesis of Metal Nanoparticles Using Phyllanthus Plant Extracts and Their Antimicrobial and Anticancer Applications. Nanomaterials (Basel). 2023; 22; 13(19):2616. doi: 10.3390/nano13192616.
6. Ferreira Macedo JG, Linhares Rangel JM, de Oliveira Santos M, Camilo CJ, Martins da Costa JG, Maria de Almeida Souza M. Therapeutic indications, chemical composition and biological activity of native Brazilian species from *Psidium* genus (Myrtaceae): A review. J Ethnopharmacol. 2021; 278:114248. doi: 10.1016/j.jep.2021.114248.
7. Abrao FY, da Costa HM, de Sousa Fiuza T, Ramada MHS, dos Santos AH, Romano CA, et al. Volatile oils from *Psidium guineense* Swartz leaves: Chemical seasonality, antimicrobial, and larvicidal activities. South African Journal of Botany. 2022; 149, 79-86. doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.039.
8. Santos F, Rao V, Silveira E. Anti – inflammatory and analgesic activities of the essential oil of *Psidium guianense*. Fitoterapia. 1997; 68 (1): 65-68.
9. do Nascimento KF, Moreira FMF, Alencar Santos J, Kassuya CAL, Croda JHR, Cardoso CAL, et al. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. J Ethnopharmacol. 2018; 210: 351-358. doi: 10.1016/j.jep.2017.08.030.
10. do Nascimento KF, Kassuya CAL, Cabral MRP, Souza RIC, Marangoni JA, Silva RMMF, et al. Chemical analysis and antioxidant, anti-inflammatory and toxicological evaluations of the hydromethanolic extract of *Psidium guineense* Swartz leaves. J Ethnopharmacol. 2021; 281: 114492. doi: 10.1016/j.jep.2021.114492.
11. Clemente-Napimoga JT, Silva MASM, Peres SNC, Lopes AHP, Lossio CF, Oliveira MV, et al. Dioclea violacea lectin ameliorates inflammation in the temporomandibular joint of rats by

- suppressing intercellular adhesion molecule-1 expression. *Biochimie*. 2019; 158:34-42. doi: 10.1016/j.biochi.2018.12.007.
12. Rotpenpian N, Wanasuntronwong A, Tapechum S, Vattarakorn A, Care C, Chindasri W, et al. Standardized *Centella asiatica* (ECa 233) extract decreased pain hypersensitivity development in a male mouse model of chronic inflammatory temporomandibular disorder. *Sci Rep*. 2023;13(1):11794. doi: 10.1038/s41598-023-39016-6.
  13. Rahbar I, Abbasnejad M, Haghani J, Raoof M, Kooshki R, Esmaeili-Mahani S. The effect of central administration of alpha-pinene on capsaicin-induced dental pulp nociception. *Int Endod J*. 2019; 52(3):307-317. doi: 10.1111/iej.13006.
  14. Santos BM, Santos WS, Solon IG, Garcia FS, Emilio-Silva MT, Jesus AA. Orofacial anti-hypernociceptive effect of citral in acute and persistent inflammatory models in rats. *Arch Oral Biol*. 2023; 152:105734. doi: 10.1016/j.archoralbio.2023.105734.
  15. Yajima M, Takahashi Y, Sugimura YK, Kato F. Pregabalin attenuates long-lasting post-inflammatory nociplastic mechanical sensitization in mice. *Neurobiol Pain*. 2023; 13:100131. doi: 10.1016/j.ynpai.2023.100131.
  16. Srebro D, Dožić B, Vučković S, Savić Vujović K, Medić Brkić B, Dožić I, Srebro M. The Interactions of Magnesium Sulfate and Cromoglycate in a Rat Model of Orofacial Pain; The Role of Magnesium on Mast Cell Degranulation in Neuroinflammation. *Int. J. Mol. Sci*. 2023; 24: 6241. doi.org/ 10.3390/ijms24076241.
  17. Miranda HF, Noriega V, Sierralta F, Sotomayor-Zárate R, Prieto JC. The Antinociceptive Activities of Certain NSAIDS Combinations in Murine Orofacial Test. *Drug Res (Stuttg)*. 2020; 70(9):424-428. doi: 10.1055/a-1217-6777.
  18. Barreto RSS, Quintans JSS, Amarante RKL, Nascimento TS, Amarante RS, Barreto AS et al. Evidence for the involvement of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in the antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Stachys lavandulifolia* Vahl. (Lamiaceae) essential oil and (-)- $\alpha$ -bisabolol, its main compound, in mice. *J Ethnopharmacol*. 2016; 191:9-18. doi: 10.1016/j.jep.2016.06.022.
  19. Marcano D, Hasegawa M. *Fitoquímica orgánica*. 2da Edición. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas, Venezuela. 2002.
  20. Ministerio del Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias. República Bolivariana de Venezuela. Código de Ética para la Vida. Caracas, Venezuela. 2011.
  21. James S, Larson R, Hostetler R, Edwards B. *Cálculo y Geometría Analítica*. Mc Graw Hill. 2006.
  22. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain*. 1989; 38: 347-352. doi: 10.1016/0304-3959(89)90222-4.
  23. Vaccarino L y Chorney A. Descending modulation of central neural plasticity in the formalin pain test. *Brain Res*. 1994; 666: 104-108. doi: 10.1016/0006-8993(94)90288-7.
  24. Chapman V y Dickenson A. The spinal and peripheral roles of bradykinin and prostaglandins in nociceptive processing in the rat. *Eur J Pharmacol*. 1992; 219: 427-433. doi: 10.1016/0014-2999(92)90484-l.
  25. Chichorro J, Lorenzetti B, Zampronio A. Involvement of bradykinin, cytokines, sympathetic amines and prostaglandins in formalin-induced orofacial nociception in rats. *Br J Pharmacol*. 2004; 141 (7): 1175-1184. doi: 10.1038/sj.bjpp.0705724.
  26. Padi S, Naidu P, Kulkarni S. Involvement of peripheral prostaglandins in formalin-induced nociceptive behaviours in the orofacial area of rats. *Inflammopharmacology*. 2006; 14 (1-2): 57-61. doi: 10.1007/s10787-006-1495-7.
  27. Wu Y, Qin D, Jang H, Fu H. Evidence for the Participation of Acid-Sensing Ion Channels (ASICs) in the Antinociceptive Effect of Curcumin in a Formalin-Induced Orofacial Inflammatory Model. *Cell Mol Neurobiol*. 2017; 37(4): 635-642. doi: 10.1007/s10571-016-0399-3.
  28. Robbins, Cotran, Collins. *Patología estructural y funcional*. Sexta edición. Edit McGRAW-Hill Interamericana. México DF. 2000.
  29. Levison D, Reid R, Burt A, Harrison A, Fleming S. *Patología de Muir* 14a edición. McGRAW-Hill Interamericana. México DF, 2008.

30. Frade TI, Dos Reis DC, Cassali GD, Bakhle YS, de Francischi JN. Tissue selective inflammation in the oral cavity of the rat. *Inflammopharmacology*. 2016; 24(4): 145-153. doi: 10.1007/s10787-016-0269-0.
31. Clavelou P, Dallel R, Orliaguet T, Woda A, Raboisson P. The orofacial formalin test in rats: effects of different formalin concentrations. *Pain*. 1995, 62: 295-301. doi: 10.1016/0304-3959(94)00273-H.
32. Houël E, Fleury M, Odonne G, Nardella F, Bourdy G, Vonthron-Sénécheau C, et al. Antiplasmodial and anti-inflammatory effects of an antimalarial remedy from the Wayana Amerindians, French Guiana: Takamalaimë (*Psidium acutangulum* Mart. ex DC, Myrtaceae). *J Ethnopharmacol*. 2015; 166: 279-285. doi: 10.1016/j.jep.2015.03.015.
33. Ghaderi F, Ebrahimi E, Sari Aslani F, Koohi-Hosseinabadi O, Koohpeyma F, Irajie C, et al. The effect of hydroalcoholic extract of *Psidium guajava* L. on experimentally induced oral mucosal wound in rat. *BMC Complement Med Ther*. 2022; 22(1):201. doi: 10.1186/s12906-022-03655-5.
34. Denny C, Melo P, Franchin M, Massarioli AP, Bergamaschi KB, de Alencar SM, et al. Guava pomace: a new source of anti-inflammatory and analgesic bioactives. *BMC Complement Altern Med*. 2013; 13: 235. doi: 10.1186/1472-6882-13-235.
35. Marques AM, Tuler AC, Carvalho CR, Carrijo TT, Ferreira MF, Clarindo WR. Refinement of the karyological aspects of *Psidium guineense* (Swartz, 1788): a comparison with *Psidium guajava* (Linnaeus, 1753). *Comp Cytogenet*. 2016; 10(1): 117-128. doi: 10.3897/CompCytogen.v10i1.6462.
36. Landrum L, Clark D, Sharp W, Brendecke J. Hybridization between *Psidium guajava* and *P. guineense* (Myrtaceae). *Economic Botany*. 1995; 49 (2): 153-161. doi.org/10.1007/BF02862919
37. Rivero-Maldonado G, Pacheco-Rivera D, Sánchez-Urdaneta AB, De González MQ, Sthormes-Méndez G. Contribuciones al estudio sistemático de especies de *Psidium* (Myrtaceae) de Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica*. 2017; 40(1), 53-96.
38. Ysrafil Y, Sapiun Z, Slamet NS, Mohamad F, Hartati H, Damiti SA, et al. Anti-inflammatory activities of flavonoid derivates. *ADMET DMPK*. 2023;11(3):331-359. doi: 10.5599/admet.1918.
39. Vergara M, Almatrafi M, Fernandez M. Bioactive Components in *Moringa Oleifera* Leaves Protect against Chronic Disease. *Antioxidants (Basel)*. 2017; 6 (4). doi: 10.3390/antiox6040091
40. Dos Santos E, Radai JAS, do Nascimento KF, Formagio ASN, de Matos Balsalobre N, Ziff EB, Castelon Konkiewitz E, Kassuya CAL. Contribution of spathulenol to the anti-nociceptive effects of *Psidium guineense*. *Nutr Neurosci*. 2022; 25(4):812-822. doi: 10.1080/1028415X.2020.1815330.