



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**SARA LÉA FORTES BARBOSA**

***Mimosa caesalpinifolia* Benth.: obtenção do extrato padronizado, avaliação da atividade antioxidante, da citotoxicidade e desenvolvimento de comprimidos.**

TERESINA-PI  
MAIO DE 2017

**SARA LÉA FORTES BARBOSA**

***Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.: obtenção do extrato padronizado, avaliação da atividade antioxidante, da citotoxicidade e desenvolvimento de comprimidos.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí, sob orientação da Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Antônia Maria das Graças Lopes Citó, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

TERESINA-PI  
MAIO DE 2017

**SARA LÉA FORTES BARBOSA**

***Mimosa caesalpinifolia* Benth.: obtenção do extrato padronizado, avaliação da atividade antioxidante, da citotoxicidade e desenvolvimento de comprimidos.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Antônia Maria das Graças Lopes Citó, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Antônia Maria das Graças Lopes Citó (Orientadora)**

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

---

**Prof. Dr. Daniel Dias Rufino Arcanjo (Coorientador)**

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

---

**Prof. Dr. José de Sousa Lima Neto**

Curso de Farmácia

---

**Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes**

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante**

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**

**REITOR**

Prof. Dr. José de Arimatéia Dantas Lopes

**VICE-REITORA**

Profa. Dra. Nadir do Nascimento Nogueira

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Pedro Vilarinho Castelo Branco

**PRÓ-REITOR DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Helder Nunes da Cunha

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Prof. Dr. Viriato Campelo

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**

**FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**

**FARMACÊUTICAS**

Prof. Dra. Marcília Pinheiro da Costa

## DEDICATÓRIA

*À minha família, meu tudo.*

*“Ninguém é suficiente perfeito que não possa aprender com o outro e, ninguém é totalmente instruído de valores que não possa ensinar algo ao seu irmão.”*

São Francisco de Assis

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Piauí, agradeço a oportunidade de me qualificar através dessa pós-graduação;

Ao PPGCF incluindo os que o compõe: coordenador, professores, funcionários e alunos;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Piauí - FAPEPI, pelo fomento a esta pesquisa;

Ao Portal de Periódicos CAPES/MEC, que me permitiu livre acesso à literatura científica por meio da UFPI;

À Professora Graça Citó, por toda a atenção, paciência e preocupações para com esta pesquisa;

Ao incansável professor Lima Neto, que muito me acrescentou com seus ensinamentos;

Ao professor Daniel Arcanjo, pela sua coorientação e, sobretudo, pelas palavras motivação;

Ao professor Lívio César, que sempre me atendeu com meus muitos questionamentos;

Ao professor Bernardo, por sua disponibilidade e gentileza;

À professora Angélica Coelho, sempre prestativa;

À professora Ana Amélia e à equipe do LAPGEN;

À Faculdade Santo Agostinho, a qual nos concedeu uso do seu laboratório;

Aos colegas do LAGO: Amanda Raquel, Emanuelle Andrade, Maria Eugênia, Mariana Feitosa, Arkellau, Iolanda, Analine;

Aos colegas de turma, em especial à Priscila, Jéssica, Handerson e Bárbara.

***Mimosa caesalpinifolia* Benth.: obtenção do extrato padronizado, avaliação da atividade antioxidante, da citotoxicidade e desenvolvimento de comprimidos. SARA LÉA FORTES BARBOSA.** Orientadora: Antônia Maria das Graças Lopes Citó. Qualificação de Mestrado. Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Piauí, 2016.

## RESUMO

A medicina tradicional é mantida pela humanidade como um recurso terapêutico mais acessível principalmente nas comunidades mais carentes. Em alguns locais do Nordeste do Brasil, a medicina popular faz uso das inflorescências de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. para o tratamento da hipertensão arterial. Estudos farmacológicos comprovaram que o chá dessas inflorescências promove hipotensão e taquicardia, enquanto o extrato etanólico promove hipotensão e bradicardia. Os constituintes ácido gálico, galato de metila, galato de etila, quercetina, vicenina-2 e rutina foram identificados no extrato etanólico das inflorescências. Esse estudo objetivou obter uma técnica extrativa eficiente, realizar caracterização fitoquímica e padronização do extrato obtido, avaliação da citotoxicidade e delinear comprimidos do extrato das inflorescências de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. Após coleta e identificação da espécie, procedeu-se a otimização do método extrativo através do planejamento fatorial 2<sup>3</sup>, o qual avaliou as condições tempo de extração, uso de sonicação e tipo de solvente sendo este último um fator determinante para a resposta rendimento da extração. Uma alíquota do extrato foi liofilizada para se obter o extrato seco. O extrato seco foi padronizado usando uma curva de calibração de ácido gálico como substância marcadora por cromatografia líquida de alta performance, cujo teor foi de 7,9 mg/g de extrato. O teor de fenóis totais foi mensurado através do método de Folin-Ciocalteu, constatando teor de 245,17 mg de EAG/g. As atividades citotóxicas e antioxidantes foram testadas através do halo de inibição em linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* proficientes e deficientes de enzimas antioxidantes. Os resultados revelaram que o extrato atenuou o efeito oxidativos do controle positivo – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – sobre o crescimento, apresentando, portanto, atividade antioxidante *in vivo* e não se apresentou citotóxico às cepas. O extrato líquido foi seco por aspersão utilizando o Aerosil 200<sup>®</sup> como adjuvante de secagem e a partir do pó obtido desenvolveram-se 8 formulações de comprimidos. Os ensaios de controle de qualidade preconizados pela Farmacopeia Brasileira apontaram a formulação F3 como a mais adequada à fabricação de um comprimido fitoterápico anti-hipertensivo obtido da espécie em estudo, apresentando-se satisfatória em todos os ensaios realizados.

**Palavras-chave:** Comprimidos, *Mimosa caesalpinifolia*, anti-hipertensivo, fitoterápico.

***Mimosa caesalpiniiifolia* Benth .: obtaining the standardized extract, evaluation of antioxidant activity, cytotoxicity and development of tablets. SARA LÉA FORTES BARBOSA.** Advisor: Antônia Maria das Graças Lopes Citó. Master's degree. Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences. Center for Health Sciences. Federal University of Piauí, 2016.

## ABSTRACT

Traditional medicine is maintained by humanity as a more accessible therapeutic resource especially in the most needy communities. In some places in the Northeast of Brazil, folk medicine makes use of the inflorescences of *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. for the treatment of hypertension. Pharmacological studies have shown that the tea of these inflorescences promotes hypotension and tachycardia, while the ethanolic extract promotes hypotension and bradycardia. The constituents gallic acid, methyl gallate, ethyl gallate, quercetin, vicenin-2 and rutin were identified in the inflorescence ethanolic extract. The objective of this study was to obtain an efficient extractive technique, perform phytochemical characterization and standardization of the extract obtained, cytotoxicity assessment and delineate tablets of the inflorescence extract of *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. After collection and identification of the species, the extraction method was optimized through factorial design 2<sup>3</sup>, which evaluated the conditions of extraction time, sonication use and type of solvent, which is a determining factor for the yield response of the extraction. An aliquot of the extract was lyophilized to obtain the dry extract. The dry extract was standardized using a calibration curve of gallic acid as a marker substance by high performance liquid chromatography, the content of which was 7,9 mg/g extract. The total phenol content was measured by the Folin-Ciocalteu method, with a content of 245.17 mg EAG/g. The cytotoxic and antioxidant activities were tested through the inhibition halo in *Saccharomyces cerevisiae* strains proficient and deficient in antioxidant enzymes. The results showed that the extract attenuated the oxidative effect of the positive control - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - on the growth, thus presenting antioxidant activity *in vivo* and did not present cytotoxic to the strains. The liquid extract was spray-dried using Aerosil 200<sup>®</sup> as a drying aid and from the obtained powder 8 tablet formulations were developed. The quality control tests recommended by the Brazilian Pharmacopoeia indicated that the formulation F3 is the most appropriate for the manufacture of an antihypertensive herbal tablet obtained from the study species, and it was satisfactory in all the tests performed.

**Keywords:** *Mimosa caesalpiniiifolia*, antihypertensive, herbal, tablets.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Introdução

- Figura 1 Fotografia da árvore de *Mimosa caesalpiniiifolia*. 16
- Figura 2 Fotografia das Inflorescências de *Mimosa caesalpiniiifolia*. 17
- Figura 3 Estruturas químicas identificadas por espectrometria de massas no extrato etanólico de flores de *Mimosa caesalpiniiifolia*. 18

### Revisão de literatura

- Quadro 1 Principais espécies do gênero *Mimosa* com atividade biológica relatada na literatura científica. 25

### Capítulo I

- Quadro 1 Publicações de espécies com atividade anti-hipertensivas nas bibliotecas virtuais Periódicos CAPES, SciELO e Portal BVS entre os anos 2006 a 2016. 37
- Figura 1 Percentuais de escolha das principais partes vegetais e métodos extrativos empregados nas pesquisas científicas de produtos naturais com atividade anti-hipertensiva nos artigos publicados de nas bibliotecas virtuais Portal BVS, Periódicos CAPES e SciELO no período de 2006-2016. 39
- Figura 2 Distribuição dos mecanismos anti-hipertensivos elucidados nas pesquisas científicas de produtos naturais com atividade anti-hipertensiva publicadas nas bibliotecas virtuais Portal BVS, Periódicos CAPES e SciELO no período de 2006-2016. 40
- Quadro 2 Constituintes químicos relacionados ao efeito anti-hipertensivo das espécies, mecanismos de ação, modelo de estudo utilizados e outras informações relevantes nas publicações de 2006-2016. 42

### Capítulo II

- Figura 1 Esquema de semeio de linhagens de *S. cerevisiae* na placa de Petri em meio sólido YEPD. 67
- Figura 2 Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores testados no planejamento fatorial  $2^3$  e suas interações para a resposta teor de resíduo seco (g) na 70

	extração das flores de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> .	
Figura 3	Superfícies de resposta do planejamento fatorial $2^3$ produzidas no teor de resíduo sólido (g) da extração de inflorescências de <i>M. caesalpiniiifolia</i> pelos fatores solvente, Sonicação e tempo de extração.	71
Figura 4	Esquema de obtenção do EH-Mc, extração otimizada para melhor rendimento na obtenção do extrato de inflorescências de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> .	72
Figura 5	Perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico de <i>M. caesalpiniiifolia</i> , submetido ao clean-up. Coluna Phenomenex® Kinetex (250 x 4.6 mm i.d.; 5 µm), CLAE-DAD (Shimadzu®), fluxo 1,0 mL min <sup>-1</sup> , λ = 270 nm, (condições experimentais - item 2.3.1)	74
Figura 6	Curva analítica do ácido gálico, substância marcadora do extrato de inflorescências de <i>M. caesalpiniiifolia</i> .	75
Figura 7	Efeito citotóxico do EH-Mc frente a macrófagos peritoneais de camundongos Balb/c. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. **p<0,01 e ***p<0,001 quando comparados com grupo controle.	79
<b>Capítulo III</b>		
Figura 1	Imagem de comprimido de cada uma das 8 formulações delineadas por planejamento fatorial $2^3$ .	93
Figura 2	Peso médio, dureza, tempo de desintegração das formulações de comprimidos de <i>M. caesalpiniiifolia</i> .	94
Figura 3	Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores testados no planejamento fatorial e suas interações para a resposta Dureza (Newtons) dos comprimidos de <i>M. caesalpiniiifolia</i> .	95
Figura 4	Superfícies de resposta do planejamento fatorial $2^3$ produzida na Dureza dos comprimidos de <i>M. caesalpiniiifolia</i> pelos fatores diluente (amido+; celulose-), aglutinante (com PVP+; sem PVP-) e modo de produção (compressão direta+; granulação úmida-).	97
Figura 5	Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores testados e suas interações para a resposta tempo de desintegração (minutos) dos comprimidos de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> .	98

Figura 6	Superfícies de resposta do planejamento fatorial $2^3$ produzida no Tempo de Desintegração dos comprimidos de <i>M. caesalpiniiifolia</i> pelos fatores diluente (amido+; celulose-), aglutinante (com PVP+; sem PVP-) e modo de produção (compressão direta+; granulação úmida-).	99
Figura 7	Espectro de absorção no UV-VIS do extrato hidroalcoólico de <i>M. Caesalpiniiifolia</i> .	101
Figura 8	Curva de calibração do extrato hidroalcoólico de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> em solução de HCl 0,1 M.	101
Figura 9	Perfis de liberação de duas formulações de comprimidos desenvolvidas com extrato hidroalcoólico de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> (F3 e F7).	102

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

Tabela 1	Siglas utilizadas para a representação dos fatores avaliados no planejamento fatorial da otimização da extração de inflorescências secas de <i>M. caesalpiniiifolia</i> .	63
Tabela 2	Genótipo e origem das linhagens de cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> semeadas no ensaio de avaliação de atividade antioxidante.	66
Tabela 3	Matriz de planejamento fatorial aplicada para a otimização da extração de inflorescências de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> e resultados.	69
Tabela 4	Teores de fenóis totais (FT) expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de extrato hidroalcoólico otimizado (EH-Mc) e matéria vegetal seca (MS) de inflorescências de <i>M. caesalpiniiifolia</i> .	73
Tabela 5	Atividade do extrato hidroalcoólico das inflorescências de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> Bentham frente à inibição de halos de crescimento em linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> selvagens e mutadas (tratamento) e frente aos danos induzidos pelo peróxido de hidrogênio (cotratamento).	76

### CAPÍTULO III

Tabela 1	Matriz de planejamento fatorial $2^3$ para as formulações de comprimidos de extrato hidroalcoólico de inflorescências de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	92
Tabela 2	Massas dos excipientes empregados nas formulações delineadas para comprimidos de extrato padronizado de inflorescências de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> .	93
Tabela 3	Resultados dos ensaios farmacopeicos das formulações de comprimidos delineadas a partir do extrato padronizado de inflorescências de <i>M. caesalpiniiifolia</i> .	93

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E MEDIDAS

<b>ANP</b>	Peptídio natriurético atrial
<b>PAS</b>	Pressão arterial sistólica
<b>IECA</b>	inibidores da enzima conversora da angiotensina
<b>ACC</b>	antagonistas dos canais de cálcio
<b>SUS</b>	Sistema Único de Saúde
<b>MT&amp;C</b>	Medicina tradicional e complementar
<b>SciELO</b>	Scientific Electronic Library Online
<b>BVS</b>	Biblioteca Virtual em Saúde
<b>HAS</b>	Hipertensão arterial sistêmica
<b>PA</b>	Pressão arterial
<b>EROS</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	fator de transcrição nuclear kappa
<b>ET-I</b>	Endotelina-I
<b>GABA</b>	gama-aminoburílico
<b>VSMCs</b>	Células musculares lisas vasculares
<b>NOS</b>	Óxido nítrico sintase
<b>eNOS</b>	Óxido nítrico sintase endotelial
<b>sGC</b>	Guanilato ciclase solúvel
<b>GTP</b>	Trifosfato de guanosina
<b>DNA</b>	Ácido desoxiribonucléico
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
<b>A</b>	Etanol puro como solvente
<b>H</b>	Mistura de etanol/água 7:3 (v/v)
<b>S</b>	Com uso de sonicação
<b>NS</b>	Sem banho de ultrassom
<b>3</b>	Extração por 3 dias
<b>9</b>	Extração por 9 dias
<b>YEL</b>	Meio líquido completo
<b>EAU</b>	Extração assistida por ultra-som
<b>FT</b>	Fenóis totais

<b>EAG</b>	Equivalentes de ácido gálico
<b>EH-Mc</b>	Extrato hidroalcoólico otimizado de inflorescências de <i>M. caesalpinifolia</i> .
<b>MVS</b>	Matéria vegetal seca
<b>SOD1</b>	Enzima Superóxido dismutase citosólica
<b>SOD2</b>	Enzima Superóxido dismutase mitocondrial
<b>CAT1</b>	Enzima Catalase 1
<b>SODWT</b>	Proficiente do sistema enzimático
<b>EH-Mc</b>	Extrato hidroalcoólico otimizado de inflorescências de <i>M. caesalpinifolia</i> .
<b>DAD</b>	Detector de arranjo de fotodiodo ( <i>Photodiode Array</i> )
<b>HPLC</b>	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografia líquida de alta performance)
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>FIA</b>	<i>Flow Injection Analysis</i> (Análise por injeção em fluxo)
<b>ESI</b>	<i>Electrospray ionization</i> (Ionização por eletrospray)
<b>HRMS</b>	<i>High Resolution Masss Spectrometer</i> (Espectrometria de Massas de Alta Resolução)
<b>TOF</b>	<i>Time of fly</i> (Tempo de vôo)
<b>PVP</b>	Polivinilpirrolidona
<b>cGMP</b>	Trifosfato de guanosina cíclico
<b>PTFE</b>	Politetrafluoretileno

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
2.1 Objetivo Geral.....	20
2.2 Objetivos Específicos.....	20
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>21</b>
3.1 Hipertensão arterial sistêmica.....	21
3.2 Plantas medicinais.....	22
3.3 Fitoterápicos.....	23
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>26</b>
<b>4. CAPÍTULO I: Recentes pesquisas de produtos naturais ativos contra hipertensão arterial sistêmica</b>	<b>31</b>
Resumo.....	32
1 Introdução.....	33
2 Metodologia.....	35
3 Resultado e discussão.....	37
4 Conclusão.....	52
Referências.....	53
<b>5. CAPÍTULO II: Otimização da extração, estudo fitoquímico e avaliação da atividade citotóxica e antioxidante do extrato de inflorescências de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> Benth.....</b>	<b>58</b>
Resumo.....	59
1 Introdução.....	60
2 Materiais e métodos.....	63
2.1 Coleta do material vegetal.....	63
2.2 Otimização da extração e preparo do extrato.....	63
2.3 Análise fitoquímica.....	64
2.3.1 Fenóis Totais (FT) .....	64
2.3.2 Análise por cromatografia líquida de alta performance com detector de arranjo de fotodiodo (CLAE)	64
2.4 Avaliação da atividade citotóxica e antioxidante.....	66
2.4.1 Cepas de leveduras, meios de culturas e condições de crescimento.....	66

2.4.2 Animais e cultivo celular.....	67
2.4.3 Teste de viabilidade celular de macrófagos peritoneais murinos.....	68
3 Resultado e discussão.....	69
3.1 Otimização da extração.....	69
3.2 Teor de Fenóis Totais.....	72
3.3 Achados fitoquímicos.....	73
3.4 Atividade antioxidante.....	76
3.5 Teste de viabilidade celular de macrófagos peritoneais murinos.....	78
4 Conclusão.....	80
Referências.....	81
<b>6. CAPÍTULO III: Delineamento de comprimidos de extrato de inflorescências de</b>	
<b><i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth. ....</b>	<b>83</b>
Resumo.....	84
1 Introdução .....	85
2 Materiais e métodos.....	87
2.1 Obtenção e padronização do extrato.....	87
2.2 Secagem por aspersão ( <i>Spray Drying</i> ) .....	87
2.3 Delineamento das formulações de comprimidos.....	88
2.4 Controle de qualidade das formulações de comprimidos.....	88
3 Resultado e discussão.....	90
3.1 Determinação de peso.....	95
3.2 Friabilidade.....	95
3.3 Dureza.....	95
3.4 Desintegração.....	98
3.5 Dissolução.....	101
4 Conclusão.....	104
Referências.....	105
<b>7. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>108</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As plantas são a origem da descoberta de vários fármacos os quais, não necessariamente, precisam ser usados como molécula isolada. O potencial terapêutico das plantas também pode ser aplicado através do uso de seus extratos e, para isso, a atividade farmacológica deve estar definida, bem como as substâncias responsáveis por essa atividade. Em alguns casos, o efeito terapêutico pode resultar da ação de vários constituintes, ou seja, um sinergismo de substâncias (HOSTETTMANN et al., 2003).

Fitoterápicos, ou fitomedicamentos, são medicamentos preparados exclusivamente à base de plantas medicinais. Essa categoria de medicamentos estabelece o uso dessas plantas na forma de extrato padronizado e como o apoio da tecnologia farmacêutica, pela qual se pode chegar a produto com a mesma qualidade dos produtos alopáticos (SIMÕES et al., 2004; CARVALHO, 2012).

No âmbito global, o maior mercado de produtos fitoterápicos encontra-se na Europa, sendo que cerca de 50% deste encontra-se na Alemanha. O Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, México, Panamá e Peru, considerados megabiodiversos, participam apenas com 5% desse total. (ALVES, 2013). Em 2016, o Ministério da Saúde liberou 3,4 milhões para projetos com fitoterápicos. O recurso foi aplicado na compra de insumos, materiais de consumo, contratação de pessoal e capacitação de profissionais (ABIFISA, 2016).

O Brasil é o país que detém a maior parcela da biodiversidade, em torno de 15 a 20% do total mundial. Entre os elementos que compõem a biodiversidade, as plantas são a matéria-prima para a fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos. Além desse acervo genético, o país é detentor de rica diversidade cultural e étnica que resultou em um acúmulo considerável de conhecimentos e tecnologias tradicionais, passados de geração a geração, entre os quais se destaca o vasto acervo de conhecimentos sobre manejo e uso de plantas medicinais. Nesse âmbito, o Ministério da Saúde, em 2006, elaborou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, tendo como meta garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006a). No mesmo ano, o mesmo Ministério, estabeleceu a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares, tendo como uma das suas diretrizes o provimento do acesso a medicamentos fitoterápicos (e também os homeopáticos) no Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2006b).

Como estratégia na investigação de plantas medicinais, a abordagem etnofarmacológica consiste em combinar informações adquiridas junto a usuários da flora medicinal (comunidades e especialistas tradicionais), com estudos químicos e farmacológicos (ELISABETSKY, 2003). Assim, a etnofarmacologia pode ser uma ferramenta importante na recuperação do conhecimento milenar e secular e, até mesmo, recursos terapêuticos naturais contemporâneos, o que permite combinar o conhecimento empírico e os conhecimentos científicos, facilitando a descoberta de novos agentes biologicamente ativos, através da redução do tempo e custo de triagem farmacológica e toxicológica (LEITÃO e OLIVEIRA, 2014).

*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (Família: Mimosaceae), uma árvore de médio porte, ocorre naturalmente nos Estados do Rio Grande do Norte, Piauí e Ceará, comumente conhecida por Sabiá, cebiá, sansão-do-campo, entre seus múltiplos usos (alimento para ruminantes, cerca viva, fonte para lenha), também tem suas partes empregadas na medicina popular. A infusão da casca do caule, por exemplo, é usada como expectorante ou como tônico no tratamento de doenças respiratórias como a bronquite e, de uso externo, a decocção das cascas é usada para estancar sangramentos e para lavagem de ferimentos (AGRA et al., 2008; RIBASKI et al., 2003). O chá da inflorescência desta espécie é usado pela população do semiárido para o tratamento da hipertensão (SANTOS et al., 2015).

**Figura 1.** Fotografia da árvore de *Mimosa caesalpiniiifolia*.



**Fonte:** Acervo pessoal

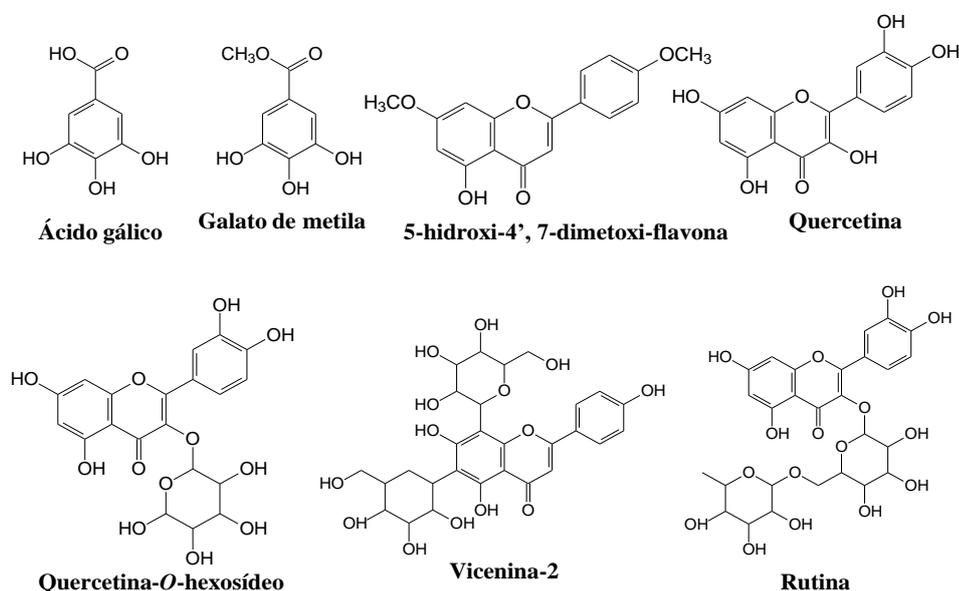
Estudos recentes comprovaram o efeito farmacológico de extratos obtidos de partes de *M. caesalpiniiifolia* contra algumas enfermidades como, por exemplo, a atividade antineoplásica do extrato etanólico das cascas do caule e do extrato etanólico de folhas (MONÇÃO et al., 2015; SILVA et al., 2014). Os extratos obtidos das folhas, caule, casca do caule e raiz tiveram efeito antioxidante, antimicrobiano e antifúngico (SILVA et al., 2012). A mesma espécie também contribui significativamente para a produção de mel e pólen de *Apis mellifera* e abelhas nativas da região nordeste sendo, em alguns lugares dessa região, considerada pólen dominante (LIMA-NETO, 2009).

**Figura 2.** Fotografia de inflorescências de *Mimosa caesalpiniiifolia*.



Alem dessas atividades, foi demonstrado que o chá das flores de *M. caesalpiniiifolia* promove hipotensão e taquicardia, enquanto o extrato etanólico promove hipotensão e bradicardia o que despertou interesse para esta pesquisa. Quando o extrato etanólico das inflorescências foi administrado oralmente em ratos, na dose de 100 mg/kg, ocasionou a diminuição da pressão arterial após 90 minutos, sem alteração significativa da frequência cardíaca em relação ao controle. Ensaio farmacológico *in vitro* com os extratos obtidos de partes da espécie *M. caesalpiniiifolia* (folhas, casca, frutos e inflorescências) apontaram o extrato etanólico das florescências como o de maior potencial vasorrelaxante em relação aos extratos das demais partes da planta. Seu efeito vasodilatador provavelmente se deve à presença de flavonoides flavan-3-ol, como rutina, quercetina, e outros compostos identificados no extrato etanólico das inflorescências. Esses resultados comprovam a eficácia do uso popular do chá das flores no tratamento da hipertensão (SANTOS et al., 2015).

**Figura 3.** Estruturas químicas identificadas por espectrometria de massas no extrato etanólico de flores de *Mimosa caesalpinifolia*.



**Fonte:** SANTOS et al., 2015

A hipertensão arterial é um importante desencadeador para doenças cardíacas e derrames, os quais, juntos, compõem a causa número um de morte prematura e incapacidade do mundo. Estima-se que a pressão arterial elevada contribua para cerca de 9,4 milhões de mortes por doenças cardiovasculares a cada ano. Também aumenta o risco de condições tais como a insuficiência renal e a cegueira (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011). Embora não se possa determinar nenhuma causa específica para a hipertensão, sabe-se que diversos fatores podem contribuir para o seu aparecimento. Hábitos de vida inadequados também influenciam para que a hipertensão se desenvolva, como excesso de sal, alimentos gordurosos, sedentarismo, ingestão excessiva de bebidas alcoólicas, tabagismo, obesidade e estresse (LOPES, 2010).

Considerando-se o efeito hipotensor do extrato de *M. caesalpinifolia*, a relevância dos agravos da hipertensão e o interesse do país pelo desenvolvimento de medicamentos oriundos de suas plantas medicinais, torna-se relevante o desenvolvimento de uma formulação farmacêutica fitoterápica a partir das inflorescências dessa espécie para tratamento da hipertensão arterial.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

- Desenvolver comprimidos a partir de inflorescências de *M. caesalpiniifolia* Benth., visando futura produção de um fitoterápico com atividade anti-hipertensiva, atividade esta já comprovada anteriormente no extrato.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Otimizar a metodologia de extração da droga através de planejamento fatorial;
- Traçar perfil fitoquímico e obter perfil cromatográfico do extrato liofilizado, bem como a padronização do mesmo;
- Avaliar as atividades citotóxica e antioxidante do extrato;
- Realizar estudos toxicológicos com o extrato;
- Delinear uma formulação de comprimidos a partir do extrato padronizado e realizar os ensaios de controle de qualidade.

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 Hipertensão arterial sistêmica**

Dados do Ministério da Saúde revelam que mais de 30 milhões de brasileiros sofrem de Hipertensão arterial. Até 2025, o número de hipertensos nos países em desenvolvimento, como o Brasil, deverá crescer 80%, ao tempo que as doenças cardiovasculares já são responsáveis por 1,2 milhões de mortes por ano e são a primeira causa de morte no Brasil. (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2017; PORTAL BRASIL, 2016).

A hipertensão, também conhecida como pressão alta ou elevada, é uma questão de saúde pública global, a qual contribui fortemente para doenças cardíacas, derrame, insuficiência renal e mortalidade prematura e deficiência. Afeta, de forma desproporcional, as populações de países de baixa e média renda onde os sistemas de saúde são deficientes. A hipertensão raramente causa sintomas nos estágios iniciais e muitas pessoas permanecem não diagnosticadas por muito tempo e aquelas que são diagnosticadas podem não ter acesso ao tratamento ou não conseguir êxito no controle da doença a longo prazo. Existem ganhos significativos em termos de saúde e economia associados à detecção precoce, tratamento adequado e bom controle da hipertensão (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011).

Há ainda muita incerteza sobre a fisiopatologia da hipertensão. Um pequeno número de hipertensos tem uma doença subjacente renal ou adrenal como a causa da sua pressão arterial elevada, conhecida como hipertensão secundária. O restante, aproximadamente 90%, no entanto, não apresenta uma única causa clara identificável e, assim, sua condição é rotulada "hipertensão essencial" (BEEVERS et al., 2001).

A hipertensão essencial é atualmente entendida como uma doença multifatorial decorrente da ação combinada de muitos fatores genéticos, ambientais e comportamentais. Dada a natureza multifatorial da homeostase da pressão arterial, qualquer alteração da pressão arterial provavelmente será revertida por mecanismos compensatórios em um esforço para retornar a pressão arterial normal. Quando os mecanismos compensatórios não conseguem neutralizar a perturbação ocorre a hipertensão essencial. Uma série de fatores de risco como dieta rica em sódio, obesidade, diabetes, envelhecimento, estresse emocional, estilo de vida sedentário e baixa ingestão de potássio, pode aumentar a probabilidade de desenvolver hipertensão (BOLÍVAR, 2013).

Entre os mecanismos fisiológicos envolvidos no aumento da pressão são reportados: débito cardíaco, resistência periférica, sistema renina-angiotensina-aldosterona, sistema

nervoso autônomo, bradicinina, endotelina, óxido nítrico, ANP (péptido natriurético atrial) e ouabaína (BEEVERS et al., 2001).

Com o crescimento econômico, urbanização e mudança de estilo de vida, a incidência da hipertensão está aumentando e, como consequência, as pessoas estão morrendo precocemente no mundo. A incidência de mulheres hipertensas cresceu. Após a diabetes, a hipertensão é o antecedente mais comum para a falência renal (KUMAR et al., 2013).

Através do tratamento medicamentoso da hipertensão arterial é possível a redução da morbidade e da mortalidade por complicações cardiovasculares. As evidências provenientes de estudos com duração relativamente curta, de três a quatro anos, demonstram redução de morbidade e mortalidade com o uso de diuréticos, betabloqueadores, inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA), bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina e antagonistas dos canais de cálcio (ACC) e do uso associado de drogas dessas classes (KOHLMANN JR., 2010). Os efeitos adversos dos fármacos de cada classe devem ser considerados pelos prescritores, principalmente quando necessário aumento da dose (RECK; SILVEIRO; LEITÃO, 2010).

### **3.2 Plantas medicinais**

O uso medicinal de plantas é uma prática muito antiga. Para algumas antigas civilizações, a cura fornecida por elas tinha um elemento mágico e sobrenatural. Os escritos indicam seu uso terapêutico desde 4000 - 5000 a.C., sendo os chineses os primeiros a utilizar preparações naturais à base de plantas como fim curativo. Desde então, a medicina tradicional permaneceu como a fonte de tratamento mais acessível no sistema de atenção primária de saúde das comunidades pobres em recursos (FERREIRA et al., 2014; HOSSEINZADEH et al., 2015).

Em 2006, o Ministério da Saúde do Brasil disponibilizou o uso de fitoterápicos e plantas medicinais dentre as opções terapêuticas e preventivas aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS). O baixo custo e a compatibilidade cultural podem encorajar a sua utilização nos cuidados primários de saúde, podendo compensar a falta constante de medicamentos nestes serviços (FERREIRA et al., 2014).

Os extratos preparados a partir de plantas utilizadas tradicionalmente para aplicações medicinais têm recebido atenção considerável devido aos seus potenciais benefícios à saúde como agentes terapêuticos. Constituintes químicos encontrados nesses extratos são muitas

vezes difíceis de purificar e sintetizar, além disso, suas atividades biológicas dependem frequentemente de efeitos de sinergia entre eles (MARQUES et al., 2011).

Em muitos países, gestores, profissionais de saúde e os cidadãos buscam resolver questões relacionadas com a segurança, eficácia, qualidade, disponibilidade, preservação e regulação da medicina tradicional e complementar (MT&C). A MT&C continua a ser amplamente utilizada, e a sua aceitação tem se espalhado rapidamente por outros países. Como resultado, a OMS realizou uma análise abrangente do estado atual da MT&C em todo o mundo e trabalhou com especialistas para desenvolver a Estratégia de Medicina Tradicional da OMS para 2014 a 2023, como reconhecimento e apoio a essas práticas milenares. A estratégia visa apoiar os estados membros no desenvolvimento de políticas pró-ativas e na implementação de planos de ação que reforcem o papel da medicina tradicional na manutenção da saúde das populações (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2017).

Vários extratos de ervas específicas têm demonstrado ser eficazes para condições patológicas. No entanto, a fitoterapia precisa ser testada quanto a sua eficácia usando a metodologia de ensaio convencional. Os usuários, muitas vezes, acreditam que todos os tratamentos naturais são inerentemente seguros, enquanto sabe-se que ervas medicinais podem trazer riscos, por isso a investigação nesta área deve ser intensificada (FIRENZUOLI; GORI, 2007).

### **3.3 Fitoterápicos**

Os medicamentos fitoterápicos são preparações padronizadas à base de plantas, constituídas por misturas complexas de uma ou mais plantas no seu estado bruto ou processado adicionado de certos excipientes, ou seja, solventes, diluentes ou conservantes (CALIXTO, 2000). Sua eficácia e a segurança devem ser validadas através de levantamentos etnofarmacológicos, documentações tecnocientíficas em bibliografia ou publicações indexadas e/ou estudos farmacológicos e toxicológicos pré-clínicos e clínicos. A qualidade deve ser alcançada mediante o controle das matérias-primas, do produto acabado, materiais de embalagem, formulação farmacêutica e estudos de estabilidade (ANVISA, 2017).

Dentre as principais vantagens que justificam o uso de fitoterápicos destacam-se o efeitos farmacológico por sinergismo (as plantas apresentam vários compostos com efeitos similares), menores riscos de efeitos colaterais (considerando que os compostos ativos se apresentam em concentrações reduzidas nas plantas, são muito menores os riscos de efeitos secundários não desejáveis) e, ainda, os menores custos de pesquisa enquanto a descoberta e

desenvolvimento de um novo fármaco envolve investimentos altíssimos (YUNES; PEDROSA; FILHO, 2001).

A expansão da demanda por medicamentos à base de plantas vem crescendo mundialmente. Nos países desenvolvidos, a principal motivação apontada pela literatura é dispor de alternativa mais saudável ou menos agressiva de tratamento primário à saúde frente às evidências dos efeitos colaterais dos medicamentos sintéticos; e nos países em desenvolvimento, dispor de uma alternativa à dificuldade de acesso aos medicamentos farmoquímicos, devido aos preços mais elevados desses quando comparados com os fitoterápicos (CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS, 2009).

O Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, 1ª edição complementa a Farmacopéia, oficializando as formulações que serão manipuladas de forma padronizada. Essas formulações são reconhecidas como farmacopeicas, podendo ser manipuladas de modo a estabelecer um estoque mínimo em farmácias de manipulação e farmácias vivas (BRASIL, 2011).

### 3.4 Gênero *mimosa*

*Mimosa* é um dos maiores gêneros da família de Leguminosas com mais de 500 espécies distribuídas principalmente nos neotrópicos. No Brasil ocorrem 344 espécies, sendo a região centro-oeste o principal centro de diversidade do gênero, com 189 espécies, muitas delas endêmicas, de ocorrência em populações pequenas, restritas a determinados habitats, ameaçadas de extinção e pouco estudadas. As espécies de *Mimosa* crescem em diversos habitats que incluem florestas tropicais, savannas, florestas secas tropicais e subtropicais, deserto, entre outros (DUTRA; GARCIA, 2014; SIMON et al., 2011).

Os exemplares desse gênero caracterizam-se pelas folhas bipinadas, foliólulos sésseis, o 1º par de cada pina comumente diferenciado em parafilídios, flores 3-5-6-meras, isostêmones ou diplostêmones, filetes alvos, róseos ou amarelos, livres ou curtamente monadelfos e frutos do tipo craspédio ou sacelo (DUTRA; GARCIA, 2014).

Quanto ao tamanho, os vegetais adultos variam consideravelmente de acordo com as espécies de *Mimosa*. No caso de *M. pigra*, varia de 1 a 6 m de diâmetro, enquanto que para *M. pudica* e *M. invisa* estes variam de 0,25 m - 2,0 m (BAKAR; WATI; MOHAMED, 1996).

Extratos de diferentes partes de plantas desse gênero são relatados para o uso no sistema ayurvédico (medicina tradicional indiana) com uma variedade de finalidades, por

exemplo, ação diurética, adstringente, expectorante, estimulante, antiespasmódica e anticonvulsivante em crianças (HIKI, 1986).

A composição química do gênero *Mimosa* inclui metabólitos primários e secundários, tais como: carboidratos, aminoácidos e alcalóides derivados de triptofano, isoprenóides (diterpenos, triterpenos, carotenóides e esteróides), ácidos fenólicos, lignanas, flavonóides e ácidos graxos, (MONÇÃO et al., 2014).

**Quadro 1.** Principais espécies do gênero *Mimosa* com atividade biológica relatada na literatura científica.

Espécie	Atividade biológica	Autor, ano
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth.	Atividade antioxidante, antimicrobiana, citotóxica, anti-hipertensiva	Silva et al., 2014; Monção et al., 2014; Silva et al., 2012; Santos et al., 2015
<i>Mimosa diplotricha</i> C. Wright	Atividade citotóxica	Lin; Chiou; Cheng, 2011.
<i>Mimosa pudica</i> Linn.	Atividade Hipolipidêmica; modula os receptores GABA <sub>A</sub> ; antiúlcera; antimalária; anti-inflamatória; cicatrizante; anticonvulsivante; antidepressivo; diurético; antioxidante; antiviral; antibacteriana; antiasmática; antidiabetes (regula o metabolismo glicêmico)	Rajendran; krishnakumar, 2010; Ayissi Mbomo et al., 2012; Johnson; Narasimhan; Krishnan, 2014; Malayan et al., 2013; Akter et al., 2010
<i>Mimosa albida</i> Humb. & Bonpl.	Efeito antinociceptivo	Rejón-orantes et al., 2013)
<i>Mimosa scabrella</i> Benth.	Atividade anti-inflamatória tópica	Borsato et al., 2014
<i>Mimosa pigra</i> L.	Antiperglicêmico; antinociceptivo; atenua hipertensão pulmonar; tripanossomicida	Toma et al., 2012; Rakotomalala et al., 2013; Alkali et al., 2015
<i>Mimosa tenuiflora</i> Wild	Estimula a proliferação de osteoblastos; antiprotozoário; antinociceptivo e anti-inflamatório; antibacteriana	Martel-estrada et al., 2015 Bautista et al., 2011; Cruz et al., 2016; Bezerra et al., 2011
<i>Mimosa rubicaulis</i> Lam (MEMR)	Antitumoral	Nandipati et al., 2014

## REFERÊNCIAS

- ABIFISA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DO SETOR FITOTERÁPICO, SUPLEMENTO ALIMENTAR E DE PRODUÇÃO DA SAÚDE. **Ministério da Saúde libera R\$ 3,4 milhões para projetos de fitoterápicos**. 2016. Disponível em: <<http://www.abifisa.org.br/noticia/23-05-2016-ministerio-da-saude-libera-r-3-4-milhoes-para-projetos-de-fitoterapicos>>. Acesso em: 19 de maio de 2017.
- AGRA, M. D. F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472–508, 2008.
- AKTER, A. et al. Screening of Ethanol, Petroleum Ether and Chloroform Extracts of Medicinal Plants, *Lawsonia inermis* L. and *Mimosa pudica* L. for Antibacterial Activity. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 72, n. 3, p. 388–392, 2010.
- ALKALI, Y. et al. Trypanocidal efficacy of two indigeneous ethanolic plant extracts (*Mimosa pigra* and *Ipomoea asarifolia*) against Trypanosoma evansi phospholipase A2 activity. **Journal of Acute Disease**, v. 4, n. 1, p. 28–31, 2015.
- ALVES, L. F. Production of Phytotherapeutics in Brazil: History, Problems and Perspectives. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 450–513, 2013.
- ANVISA, **Categorias de medicamentos**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 13 de janeiro de 2017.
- AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- AYISSI MBOMO, R. et al. Effect of *Mimosa pudica* (Linn.) extract on anxiety behaviour and GABAergic regulation of 5-HT neuronal activity in the mouse. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 26, n. 4, p. 575–83, 2012.
- BAKAR, B.; WATI, H. N.; MOHAMED, M. A. H. The genus mimosa with special reference tom. quadrivalvis l. var. leptocarpa (d.c.) earnedy, a new species record for the weed flora in malaysia. **Biotropia**, n. 9, p. 38–52, 1996.
- BAUTISTA, E. et al. Antiprotozoal activity of flavonoids isolated from *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae-Mimosoideae). **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 55, n. 4, p. 251–253, 2011.
- BEEVERS, G.; LIP, G. Y. H.; BRIEN, E. O. ABC of hypertension - The pathophysiology of hypertension. **BMJ**, v. 322, n. April, p. 912–916, 2001.
- BEZERRA, D. A. C. et al. abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 33, n. 1, p. 99–106, 2011.
- BOLÍVAR, J. J. Essential hypertension: An approach to its etiology and neurogenic pathophysiology. **International Journal of Hypertension**, v. 2013, p. 11 páginas, 2013.
- BORSATO, D. M. et al. topical anti-inflammatory activity of a monofloral honey of *Mimosa scabrella* provided by *Melipona marginata* during winter in Southern Brazil. **Journal of**

medicinal food, v. 17, n. 7, p. 817–825, 2014.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília, 2006a.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares**. Brasília, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 94, de 6 de novembro de 2003**.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira**. Brasília: Anvisa, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medicamentos fitoterápicos**. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/fitoterapicos> >. Acesso em: 05 maio de 2017.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutical agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 179–189, 2000.

CARVALHO, José Carlos Tavares. Formulário Médico-Farmacêutico de Fitoterapia. 3. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2012.

CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS. **Diagnóstico dos desafios e oportunidades no mercado de Plantas Medicinais e Fitoterápicos brasileiro**, 2009. Disponível em:

<[http://www.ie.ufrj.br/images/inovacao/trabalhos\\_tecnicos/Publicacao\\_Fitoterpicos.pdf](http://www.ie.ufrj.br/images/inovacao/trabalhos_tecnicos/Publicacao_Fitoterpicos.pdf)>

CRUZ, M. P. et al. Antinoceptive and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract, fractions and flavones isolated from *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (Leguminosae). **PLoS ONE**, v. 11, n. 3, p. 1–29, 2016.

DUTRA, V. F.; GARCIA, F. C. P. *Mimosa* L. (Leguminosae-Mimosoideae) dos campos rupestres de Minas Gerais, Brasil. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 69, n. 1, p. 49–88, 2014.

ELISABETSKY, Elaine. Etnofarmacologia. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 55, n. 3, Set. 2003.

FERREIRA, T. S. et al. Phytotherapy: an introduction to its history, use and application. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 2, p. 290–298, 2014.

FIRENZUOLI, F.; GORI, L. Herbal medicine today: Clinical and research issues. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 4, n. 1, p. 37–40, 2007.

HIKI, S. Present status of research on genus: *Mimosa*. **Journal of the Acoustical Society of Japan**, v. 7, n. 1, p. 3–4, 1986.

HOSSEINZADEH, S. et al. The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*. **International Journal of Clinical Medicine**, v. 6, n. Sept., p. 635–642, 2015.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas**

superiores. São Carlos: EduFSCar, 2003.

JOHNSON, K.; NARASIMHAN, G.; KRISHNAN, C. *Mimosa Pudica* Linn- A shyness princess: A review of its plant movement, active constituents, uses and pharmacological activity. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 12, p. 5104–5118, 2014.

KOHLMANN JR., O. ET AL. Tratamento medicamentoso. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 32, n. 1, p. 29–43, 2010.

KUMAR, G.; KARTHIK, L.; RAO, K. V. B. Phytochemical composition and in vitro antioxidant activity of aqueous extract of *Aerva lanata* (L.) Juss. ex Schult. Stem (Amaranthaceae). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 180–187, 2013.

LEITÃO, S. G.; OLIVEIRA, D. R. The modern pharmacognosy and the ethnopharmacological approach on natural products research. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 97–98, 2014.

LIMA NETO, J. S. **Pólen de abelha sem ferrão (*Scaptotrigona* sp.) de Monsenhor Gil-Pi: análise palinológica, constituintes químicos e estudo cinético frente ao DPPH**. 2009, 165 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2009.

LIN, L. C.; CHIOU, C. T.; CHENG, J. J. 5-Deoxyflavones with cytotoxic activity from *Mimosa diplotricha*. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 9, p. 2001–2004, 2011.

LIYANA-PATHIRANA, C.; SHAHIDI, F. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 93, n. 1, p. 47–56, 2005.

LOPES, G. A. D. Plantas medicinais: indicação popular de uso no tratamento de hipertensão arterial sistêmica (has). **Revista Ciência em Extensão**, v. 6, n. 2, p. 143–155, 2010.

MALAYAN, J. et al. Anti-mumps virus activity by extracts of *Mimosa pudica*, a unique Indian medicinal plant. **Indian Journal of Virology**, v. 24, n. 2, p. 166–173, 2013.

MARQUES, F. et al. Stimulation of DNA repair in *Saccharomyces cerevisiae* by *Ginkgo biloba* leaf extract. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 6, p. 1361–1366, 2011.

MARTEL-ESTRADA, S. A. et al. Biocompatibility of chitosan/*Mimosa tenuiflora* scaffolds for tissue engineering. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 643, p. S119–S123, 2015.

MONÇÃO, N. B. N. et al. Chemical constituents and toxicological studies of leaves from *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth., a Brazilian honey plant. **Pharmacognosy magazine**, v. 10, n. Suppl 3, p. S456–62, 2014.

MONÇÃO, N. et al. Assessing Chemical Constituents of *Mimosa caesalpiniiifolia* Stem Bark: Possible Bioactive Components Accountable for the Cytotoxic Effect of *M. caesalpiniiifolia* on Human Tumour Cell Lines. **Molecules**, v. 20, n. 3, p. 4204–4224, 2015.

NANDIPATI, M. N. C. et al. Antitumor activity of *Mimosa rubicaulis* lam against ehrlich ascites carcinoma in swiss albino mice. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 4, p. 1514–1524, 2014.

NORIEGA, P.; RÖPKE, C. D.; CAMILO, C. M.; DEODATO DE FREITAS, P. C.;

BARROS, S. B. M. Avaliação por análise fatorial das condições da extração do 4-nerolidilcatecol de *Pothomorphe umbellata* (L). Miq. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 41, n. 2, p. 261-269, 2005

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Cardiovascular diseases (CVDs)**. 2011. Disponível em: <[www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317en/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317en/)>. Acesso em: julho de 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Traditional medicine strategy: 2014-2023**. Disponível em: <[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/92455/1/9789241506090\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/92455/1/9789241506090_eng.pdf?ua=1)>. Acesso em: janeiro de 2017.

PORTAL BRASIL. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2015/04/hipertensao-atinge-mais-de-30-milhoes-de-pessoas-no-pais>>. Acesso em: julho de 2016.

RAJENDRAN, R.; KRISHNAKUMAR, E. Hypolipidemic activity of chloroform extract of *Mimosa pudica* leaves. **Avicenna Journal of Medical Biotechnology**, v. 2, n. 4, p. 215–221, 2010.

PRISTA, L. N.; ALVES, C. A.; MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**. 5. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995. v. 5.

RAKOTOMALALA, G. et al. Extract from *Mimosa pigra* attenuates chronic experimental pulmonary hypertension. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 1, p. 106–116, 2013.

RECK, L. L.; SILVEIRO, S. P.; LEITÃO, C. B. Tratamento da hipertensão arterial no diabetes melito. **Revista Hospital das Clínicas de Porto Alegre**, v. 30, n. 4, p. 400–406, 2010.

REJÓN-ORANTES, J. C. et al. Aqueous root extracts from *Mimosa albida* Humb. & Bonpl. ex Willd display antinociceptive activity in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149, n. 2, p. 522–526, 2013.

RIBASKI, J. et al. Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) Árvore de Múltiplo uso no Brasil. **Comunicado técnico Embrapa**, 2003.

SANTOS, M. E. P. et al. Hypotensive and vasorelaxant effects induced by the ethanolic extract of the *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. (Mimosaceae) inflorescences in normotensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 120–128, 2015.

SILVA, M. J. D. et al. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos e frações orgânicas de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. (Mimosaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 2, p. 267–274, 2012.

SILVA, M. J. D. et al. Ethanolic extract of *Mimosa caesalpiniaefolia* leaves: Chemical characterization and cytotoxic effect on human breast cancer MCF-7 cell line. **South African Journal of Botany**, v. 93, p. 64–69, 2014.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. (org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 2004.

SIMON, M. F. et al. The evolutionary history of *Mimosa* (Leguminosae): Toward a phylogeny of the sensitive plants1. **American Journal of Botany**, v. 98, n. 7, p. 1201–1221,

2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO. **Brasil pode ter 80% a mais de hipertensos até 2025, diz pesquisa.** Disponível em:

<<http://www.sbh.org.br/geral/noticias.asp?id=69>>. Acesso em: maio de 2017.

TOMA, T. T. et al. Antihyperglycemic and antinociceptive activity of Fabaceae family plants – an evaluation of *Mimosa pigra* L. leaves. **Advances in Natural and Applied Sciences**, v. 6, n. 78, p. 1552–1557, 2012.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; FILHO, V. C. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química. Nova**, v. 24, n. 1, p. 147–152, 2001.

*CAPÍTULO I*

**Recentes pesquisas de produtos naturais ativos contra hipertensão arterial  
sistêmica**

**Recentes pesquisas de produtos naturais ativos contra hipertensão arterial sistêmica**

BARBOSA, S.L.F.<sup>a\*</sup>; SANTOS, D.<sup>b</sup>; GOMES, M.<sup>b</sup>; COELHO, A. G.<sup>b</sup>; MORAES, I.C.P.S.<sup>b</sup>;  
ARCANJO, D. D. R.<sup>b\*</sup>; LIMA NETO, J. S.<sup>c</sup>; CITÓ, A.M.G.L.<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-555 Teresina, PI, Brasil. \*saraleafb@hotmail.com

<sup>b</sup>Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550 Teresina, PI, Brasil

<sup>c</sup>Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550 Teresina, PI, Brasil

<sup>d</sup>Departamento de Química, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550 Teresina, PI, Brasil

**RESUMO**

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, no mundo, um em cada três adultos sofre de hipertensão arterial, fator causal de aproximadamente metade de todas as mortes por acidente vascular cerebral e problemas cardíacos. A onerária indústria farmacêutica oferece vasta opção de drogas anti-hipertensivas, boa parte destas traz consigo desagradáveis efeitos colaterais. Por outro lado, o uso de produtos naturais (tais como plantas medicinais) é uma terapêutica milenar na história da humanidade e, inclusive, também empregado no tratamento da hipertensão. Essa revisão objetivou selecionar os produtos naturais comprovadamente efetivos contra a hipertensão arterial através da busca de artigos científicos publicados de 2006 a 2016 em revistas disponíveis nas bibliotecas virtuais, como Portal Periódicos da Capes, SciELO (Scientific Electronic Library Online) e Portal Regional da BVS (Biblioteca Virtual em Saúde), extraindo deles as principais informações. A busca resultou em mais de 40 espécies que tiveram atividade anti-hipertensiva comprovada. Entre representantes das mais diversas famílias, 4 espécies pertencem à família Fabaceae. O país China se destacou apresentando 12 espécies publicadas, seguido da Índia, com 6 espécies, reflexo da valorização da medicina tradicional nos países do oriente. Todas as partes vegetais foram escolhidas nos estudos, tais como: folhas, flores, sementes, frutos e raízes. Os mecanismos mais relacionados foram: o aumento da liberação do óxido nítrico, a redução do estresse oxidativo, o bloqueio dos canais de cálcio e a inibição da enzima conversora de angiotensina. Estudo de prospecção tecnológica em busca de patentes sobre uso de plantas medicinais no tratamento ou prevenção de hipertensão nos últimos 10 anos com busca nas bases de dados INPI, EPO, LATIPAT e WIPO localizou 637 patentes, em sua grande maioria de origem Chinesa. Uma vez isentos de toxicidade, esses produtos naturais poderão ser testados em estudos clínicos e, posteriormente tornarem-se uma alternativa natural, para o tratamento da hipertensão arterial sistêmica.

**Palavras chaves:** Anti-hipertensivo, hipertensão, produtos naturais, plantas medicinais, recentes.

## 1 INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial – PA ( $PA \geq 140 \times 90$  mmHg) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010). Quando mal controlada, a HAS é o mais comum fator de risco para a morte sendo responsável por cerca de 16,5% dos óbitos anuais em todo o mundo e, de fato, a principal causa de morbidade e mortalidade associadas a doenças cardiovasculares (AL DISI et al., 2016; KUMAR, 2013)

Nos Estados Unidos, cerca de 77,9 milhões de adultos (1 a cada 3) tem pressão arterial elevada e projeções mostram que, em 2030, a prevalência de hipertensão arterial vai aumentar 7,2% sobre essa estimativa (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 2013). No Brasil, não é diferente: inquéritos populacionais em cidades brasileiras nos últimos 20 anos apontaram uma prevalência de HAS acima de 30% (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

O mecanismo pelo qual a hipertensão ocorre no homem é multifatorial, associada a um distúrbio metabólico crônico. Em alguns casos esse mecanismo é relacionado à sensibilidade ao sal. Porém, sabe-se que o óxido nítrico tem uma participação importante nesse mecanismo, uma vez que fora demonstrado que sua produção está diminuída na hipertensão arterial (RUTHERFORD, 2001). Consequente, há constrição prolongada do músculo liso que, por sua vez pode induzir mudanças estruturais com o espessamento das paredes dos vasos arteriolares, possivelmente mediada pela angiotensina, conduzindo a um aumento irreversível da resistência vascular periférica (BEEVERS; LIP; BRIEN, 2001). Essa alteração vascular pode conduzir a manifestações clínicas de doenças cardiovasculares e renais, incluindo a doença arterial coronariana, acidente vascular cerebral, arritmias, insuficiência cardíaca e demência vascular (BLACHER et al., 2016). Mais recentemente, relacionou-se o estresse oxidativo da vasculatura, resultante do desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e os mecanismos de defesa antioxidante, com a patogênese da hipertensão de forma que ele contribui para a disfunção endotelial e, consequentemente a pressão alta (MAJZUNOVA et al., 2013).

Pesquisas apontam que pequenas reduções na pressão arterial (PA) têm grande impacto na redução da morbidade e da mortalidade por doenças cardiovascular (WHELTON, 2002). Medidas farmacológicas e não-farmacológicas que protegem contra a disfunção endotelial ajudam a preservar a função cardiovascular. Fármacos inibidores da enzima

conversora de angiotensina, estatinas e alguns beta bloqueadores são exemplos de medicamentos que favorecem a produção de NO, reduzem o estresse oxidativo e melhoram a lesão endotelial (PÁEZ et al., 2013).

As plantas e ervas têm efetivamente fornecido um ponto inicial para a síntese de mais de 50% dos medicamentos atualmente utilizados. Entre estes estão inclusos fármacos que atuam sobre o sistema cardiovascular, como a efedrina (a partir de *Efedrina Sinica*), aspirina (a partir de *Salix alba*), lovastatina (de *Monascus purpureus*), reserpina (de *Rauwolfia serpentina*), por exemplo. A reserpina, que esgota neurotransmissores adrenérgicos, notavelmente, continua a ser um tratamento eficaz para a hipertensão (AL DISI et al., 2016).

Os mecanismos exatos responsáveis pelo efeito anti-hipertensivo de plantas medicinais não são totalmente compreendidos e precisam ser investigados. Vários achados sugerem que a o aumento do estresse oxidativo contribui potencialmente para a elevação do nível de pressão arterial. A atividade antioxidante é um dos efeitos biológicos mais importantes das plantas medicinais e este efeito é atribuído principalmente à presença de metabolitos secundários, especialmente compostos fenólicos. Portanto, o efeito anti-hipertensivo de plantas medicinais pode ser relacionado com a atenuação estresse oxidativo. Assim, pode-se dizer que outras plantas medicinais com efeitos antioxidantes podem ser eficazes no tratamento da hipertensão (BAHARVAND-AHMADI et al., 2016).

Esse estudo objetivou realizar uma revisão sistemática sobre pesquisas que apontem produtos naturais com atividade anti-hipertensiva nos últimos 10 anos, extraindo informações relevantes de cada artigo examinado e realizar busca de patentes nessa área depositadas durante o mesmo período.

## 2 METODOLOGIA

Trata-se de um artigo de revisão sistemática que sintetiza resultados de pesquisas sobre produtos encontrados na natureza que apresentam atividade anti-hipertensiva. Seguindo um guia proposto por Sampaio & Mancini, 2007, formulou-se a seguinte pergunta norteadora: “quais produtos naturais tiveram atividade anti-hipertensiva comprovada por publicações de artigos científicos nos últimos 10 anos?” Informações adicionais como família, forma de extração, constituintes químicos, mecanismo de ação, entre outras foram extraídas dos artigos encontrados e tabuladas. A pesquisa se deu em outubro de 2016 nas bibliotecas virtuais Portal Periódicos da Capes, SciELO (Scientific Electronic Library Online) e Portal Regional da BVS (Biblioteca Virtual em Saúde). Na busca utilizou-se os termos (*antihypertensive OR hypertension*) AND (“*natural product*” OR “*medicinal plant*”) e as ferramentas de filtro: artigos de 2006 a 2016 (últimos 10 anos), idiomas inglês, português e espanhol e, no Portal Regional BVS, também a opção texto completo disponível.

A triagem dos artigos deu-se através da leitura criteriosa dos resumos por dois pesquisadores, que avaliaram de forma independente os artigos da busca. Os critérios de aceitação utilizados foram: artigos científicos que comprovassem atividade anti-hipertensiva de um produto natural (partes de plantas, extratos de plantas ou produtos derivados de outros organismos) através de modelos de estudo. Foram considerados como critérios de exclusão os artigos de revisão de literatura, pesquisas de campo, artigos que não avaliaram atividade anti-hipertensiva do produto natural e aqueles com atividade anti-hipertensiva nula e artigos que avaliaram produtos semi-sintéticos. Os exemplares selecionados passaram por leitura integral do conteúdo.

Um estudo de prospecção tecnológica objetivou realizar uma busca de patentes, nos últimos 10 anos, para uma melhor visão do cenário atual do desenvolvimento tecnológico relacionado ao uso de plantas medicinais para prevenção ou tratamento da hipertensão. A busca ocorreu em março de 2017, através das bases de dados INPI (Instituto Nacional da Propriedade Industrial), USPTO (*United States Patent and Trademark Office*), EPO (*European Patent Office*), WIPO (*World Intellectual Property Organization*) e LATIPAT (base de patentes da Espanha e América latina), utilizando-se as palavras-chave: planta(s) medicinal(is) e erva(s) associadas às palavras hipertensão, anti-hipertensivo e atividade hipotensora para pesquisa na base de dados brasileira em português e inglês. Toda a pesquisa foi realizada utilizando-se a associação entre essas palavras. Foi realizada uma leitura

exploratória dos títulos e resumos, sendo selecionadas e analisadas integralmente aquelas que estivessem relacionadas ao propósito do estudo. Foram excluídos da busca aquelas patentes que não estavam em conformidade com o objetivo da pesquisa.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca dos termos associados *hypertension*, *natural products* e *medicinal plant* nas três bibliotecas virtuais selecionadas rendeu um total de 525 artigos científicos publicados entre os anos 2006 a 2016. Destes, 411 artigos surgiram da busca no Portal Periódicos da Capes, 8 no SciELO e 106 no Portal Regional da BVS. Porém, após a triagem aplicando os critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados 46 artigos para análise e destes foi possível identificar 44 exemplares de espécies biológicas que apresentaram atividade anti-hipertensiva. Embora a maior parte delas pertençam ao reino Plantae, houve a incidência de um exemplar do reino Fungi e um do reino Protista (Quadro 1).

Foram encontradas espécies das mais diferentes famílias, destacando-se a família Fabaceae, que contém 4 das espécies catalogadas, indicando que outros membros dessa família merecem ser estudados em busca de efeitos similares.

O quadro 1 relaciona as principais espécies do gênero *Mimosa* com as atividades biológicas e as respectivas referências onde foram relatadas.

**Quadro 1.** Publicações de espécies com atividade anti-hipertensivas nas bibliotecas virtuais Periódicos CAPES, SciELO e Portal BVS entre os anos 2006 a 2016.

Espécies	Família	Autor, ano	País do estudo
<i>Agelanthus dodoneifolius</i> (DC.)	Loranthaceae	Carre et al., 2015	França
<i>Allium sativum</i> (L.)	Amaryllidaceae	Asdaq & Inamdar, 2010	Índia
<i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) e <i>Alpinia purpurata</i> (Vieill)	Zingiberaceae	Victório et al., 2009	Brasil
<i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm) Benth	Apiaceae	Cao et al., 2013	China
<i>Apium graveolens</i> (L.)	Apiaceae	Zhu et al., 2015	China
<i>Arbutus andrachne</i> (L.)	Ericaceae	Abidi et al., 2016	Líbano
<i>Boerhaavia diffusa</i> (BD)	Nyctaginaceae	Verma et al., 2012	Índia
<i>Cassia tora</i> (L.)	Fabaceae	Hyun et al., 2009	Coreia
<i>Cleistanthus collinus</i> (Roxb)	Euphorbiaceae	Vijayakumar et al., 2014	Índia
<i>Cordyceps sinensis</i> *	Ophiocordycipitaceae	Xiang et al., 2016	China
<i>Coriandrum sativum</i> (L.)	Umbelliferae	Jabeen et al., 2009	Paquistão
<i>Croton schiedeanus</i> (Schltd)	Euphorbiaceae	Páez, 2013	Colômbia
<i>Dendranthema indicum</i> (L.)	Compositae	Qiaoshan et al., 2014	China
<i>Dicksonia sellowiana</i> (HEDS)	Dicksoniaceae	Rattmann et al., 2012v	França
<i>Dioscorea opposita</i> (Thunb)	Dioscoreaceae	Amat et al., 2014	China

(\*) Espécie de fungo.

Quadro 1. Continuação.

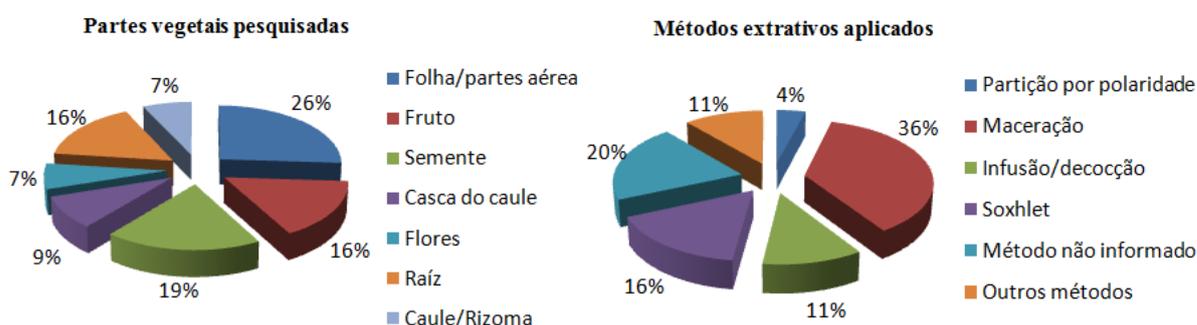
<b>Espécie</b>	<b>Família</b>	<b>Autor, ano</b>	<b>País do estudo</b>
<i>Cucurbita pepo</i> (L.)	Cucurbitaceae	El-Mosallamy et al., 2012	Egito
<i>Eclipta alba</i> (EA)	Asteraceae	Verma et al., 2012	Índia
<i>Eucommia ulmoides</i> (Oliv)	Eucommiaceae	Qu et al., 2015	China
<i>Gardenia jasminoides</i> (Ellis)	Rubiaceae	Higashino et al., 2014	Japão
<i>Glycine Max</i> (L.)	Fabaceae	Liu et al., 2016	China
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (L.)	Malvaceae	Sarr et al., 2009	Senegal
<i>Lippia origanoides</i> (H.B.K)	Verbenaceae	Coelho et al., 2015	Brasil
<i>Lithocarpus polystachys</i> (Rehd.)	Fagaceae	Hou et al., 2012	China
<i>Lycopersicon esculentum</i> (Mill.)	Solanaceae	Paran et al., 2009 Armoza et al., 2013	Israel Israel
<i>Lonchocarpus xuul</i> (Lundell)	Fabaceae	Avila-Villarreal et al., 2013	México
<i>Mesona procumbens</i> (Hemsl)	Lamiaceae	Yeh et al., 2009	Taiwan
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Benth.)	Mimosaceae	Santos et al., 2015	Brasil
<i>Morinda citrifolia</i> (Linn)	Rubiaceae	Gilani et al., 2010	Paquistão
<i>Musa sapientum</i> (L.)	Musaceae	Bai et al., 2012	China
<i>Onopordon acanthium</i> (L.)	Asteracea	Sharifi et al., 2013	Iran
<i>Orthosiphon stamineus</i> (Benth.)	Lamiaceae	Trimarco et al., 2012 Manshor et al., 2013	Itália Malásia
<i>Phaseolus vulgaris</i> (L.)	Fabaceae	Limón et al., 2015)	Espanha
<i>Piper nigrum</i> Linn	Piperaceae	Brahmanaidu et al., 2014	Índia
<i>Salvia miltiorrhiza</i> (Bunge)	Labiatae	Leung & Man, 2010	China
<i>Sceletium tortuosum</i> (L.)	Aizoaceae	Swart & Smith, 2016	África do Sul
<i>Spirulina máxima</i> (Setchell & Gardner) **	Oscillatoraceae	Torres-Duran et al., 2007	México
<i>Terminalia superba</i> (Engl. & Diels)	Combretaceae	Tom et al., 2011)	Camarões
<i>Taxus chinensis var. mairei</i> (Lemée & H. Lév.)	Taxaceae	Yang et al., 2012	China
<i>Ulmus wallichiana</i> (Planch)	Ulmaceae	Syed et al., 2016	Índia
<i>Vaccinium virgatum</i> (Aiton) e <i>Vaccinium corymbosum</i> (L.)	Ericaceae	Johnson et al., 2015	Estados Unidos
<i>Vitex cienkowskii</i> (Kotschy & Peyritsch)	Verbenaceae	Dongmo et al., 2014b	Camarões
<i>Zea mays</i> (L.)	Poaceae	Wang et al., 2015	China

(\*\*) Espécie de alga

No tocante ao país de origem dos estudos, China foi o país que mais se destacou na busca, apresentando resultados de pesquisas que comprovaram a atividade anti-hipertensiva de 12 produtos naturais. A Índia também se destacou com 6 espécies estudadas.

A medicina tradicional compreende abordagens que usam fitoterápicos e outras substâncias naturais, por exemplo ayurveda (medicina tradicional indiana) e medicina tradicional chinesa (THIRTHALLI et al., 2016). A ayurveda e a medicina tradicional chinesa pertencem às mais antigas tradições ainda vivas e, mediante seus feitos, tem despertado maior interesse global. O aumento dos efeitos colaterais, a falta de tratamento curativo para várias doenças crônicas, o alto custo de novos medicamentos, a resistência microbiana e as doenças emergentes são algumas razões para o interesse público renovado em medicamentos complementares e alternativos (PATWARDHAN et al., 2005).

**Figura 1.** Percentuais de escolha das principais partes vegetais e métodos extrativos empregados nas pesquisas científicas de produtos naturais com atividade anti-hipertensiva nos artigos publicados de nas bibliotecas virtuais Portal BVS, Periódicos CAPES e SciELO no período de 2006-2016.



Folha ou partes aéreas, semente, fruto e raiz foram as partes vegetais mais utilizadas nos testes para obtenção de produtos anti-hipertensivos (Quadro 2; Figura 1). No desenho experimental da pesquisa de plantas medicinais, na etapa que determina o estudo fitoquímico, escolhe-se a parte da planta que será investigada (raiz, cascas do caule, caule, galhos, folhas, flores, frutos) e a quantidade de material que será coletado. Esses estudos costumam ser etnodirigidos. Portanto, num projeto que interligue a fitoquímica com a farmacologia deve-se escolher para coleta a parte da planta que é utilizada na medicina popular (MACIEL et al., 2002).

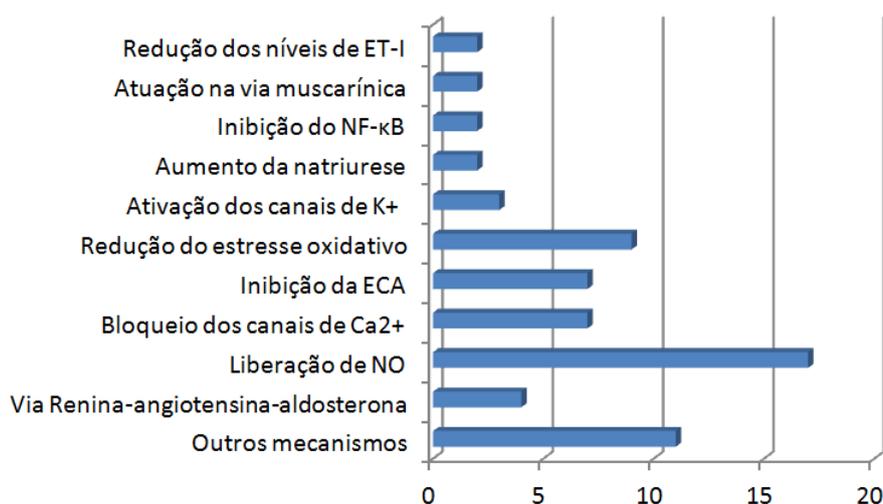
Várias condições são utilizadas para extrair o material vegetal. Um dos métodos mais importantes é a preparação do material vegetal análogo ao método de preparação pelas comunidades, para validar seu uso. Isto inclui a preparação de extrações à base de água, tais como decoções ou infusões (BROUWER et al., 2005). Maceração foi a técnica extrativa de

maior escolha nos artigos revisados, seguida de extração por aparelho *Soxhlet* e infusão/decoção. Outras técnicas como percolação e extração por fluido supercrítico ocorreram em menor frequência.

Classes de biomoléculas que incluem alcalóides, terpenos, cumarinas, flavonóides, peptídios, entre outras foram relatadas nas análises fitoquímicas (Quadro 2). Classes de moléculas fitoquímicas que são largamente relacionadas com propriedades anti-hipertensivas. Os alcalóides, como reserpina e alstonina, reduzem a disponibilidade de norepinefrina e, portanto, atuam como vasodilatadores. Os flavonóides, como quercetina e rutina, são principalmente ativos no miocárdio e reduzem o débito cardíaco. O ácido linoléico inibe os depósitos geradores de aterosclerose de colesterol e triglicerídeos (KIMBERLY et al., 2014). Os compostos fenólicos são antioxidantes responsável pela eliminação de radicais livres, capazes de minimizar os efeitos prejudiciais de EROs e considerados potenciais na prevenção de doenças cardiovasculares (VICTÓRIO et al., 2009).

Diversos mecanismos de ação foram propostos para o efeito anti-hipertensivo das espécimes avaliadas, os mais frequentemente relacionados foram o aumento da liberação do óxido nítrico (NO), a redução do estresse oxidativo, a inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA) e o bloqueio dos canais de cálcio (Figura 2).

**Figura 2.** Distribuição dos mecanismos anti-hipertensivos elucidados nas pesquisas científicas de produtos naturais com atividade anti-hipertensiva publicadas nas bibliotecas virtuais Portal BVS, Periódicos CAPES e SciELO no período de 2006-2016.



Outros mecanismos envolvidos foram a modulação da via renina-angiotensina-aldosterona, ativação dos canais de potássio, aumento da natriurese, inibição do fator de transcrição nuclear kappa (NF-κB), modulação da via muscarínica, redução dos níveis de

Endotelina-I (ET-I), modulação via ácido gama-aminoburílico (GABA), prevenção da fibrose renal, bloqueio dos receptores  $\alpha$ 1-adrenérgicos.

Como um importante indicador da saúde vascular, o NO desempenha um papel relevante na regulação da pressão arterial devido à sua potência vasodilatadora, bem como a sua capacidade de inibir a agregação de plaquetas e proliferação de células musculares lisas vasculares (VSMCs). O NO é produzido a partir de L-arginina pela NO sintase (NOS) tal como NOS endotelial (eNOS). Após a sua libertação, o NO transloca-se pelas VSMCs e ativa a guanilato ciclase solúvel (sGC), que então catalisa a conversão e ciclização do trifosfato de guanosina (GTP) em cGMP. O cGMP, por sua vez, liga-se então a proteinase quinases dependentes de GMP que modulam os níveis de cálcio e a consequente contração das VSMCs (AL DISI et al., 2016).

O sistema renina angiotensina pode ser o mais importante dos sistemas endócrinos que afetam o controle da pressão arterial. A renina é responsável pela conversão do substrato de renina (angiotensinogênio) à angiotensina I, uma substância fisiologicamente inativa que é rapidamente convertida em angiotensina II nos pulmões pela enzima de conversão da angiotensina (ECA). A hipertensão mediada por angiotensina II ocorre por promoção da retenção de sódio e água, bem como pelo aumento da vasoconstrição por ligação ao receptor de angiotensina tipo 1 (AT-1). Ang II induz a produção de aldosterona e crescimento de células musculares cardíacas (AL DISI et al., 2016; BEEVERS et al., 2001). Fármacos inibidores da ECA são prescritos para pacientes hipertensos em todo o mundo. As drogas químicas sintetizadas tais como Captopril, Enalapril e Lisinopril são bastante usadas no tratamento e na prevenção da hipertensão (BAI et al., 2015).

Dentre os possíveis modelos de estudos, as pesquisas utilizaram ensaios *in vivo*, *ex-vivo*, *in vitro*, *in silico* e, inclusive, estudos clínicos (em seres humanos) (Quadro 2).

**Quadro 2.** Constituintes químicos relacionados ao efeito anti-hipertensivo das espécies, mecanismos de ação, modelo de estudo utilizados e outras informações relevantes nas publicações de 2006-2016.

<b>Espécie</b>	<b>Parte utilizada</b>	<b>Técnica de extração/obtenção</b>	<b>Constituintes químicos/ Classificação</b>	<b>Mecanismos de ação</b>	<b>Modelo de estudo</b>	<b>Referência</b>
<i>Agelanthus dodoneifolius</i>	Não informada	Partição em solventes de polaridade crescente. Uma fração do extrato etanólico obtida por cromatografia em coluna isolou a Dodoneína.	Dodoneína (lactona)	Bloqueio dos canais de cálcio tipo-L e inibição da anidrase carbônica em células do músculo liso	Ensaio <i>ex vivo</i> por vasodilatação em anéis de aorta de rato; Ensaio <i>in vitro</i> por cultura de células de músculo liso vascular e determinação de RNA mensageiro da isozima A da anidrase carbônica em células musculares lisas.	Carre et al., 2015
<i>Allium sativum</i>	Rizoma	Maceração seguida de isolamento de fração por coluna cromatográfica.	S-alil cisteína	Inibição da enzima conversora da angiotensina	Ensaio <i>in vivo</i> com ratos com hipertensão induzida por frutose	Asdaq; Inamdar, 2010
<i>Alpinia zerumbet</i>	Folhas	Infusão ou decocção	Rutina e campferol-3-O-β-D-glicuronídeo (flavonoides)	Estimula a via do NO/cGMP	Ensaio <i>ex vivo</i> por isolamento da artéria mesentérica superior de ratos	Victório et al., 2009
<i>Angelica dahurica</i>	Raiz	Extração por fluido supercrítico seguida de isolamento de substância por cromatografia líquida de alta performance) e cromatografia em camada delgada.	Imperatorina	Redução do estresse oxidativo e prevenção da injúria renal relacionada à hipertensão.	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos com hipertensão renovascular e ensaios <i>ex-vivo</i> que avaliam o estado redox celular.	Cao et al., 2013
<i>Apium graveolens</i>	Sementes	Substância isolada. Técnica de extração e isolamento não informados.	3- <i>n</i> -butiltalideo	Redução da fibrose renal; redução do estresse oxidativo; diminuição dos níveis de TNF-α, IL-6 e de NF-κB.	Ensaio <i>in vivo</i> com ratos espontaneamente hipertensos.	Zhu; Zhang; Yang, 2015

Quadro 2. Continuação.

<b>Espécie</b>	<b>Parte utilizada</b>	<b>Técnica de extração/obtenção</b>	<b>Constituintes químicos/ Classificação</b>	<b>Mecanismos de ação</b>	<b>Modelo de estudo</b>	<b>Referência</b>
<i>Arbutus andrachne</i>	Raíz, folha e fruto	Extração por aparelho <i>Soxhlet</i> , utilizando solventes de polaridade crescente, para isolar a fração metanólica.	Fenóis, flavonóides, taninos e antocianinas.	Redução do estresse oxidativo.	Ensaio <i>ex-vivo</i> por vasodilatação em anéis de aorta de rato com endotélio intacto; ensaios <i>ex-vivo</i> que avaliam o estado redox celular.	Abidi et al., 2016
<i>Boerhaavia diffusa</i>	Raíz	Extração por aparelho <i>Soxhlet</i>	Culubin (diterpenóide)	Bloqueio dos canais de cálcio	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos com hipertensão causada por obesidade induzida através de dieta rica em lipídios.	Verma et al., 2012
<i>Cassia tora</i>	Semente	Extração por aparelho <i>Soxhlet</i> , seguida de isolamento de fração por coluna cromatográfica.	Crisofanol, Aurantioobtusina, alaternina e chrisoobtusina (Antraquinonas)	Inibição da enzima conversora da angiotensina	Ensaio <i>in vitro</i> .	Hyun et al., 2009
<i>Cleistanthus collinus</i>	Folha	Maceração seguida de isolamento de fração por coluna cromatográfica	Clestantina A e B (glicósídeos).	Inibição da enzima conversora da angiotensina	Interação molecular <i>in silico</i> .	Vijayakumar et al., 2014
<i>Cordyceps sinensis*</i>	Não possui tecidos verdadeiro	Maceração seguida de isolamento de fração por coluna cromatográfica	Manose, glicose e galactose (fração polissacarídica)	Aumenta os níveis de NO, diminui o nível de endotelina-1, epinefrina, noradrenalina e angiotensina II e TGF- $\beta$ 1 (fator de transformação de crescimento beta1)	Ensaio <i>in vivo</i> com ratos espontaneamente hipertensos	Xiang et al., 2016

(\*) Espécie de fungo

Quadro 2. Continuação.

Espécie	Parte utilizada	Técnica de extração/obtenção	Constituintes químicos/ Classificação	Mecanismos de ação	Modelo de estudo	Referência
<i>Coriandrum sativum</i>	Fruto	Maceração seguida de isolamento de fração por partição líquido-líquido.	Cânfora, canfeno, carvona, cineol, cimeno, coriandrina, limoneno, ácido linoleico, mirceno, ácido mirístico, ácido oleico, ácido palmítico, $\alpha$ -fenilandreno, $\beta$ -fenilandreno, $\alpha$ -terpineno, entre outros.	Bloqueio de canais de cálcio, interação com os receptores muscarínicos e efeito diurético.	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos normotensos e ensaios <i>ex-vivo</i> em preparações de tecidos isolados.	Jabeen et al., 2009
<i>Croton schiedeanus</i>	Partes aéreas (caule e folhas)	Infusão	Flavonoides, diterpenoides e fenilbutanoides	Estimula a via do NO/cGMP.	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos com hipertensão por inibição crônica do óxido nítrico e ensaio <i>ex-vivo</i> em preparações de tecidos isolados.	Páez et al., 2013
<i>Cucurbita pepo</i>	Semente	Técnica de extração não informada	Cucurbitacinas (triterpenos); luteína, caroteno e b-caroteno(carotenóides); ácidos linoleico e oleico insaturados	Aumenta os níveis de NO.	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos com hipertensão por inibição crônica do óxido nítrico e ensaios <i>in vitro</i>	El-Mosallamy et al., 2012
<i>Dendranthema indicum</i>	Flor	Decocção seguida de isolamento de substância por cromatografia líquida de alta performance	Linarina	Modula o sistema Renina-angiotensina.	Ensaio <i>in vivo</i> com ratos espontaneamente hipertensos	Qiaoshan et al., 2014
<i>Dicksonia sellowiana</i>	Folha	Extração por aparelho Soxhlet.	Polifenóis	Redução do estresse oxidativo, ativação da via PI3K/Akt/eNOS	Ensaio <i>ex-vivo</i> em tecidos isolados; ensaio <i>in vitro</i> em cultura de células endoteliais de porcos; ensaios <i>in vivo</i> com ratos espontaneamente hipertensos.	Rattmann et al., 2012

Quadro 2. Continuação.

Espécie	Parte utilizada	Técnica de extração/obtenção	Constituintes químicos/ Classificação	Mecanismos de ação	Modelo de estudo	Referência
<i>Dioscorea opposita</i>	Rizoma	Técnica de extração não informada.	Saponinas, amido, mucopolissacáridos, proteína, Aminoácidos, mucilagem, polifenóis	Inibição da enzima conversora da angiotensina II, inibição da Endotelina-1 e redução do estresse oxidativo	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos com hipertensão renovascular e ensaios <i>ex-vivo</i> que avaliam o estado redox celular.	Amat et al., 2014
<i>Eclipta alba</i>	Partes aéreas	Extração por aparelho Soxhlet	Culumbin (diterpenóide)	Diurese por aumento na excreção de sódio	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos com hipertensão causada por obesidade induzida através de dieta rica em lipídios.	Verma et al., 2012
<i>Eucommia ulmoides</i>	Casca do caule	Técnica de extração não informada. Isolamento por cromatografia de fluidos supercríticos	Wogonina (Flavonoide)	Inibição da liberação intracelular de $Ca^{2+}$ e do influxo extracelular de $Ca^{2+}$	Ensaio <i>ex-vivo</i> em preparações de tecidos isolados.	Yeh; Huang; Yen, 2009
<i>Gardenia jasminoides</i>	Fruto	Maceração	Crocetina (Carotenoide)	Aumenta os níveis de NO pela eNOS e pela iNOS (NO-sintase indutível)	Ensaio <i>in vivo</i> com ratos espontaneamente hipertensos, ensaio <i>ex vivo</i> por vasodilatação em anéis de aorta de rato com endotélio intacto e ensaios <i>in vitro</i> .	Higashino et al., 2014
<i>Glycine Max</i>	Semente	Técnica de extração não informada. Obtido do metabolismo de isoflavonas por bactérias intestinais.	Equol (Flavonoide)	Diurese por aumento na excreção de sódio e aumenta a transcrição da enzima eNOS	Estudo duplo-cego randomizado, placebo-controlado em seres humanos.	Liu et al., 2016
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Flor	Maceração seguida de isolamento de fração por coluna cromatográfica	Antocianinas	Aumento do NO por ativação da via PI3K/Akt/eNOS e ativação dos canais de potássio.	Ensaio <i>ex-vivo</i> em ratos em preparações de tecidos isolados.	Sarr et al., 2009

Quadro 2. Continuação.

<b>Espécie</b>	<b>Parte utilizada</b>	<b>Técnica de extração/obtenção</b>	<b>Constituintes químicos/ Classificação</b>	<b>Mecanismos de ação</b>	<b>Modelo de estudo</b>	<b>Referência</b>
<i>Lippia origanoides</i>	Partes aéreas	Maceração	Naringenina e pinocembrina (Flavonóides) e quercetina e luteolina (flavonas)	Ativação de canais de potássio ativados por cálcio e aumento de cAMP o e cGMP citosólico.	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos com hipertensão por inibição crônica do óxido nítrico	Coelho et al., 2015
<i>Lithocarpus polystachys</i>	Folha	Extração por aparelho Soxhlet. Isolamento de fração rica em flavonoides por coluna cromatográfica	florizina, a fluoretina, a quercetina, a dihidrochalcona-20-b-D-glucopiranosídeo, a luteolina e a quercetina (Flavonoides)	Modulação do sistema renina-angiotensina-aldosterona e Redução do estresse oxidativo	Ensaio <i>in vivo</i> com ratos espontaneamente hipertensos e ratos normotensos; ensaios <i>in vitro</i>	Hou et al., 2012
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Fruto	Técnica de extração não informada.	$\alpha$ -tocoferol e os carotenóides: Licopeno, $\beta$ -caroteno, Fitoeno e fitoflueno	Atenua a sinalização inflamatória por inibição do fator de transcrição NF-kB em células endoteliais	Estudo duplo-cego randomizado, placebo-controlado em seres humanos; ensaio <i>in vitro</i> em cultura de células endoteliais humanas.	Armoza et al., 2013
<i>Lonchocarpus xuul</i>	Raiz	Maceração	Di-hidrospinochalcona-A e isocordoina	Ativação dos canais de potássio e ativação da via NO/sCG/PKG	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos espontaneamente hipertensos; ensaio <i>ex-vivo</i> em preparações de tecidos isolados; interação molecular <i>in silico</i> .	Avila-Villarreal et Al., 2013
<i>Mesona procumbens</i>	Folha	Decocção	Ácido caféico (polifenol)	Reduz o estresse oxidativo	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos espontaneamente hipertensos e ensaio <i>ex-vivo</i> que avaliam o estado redox celular.	Yeh; Huang; Yen, 2009

Quadro 2. Continuação.

Espécie	Parte utilizada	Técnica de extração/obtenção	Constituintes químicos/ Classificação	Mecanismos de ação	Modelo de estudo	Referência
<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	Inflorescências	Maceração	Ácido gálico, rutina, quercetina, vicenina (Flavonóides)	Ativação das vias muscarínicas e ganglionares e bloqueio do influxo de cálcio transmembrana.	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos normotensos; ensaio <i>ex-vivo</i> em preparações de tecidos isolados.	Santos et al., 2015
<i>Morinda citrifolia</i>	Raiz	Infusão	Alcalóides, compostos fenólicos, esteróis, flavonóides, Taninos, cumarinas e antraquinonas.	Bloqueio de canais de cálcio e liberação de cálcio intracelular	Ensaio <i>ex-vivo</i> em ratos em preparações de tecidos isolados de ratos.	Gilani et al., 2010
<i>Musa sapientum</i>	Casca do fruto	Técnica de extração não informada. Isolamento por cromatografia em fluido supercrítico	(±)-7,8-Dihidroxi-3-metil-isocromanona-4 (Polifenol)	Redução do estresse oxidativo, aumento do NO por ativação da via PI3K/Akt/eNOS	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos espontaneamente hipertensos.	Bai et al., 2012
<i>Onopordon acanthium</i>	Sementes	Maceração seguida de isolamento de fração por coluna cromatográfica	(E) -1-oxo-3,4-dihidro-1 H-isocromen-7-il3-(3,4-dihidroxifenil) acrilato	Inibição da enzima conversora da angiotensina	Interação molecular <i>in silico</i> ensaios <i>in vitro</i> .	Sharifi et al., 2013
<i>Orthosiphon stamineus</i>	Folhas	Maceração e extração a quente em sistema fechado e sob refluxo do solvente. (por aparelho Soxhlet).	Não informado	Modulação dos receptores $\alpha_1$ -adrenérgicos e AT <sub>1</sub> e aumenta os níveis de NO	Estudo grupo-paralelo, randomizado, placebo-controlado em seres humanos; Anéis de aorta de Ratos espontaneamente hipertensos	Trimarco et al., 2012
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Semente	Maceração do produto fermentado por <i>Bacillus subtilis</i>	Catequinas, flavonóides e ácido $\gamma$ -aminobutírico (GABA)	Inibição da enzima conversora da angiotensina e modulação da pressão via GABA.	Ensaio <i>in vitro</i>	Limón et al., 2015

Quadro 2. Continuação.

Espécie	Parte utilizada	Técnica de extração/obtenção	Constituintes químicos/ Classificação	Mecanismos de ação	Modelo de estudo	Referências
<i>Piper nigrum</i>	Semente	Partição com solventes de diferentes polaridades. Isolamento através de cromatografia em coluna.	Piperina (Alcaloide)	Reduz o estresse oxidativo	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos com hipertensão causada por obesidade induzida através de dieta rica em lipídios.	Brahmanaidu et al., 2014
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Raíz	Maceração	Tanshinoato de magnésio B	Aumenta os níveis de NO	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos com hipertensão induzida por fenilefrina	Leung; Man, 2010
<i>Sceletium tortuosum</i>	Folha	Maceração	Mesembrina (Alcaloide)	Inibição da síntese de Aldosterona	Ensaio <i>in vitro</i> em cultura de células de carcinoma adrenocortical humanos	Swart; Smith, 2016
<i>Spirulina maxima</i> **	Não possui tecidos verdadeiros	Técnica de extração não informada..	Ficocianina	Aumenta a transcrição da enzima eNOS	Estudo de coorte com seres humanos	Torres-Duran et al, 2007
<i>Taxus chinensis var. mairei</i>	Folha	Equipamento de extração com CO2 supercrítico	Ácido palmítico, Octan-9-dienato de hexadecanila, Octan-3-ol	Reduz o nível de Angiotensina II e aumenta os níveis de NO	Ensaio <i>in vivo</i> com ratos com hipertensão por inibição crônica do óxido nítrico e ensaios <i>in vitro</i> .	Yang et al., 2012
<i>Terminalia superba</i>	Casca do caule	Maceração	Saponinas, glicosídeos, flavonóides e chalconas	Reduz o estresse oxidativo	Ensaio <i>in vivo</i> com ratos com hipertensão induzida por glicose (GHR); ensaios <i>ex-vivo</i> que avaliam o estado redox celular.	Tom et al., 2011

(\*\*) Espécie de alga

Quadro 2. Continuação.

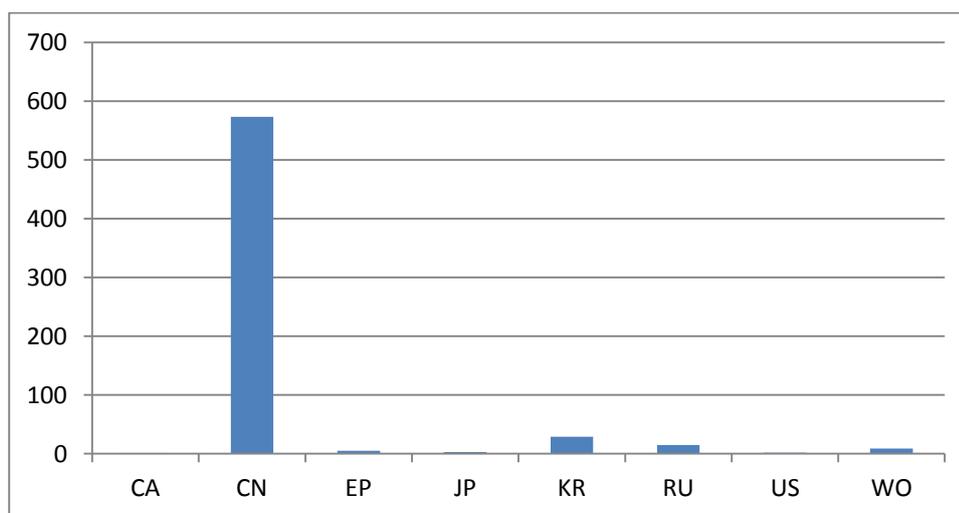
<b>Espécie</b>	<b>Parte utilizada</b>	<b>Técnica de extração/obtenção</b>	<b>Constituintes químicos/ Classificação</b>	<b>Mecanismos de ação</b>	<b>Modelo de estudo</b>	<b>Referências</b>
<i>Ulmus wallichiana</i>	Casca do caule	Percolação	Flavonóides análogos da quercetina.	Modulação do sistema renina-angiotensina-aldosterona e estimula a via do NO/cGMP.	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos espontaneamente hipertensos e ensaios, ratos com hipertensão induzida por sal e mineralocorticoides e com ratos com hipertensão por inibição crônica do óxido nítrico	Syed et al., 2016
<i>Vaccinium Virgatum e Vaccinium corymbosum</i>	Fruto	Infusão	Antocianinas e polifenóis	Estimula a via do NO/cGMP	Estudo duplo-cego randomizado, placebo-controlado em seres humanos.	Johnson et al., 2015
<i>Vitex cienkowskii</i>	Casca do caule	Maceração seguida de isolamento de substância por coluna cromatográfica	Tetra-acetil jugasterona C	Estimula a via do NO/cGMP, bloqueio do influxo de cálcio transmembrana.	Ensaio <i>ex-vivo</i> em ratos em preparações de tecidos isolados de ratos	Dongmo et al., 2014
<i>Zea mays</i>	Semente	Infusão seguida de hidrólise enzimática e isolamento por cromatografia líquida de alta performance	Peptídeo do milho	Inibição da enzima conversora da angiotensina	Ensaio <i>in vivo</i> em ratos espontaneamente hipertensos e ensaios <i>in vitro</i> .	Manshor et al., 2013

Quanto ao número de patentes depositadas por bases de dados de acordo com as palavras-chave utilizadas, observou-se que a base *WIPO* teve destaque, 636, seguida da *USPTO*, com apenas uma. Nas demais, *INPI*, *EPO* e *LATIPAT* não foi encontrado nenhuma patente para a busca sugerindo que, apesar da hipertensão ser uma das principais causas de morte em todo o mundo, segundo dados da *OMS*, e que dos medicamentos atualmente disponíveis são, em média, 25% originados a partir de plantas medicinais, não há grandes interesses por parte dos centros de pesquisas ou das indústrias em inovar em produtos e processos no referido tema (YUNES; CALIXTO, 2001).

Observou-se que o país com maior número de depósitos de patentes foi a China, com 573. Os demais países apresentaram valores bastante reduzidos quando comparados à China: República da Coreia com 29, Reino Unido com 15, Organização Mundial de Propriedade Intelectual com 9, Escritório Europeu de Patentes com 5, Japão com 3, Estados Unidos com 2 e Canadá com 1 (Figura 3).

Embora o Brasil seja um país rico em biodiversidade e desenvolva muita pesquisa com plantas medicinais, o resultado da busca nas bases de patentes sugere pouco interesse no desenvolvimento de tecnologias com potencial mercadológico relacionados à fitoterápicos anti-hipertensivos.

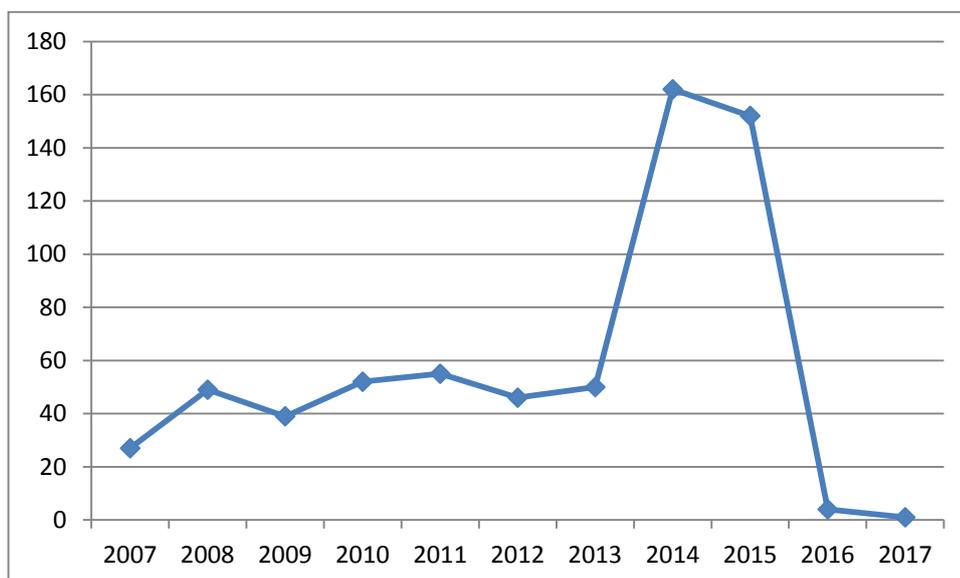
**Figura 3.** Distribuição de patentes depositadas de acordo com o país depositário nas bases *INPI* (Instituto Nacional da Propriedade Industrial), *USPTO* (*United States Patent and Trademark Office*), *EPO* (*European Patent Office*), *WIPO* (*World Intellectual Property Organization*) e *LATIPAT*.



**Legenda:** CA (Canadá), CN (China), EP (Escritório Europeu de Patentes), JP (Japão), KR (República da Coreia), RU (Reino Unido), US (Estados Unidos) e WO (Organização Mundial de Propriedade Intelectual - OMPI).

Observou-se que, com o passar dos anos, houve um crescimento no número de patentes depositadas, indicando que o interesse pelas plantas medicinais e a busca de novos ativos para o desenvolvimento de tecnologias para a prevenção e tratamento da hipertensão tem aumentado, apesar do grande declínio nos últimos 2 anos (Figura 4).

**Figura 4.** Evolução de depósito de patentes nos últimos 10 anos nas bases INPI (Instituto Nacional da Propriedade Industrial), USPTO (*United States Patent and Trademark Office*), EPO (*European Patent Office*), WIPO (*World Intellectual Property Organization*) e LATIPAT.



#### 4 CONCLUSÃO

A atividade anti-hipertensiva de produtos naturais ainda é pouco explorada, principalmente nos países ocidentais. China e Índia, entretanto, demonstraram mais resultados nessa área do que os demais países, ratificando a forte influência da medicina tradicional desses países. Folhas/partes aéreas foram a principal fração do vegetal com potencial explorado e a técnica de maceração, a mais utilizada na obtenção do extrato, sobretudo devido a sua simplicidade e eficiência. A Família *Fabaceae* foi a mais citada, o que indica que mais espécies vegetais pertencentes a esta família devem ser estudadas quanto ao potencial anti-hipertensivo. O maior número de patentes relacionadas a ervas anti-hipertensivas encontra-se depositado no WIPO. A China é o país que mais investe em pesquisa com desenvolvimento tecnológico de produtos a partir de plantas medicinais para o tratamento e prevenção da hipertensão. Os resultados deste estudo apresentam subsídios teóricos para futuras pesquisas em plantas medicinais e discussões no ramo da pesquisa científica e na Saúde Pública sobre o uso de produtos naturais, como um coadjuvante no tratamento da hipertensão arterial sistêmica.

## 5 REFERÊNCIAS

- ABIDI, E. et al. Effects of methanol extracts from roots, leaves, and fruits of the Lebanese strawberry tree (*Arbutus andrachne*) on cardiac function together with their antioxidant activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 6, p. 1035–1041, 2016.
- AL DISI, S. S.; ANWAR, M. A.; EID, A. H. Anti-hypertensive Herbs and their Mechanisms of Action : Part I. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, n. January, p. 1–24, 2016.
- AMAT, N. et al. Aqueous extract of dioscorea opposita thunb. normalizes the hypertension in 2K1C hypertensive rats. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, p. 36, 2014.
- ARMOZA, A. et al. Tomato extract and the carotenoids lycopene and lutein improve endothelial function and attenuate inflammatory NF- $\kappa$ B signaling in endothelial cells. **Journal of hypertension**, v. 31, n. 3, p. 521–9; discussion 529, 2013.
- ASDAQ, S. M.; INAMDAR, M. N. Potential of garlic and its active constituent, S-allyl cysteine, as antihypertensive and cardioprotective in presence of captopril. **Phytomedicine**, v. 17, n. 13, p. 1016–1026, 2010.
- AVILA-VILLARREAL, G. et al. Antihypertensive and vasorelaxant effects of dihydrospinochalcone-A isolated from *Lonchocarpus xuul* Lundell by NO production: Computational and ex vivo approaches. **Phytomedicine**, v. 20, n. 14, p. 1241–1246, 2013.
- BAHARVAND-AHMADI, B. et al. An ethnobotanical study of medicinal plants administered for the treatment of hypertension. **Journal of Renal Injury Prevention**, v. 5, n. 3, p. 123–128, 2016.
- BAI, R. et al. Chiral separation, configurational identification and antihypertensive evaluation of ( $\pm$ )-7,8-dihydroxy-3-methyl-isochromanone-4. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**
- BAI, R. R.; WU, X. M.; XU, J. Y. Current natural products with antihypertensive activity. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 13, n. 10, p. 721–729, 2015.
- BEEVERS, G.; LIP, G. Y. H.; BRIEN, E. O. ABC of hypertension - The pathophysiology of hypertension. **BMJ**, v. 322, n. April, p. 912–916, 2001.
- BLACHER, J. et al. From epidemiological transition to modern cardiovascular epidemiology : hypertension in the 21st century. **The Lancet**, v. 388, n. 10043, p. 530–532, 2016.
- BRAHMANAIDU, P. et al. Mitigating efficacy of piperine in the physiological derangements of high fat diet induced obesity in Sprague Dawley rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 221, p. 42–51, 2014.
- BROUWER, N. et al. An ethnopharmacological study of medicinal plants in New South Wales. **Molecules**, v. 10, n. 10, p. 1252–62, 2005.
- CAO, Y. J. et al. Effects of imperatorin, the active component from *Radix Angelicae*

- (Baizhi), on the blood pressure and oxidative stress in 2K,1C hypertensive rats. **Phytomedicine**, v. 20, n. 12, p. 1048–1054, 2013.
- CARRE, G. et al. Vasorelaxation induced by dodoneine is mediated by calcium channels blockade and carbonic anhydrase inhibition on vascular smooth muscle cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 169, p. 8–17, 2015.
- COELHO, A. G. et al. Optimization and standardization of extraction method from *Lippia origanoides* H.B.K.: Focus on potential anti-hypertensive applications. **Industrial Crops and Products**, v. 78, p. 124–130, 2015.
- DONGMO, A. B. et al. Tetra-acetylajugasterone a new constituent of *Vitex cienkowskii* with vasorelaxant activity. **Phytomedicine**, v. 21, n. 6, p. 787–792, 2014.
- EL-MOSALLAMY, A. E. et al. Antihypertensive and cardioprotective effects of pumpkin seed oil. **J Med Food**, v. 15, n. 2, p. 180–189, 2012.
- GILANI, A. H. et al. Antispasmodic and vasodilator activities of *Morinda citrifolia* root extract are mediated through blockade of voltage dependent calcium channels. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 10, n. 1, p. 2, 2010.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION . **On behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2013 update: a report from the American Heart Association.** [s.l: s.n.].
- HIGASHINO, S. et al. Crocetin, a carotenoid from *Gardenia jasminoides* Ellis, protects against hypertension and cerebral thrombogenesis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Phytotherapy Research**, v. 28, n. 9, p. 1315–1319, 2014.
- HOU, S. Z. et al. Effect of the flavonoid fraction of *Lithocarpus polystachyus* Rehd. on spontaneously hypertensive and normotensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 441–447, 2012.
- HYUN, S. K. et al. Inhibitory Activities of *Cassia tora* and its Anthraquinone Constituents on Angiotensin- Converting Enzyme. **Phytother. Res.**, v. 23, p. 178–184, 2009.
- JABEEN, Q. et al. Coriander fruit exhibits gut modulatory, blood pressure lowering and diuretic activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, n. 1, p. 123–130, 2009.
- JOHNSON, S. A. et al. Daily Blueberry Consumption Improves Blood Pressure and Arterial Stiffness in Postmenopausal Women with Pre- and Stage 1-Hypertension: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 115, n. 3, p. 369–377, 2015.
- KIMBERLY A . BROWNLEY, B. E. . H.; SCHNEIDERMAN, N. Ethnic Variations in the Pharmacological and Nonpharmacological Treatment of Hypertension : Biopsychosocial Perspective. **Human Biology**, v. 71, n. 4, p. 607–639, 2014.
- KUMAR, J. Epidemiology of hypertension. **Clinical Queries Nephrology**, v. 2, n. 2, p. 56–61, 2013.
- LEUNG, S.; MAN, K. Effects of the Aqueous Extract of *Salvia Miltiorrhiza* ( Danshen ) and its Magnesium Tanshinoate B-enriched Form on Blood Pressure. **Phytotherapy**

**Research**, v. 24, n. 5, p. 769–774, 2010.

LIMÓN, R. I. et al. Fermentation enhances the content of bioactive compounds in kidney bean extracts. **Food Chemistry**, v. 172, p. 343–352, 2015.

LIU, Z. M. et al. Research protocol: effect of natural S-equol on blood pressure and vascular function- a six-month randomized controlled trial among equol non-producers of postmenopausal women with prehypertension or untreated stage 1 hypertension. **BMC Complement Altern Med**, v. 16, n. 1, p. 89, 2016.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; JR, V. F. V. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, v. 25, n. 3, p. 429–438, 2002.

MAJZUNOVA, M. et al. Redox signaling in pathophysiology of hypertension. **Journal of Biomedical Science**, v. 20, n. 69, p. 1–10, 2013.

MANSHOR, N. M. et al. Vascular reactivity concerning orthosiphon stamineus benth-mediated antihypertensive in aortic rings of spontaneously hypertensive rats. **International Journal of Vascular Medicine**, v. 2013, n. Article ID 456852, p. 8 pages, 2013.

PÁEZ, M. T. et al. Croton schiedeanus Schltd prevents experimental hypertension in rats induced by nitric oxide deficit. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 4, p. 865–871, 2013.

PARAN, E. et al. The effects of natural antioxidants from tomato extract in treated but uncontrolled hypertensive patients. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, v. 23, n. 2, p. 145–151, 2009.

PATWARDHAN, B. et al. Ayurveda and traditional Chinese medicine: A comparative overview. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, n. 4, p. 465–473, 2005.

QIAOSHAN, Y. et al. Preparative purification of linarin extracts from dendranthema indicum flowers and evaluation of its antihypertensive effect. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 7 páginas, 2014.

QU, J. et al. Vasodilatory Effect of Wogonin on the Rat Aorta and Its Mechanism Study. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 38, n. 12, p. 1873–1878, 2015.

RATTMANN, Y. D. et al. Natural product extract of dicksonia sellowiana induces endothelium-dependent relaxations by a redox-sensitive Src-and akt-dependent activation of eNOS in porcine coronary arteries. **Journal of Vascular Research**, v. 49, n. 4, p. 284–298, 2012.

SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M. C. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 11, n. 1, p. 83–89, 2007.

SANTOS, M. E. P. et al. Hypotensive and vasorelaxant effects induced by the ethanolic extract of the Mimosa caesalpinifolia Benth. (Mimosaceae) inflorescences in normotensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 120–128, 2015.

SARR, M. et al. In vitro vasorelaxation mechanisms of bioactive compounds extracted

from *Hibiscus sabdariffa* on rat thoracic aorta. **Nutrition & metabolism**, v. 6, p. 45, 2009.

SHARIFI, N. et al. Isolation, identification and molecular docking studies of a new isolated compound, from *Onopordon acanthium*: A novel Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitor. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 3, p. 934–939, 2013.

SWART, A. C.; SMITH, C. Modulation of glucocorticoid, mineralocorticoid and androgen production in H295 cells by Trimesemine, a mesembrine-rich *Sceletium* extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 177, p. 35–45, 2016.

SYED, A. A. et al. Evaluation of anti-hypertensive activity of *Ulmus wallichiana* extract and fraction in SHR, DOCA-salt- and l-NAME-induced hypertensive rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 193, n. October, p. 555–565, 2016.

THIRTHALLI, J. et al. Traditional, complementary, and alternative medicine approaches to mental health care and psychological wellbeing in India and China. **The Lancet Psychiatry**, v. 366, n. 16, p. 1–13, 2016.

TOM, E. N. L. et al. The aqueous extract of *Terminalia superba* (Combretaceae) prevents glucose-induced hypertension in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 828–833, 2011.

TORRES-DURAN, P. V; FERREIRA-HERMOSILLO, A.; JUAREZ-OROPEZA, M. A. Antihyperlipemic and antihypertensive effects of *Spirulina maxima* in an open sample of Mexican population: a preliminary report. **Lipids in health and disease**, v. 6, p. 33, 2007.

TRIMARCO, V. et al. Nutraceuticals for blood pressure control in patients with high-normal or grade 1 hypertension. **High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention**, v. 19, n. 3, p. 117–122, 2012.

VERMA, R. C. et al. Effects of *Eclipta alba* and *boerhaavia diffusa* on normal blood pressure and hypertension in rats and their comparison with amlodipine. **International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research**, v. 3, n. 6, p. 1832–1838, 2012.

VICTÓRIO, C. P. et al. Vasodilator activity of extracts of field *Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum and *A. zerumbet* (Pers.) Burt et Smith cultured in vitro. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 3, p. 507–514, 2009.

VIJAYAKUMAR, B. et al. Identification of natural inhibitors against angiotensin I converting enzyme for cardiac safety using induced fit docking and MM-GBSA studies. **Pharmacognosy Magazine**, v. 10, n. 39, p. S639–S644, 2014.

WANG, Y. et al. Isolation and identification of a novel peptide from zein with antioxidant and antihypertensive activities. **Food Function**, v. 6, n. 12, p. 3799–3806, 2015.

XIANG, F. et al. Therapeutic efficacy of a polysaccharide isolated from *Cordyceps sinensis* on hypertensive rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 308–314, 2016.

YANG, W. X. et al. Control of hypertension in rats using volatile components of leaves of *Taxus chinensis* var. *mairei*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, n. 1, p. 309–313, 2012.

YEH, C. T.; HUANG, W. H.; YEN, G. C. Antihypertensive effects of *Hsian-tsao* and its

active compound in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 20, n. 11, p. 866–875, 2009.

YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais - sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos. 2001

ZHU, J.; ZHANG, Y.; YANG, C. Protective effect of 3-n-butylphthalide against hypertensive nephropathy in spontaneously hypertensive rats. **Molecular Medicine Reports**, v. 11, n. 2, p. 1448–1454, 2015.

RUTHERFORD, S.; JOHNSON, M.P.; CURTAIN, R.P.; GRIFFITHS, L.R. Chromosome 17 and the inducible nitric oxide synthase gene in human essential hypertension. **Human Genetic**, v. 109, p. 408-415, 2001.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 95, n. 1, p. 1-51, 2010. Suplemento 1.

WHELTON, P.K et al. National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Primary prevention of hypertension: clinical and public health advisory from The National High Blood Pressure Education Program. **JAMA**, v. 288(15), p.1882-1888, 2002.

*CAPÍTULO II*

**Otimização da extração e padronização, perfil fitoquímico, avaliação da atividade citotóxica e antioxidante do extrato de inflorescências de *Mimosa caesalpinifolia* Benth.**

**Otimização da extração e padronização, perfil fitoquímico, avaliação da atividade citotóxica e antioxidante do extrato de inflorescências de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.**

**BARBOSA, S.L.F.<sup>a\*</sup>; LIMA NETO, J. S.<sup>b</sup>; ARCANJO, D. D. R.<sup>c</sup>; NUNES, L.C.C.<sup>b</sup>;  
CAVALCANTE, A.A.M.<sup>a</sup>; CARMO, I. S.<sup>d</sup>; CUSTÓDIO, M. F.<sup>d</sup>; ARAÚJO, B. Q.;  
CITÓ, A.M.G.L.<sup>d</sup>**

<sup>a</sup>Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-555 Teresina, PI, Brasil. \*saraleafb@hotmail.com

<sup>b</sup>Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550 Teresina, PI, Brasil

<sup>c</sup>Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550 Teresina, PI, Brasil

<sup>d</sup>Departamento de Química, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550 Teresina, PI, Brasil

## RESUMO

O desenvolvimento de produtos fitoterápicos a partir de plantas nativas brasileira tem recebido merecida atenção, frente à rica biodiversidade das florestas do país. Nesse contexto, a espécie *M. caesalpiniiifolia* é uma fonte promissora para o delineamento de um fitoterápico para o tratamento da hipertensão. O chá de suas inflorescências promove hipotensão e taquicardia, enquanto o extrato etanólico promove hipotensão e bradicardia através de mecanismos farmacológicos das vias muscarínicas e ganglionares e a ação vasorrelaxante por bloqueio dos canais de cálcio. O presente estudo tem como objetivo otimizar a extração, padronizar o extrato, realizar estudos fitoquímicos e investigar os efeitos antioxidante e citotóxico do extrato de inflorescências de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. que se apresenta como um produto promissor ao desenvolvimento de um medicamento fitoterápico para o tratamento da hipertensão arterial sistêmica. Após coleta e identificação da espécie, procedeu-se a otimização do método extrativo através do planejamento fatorial 2<sup>3</sup> que testou as variáveis tempo de maceração, tipo de solução extrativa e uso de sonicação. O excesso do etanol foi removido por rotaevaporação. Uma alíquota do extrato foi liofilizada para se obter o extrato seco. O volume residual foi reservado para secagem por aspersão usando um adjuvante de secagem. O extrato seco foi avaliado quanto ao teor de fenóis totais através do método de Folin-Ciocalteu, constatando alto de teor de fenóis (245,1 mg de EAG/g). A análise por CLAE confirmou a presença do ácido gálico no cromatograma, através do qual padronizou-se o extrato, apresentado teor de 7,9 mg por grama de extrato (0,79%). As atividades citotóxicas e antioxidantes foram testadas através do halo de inibição em linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* proficientes e deficientes de enzimas antioxidantes e revelaram que o extrato apresentou atividade antioxidante *in vivo*. Através das linhagens mutadas e do teste de viabilidade de macrófagos foi possível relacionar a atividade antioxidante do extrato à mecanismos associados à função mitocondrial das células. Esse extrato é, portanto, um produto natural promissor ao delineamento de uma formulação farmacêutica para tratamento da hipertensão arterial sistêmica.

**Palavras-chave:** *Mimosa caesalpiniiifolia*, fitoquímica, atividade citotóxica, antioxidante.

## 1 INTRODUÇÃO

Cerca de 80% da população mundial usa medicamentos à base de plantas, principalmente nos países em desenvolvimento, por estarem muito distantes dos centros de saúde, por não possuírem recursos para adquirir medicamentos prescritos ou devido à sua melhor aceitabilidade com o corpo humano e menores efeitos colaterais (DA VEIGA, 2008).

O mercado mundial de fitoterápicos tem crescido mais nos países desenvolvidos. O Brasil, apesar de sua rica biodiversidade, não tem uma atuação destacada no mercado mundial de fitoterápicos, ficando inclusive atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente e menos ricos em biodiversidade (YUNES; PEDROSA; FILHO, 2001), por isso é de grande relevância o desenvolvimento de produtos fitoterápicos a partir de plantas nativas brasileiras.

Nesse contexto, a espécie *M. caesalpiniifolia* é uma fonte promissora para o delineamento de um fitoterápico para o tratamento da hipertensão. O chá de suas inflorescências promove hipotensão e taquicardia, enquanto o extrato etanólico promove hipotensão e bradicardia. Seu efeito vasodilatador provavelmente se deve à presença de flavonoides como rutina, quercetina e outros compostos identificados no extrato etanólico das inflorescências. Esses resultados comprovam a eficácia do uso popular do chá das flores no tratamento da hipertensão (SANTOS et al., 2015). Como resultado de atividade antioxidante, o extrato hidroalcoólico de suas folhas previniram a genotoxicidade induzida pela exposição ao cádmio no fígado e nas células do sangue periférico de ratos (SILVA et al., 2014).

O desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos requer a padronização química e preparações de extratos de plantas, o que implica no tratamento da matéria vegetal através de técnicas de extração e outras técnicas analíticas, como ferramentas de separação (ONG, 2004). Através dessas técnicas é possível separar as porções medicinalmente ativas de tecidos vegetais dos componentes inertes, utilizando solventes seletivos. Durante a extração, os solventes difundem-se para o material vegetal sólido e solubilizam compostos com polaridade similar. Os produtos assim obtidos são misturas relativamente complexas de metabólitos, em estado líquido ou semi-sólido ou sob a forma de pó seco (após remoção do solvente), e são destinados para uso oral ou externo (TIWARI et al., 2011).

Como os compostos de interesse podem variar de não polares a polares e serem termicamente instáveis, deve ser considerada a adequação dos métodos de extração. Vários métodos, tais como percolação, maceração, sonicação, aquecimento sob refluxo, extração por soxhlet e outros são comumente utilizados para extrair constituintes de plantas. Além disso, os extratos vegetais são também preparados por maceração ou percolação de plantas verdes

frescas ou material de plantas em pó seco em sistemas de água e/ou solventes orgânicos. Metanol, etanol ou mistura de alcóois e água são solventes comumente empregados nessas técnicas (SASIDHARAN et al., 2011).

Ultrassom ou sonicação, uma técnica auxiliar ao processo extrativo, pode-se realizar facilmente em laboratórios por meio de banhos de ultrassom. Neste método, a amostra triturada é misturada com o solvente adequado e colocada no aparelho de banho de ultrassom onde a temperatura de trabalho e o tempo de extração são ajustados (DOBIÁŠ et al., 2010).

Na extração há uma série de fatores determinantes, tais como granulometria, polaridade do solvente, acidez média, agitação do sistema, método de extração, temperatura e tempo de contato (MIGLIATO et al., 2011). A influência desses fatores no rendimento do processo pode ser avaliada via planejamento fatorial. Este trata-se de uma ferramenta estatística que pode ser empregada para otimização do processo de extração, permitindo analisar simultaneamente o efeito de um grande número de variáveis, a partir de um número reduzido de experimentos simultâneos. Assim é possível estudar o efeito de qualquer fator inerente ao processo sobre a resposta, fazendo-o variar e observando o resultado dessa variação em, pelo menos, dois níveis, os quais podem ser entendidos como os valores ou designações arbitrárias do fator. (NORIEGA et al., 2005; LIMA et al., 2013).

Alguns estudos têm demonstrado o efeito antioxidante dos diferentes extratos vegetais capazes de sequestrar espécies reativas de oxigênio (EROs) prejudiciais, incluindo ânion superóxido, ao passo que outros demonstram o efeito pró-oxidante desses extratos (VESKOUKIS et al., 2012; CHANAJ-KACZMAREK et al., 2015) sendo objetos de pesquisa relevantes uma vez que o corpo humano está sob constante ataque oxidativo de espécies reativas de oxigênio (EROs) (BURTON & JAUNIAUX, 2011). Nesse contexto, a proteção de variados compostos biológicos, como o DNA, contra danos oxidativos está relacionada à atividade antígeno-tóxica e às propriedades antioxidantes de muitos fitoquímicos e extratos de plantas (MARQUES et al., 2011).

A capacidade antioxidante *in vitro* de extrato de folhas, caule, cascas do caule e raízes de *M. caesalpinifolia* foi avaliada através do consumo do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), o que constatou superior atividade antioxidante no extrato das folhas e menor potencial nas raízes (SILVA et al., 2012).

No entanto, sabe-se que os ensaios *in vitro* para avaliação da capacidade antioxidante não são representativos das condições celulares do homem, enquanto que o uso de animais de laboratório para este fim é, em geral, de difícil execução e necessita de um número elevado de animais para assegurar resultados estatisticamente significativos. Por outro lado, os ensaios

microbianos têm-se mostrado muito adequados na determinação da capacidade antioxidante, constituindo-se em testes rápidos, sensíveis, econômicos e reprodutíveis (SOARES et al., 2005). Nesse contexto, não foi encontrado na literatura resultado de qualquer estudo acerca das propriedades citotóxicas ou antioxidantes *in vivo* com as inflorescências dessa espécie vegetal.

O presente estudo teve como objetivo otimizar a extração, padronizar o extrato, realizar estudos fitoquímicos e investigar os efeitos antioxidante e citotóxico do extrato de inflorescências de *M. caesalpinifolia* Benth. visando o posterior desenvolvimento de um medicamento fitoterápico promissor ao tratamento da hipertensão arterial sistêmica.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Coleta do Material Vegetal

O material vegetal para o estudo foram as inflorescências de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. A coleta ocorreu em junho de 2015 no município de Teresina, na floresta nativa da UFPI. Do mesmo espécime vegetal coletado, já se encontra depositada uma exsicata no Herbário “Graziela Barroso”, da Universidade Federal do Piauí, com o número: TEPB 26824.

### 2.2 Otimização da extração e preparo do extrato

O material vegetal secou à temperatura ambiente e, em seguida, foi submetido à pulverização em moinho de facas. Para a maceração, usou-se a proporção 1:10 entre material vegetal e líquido extrator (5 g de material vegetal/50 ml de solvente). As demais condições de maceração foram determinadas e otimizadas através de planejamento fatorial do tipo  $2^3$  onde três fatores foram analisados em dois níveis cada, em triplicata, sendo eles: fator 1 corresponde ao solvente etanol (-1) ou etanol/água 7:3 (+1); fator 2 à presença de sonicação (+1) ou à ausência (-1) e fator 3 troca diária do solvente durante três dias (-1) ou uma troca a cada três dias durante 9 dias (+1) (Tabela 1). As soluções extrativas foram evaporadas em evaporador rotativo (Heidolph, modelo: Laborota 4000), acoplado a uma bomba de vácuo (Kohlbach). As massas obtidas foram pesadas e os rendimentos analisados através de uma ferramenta estatística para análise de fatorial desenvolvida no MICROSOFT OFFICE EXCEL<sup>®</sup> 2007 por Lima et al, 2016.

O procedimento de extração que forneceu maior rendimento foi utilizado para obtenção do extrato, seguindo-se com a evaporação do solvente em evaporador rotatório e remoção da água residual por liofilização.

**Tabela 1.** Siglas utilizadas para a representação dos fatores avaliados no planejamento fatorial da otimização da extração de inflorescências secas de *M. caesalpiniiifolia*.

FATORES	NÍVEIS	FATOR (-1;+1)	SIGLA
Solução extrativa	Etanol	-1	A
	Mistura de etanol/água 7:3 (v/v)	+1	H
Sonição	Sem uso de sonicação	-1	S
	Com uso de sonicação	+1	NS
Tempo de extração	Extração por 3 dias	-1	3
	Extração por 9 dias	+1	9

## 2.3 Análise fitoquímica

### 2.3.1 Fenóis totais (FT)

A mensuração do teor de fenóis totais do extrato otimizado das inflorescências de *M. caesalpiniiifolia* foram determinados por meio de espectroscopia na região do visível utilizando o método de Folin-Ciocalteu com modificações (BONOLI et al., 2004; OYEDEMI et al., 2012). Uma alíquota de 10 mg da amostra foi dissolvida em 10 mL de metanol ( $1 \text{ mg mL}^{-1}$ ). Uma alíquota de 0,1 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL e adicionou-se 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 5 mL de água destilada, com posterior agitação por 1 minuto. Em seguida adicionou-se 2 mL de uma solução de carbonato de cálcio 15% (m/v), agitando por 30 segundos. O balão foi completado com água destilada e mantido a temperatura ambiente por 2 horas. O branco foi preparado utilizando um alíquota de 0,1 mL de MeOH seguida da mesma sequência de reagentes e etapas. Após 2 horas de repouso, as absorvâncias das amostras foram medidas a 750 nm ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) usando um espectrofotômetro UV-Vis e o conteúdo de fenóis totais foi determinado utilizando curva analítica padrão de ácido gálico ( $0,1$  a  $2,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de material vegetal seco ( $\text{mg EAG g MVS}^{-1}$ ). Todas as análises foram realizadas em triplicata ( $n = 3$ ).

### 2.3.2 Análise por cromatografia líquida de alta performance com detector de arranjo de fotodiodo (CLAE)

Para a análise fitoquímica por CLAE, a amostra foi submetida à etapa de *clean up*. Foram utilizados cartuchos de fase reversa de 3 mL com 500 mg octadecil (C18) Chromabond<sup>®</sup> (Macherey-Nagel). O cartucho foi ativado com 3 mL de MeOH (4x) e após ativação 30 mg de extrato diluídos em 500  $\mu\text{L}$ , foram aplicados no cartucho e posteriormente eluídos com outros 3 mL (4xMeOH). O eluato foi filtrado em seringa no tamanho de 13 mm de comprimento, com membrana filtrante de teflon e gramatura de 0,45  $\mu\text{m}$ . O material filtrado foi seco em evaporador rotativo e ressuspendido posteriormente com metanol grau HPLC obtendo-se uma solução de análise de  $5 \text{ mg mL}^{-1}$ . Para a padronização o extrato foi submetido ao mesmo *clean-up* realizada anteriormente, sendo a massa utilizada no tratamento de 40,4 mg de extrato, na qual foram dissolvidos em 1 mL de MeOH e aplicado no cartucho seguido de eluição com outros 3 mL (4xMeOH). O eluato foi filtrado em seringa 10 mL, com membrana filtrante de PTFE com gramatura de 0,20  $\mu\text{m}$ . O material filtrado foi seco em

evaporador rotativo e ressuspendido posteriormente com metanol filtrado grau HPLC obtendo-se uma solução de análise de 5 mg mL<sup>-1</sup>. O extrato foi padronizado a partir de uma curva de calibração utilizando o ácido gálico como padrão (Sigma Aldrich 97,5%) e como substância marcadora. A curva foi obtida a partir de seis concentrações de ácido gálico ( 0,25; 0,3; 0,35; 0,4; 0,45; 0,5) µg µL<sup>-1</sup>, resultando em sua respectiva curva de regressão linear, equação da reta, coeficiente de correlação linear (r), limite de detecção (LD) calculado pela equação 1 e o limite de quantificação (LQ) calculado pela equação 2, sendo tanto a análise do extrato quanto a do padrão realizada em triplicata.

Equação 1:

$$LD = 3,3x \left( \frac{DP}{\text{inclinação da reta}} \right)$$

Equação 2:

$$LQ = 10x \left( \frac{DP}{\text{inclinação da reta}} \right)$$

A análise fitoquímica do extrato, a obtenção da curva de calibração e a padronização do extrato foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de arranjo de fotodiodo (utilizando lâmpada de deutério) com um sistema de cromatografia líquida Shimadzu Prominence equipado com um desgaseificador DGU-20A5 e bomba binária LC-20AD Shimadzu, acoplado a um detector de arranjo de fotodiodo (SPD-M20A) e injetor automático Shimadzu Sil-10AF com loop de 20 µL. Sendo utilizada uma coluna de fase reversa no modelo coluna Phenomenex<sup>®</sup> Kinetex 5 µm EVO C18 100A (Angstrom) 250 mm x 4,6 mm; 5,0 µm i.d.

O método empregado na análise fitoquímica do extrato consistiu em um gradiente exploratório utilizando água acidificada com 0,05% de ácido fórmico (eluente A) e metanol + 0,05% ácido fórmico (eluente B) com um fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup>, método gradiente exploratório iniciando com 2% B por 3 minutos e 100% de B em 63 minutos, sendo esta concentração de B mantida por 15 minutos. Já o método utilizado na obtenção da curva e padronização do extrato se deu no modo isocrático de eluente com 2% de B durante 15 min, com fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup>. Todos os cromatogramas foram registrados no comprimento de onda selecionado de 270 nm e o volume de injeção foi de 10 µL.

## 2.4 Avaliação da atividade citotóxica e antioxidante

### 2.4.1 Cepas de leveduras, meio de cultura e condições de crescimento

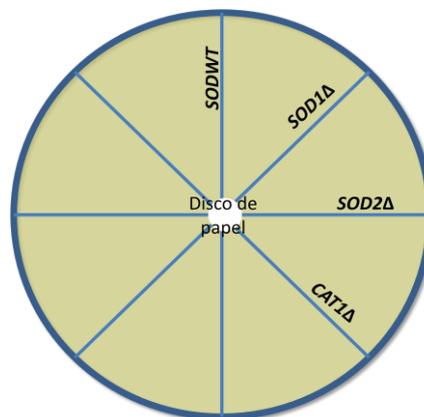
Linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* proficientes e deficientes em enzimas antioxidantes (*sod1Δ*, *sod2Δ*, *sod1Δsod2Δ*, *cat1Δ* e *cat1Δsod1Δ*) foram utilizadas para o ensaio que avalia atividade antioxidante ou oxidante de compostos seguindo uma metodologia descrita por Fragoso et al (2008). A linhagem EG118 utilizada é defectiva no sistema enzimático que envolve a enzima superóxido dismutase citoplasmática (CuZnSOD - produto do gene *SOD1*), enquanto a EG110 o é na *SOD* mitocondrial (MnSOD - produto do gene *SOD2*); EG133 é o duplo mutante, defectivo para *SOD1* e *SOD2*; EG223 corresponde às cepas mutantes deficientes na catalase citosólica (*Cat1Δ*); EG mutante em Catalase e *SOD1* (*Cat1ΔSOD1*) e, ainda, EG103 corresponde à linhagem selvagem, portanto proficiente nestas enzimas (Tabela 2).

O crescimento das células foi feito em meio líquido completo (YEL), contendo 1% de extrato de levedura, 2% de bactopectona e 2% de glicose. Foram feitas sementeiras em meio sólido YEPD, que foi preparado adicionando-se à composição do meio YEL 2% de bacto-ágar. A Figura 1 apresenta o esquema das sementeiras.

**Tabela 2.** Genótipo e origem das linhagens de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* sementeiras no ensaio de avaliação de atividade antioxidante.

LINHAGENS	GENÓTIPO	ORIGEM
EG103 ( <i>SODWT</i> )	MATa leu2-3,112 trp1-289 ura3-52 GAL+	Edith Gralla E, Los Angeles
EG118 ( <i>SOD1Δ</i> )	Sod1::URA3 all other markers as EG103	Edith Gralla E, Los Angeles
EG110 ( <i>SOD2Δ</i> )	Sod2::TRP1 all other markers as EG103	Edith Gralla E, Los Angeles
EG223 ( <i>CAT1Δ</i> )	EG103, except Cat1:: TRP1	Edith Gralla E, Los Angeles

**Figura 1.** Esquema de semeio de linhagens de *S. cerevisiae* na placa de Petri em meio sólido YEPD.



As concentrações do extrato hidroalcoólico das inflorescências de *Mimosa caesalpiniiifolia* (EH-Mc) utilizadas neste estudo foram de  $81 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $243 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  (SANTOS et al, 2015). As Células em suspensão foram semeadas a partir do centro para a margem de uma placa de Petri em um ciclo contínuo, para ambos os lados da placa contendo no centro um disco de papel filtro estéril no qual foi adicionado  $100 \mu\text{L}$  das concentrações do extrato (tratamento) para o estudo do possível efeito oxidante do extrato. A fim de observar a interferência do solvente utilizado, as linhagens leveduriformes também foram expostas ao etanol puro e isolado. As três concentrações do extrato também foram testadas concomitante à aplicação de  $10 \mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (10 mM) no disco central, utilizado nesse estudo como agente oxidante (co-tratamento) para avaliar os efeitos do extrato frente aos danos induzidos pelo peróxido de hidrogênio. Após, as placas terem sido encubadas em estufa a  $30^\circ\text{C}$  por 48 horas, os halos de inibição foram medidos e tabulados. O software GraphPad Prisma 6.0 foi utilizado no tratamento estatístico aplicando-se ANOVA-*one-way* e teste de comparações múltiplas de Bonferroni.

#### 2.4.2 Animais e cultivo celular

Camundongos BALB/c (20-30g) machos entre 7 e 12 semanas de vida, provenientes do Biotério Setorial do Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí, foram utilizados. Os animais foram mantidos durante todo o período de estudo em condições controladas de iluminação (ciclo 12 h claro/escuro) e temperatura ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ), com água e ração *ad libitum*. Os animais foram eutanasiados de acordo com a Resolução N° 1000/2012-CRMV, sob responsabilidade do Prof. Dr. Fernando Aécio de Amorim Carvalho,

CFMV-PI N° 0335. Os procedimentos foram realizados com aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí, Brasil (permissão n° 114/2015).

Macrófagos peritoneais foram obtidos a partir de camundongos Balb/c machos. Três dias após a administração intraperitoneal de 1,5 mL de tioglicolato a 3,0%, os animais foram eutanasiados e imersos em álcool 70% por 1 min para assepsia. Em fluxo laminar, adicionou-se 8,0 mL de PSS estéril na cavidade peritoneal. Após, a solução contendo macrófagos peritoneais foi aspirada e transferida para um tubo estéril em banho de gelo e submetida a duas centrifugações a 1500 rpm a 4 °C durante 10 min, com sucessivas lavagens com solução salina estéril (NaCl 0,9%). Após a última lavagem, o sobrenadante foi descartado e as células resuspensas em 2,0 mL de meio de cultura RPMI 1640 suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10%, penicilina 10.000 UI/mL e estreptomicina 10 mg/ml. A contagem dos macrófagos viáveis foi realizada em câmara de Neubauer, na presença do corante Azul de Tripán para análise de viabilidade celular (RODRIGUES et al., 2015).

#### **2.4.2 Teste de viabilidade celular de macrófagos peritoneais murinos**

A avaliação da atividade citotóxica do extrato de *M. caesalpinifolia* em macrófagos murinos Balb/c foi realizada pelo ensaio do MTT. Em placas de 96 poços, macrófagos ( $1 \times 10^6$ /poço) foram incubados com 100 µl de meio RPMI 1640 (Sigma, St Louis, USA) a 37 °C em CO<sub>2</sub> 5% durante 4 horas, para adesão celular. Em seguida, Extrato de *M. caesalpinifolia* foi incubado em diferentes concentrações (6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200; 400 e 800 µg/mL) durante 48 h a 37 °C e CO<sub>2</sub> 5%. Em seguida, adicionou-se 10 µl of MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) a partir de uma solução estoque a 5 mg/mL em PBS, e incubou-se por 4 h a 37 °C e CO<sub>2</sub> 5%. Logo após, o sobrenadante foi descartado e 100 µl de DMSO foi adicionado em cada poço. A placa foi mantida em agitação por 30 min para completa dissolução do formazan. As absorbâncias foram lidas em um leitor de microplacas (ELx800™, BioTek® Instruments, EUA) em 550 nm. Os resultados foram expressos em CC<sub>50</sub> (concentração citotóxica média para 50% das células) com intervalo de confiança calculados por regressão não-linear pelo software GraphPad Prism 5.0.

### 3 RESULTADO E DISCUSSÃO

#### 3.1 Otimização da extração

A análise fatorial aplicada gerou um total de 8 experimentos que avaliaram os fatores solvente, tempo de extração e o uso de sonicação. As condições utilizadas para a análise fatorial encontram-se descritas na tabela 3.

**Tabela 3.** Matriz de planejamento fatorial aplicada para a otimização da extração de inflorescências de *Mimosa caesalpiniiifolia* e resultados.

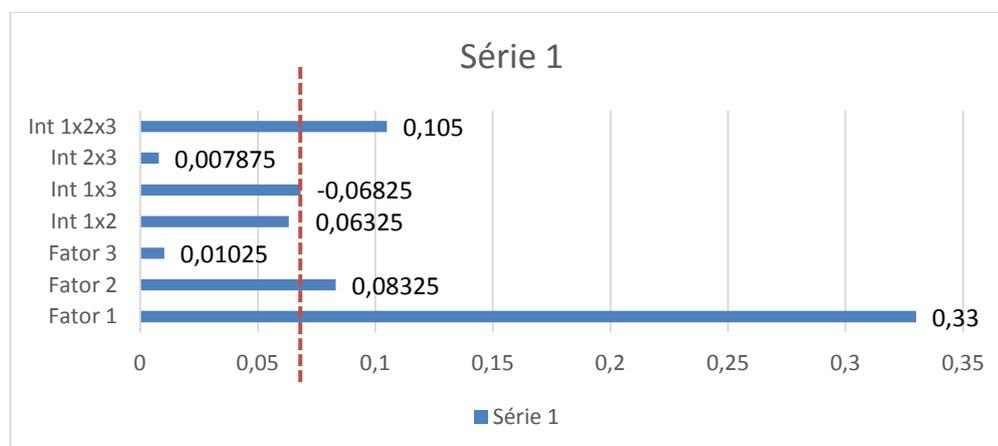
ENSAIOS	RESULTADO					
	Solvente	Uso de sonicação	Tempo de extração	Massa de partida (g)	Resíduo seco* (g)	Rendimento (%)
EA3S	-	+	-	5,0	0,510 ± 0,03	10,2
EA3NS	-	-	-	5,0	0,518 ± 0,03	10,3
EA9S	-	+	+	5,0	0,625 ± 0,02	12,4
EA9NS	-	-	+	5,0	0,588 ± 0,01	11,7
EH3S	+	+	-	5,0	0,869 ± 0,04	17,3
EH3NS	+	-	-	5,0	0,945 ± 0,02	18,9
EH9S	+	+	+	5,0	1,050 ± 0,04	20,7
EH9NS	+	-	+	5,0	0,766 ± 0,04	15,2

**LEGENDA:** Ensaios: E = extrato; A = Etanol; H = Etanol/água 7:3; 3 = 3 dias; 9 = 9 dias; S = Sim; NS = Não. Variáveis: Solvente (-) = Etanol; Solvente (+) = Etanol/água 7:3; Tempo de extração (-) = 3 dias; Tempo de extração (+) = 9 dias; Sem uso de sonicação (-); com uso de sonicação (+). (\*): média ± erro padrão da média.

Na Figura 2 é apresentado o gráfico de Pareto com os efeitos observados para a resposta “teor de resíduo seco” na extração das inflorescências de *M. caesalopiniifolia*. Com base nos resultados apresentados nessa figura e considerando o limite de significância de 0,07g, observou-se que o fator 1, solução extrativa, foi o que mais influenciou no rendimento de resíduo seco obtido, onde as extrações realizadas utilizando-se solvente hidroalcoólico levaram a uma obtenção de resíduo seco superior 6,6% (0,33 g para cada 5g de material) em relação aos ensaios onde a extração foi realizada apenas com extrato alcoólico.

Entre os fatores relevantes na escolha de uma solução extrativa consideram-se a quantidade de fitoquímicos a extrair, a taxa de extração, a diversidade de diferentes compostos extraídos, a facilidade de manipulação subsequente dos extratos, a toxicidade do solvente no processo de bioensaio, o risco potencial à saúde dos manipuladores e o custo financeiro (TIWARI et al., 2011). Considerando-se a baixa toxicidade do etanol e da água no processo de extração e o rendimento atribuído a cada solução extrativa empregada, infere-se que o uso de solvente hidroalcoólico é a escolha mais adequada para a obtenção do extrato das inflorescências de *M. Caesalpiniiifolia*.

**Figura 2.** Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores testados no planejamento fatorial  $2^3$  e suas interações para a resposta teor de resíduo seco (g) na extração das flores de *Mimosa caesalpiniiifolia*.



**Legenda:** Fator 1 (solvente); Fator 2 (sonicação); Fator 3 (tempo de extração). A linha tracejada define o limite de significância 0,07 g, com intervalo de confiança de 95%. Interação dos parâmetros 1 e 2 (1/2); Interação dos parâmetros 1 e 3(1/3); Interação dos parâmetros 2 e 3 (2/3); e Interação dos parâmetros 1, 2 e 3 (1/2/3).

Utilizando a sonicação, o rendimento de uma extração de vegetal seco é semelhante ou superior ao obtido por métodos clássicos ou por maceração. A extração assistida por ultrassom (EAU) é uma técnica de extração rápida e eficaz que utiliza ondas ultrassônicas para gerar uma cavitação no solvente, o que permite uma maior penetração deste no material vegetal, causando um processo avançado de hidratação com fragmentação simultânea de material vegetal (TENG & CHOI, 2013; VINATORU, 2001). Quanto ao fator 2, a utilização do processo de sonicação também resultou em uma ligeira melhoria no processo extrativo, levando a um aumento em média 1,6% (0,08 g para cada 5 g de massa de partida) em relação aos testes onde não houve sonicação, porém os custos relacionados ao procedimento de sonicação podem tornar esse benefício irrelevante, visto ao pequeno ganho proporcional verificado na massa final de resíduo seco.

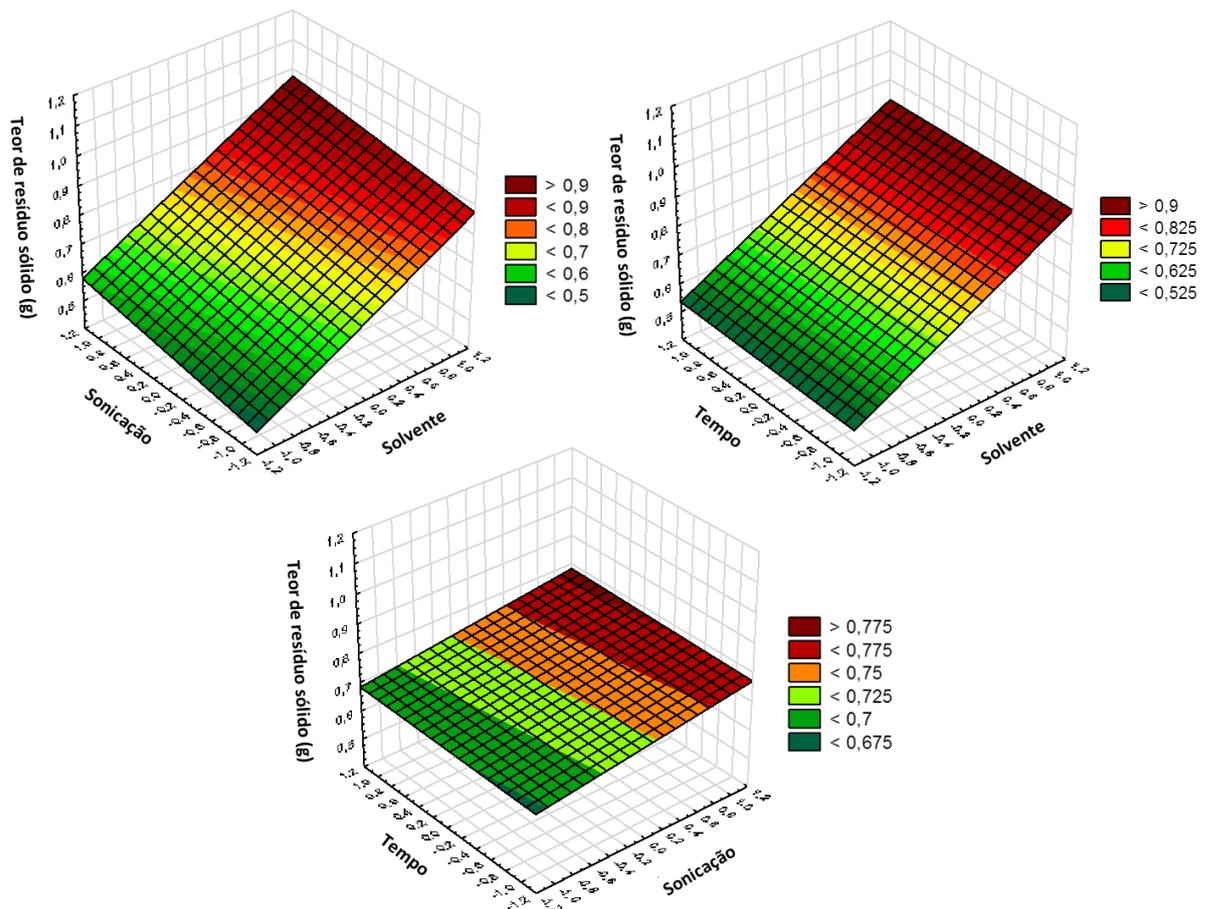
Sobre o tempo de extração, sabe-se que em diversas técnicas extrativas este é um parâmetro cuja influência precisa ser levada em conta. Geralmente, aumentando o tempo de extração, aumenta-se a quantidade de analitos extraídos (MANDAL; MOHAN; HEMALATHA, 2007). Foi observado no fator 3, tempo de extração, que a sua modificação de 3 para 9 dias não trouxe alterações estatisticamente significativas no rendimento de resíduo seco obtido, sendo, portanto, preferível a extração pelo tempo mais curto estudado (3 dias).

Não foram encontradas interações duplas entre os fatores, e apenas a interação tripla apresentou-se estatisticamente significativa, mostrando que o efeito de cada fator sobre o

rendimento em resíduo seco pode ser modificado quando se modifica o nível dos demais fatores (Figura 2).

A forte influência da mudança dos solventes sobre a resposta teor de resíduo sólido é expressa no gráfico de superfície (Figura 3), onde se pode observar o crescente ganho de massa quando se parte de etanol puro (-1) para etanol/água 7:3 (+1), causando evidente inclinação em um dos lados da superfície. Os demais fatores, tempo e sonicação, muito pouco inclinaram a superfície, pois não apresentaram forte influência sobre a massa de resíduo seco obtida.

**Figura 3.** Superfícies de resposta do planejamento fatorial  $2^3$  produzidas no teor de resíduo sólido (g) da extração de inflorescências de *M. caesalpinifolia* pelos fatores solvente (Etanol/água 7:3 +1; Etanol -1), Sonicação (presença+1; ausência-1) e tempo de extração (9 dias+1; 3 dias-1).



Em suma, esses resultados sugerem que o solvente utilizado foi o fator que mais influenciou na obtenção de resíduo seco, o processo de sonicação também influenciou de forma estatisticamente significativa nessa resposta, mas o fator tempo de extração não trouxe

influência estatisticamente significativa para o processo, no intervalo estudado. Porém, vale ressaltar que, como base nos custos atribuídos a processos onde utiliza-se sonicação e no pequeno aumento em teor de resíduo seco que foi obtido com esse processo, pode ser dispensada a utilização desse procedimento. Portanto, uma extração utilizando solvente hidroalcoólico, sem sonicação, por um período de 3 dias pode garantir resultados satisfatórios e economia de tempo e custos quando o objetivo se tratar de maior obtenção de resíduo seco. O uso de água na solução extrativa pode apresentar vantagens financeiras, pois o uso de concentrações elevadas de etanol pode significar maiores custos ao processo.

Assim, obteve-se por otimização uma técnica extrativa (Figura 4) e o seu produto, o Extrato Hidroalcoólico de *M. Caesalpinifolia* (EH-Mc), com o qual se prosseguiu o estudo.

**Figura 4.** Esquema de obtenção do EH-Mc, extração otimizada para melhor rendimento na obtenção do extrato de inflorescências de *Mimosa caesalpinifolia*.



### 3.2 Teor de fenóis totais

Através da equação da reta obtida  $A = 0,11852C - 0,04532$ , onde  $A$  é a absorbância e  $C$  a concentração ( $R = 0,999$ ) foi mensurado o teor de fenóis totais no EH-Mc de 245,172 mg de EAG/g (Tabela 4). Esse achado foi superior aos dados da literatura (ARAÚJO, 2010), que relatou conteúdo de compostos fenólicos identificados no extrato hidroalcoólico 1:1 (v/v) e no extrato etanólico de 128,12 e 180,92 mg de EAG/g de extrato, respectivamente. Um dos

fatores que pode ter contribuído para esta diferença de fenóis totais pode ser a data da coleta do material vegetal, uma vez que neste trabalho a coleta foi realizada no mês de junho, final da estação chuvosa, maior condição de estresse da planta para a produção da floração final, diferindo da época de coleta do trabalho citado, maio, que corresponde à máxima floração da espécie.

**Tabela 4.** Teores de fenóis totais (FT) expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de extrato hidroalcoólico otimizado (EH-Mc) e matéria vegetal seca

REPLICATAS	mg de EAG/g de EH-Mc ± DP	DPR (%)	mg de EAG/g de MVS ± DP	DPR (%)
1	238,352		51,985	
2	253,379		55,262	
3	243,784	3,1	53,170	3,1
<b>MÉDIA</b>	<b>245,172 ± 7,609</b>		<b>53,472 ± 1,659</b>	

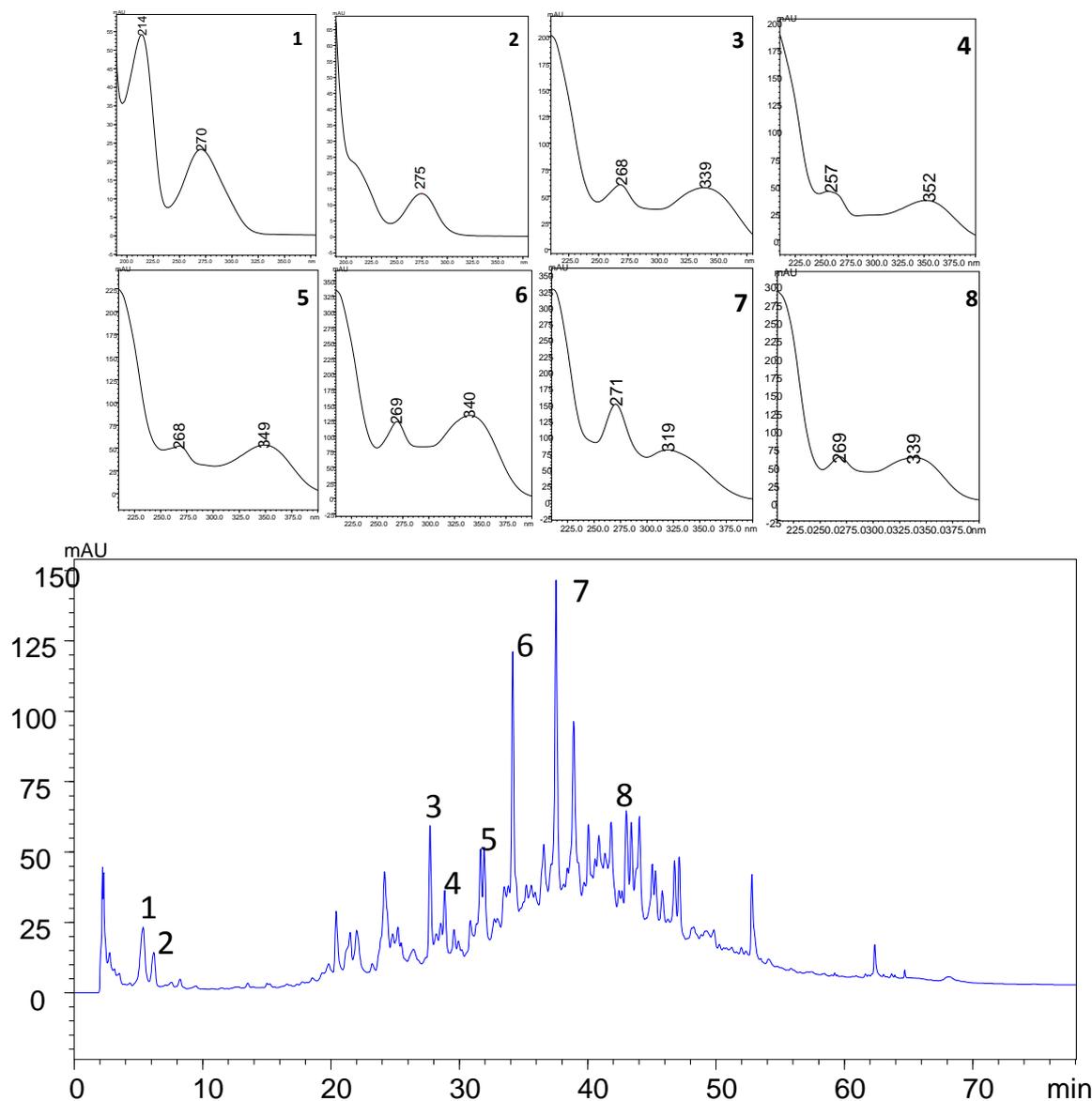
**Legenda:** DP- desvio padrão; DPR- desvio padrão relativo; MVS- matéria vegetal seca de flores de *M. caesalpinifolia*.

### 3.3 Achados fitoquímicos

A análise por cromatografia líquida de alta performance (CLAE-DAD) apresentou um cromatograma com grande número de sinais sendo vários sobrepostos. Contudo, foi possível identificar algumas classes de metabólicos secundários através dos espectros de UV obtidos (Figura 5).

Os sinais cromatográficos 1 e 2, com tempos de retenção ( $T_R$ ) em 5,5 e 6,0 minutos apresentaram espectros de absorção UV com bandas em 214 e 270 nm, bandas espectrais intensas na faixa de 190 – 220 nm referente a banda secundária do anel aromático e de 260 – 280 nm referente a banda primária, são característicos de ácidos fenólicos. Após a co-injeção com o padrão de ácido gálico observou-se o aumento da altura do pico 1, o que confirma que o pico 1 corresponde ao referido ácido.

**Figura 5.** Perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico de *M. caesalpiniiifolia*, submetido ao clean-up. Coluna Phenomenex® Kinetex (250 x 4.6 mm i.d.; 5 µm), CLAE-DAD (Shimadzu®), fluxo 1,0 mL min<sup>-1</sup>, λ = 270 nm, (condições experimentais - item 2.3.1)



Legenda: Picos: 1- ácido gálico; 2- galato de metila; 3,4,6,8- flavonoides do tipo flavona; 7- classe não identificada.

Já os sinais 3 (T<sub>R</sub> = 28,1 minutos), 4 (T<sub>R</sub> = 34,1 minutos), 5 (T<sub>R</sub> = 34,1 minutos) e 6 (T<sub>R</sub> = 34,1 minutos) e 8 (T<sub>R</sub> = 43,1 minutos) apresentaram banda de 269, 339 e 352 nm. Suas bandas de UV são características de flavonoides do tipo flavonas e flavan-3-ol, por apresentarem duas bandas de absorção referentes aos dois sistemas aromáticos das agliconas (SIMÕES, 2005). A Banda I é associada à absorção do Anel B, que possui o sistema cinamoil com maior extensão da conjugação eletrônica. A banda II é atribuída ao Anel A, que envolve a absorção do sistema benzoil de menor conjugação (ANDERSEN, MARKHAM, 2006). O

sinal cromatográfico 7 apresentou-se com a maior altura relativa do cromatograma, entretanto não foi possível através do seu espectro de UV identificar a classe de metabolito secundário a qual ele pertence.

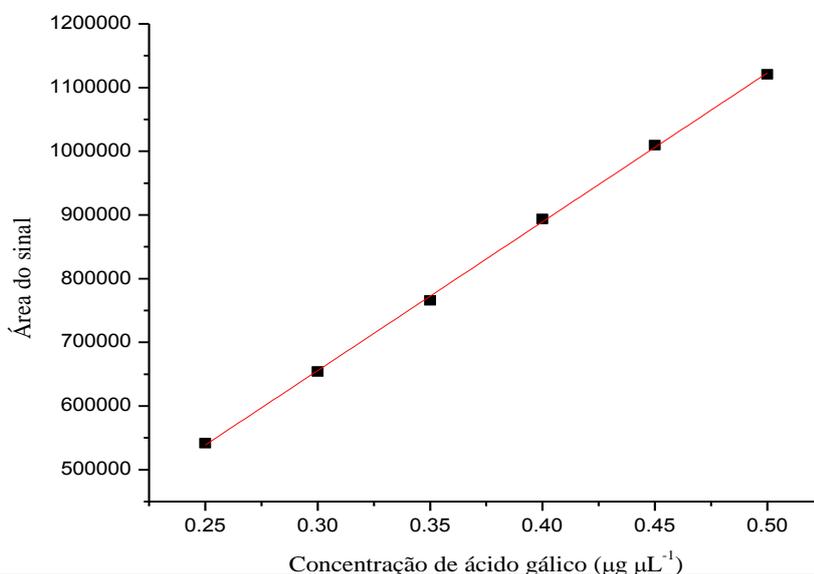
O sinal cromatográfico 7 apresentou-se com a maior altura relativa do cromatograma, entretanto não foi possível, através do seu espectro de UV, identificar a classe de metabolito secundário a qual ele pertence.

A fim de identificar a presença destas substâncias no extrato hidroalcoólico o mesmo foi submetido a uma análise por inserção direta da amostra (*flow injection analysis* –FIA) em um espectrômetro de massas com fonte de ionização por *eletrospray* (ESI) e analisador por tempo de voo (*time-of-flight*) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução (*High resolution mass spectrometer*) ou simplesmente FIA-ESI-qTOF-HRMS. O ácido gálico, bem como outros compostos identificados, foi escolhido como substância marcadora para fins de padronização.

A curva analítica do padrão de ácido gálico (Figura 6) apresenta um  $r$  de 0,9997, com a seguinte equação: Área do sinal =  $2,34 \times 10^6 C - 45381,93$ , sendo o LD e o LQ nas concentrações de  $0,114 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$  e  $0,346 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$  respectivamente. Equação utilizada para a quantificação do marcador no extrato hidroalcoólico de *M. Caesalpinifolia*, onde C corresponde à concentração de ácido gálico.

A concentração da substância marcadora no extrato foi determinada por interpolação da área do extrato contra a curva analítica construída com a substância padrão ácido gálico, resultando numa concentração de 7,9 mg de ácido gálico por grama de extrato ou 0,79 %.

**Figura 6** – Curva analítica do ácido gálico, substância marcadora do extrato de inflorescências de *M. caesalpinifolia*.



### 3.4 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante *in vitro* de um extrato de planta parece diferir do seu efeito *in vivo* (VESKOUKIS et al., 2012). Nesse contexto, linhagens isogênicas deficientes em defesas antioxidantes podem ser utilizadas para o estudo do mecanismo de ação de agentes físicos e químicos que interferem com o estado redox celular (Lee et al., 2001). Nesse trabalho, avaliou-se pela primeira vez os efeitos oxidante e antioxidante do extrato etanólico das inflorescências de *Mimosa caesalpinifolia* em modelo de estudo utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. Esse micro-organismo é amplamente utilizado como um modelo para estudar muitos aspectos da biologia celular eucariótica devido à sua fácil manipulação genética, genoma sequenciado e curto tempo de geração (BAYLIAK; LUSHCHAK, 2011).

Como outros organismos eucarióticos, *S. cerevisiae* possui mecanismos de defesa enzimática, incluindo as enzimas antioxidantes catalase e superóxido dismutase (SOD). A SOD remove  $O_2^-$  convertendo-o em  $H_2O_2$ , que por sua vez, pode ser desmutado à água pela catalase ou glutathione peroxidase (ABBOTT et al., 2009). Além disso, a biossíntese e atividade da catalase e SOD se elevam por exposição da célula a baixas concentrações de peróxido de hidrogênio em *S. cerevisiae* (BAYLIAK; LUSHCHAK, 2011).

A Tabela 5, apresenta os resultados obtidos nesta avaliação.

**Tabela 5.** Atividade do extrato hidroalcoólico das inflorescências de *Mimosa caesalpinifolia* Bentham frente à inibição de halos de crescimento em linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* selvagens e mutadas (tratamento) e frente aos danos induzidos pelo peróxido de hidrogênio (cotratamento).

Tratamentos	INIBIÇÃO DO HALO DE CRESCIMENTO			
	Linhagens testadas			
	<i>SODWT</i>	<i>Sod1Δ</i>	<i>Sod2Δ</i>	<i>Cat1Δ</i>
Salina	1,00 ± 0,82	1,00 ± 0,82 <sup>*b</sup>	0,25 ± 0,50 <sup>*b</sup>	1,50 ± 1,00 <sup>*b</sup>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	17,25 ± 1,89 <sup>*a</sup>	16,25 ± 1,50 <sup>*ac</sup>	15,25 ± 1,71 <sup>*a</sup>	16,0 ± 0,82 <sup>*a</sup>
Etanol (solvente)	4,50 ± 1,29 <sup>*a</sup>	5,50 ± 0,58 <sup>*ab</sup>	3,25 ± 0,50 <sup>*ab</sup>	3,75 ± 0,96 <sup>*ab</sup>
EH-Mc 81 µg/m	2,25 ± 0,50 <sup>*BC</sup>	2,00 ± 1,15 <sup>*bc</sup>	1,50 ± 0,58 <sup>*b</sup>	1,50 ± 0,58 <sup>*b</sup>
EH-Mc 243 µg/m	2,50 ± 1,38 <sup>*BC</sup>	2,50 ± 1,29 <sup>*b</sup>	3,25 ± 0,50 <sup>*ab</sup>	3,50 ± 0,58 <sup>*b</sup>
EH-Mc 500 µg/m	1,75 ± 0,96 <sup>*BC</sup>	6,25 ± 0,96 <sup>*ab</sup>	3,50 ± 1,73 <sup>*ab</sup>	2,25 ± 0,50 <sup>*b</sup>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + EH-Mc 81 µg/m	10,75 ± 0,50 <sup>*abc</sup>	11,75 ± 1,26 <sup>*abc</sup>	16,25 ± 0,50 <sup>*ac</sup>	15,50 ± 0,82 <sup>*AC</sup>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + EH-Mc 243 µg/m	13,50 ± 1,29 <sup>*AC</sup>	13,25 ± 2,75 <sup>*ac</sup>	14,25 ± 1,71 <sup>*ac</sup>	14,75 ± 0,96 <sup>*AC</sup>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + EH-Mc 500 µg/m	14,25 ± 3,95 <sup>*AC</sup>	17,00 ± 0,82 <sup>*ac</sup>	16,00 ± 0,82 <sup>*ac</sup>	15,50 ± 1,73 <sup>*AC</sup>

Os valores correspondem a Média ± Desvio padrão das medidas dos halos de inibição de crescimento das linhagens. Foi utilizado ANOVA-one-way e teste de comparações múltiplas de Bonferroni. Valores de significância para \* (P<0,05). Sendo “a” a significância em relação ao controle negativo (salina), “b” em relação ao controle positivo (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), “c” em relação ao solvente.

Conforme as médias de inibição dos halos apresentadas na tabela 5, observa-se que o tratamento com o solvente de escolha, o etanol absoluto, comparado ao tratamento com salina, inibiu o crescimento das colônias de todas as cepas apresentando maior inibição na linhagem deficiente de SOD1.

A toxicidade do etanol inclui um aumento generalizado do estresse oxidativo, sendo o peróxido de hidrogênio e o superóxido as principais EROs geradas. Consequentemente, este ataque oxidativo perturba a defesa antioxidante da glutathione nos níveis celular e mitocondrial e promove um aumento na atividade da enzima catalase. Devido ao sistema antioxidante sobrecarregado da célula, o estresse oxidativo provoca a inativação/desnaturação de proteínas tais como o citocromo C, desencadeando uma resposta apoptótica mitocondrial. Curiosamente, o aumento de EROs na mitocôndria era dependente da funcionalidade do sistema de ISC (cofatores de ferro-enxofre), que neste caso pode estar associado com uma incorporação defeituosa ou na reciclagem de aglomerados de Fe-S em apoproteínas receptores, que em consequência afeta a susceptibilidade de *S. Cerevisiae* em etanol (PÉREZ-GALLARDO et al., 2013). Devido à redução do sistema GSH as células neutralizam os EROs derivados da CYP2E1 através da reciclagem de GSH impulsionada principalmente pelo GSHPx, isso está relacionado a um incremento na expressão de SOD1 (HERNÁNDEZ et al., 2015).

As cepas SODWT tratadas com as três concentrações de EH-Mc não apresentaram diferença significativa às tratadas com salina, enquanto apresentaram média de halo de inibição inferior ao halo médio formado nas cepas tratadas apenas com o solvente de escolha – Etanol. Esses dados sugerem que o extrato reverteu o efeito deletério do etanol na linhagem selvagem. Pelo contrário, este efeito não foi observado nas cepas deficientes de enzimas antioxidantes (Tabela 5).

O peróxido de hidrogênio, uma potente espécie reativa de oxigênio, é capaz de interagir diretamente com o DNA causando nele danos oxidativos extensos (SILVA et al., 2014). No cotratamento com o peróxido de hidrogênio, observou-se que o EH-Mc apenas na menor concentração testada (81 µg/mL) reduziu o dano oxidativo sobre as linhagem selvagem e SOD1. Nas três concentrações testadas nos cotratamentos das mutantes *SOD2Δ* e *CAT1Δ*, não foi observada diferença estatística significativa em relação à média de halo de do controle positivo (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), sugerindo que a atuação das enzimas superóxido dismutase mitocondrial (SOD2) e da catalase citosólica favorecem o mecanismo antioxidante do EH-Mc, uma vez que ambas estão presentes nas linhagens selvagens e *SOD1Δ*. A ausência dessa atividade nas

duas maiores concentrações testadas esta relacionada a atividade citotóxica, discutida mais diante, no próximo tópico.

Esse achado corrobora com a ação antioxidante *in vitro* do extrato hidroalcoólico das inflorescências de *Mimosa caesalpinifolia* relatada na literatura (ARAÚJO, 2010). O alto teor de fenóis identificado (245,17 mg de EAG/g de EH-Mc) pode estar relacionado ao efeito antioxidante em *S. Cerevisiae*. As plantas medicinais que contêm a quantidade elevada de polifenóis são consideradas boas fontes de compostos antioxidantes naturais e mais frequentemente possuem maior potencial antioxidante do que em frutas e vegetais alimentares (KUMAR et al., 2013). Esses compostos constituem uma categoria importante de metabólitos antioxidantes. Eles são metabólitos secundários de plantas que têm pelo menos um anel aromático na sua molécula e, geralmente, existem sob a forma de glicosídeos. Polifenóis de plantas oferecem um átomo de hidrogênio e um elétron, inativando os radicais livres. Além disso, eles agem como quelantes de metais, principalmente Fe e Cu. (VESKOUKIS; TSATSAKIS; KOURETAS, 2012).

O estresse oxidativo está diretamente envolvido na fisiopatologia da hipertensão arterial afetando o metabolismo do óxido nítrico, a fisiologia vascular, aumentando citocinas inflamatórias, interagindo com o sistema renina-angiotensina, alterando a fisiologia renal, interagindo com o sistema nervoso central, causando alterações morfofuncionais na parede vascular (CASTRO, 2010).

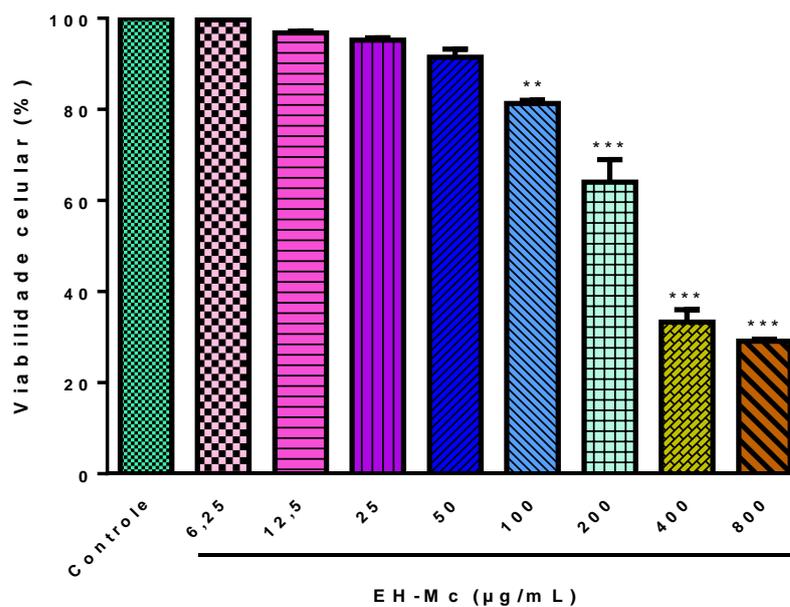
A inibição do crescimento de leveduras *S. Cerevisiae* também é um teste preliminar seletivo para verificar a ação de uma determinada amostra no reparo do DNA, o que pode ser interpretado como uma atividade citotóxica (PAULETTI; BOLZANI; YOUNG, 2003).

### 3.5 Teste de viabilidade celular de macrófagos peritoneais murinos

A ausência de atividade antioxidante para as concentrações de 243 e 500 µg/mL pode estar relacionada a uma maior atividade citotóxica do EH-Mc sobre as linhagens testadas nestas concentrações. Esta afirmação é evidenciada pela proximidade com o valor da concentração citotóxica média determinada para o EH-Mc no teste do MTT em macrófagos murinos, que foi igual a 298,9 µg/mL, com intervalo de confiança entre 261,7 e 341,4 µg/mL (Figura 7). O ensaio do MTT é um teste de viabilidade celular baseado na avaliação da função mitocondrial celular através da redução enzimática do sal tetrazólio pelas desidrogenases mitocondriais em células viáveis (MOSMANN, 1983). Assim, a perda da atividade antioxidante para a concentração de 81 µg/mL avaliada frente à linhagem *SOD2Δ*, e não

frente à linhagem *SOD1Δ*, reforça que a atividade antioxidante do EH-Mc é dependente de mecanismos associados com a função mitocondrial das células.

**Figura 7.** Efeito citotóxico do EH-Mc frente a macrófagos peritoneais de camundongos Balb/c. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M. \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  quando comparados com grupo controle.



## 4 CONCLUSÃO

Através de planejamento fatorial foi obtido um eficiente método para obtenção de extrato de inflorescências de *M. caesalpiniifolia*, utilizando solvente hidroalcoólico, sem sonicação, por um período de 3 dias. O extrato foi padronizado através da escolha de um seus constituintes, o ácido gálico, como substância marcadora, o qual apresentou 7,9 mg por grama de extrato (0,79%). Esse extrato apresentou significativo conteúdo fenólico: 245 mg de EAG/g. A análise fitoquímica por CLAE, pôde confirmar a presença do ácido gálico no cromatograma. O extrato obtido através desse método, quando testado em *Saccharomyces cerevisiae*, revelou-se antioxidante, uma vez que atenuou o efeito oxidativo do controle positivo – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – sobre o crescimento das cepas e ao mesmo tempo não apresentou citotoxicidade nesse ensaio. Portanto, a atividade antioxidante configura-se outro mecanismo anti-hipertensivo do extrato das inflorescências de *M. caesalpiniifolia*. Através das linhagens mutadas e do teste de viabilidade de macrófagos foi possível relacionar a atividade antioxidante do extrato à mecanismos associados à função mitocondrial das células. Esse extrato é, portanto, um produto natural promissor ao delineamento de uma formulação farmacêutica para tratamento da hipertensão arterial sistêmica.

## 5 REFERÊNCIAS

- ABBOTT, D. A. et al. Catalase overexpression reduces lactic acid-induced oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 8, p. 2320–2325, 2009.
- ANVISA. **Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003**. Disponível em: <[http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs\\_leis/vm/vm1.pdf](http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs_leis/vm/vm1.pdf)>. Acesso em: 14 maio. 2017.
- BAYLIAK, M. M.; LUSHCHAK, V. I. The golden root, *Rhodiola rosea*, prolongs lifespan but decreases oxidative stress resistance in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Phytomedicine**, v. 18, n. 14, p. 1262–1268, 2011.
- BURTON, G. J.; JAUNIAUX, E. Oxidative stress. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 25, n. 3, p. 287–299, 2011.
- CASTRO, A. F. C. DE. **Stress oxidativo e Hipertensão Arterial Essencial**. [s.l.] Faculdade de Medicina da Universidade de Porto, 2010.
- DA VEIGA, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: Aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 2, p. 308–313, 2008.
- DOBIÁŠ, P. et al. Comparison of pressurised fluid and ultrasonic extraction methods for analysis of plant antioxidants and their antioxidant capacity. **Central European Journal of Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 87–95, 2010.
- HERNÁNDEZ, A. I. et al. Free fatty acids enhance the oxidative damage induced by ethanol metabolism in an in vitro model. **Food and Chemical Toxicology**, v. 76, p. 109–115, 2015.
- KUMAR, G.; KARTHIK, L.; RAO, K. V. B. Phytochemical composition and in vitro antioxidant activity of aqueous extract of *Aerva lanata* (L.) Juss. ex Schult. Stem (Amaranthaceae). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 180–187, 2013.
- MANDAL, V.; MOHAN, Y.; HEMALATHA, S. Microwave assisted extraction - An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. **Pharmacognosy Review**, v. 1, n. 1, p. 7–18, 2007.
- MARQUES, F. et al. Stimulation of DNA repair in *Saccharomyces cerevisiae* by Ginkgo biloba leaf extract. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 6, p. 1361–1366, 2011.
- MIGLIATO, K. F. et al. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) SKEELS. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 695–699, 2011.
- MONÇÃO, N. et al. Assessing chemical constituents of *Mimosa caesalpiniiifolia* stem bark: possible bioactive components accountable for the cytotoxic effect of *M. caesalpiniiifolia* on human tumour cell lines. **Molecules**, v. 20, n. 3, p. 4204–4224, 2015.
- ONG, E. S. Extraction methods and chemical standardization of botanicals and herbal preparations. **Journal of Chromatography B**, v. 812, p. 23–33, 2004.
- PAULETTI, P. M.; BOLZANI, V. DA S.; YOUNG, M. C. M. Constituintes químicos de

*Arrabidaea samydoides* (bignoniaceae). **Quimica Nova**, v. 26, n. 5, p. 641–643, 2003.

PÉREZ-GALLARDO, R. V et al. Reactive oxygen species production induced by ethanol in *Saccharomyces cerevisiae* increases because of a dysfunctional mitochondrial iron–sulfur cluster assembly system. **FEMS Yeast Research**, v. 13, p. 804–819, 2013.

RODRIGUES, F. W. et al. The factorial planning use as a tool for optimization of the solubilization of uf 4 process. **Iberoamerican Journal of Applied Computing**, v. 3, n. 3, p. 41–52, 2013.

RODRIGUES, K. A. F. et al. Syzygium cumini (L.) Skeels essential oil and its major constituent  $\alpha$ -pinene exhibit anti-Leishmania activity through immunomodulation in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 160, n. 2, p. 32–40, fev. 2015.

SANTOS, M. E. P. et al. Hypotensive and vasorelaxant effects induced by the ethanolic extract of the *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Mimosaceae) inflorescences in normotensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 120–128, 2015.

SASIDHARAN, S. et al. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2011.

SILVA, M. J. D. et al. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos e frações orgânicas de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Mimosaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 2, p. 267–274, 2012.

SILVA, M. J. D. et al. Mimosa (*Mimosa caesalpinifolia*) prevents oxidative DNA damage induced by cadmium exposure in Wistar rats. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 24, n. 8, p. 567–574, 2014.

SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 95–100, 2005.

TENG, H.; CHOI, Y. H. Optimization of microwave-assisted extraction of bioactive alkaloid compounds from Rhizoma Coptidis (*Coptis chinensis* Franch.). **Food Science and Biotechnology**, v. 22, n. 5, p. 1–8, 2013.

TIWARI, P. et al. Phytochemical screening and Extraction: A Review. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v. 1, n. 1, p. 98–106, 2011.

VESKOUKIS, A. S.; TSATSAKIS, A. M.; KOURETAS, D. Dietary oxidative stress and antioxidant defense with an emphasis on plant extract administration. **Cell Stress and Chaperones**, v. 17, n. 1, p. 11–21, 2012.

VINATORU, M. An Overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 8, p. 303–313, 2001.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; FILHO, V. C. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147–152, 2001.

*CAPÍTULO III*

**Delineamento de comprimidos de extrato de inflorescências de  
*Mimosa caesalpinifolia* Benth.**

**Delineamento de comprimidos de extrato de inflorescências de *Mimosa caesalpinifolia* Benth.**

BARBOSA, S.L.F.<sup>a\*</sup>; LIMA NETO, J. S.<sup>b</sup>; COELHO, A. G.<sup>b</sup> ARCANJO, D. D. R.<sup>c</sup>; NUNES, L.C.C.<sup>b</sup>; CAVALCANTE, A.A.M.<sup>a</sup>; DO CARMO, I. S.<sup>d</sup>; CITÓ, A.M.G.L.<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-555 Teresina, PI, Brasil. \*saraleafb@hotmail.com

<sup>b</sup>Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550 Teresina, PI, Brasil

<sup>c</sup>Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550 Teresina, PI, Brasil

<sup>d</sup>Departamento de Química, Universidade Federal do Piauí, CEP 64049-550 Teresina, PI, Brasil

**RESUMO**

*Mimosa caesalpinifolia* Benth é uma espécie de leguminosa oriunda do Nordeste do Brasil utilizada nas práticas médicas tradicionais da região, inclusive para o tratamento da hipertensão. A eficácia do uso do chá de suas inflorescências para o tratamento da hipertensão arterial sistêmica foi constatada por estudos *in vivo*, que comprovaram que o extrato etanólico promove hipotensão e bradicardia. Essas evidências fazem do extrato das inflorescências de *M. caesalpinifolia* um produto promissor para o desenvolvimento de um medicamento fitoterápico. Esse estudo objetivou delinear pelo menos uma formulação de comprimidos de liberação convencional a parti do extrato padronizado das inflorescências de *M. caesalpinifolia*. Para obtenção do extrato, a coleta das inflorescências foi realizada na cidade de Teresina, no estado do Piauí. Após secagem e pulverização, a droga vegetal foi submetida à extração através de técnica otimizada (maceração durante 3 dias, solvente hidroalcoólico, sem sonicação). O extrato seco foi padronizado através de uma curva de calibração de ácido gálico, estabelecido como substância marcadora. O extrato fluido foi seco por aspersão utilizando um adjuvante de secagem, o que proporcionou melhor fluxo do pó. A partir deste, formulações de comprimidos de 50 mg de extrato foram delineadas via planejamento fatorial 2<sup>3</sup>, que avaliou as respostas dos fatores diluente, uso de aglutinante e método de compressão variando em dois níveis nos ensaios de dureza e tempo de desintegração. Diluente celulose microcristalina e compressão direta foram significativos sobre a dureza dos comprimidos, não havendo interações entre os fatores. O tempo de desintegração também foi modulado pelo diluente e via de compressão, entretanto, interações duplas e triplas foram detectadas. Peso médio e friabilidade também foram avaliados. Entre as formulações, 7 foram aprovadas nos ensaios realizados. Considerando as possibilidades de produção industrial, F3 e F7 foram eleitas para análise do perfil de dissolução. Estas apresentaram perfis de dissolução diferentes, porém ambas estão em acordo com as exigências preconizadas pela legislação. Portanto, foi possível desenvolver duas formulações para comprimidos de extrato padronizado de *M. caesalpinifolia* através de método simples que permite rápida produção e baixo custo, e que diferem entre si apenas no tipo de diluente.

**Palavras-chaves:** *Mimosa caesalpinifolia*, comprimidos, fitoterápico, formulação.

## 1 INTRODUÇÃO

*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth é uma espécie de leguminosa oriunda do Nordeste do Brasil caracterizada por rápido crescimento, alta capacidade de regeneração e resistência à seca. Considerada um tipo de planta multiuso, ela é fonte de alimento para o gado, usada como cerca viva e sua madeira é matéria prima para a construção de estacas e carvão. Além dessas utilidades, algumas partes da planta são empregadas nas práticas médicas tradicionais da região (GEOVANI et al., 2015; RIBASKI et al., 2003).

O chá das inflorescências dessa espécie é utilizado por algumas comunidades para o tratamento da hipertensão arterial e sua eficácia foi constatada por estudos *in vivo*, nos quais verificou-se que o mesmo promove hipotensão e taquicardia enquanto o extrato etanólico promove hipotensão e bradicardia. As vias muscarínicas e ganglionares e a ação vasorrelaxante por bloqueio dos canais de cálcio foram os mecanismos farmacológicos relacionados (ALBUQUERQUE et al., 2007; SANTOS et al., 2015). Além dessa atividade, o presente grupo de pesquisa constatou a atividade antioxidantes do extrato frente a *Saccharomyces cerevisiae*, onde o extrato atenuou o efeitos oxidante do peróxido de hidrogênio.

No âmbito da busca por novos medicamentos, esses achados fomentam o desenvolvimento de um fitoterápico a partir de um extrato padronizado de inflorescências de *M. Caesalpiniiifolia* para o tratamento da hipertensão arterial e remete aos objetivos da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Esta visa garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006).

O aparecimento de novos produtos fitoterápicos com a mesma eficácia e segurança que os medicamentos alopáticos os colocam como promissores substitutos dos produtos sintéticos da indústria farmacêutica. As vantagens dos medicamentos fitoterápicos compreendem: a ação por sinergismo de diferentes moléculas, associação de mecanismos por compostos agindo em alvos moleculares diferentes, menor risco de efeitos colaterais e menores custos de pesquisa (YUNES; PEDROSA; FILHO, 2001).

A produção de medicamentos fitoterápicos requer a transformação de uma matéria-prima à base de plantas num produto adequado para utilização industrial e outras aplicações terapêuticas. Porém, sendo uma operação complexa, requer a utilização de tecnologias

específicas de processamento (COUTO et al., 2011). Os extratos vegetais secos por aspersão (*spray drying*), por exemplo, têm sido utilizados como produtos intermediários na obtenção de diferentes formas farmacêuticas (SOARES et al., 2003).

Esse estudo objetivou o delineamento de pelo menos uma formulação de comprimidos de liberação convencional a partir do extrato padronizado das inflorescências de *Mimosa caesalpiniiifolia* que satisfaça os protocolos contidos nos “Métodos gerais aplicados a medicamentos” (Farmacopeia Brasileira) para preparações sólidas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção e padronização do extrato

O material vegetal para o estudo foram inflorescências de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth., coletadas em junho de 2015 no município de Teresina-Pi, na floresta nativa da UFPI. Uma exsicata encontra-se depositada no Herbário “Graziela Barroso”, da Universidade Federal do Piauí, com o número: TEPB 26824.

As inflorescências foram secas a temperatura ambiente, submetidas à pulverização em moinho de facas Marconi (Modelo: MA 680 e série 98 2422; LPN-UFPI). As condições de extração foram otimizadas em busca do melhor rendimento na extração via planejamento fatorial, o qual apontou os seguintes fatores significativos: maceração com solvente hidroalcoólico (etanol/água 7:3), filtração e renovação do solvente diariamente durante 3 dias sem a necessidade de uso de sonicador. O excesso de etanol foi evaporado, sob pressão reduzida, com aquecimento a 50 °C, através de evaporador rotativo Heidolph Laborota 4000 acoplado a uma bomba de vácuo Kohlbach.

O extrato seco foi padronizado usando uma curva de calibração de ácido gálico, escolhido como substância marcadora, e seu teor foi quantificado através de *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia líquida de alta performance).

### 2.2 Secagem por aspersão (*Spray Drying*)

Após remover o excesso de etanol, o volume residual foi secado por aspersão em Mini Spray Dryer Büchi B-290 (Büchi Labortechnik AG; LITE-UFPI). A alta higroscopicidade do extrato prejudica o fluxo do pó. A fim de reduzir esse problema foi adicionado à solução do extrato o dióxido de silício coloidal (Aerosil 200<sup>®</sup>) como adjuvante de secagem, em uma proporção de 23,1% em relação à massa do resíduo sólido do extrato, previamente determinada, conforme as instruções da Farmacopeia Brasileira 5 ed., no item 5.4.3.2.2 Determinação de resíduo seco em extratos fluidos e moles (BRASIL, 2010). As configurações para a secagem no aparelho foram temperatura de entrada de 150 °C; temperatura de saída de 97 °C; fluxo da bomba peristáltica 3 ml/minuto; pressão 55 bar; aspiração de ar a 80% da capacidade máxima. O pó resultante apresentou constituição teórica de 76,9% de extrato e 23,1% de Aerosil 200<sup>®</sup>. Assim 65 mg do pó obtido são equivalentes a 50 mg de extrato padronizado de *Mimosa caesalpiniaefolia*.

### 2.3 Delineamento das formulações de comprimidos

Considerando o teor de extrato no pó obtido por secagem por aspersão, para uma formulação com dose de 50 mg de extrato padronizado, foi necessário 65 mg do pó. Através de planejamento fatorial  $2^3$  (avaliação de três fatores variando em dois níveis) foram avaliados o fator 1 – Influência do diluente: amido pré-gelatinizado (+1) x celulose microcristalina (-1); o fator 2 – o uso do agente aglutinante PVP a 1%: com PVP (+1) x sem PVP (-1) e, por ultimo, o fator 3 – modo de produção: produção por compressão direta (+1) ou por via úmida (-1). Um total de 8 formulações, denominadas F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7 e F8, foram delineadas para comprimidos de 125 mg de peso. Os lotes produzidos por via úmida passaram previamente por granulação antes da compressão. Para umidificar a mistura de pós, utilizou-se a mistura de etanol e água 1:1. Quando houve o uso de aglutinante nesses lotes, o PVP foi adicionado à mistura de etanol e água. A massa úmida foi granulada através de um tamis N° 16 e secada em estufa a 40 °C por 3 horas. Em seguida, os grânulos foram calibrados no tamis N° 20 e receberam o lubrificante. Os lotes produzidos por compressão direta tiveram a mistura dos pós realizada através de grau e pistilo.

Nas formulações foram utilizados os excipientes farmacêuticos: Celulose Microcristalina PH 101 (fornecedor: Genix<sup>®</sup>, Lote: 90652), Amido pré-gelatinizado (Starch 1500<sup>®</sup>, fornecedor: Colorcon<sup>®</sup>) e Estearato de Magnésio (fornecedor: Natural Pharma<sup>®</sup>; Lote: s/n).

### 2.4 Controle de qualidade das formulações de comprimidos

Foram realizados os testes de determinação de peso médio, dureza, friabilidade, desintegração e dissolução seguindo as instruções preconizadas na Farmacopéia Brasileira, 5ª Ed. (BRASIL, 2010).

Tratando-se de comprimidos não revestidos, para a determinação de peso cada lote foi avaliado através da pesagem de 20 comprimidos em balança analítica Sartorius modelo BL 210S e as médias foram calculadas.

No ensaio de dureza utilizou-se um durômetro digital portátil Ethiktechnology para determinar a resistência de 10 comprimidos de cada formulação à ruptura sob pressão radial. As medidas das forças foram mensurados em Newton e a média da dureza de cada formulação foi obtida.

O ensaio de desintegração foi realizado em um desintegrador Nova Ética®, Modelo 301 AC. Em cada um dos seis tubos da cesta do desintegrador foi colocado um comprimido seguido da adição do disco apropriado. O líquido de imersão utilizado foi água mantida a 37 °C. O tempo de total desintegração de cada formulação foi registrado e o tempo limite do experimento foi de 30 minutos, tempo máximo permitido para comprimidos não revestidos.

Seguindo a recomendação da Farmacopeia Brasileira para comprimidos de peso médio igual ou inferior a 0,65 g, utilizaram-se no teste de friabilidade 20 comprimidos de cada formulação previamente pesados. Estes foram submetidos à 25 rotações por minuto durante 4 minutos em friabilômetro Nova Ética® Modelo 300. Após o teste os comprimidos foram novamente pesados e o percentual de perda de cada lote foi calculado.

Os resultados dos testes de dureza e desintegração foram analisados através de uma planilha desenvolvida por Lima et al., 2016, no MICROSOFT OFFICE EXCEL® 2007 SOFTWARE para cálculo dos efeitos dos fatores sobre a resposta em estudo e avaliação da significância estatística destes no planejamento fatorial. Após plotagem e análise dos resultados, foi realizado o perfil de dissolução das duas formulações com características mais favoráveis à indústria.

Para isso, o ensaio de dissolução foi realizado em dissolutor Nova Ética® (Modelo 299). Foram adotados os parâmetros de rotação em 75 RPM, temperatura em 37 °C, 900 mL de meio HCl 0,1 M por cuba, e tempo de coleta para leitura das amostras em 5, 15, 30, 45, 60 minutos, seguindo-se as exigências da Farmacopeia Brasileira 5ª ed. para dissolução de comprimidos de liberação imediata. Cada alíquota passou por filtração em filtro quantitativo que reteve os excipientes insolúveis. O  $\lambda$  máximo do extrato foi obtido por varredura prévia do mesmo no UV Visível (UV-1800 SHIMADZU) em uma solução de HCl 0,1 M filtrada. Foi desenvolvida uma curva analítica do extrato nas concentrações de 10,4; 15,2; 24,0; 32,0; 40,0; 56,0; 72,0 e 144,00  $\mu\text{g/mL}$ , em meio HCl 0,1 M em comprimento de onda de leitura selecionado em 269 nm, conforme varredura prévia. Através desta cuva, as concentrações das alíquotas do dissolutor retiradas em cada tempo foram quantificadas.

A média e desvio padrão dos testes de peso médio e dissolução foram calculados e analisados através do Software GraphPad Prism 6. Os gráficos de pareto e de superfície foram construídos, respectivamente, através dos software Excel® 2013 e Statistica® versão 12.

### 3 RESULTADO E DISCUSSÃO

O extrato seco das inflorescências de *M. caesalpinifolia* obtido por técnica extrativa otimizada foi padronizado, apresentando teor de 7,9 mg de ácido gálico por grama de extrato.

Iniciando pelo processo de secagem, utilizou-se a técnica de *spray drying* que é uma das mais utilizadas na indústria de fitoterápicos por sua estabilidade e possibilidade do controle das características do produto final (VOIGT, 2000). O uso de adjuvantes na técnica de secagem por aspersão é uma prática muito comum. São utilizados como adjuvantes uma variedade de substâncias, tais como: amido, ciclodextrinas, dióxido de silício coloidal (Aerosil 200<sup>®</sup>), fosfato tricálcico, gelatina, goma arábica, lactose, maltodextrina, dentre outras (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). Destaca-se o Aerosil 200<sup>®</sup> por apresentar maior adequabilidade quanto à estabilidade dos extratos secos diminuindo a sua umidade residual (VASCONCELOS et al, 2005). Além disso, o seu pequeno tamanho de partícula e grande área de superfície específica dão características de fluxo desejáveis que são exploradas para melhorar as propriedades de fluxo de pós secos (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

A secagem do extrato padronizado de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. com Aerosil<sup>®</sup> em *spray dry* apresentou rendimento de 74,4 % sobre a massa de partida. O processo promoveu melhora no aspecto do extrato que deixou de ser muito higroscópico e de baixo fluxo e tornou-se pó fino, fluido e homogêneo, quando observado macroscopicamente. Essas melhorias possibilitaram o uso do extrato nas operações farmacêuticas empregadas na produção de comprimidos.

Uma formulação farmacêutica bem-sucedida de uma forma farmacêutica estável e eficaz depende da seleção cuidadosa dos excipientes que serão adicionados para facilitar a administração, promover a liberação consistente e protegê-lo da degradação (AULTON, 2005). Somado a isso, transformar uma matéria-prima à base de plantas num produto adequado para uso industrial e outras aplicações terapêuticas é uma operação complexa que requer a utilização de tecnologias de processamento específicas seguindo normas rigorosas estabelecidas em compêndios oficiais (COUTO et al., 2011). Para a obtenção da homogeneidade dos lotes de produção é essencial a utilização de métodos analíticos visando à quantificação de substâncias ativas ou de referência, bem como métodos que avaliem os aspectos relativos à forma farmacêutica (TOLEDO et al, 2003).

Formulações de comprimidos, em geral, contêm, além das substâncias ativas, adjuvantes que têm o objetivo de permitir que a operação de compressão ocorra satisfatoriamente e assegurar que os comprimidos sejam obtidos com a qualidade

especificada. Os adjuvantes empregados como diluentes nessas formulações são substâncias inertes usadas para obter a massa desejada, melhorar propriedades de fluxo e características de compressão (AULTON, 2005; ANSEL, 2005). Além da escolha dos adjuvantes, características como fluxo livre e propriedades de coesão possibilitam compactação direta de fármacos sem necessidade de granulação úmida ou seca. Porém, apenas algumas substâncias ativas podem ser transformadas em comprimidos sem sofrer quaisquer processamentos prévios à compressão (TOLLER; SCHMIDT, 2005).

O planejamento fatorial é uma importante ferramenta estatística, através da qual foi possível delinear diferentes formulações para produzir os comprimidos com o pó do extrato seco por aspersão e avaliar o nível de significância cada fator e as possíveis interações. No planejamento  $2^3$ , qualquer efeito pode ser interpretado como a diferença das médias, e a partir das repetições autênticas, em uma determinada combinação de níveis, é possível estimar o erro experimental nessa combinação e então calcular a estimativa conjunta de variância, com base na média de todas as estimativas ponderadas pelos seus respectivos graus de liberdade (LIMA et al., 2016).

As formulações delineadas com o pó do extrato de *M. caesalpinifolia* na análise fatorial foram testadas usando como diluentes (fator 1) o amido pré-gelanitizado (nível +1) ou a celulose microcristalina (nível -1) (Tabela 1; Tabela 2). O amido – também pertencente à categoria de aglutinantes e desintegrantes – melhora a fluidez, a desintegração e a dureza dos comprimidos. Possui propriedade de desintegração e dissolução independentes do pH do meio, o que ajuda a promover a desagregação da massa de pó em partículas de fármaco primárias e acelera a taxa de dissolução da droga (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). Os amidos nativos possuem boas características de compressão, mas as suas fracas propriedades de escoamento e a elevada sensibilidade ao lubrificante tornam-se menos adequados para utilização em compressão direta. O amido 1500<sup>®</sup> é uma forma de amido pré-gelatinizado que foi modificado para o tornar mais fluido e compressível, favorecendo o processo de compressão direta (JIVRAJ et al., 2000).

A celulose microcristalina é amplamente utilizada em fármacos, principalmente como diluente-aglutinante em formulações de cápsulas e comprimidos orais, onde é utilizada em processos de granulação úmida e de compressão direta (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). É, inclusive, um dos adjuvantes mais facilmente compressíveis empregados na compressão direta, o que pode ser explicado pela própria natureza das moléculas, que propicia a formação de ligações de hidrogênio, as quais mantêm sua característica de plasticidade (LIMA NETO; PETROVICK, 1997).

O segundo fator testado (fator 2) foi a influência do uso do aglutinantes PVP nos testes de qualidade, onde o nível +1 corresponde ao uso de PVP e o nível -1 à ausência do mesmo. O uso de aglutinantes promove a adesão entre o fármaco em pó e os excipientes farmacêuticos, permite o preparo de granulados e mantém a integridade do comprimido final (ANSEL, 2005).

O modo de produção dos comprimidos foi o terceiro fator avaliado (fator 3), variando entre uso da via seca (nível +1) e via úmida (-1). Para produzi-los, é geralmente necessário proceder-se à granulação dos constituintes para se conseguir obter a compressão da forma farmacêutica, exceto em casos de substâncias diretamente compressíveis, nos quais a operação de granulação é dispensável. O uso excipientes coprocessados (celulose microcristalina, amido pré-gelatinizado e lactose *spray dried*, por exemplo) proporciona a fabricação de comprimidos por compressão direta com suas vantagens materiais e econômicas (PESSANHA et al., 2012; SAUSEN; MAYORGA, 2013).

As formulações foram preparadas seguindo a matriz de planejamento fatorial e delineamentos apresentados nas Tabelas 1 e 2. Os resultados dos ensaios farmacopeicos constam na Tabela 3 e na Figura 2.

As imagens dos comprimidos obtidos constam na Figura 1.

**Tabela 1.** Matriz de planejamento fatorial  $2^3$  para as formulações de comprimidos de extrato hidroalcoólico de inflorescências de *Mimosa caesalpinifolia*.

FORMULAÇÕES	VARIÁVEIS		
	Diluyente (fator 1)	Aglutinante (fator 2)	Via de produção (fator 3)
F1	+1	+1	+1
F2	+1	+1	-1
F3	+1	-1	+1
F4	+1	-1	-1
F5	-1	+1	+1
F6	-1	+1	-1
F7	-1	-1	+1
F8	-1	-1	-1

**Legenda:** Diluyente: amido 1500 (+1), celulose (-1); Aglutinante PVP: Sim (+1); Não (-1); Via de produção: Via seca (+1); Via úmida (-1).

**Figura 1.** Imagem de comprimido de cada uma das 8 formulações delineadas por planejamento fatorial  $2^3$ .



**Tabela 2.** Massas dos excipientes empregados nas formulações delineadas para comprimidos de extrato padronizado de inflorescências de *Mimosa caesalpiniiifolia*.

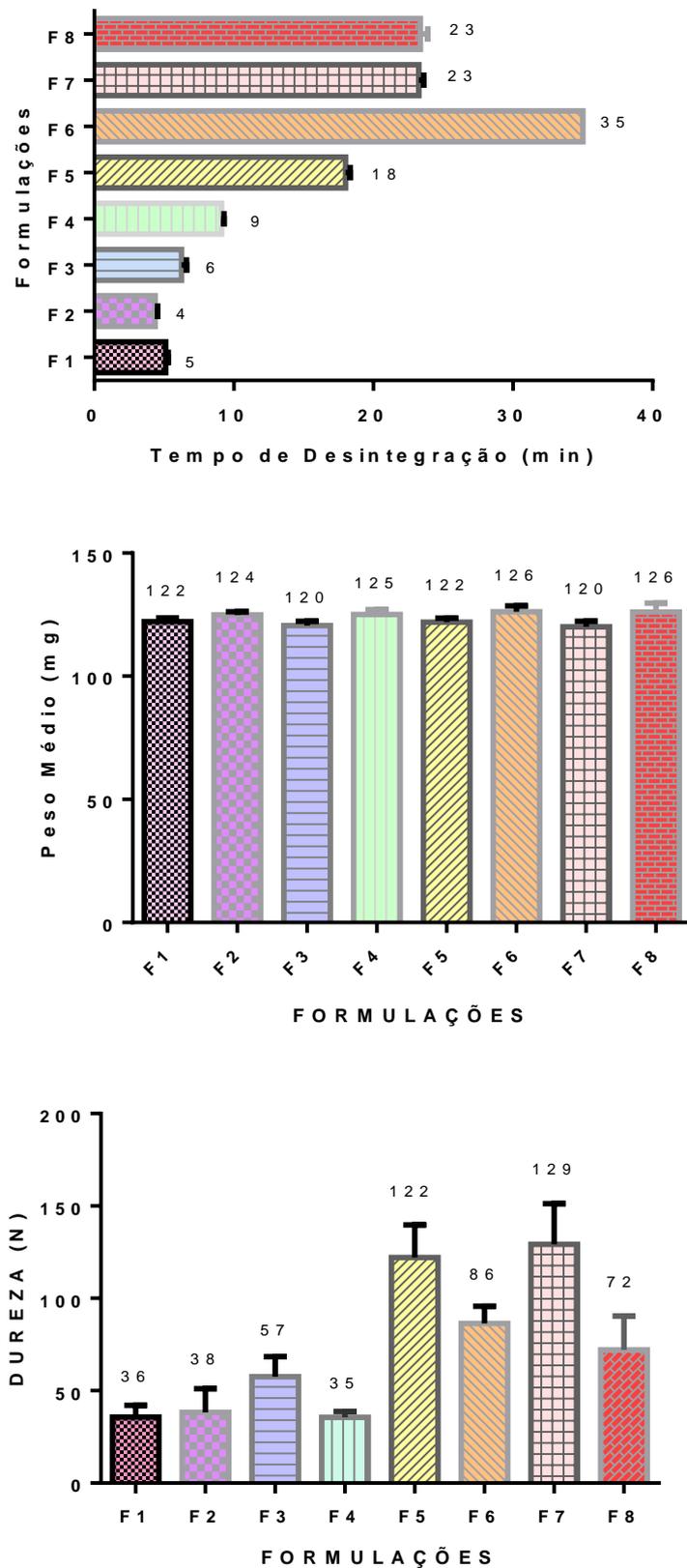
INGREDIENTES	FORMULAÇÕES							
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Extr. Padr. Mc (52%)	3,625g	3,625g	3,625g	3,625g	3,625g	3,625g	3,625g	3,625g
Est. Mg (0,5%)	0,035g	0,035g	0,035g	0,035g	0,035g	0,035g	0,035g	0,035g
PVP (1%)	0,069g	0,069g	-	-	0,069g	0,069g	-	-
Amido (46,93%)	3,298g	3,298g	3,298g	3,298g	-	-	-	-
Celulose (46,93%)	-	-	-	-	3,298g	3,298g	3,298g	3,298g
Via de produção	Seca	Umida	Seca	Umida	Seca	Umida	Seca	Umida

**Tabela 3.** Resultados dos ensaios farmacopeicos das formulações de comprimidos delineadas a partir do extrato padronizado de inflorescências de *M. caesalpiniiifolia*.

FORMULAÇÕES	ENSAIOS				
	Peso médio (mg)	Friabilidade (%)	Dureza (N)	Desintegração (min)	Dissolução a 45 min (%)
F1	122,2 ± 1,5 <sup>bcfh</sup>	0,25	35,6 ± 6,4	5,1 ± 0,2	-
F2	125,0 ± 1,3 <sup>agce</sup>	1,27	38,2 ± 12,9	4,3 ± 0,2	-
F3	120,6 ± 1,7 <sup>abdh</sup>	0,50	60,2 ± 7,5	6,2 ± 0,3	104,3 ± 0,5
F4	125,1 ± 1,9 <sup>age</sup>	0,30	35,5 ± 3,3	9,1 ± 0,2	-
F5	121,9 ± 1,7 <sup>bdfh</sup>	0,16	122 ± 17,8	18,0 ± 0,3	-
F6	126,2 ± 2,3 <sup>aceg</sup>	0,80	86,3 ± 9,4	35,00*	-
F7	120,1 ± 2,3 <sup>bdfh</sup>	0,08	129,2 ± 22	23,2 ± 0,3	82,5 ± 1,6 <sup>c</sup>
F8	126,1 ± 3,7 <sup>aceg</sup>	0,08	76,2 ± 13,9	23,4 ± 0,5	-

Os valores correspondem a Média ± Desvio padrão. No Peso Médio foi utilizado ANOVA-*one-way* e teste de comparações múltiplas de Tukey. Valores de significância para  $P < 0,05$ , sendo “a” a significância em relação a F1, “b” em relação a F2, “c” em relação a F3, “d” em relação a F4, “e” em relação a F5, “f” em relação a F6, “g” em relação a F7, “h” em relação a F8. (\*) A formulação F6 foi reprovada no ensaio de Desintegração, pois ultrapassou o limite de 30 minutos. (-) Ensaios de dissolução não realizados.

**Figura 2.** Peso médio, dureza, tempo de desintegração das formulações de comprimidos de *M. caesalpinii*folia.



### 3.1 DETERMINAÇÃO DE PESO

No ensaio de determinação de peso para comprimidos não revestidos com peso médio maior que 80 mg e menor que 250 mg, pode-se tolerar não mais que duas unidades fora dos limites  $\pm 7,5\%$  em relação ao peso médio, porém, nenhuma formulação poderá estar acima ou abaixo do dobro dessa porcentagem (BRASIL, 2010). Todas as formulações testadas apresentaram resultados satisfatórios para esse teste com todas as unidades pesadas dentro do limite de variação aceitável, entretanto foi observado que aquelas produzidas por via úmida – F2, F4, F6 e F8 – apresentaram peso médio mais próximos a 125 mg enquanto que os comprimidos produzidos por via seca – F1, F3, F5 e F7 – apresentaram peso inferior (Tabela 3). Estas formulações formaram mistura de pó fino e leve o que favoreceu perdas durante o impacto do punção no processo de compressão. Tal perda foi mínima na compressão dos lotes granulados uma vez que estes, mais densos, se organizaram melhor na matriz da compressora e não se espalharam com o impacto do punção.

### 3.2 FRIABILIDADE

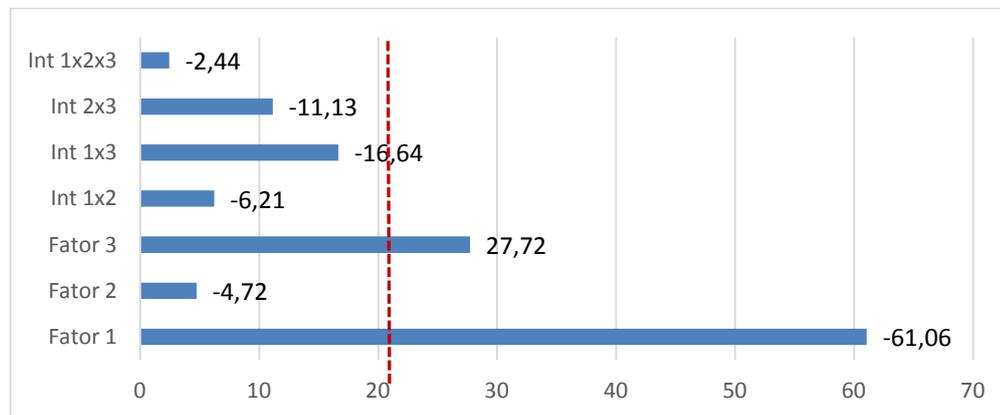
No teste de friabilidade todos os lotes de comprimidos do extrato fabricados apresentaram resultados satisfatórios (tabela 3, página 93), considerando que nenhuma unidade testada poderia apresentar-se, ao final do teste, quebrado, lascado, rachado ou partido ou com perda superior a 1,5% do seu peso (BRASIL, 2010). A friabilidade dos comprimidos é um grau de resistência em relação ao choque, atrito, rolamento, agitação e flexão, sendo determinada pela porcentagem de detritos que se separam do comprimido (PRISTA; ALVES; MORGADO, 2005).

### 3.3 DUREZA

A dureza de um comprimido sem revestimento é a resistência dele ao esmagamento ou à ruptura sob pressão radial provocada por golpes de fricção durante os processos de embalagem, transporte e armazenamento (CITÓ; CARNEIRO, 1999). Através do gráfico de Pareto (Figura 3), investigou-se a influência de cada fator sobre a dureza dos comprimidos. O valor limite para a significância com 95% de confiança, foi calculado e considerado apenas valores superiores a 21,2 N, como significativos para a resposta obtida. Os gráficos foram feitos utilizando uma ferramenta estatística desenvolvida por LIMA et al, 2016. Observou-se

que apenas os fatores 1 (diluyente) e 3 (via de compressão) apresentaram resultados estatisticamente significativos nas formulações.

**Figura 3.** Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores testados no planejamento fatorial e suas interações para a resposta Dureza (Newtons) dos comprimidos de *M. caesalpinifolia*.



**Legenda:** Fator 1 (tipo de diluyente); Fator 2 (presença de aglutinante); Fator 3 (via de produção). A linha tracejada define o limite de significância 21,1 N, com intervalo de confiança de 95%. Interação dos parâmetros 1 e 2 (1/2); Interação dos parâmetros 1 e 3 (1/3); Interação dos parâmetros 2 e 3 (2/3); e Interação dos parâmetros 1, 2 e 3 (1/2/3).

Com base nos resultados apresentados na tabela 3 e na figura 3, observa-se que o fator diluyente (fator 1) foi o que mais influenciou na dureza dos comprimidos obtidos, de forma que aqueles produzidos com diluyente celulose obtiveram dureza superior em aproximadamente 61 N, em média, em relação aos lotes onde foi utilizado o amido. Esse achado está de acordo com a literatura, que explica a maior resistência e coesão de comprimidos obtidos de celulose, mesmo sob baixas forças de compressão, ser devido à proximidade de grupos de hidrogênio em suas moléculas adjacentes, permitindo a formação de numerosas ligações de hidrogênio. Durante a compressão, a celulose microcristalina se deforma plasticamente e, portanto, maximiza a área de ligação entre partículas (THOORENS et al., 2014).

No que diz respeito à via de compressão (fator 3), através do resultado da análise fatorial (Figura 3), foi observado que a via seca, produziu lotes de comprimidos aproximadamente 27 N mais duros do que aqueles produzidos por via úmida.

A via seca, também dita compressão direta, é a preparação de comprimidos de uma mistura de ingredientes sem um processo de granulação ou aglomeração preliminar. Apesar de envolver poucas etapas, o delineamento de produtos para compressão direta pode ser desafiador por ser diretamente afetada pelas propriedades do material (THOORENS et al.,

2014). A produção de comprimidos por compressão direta envolve somente três operações sequenciais: pesagem, mistura dos pós e compressão. Embora demande materiais de enchimento e aglutinantes que costumam ser mais caros, permite uma produção de comprimidos em grande escala com economia de tempo e, conseqüentemente, de custos. Além disso, como não há emprego de água e calor no processo, a estabilidade do produto pode ser aumentada (AULTON, 2005; TOLLER; SCHMIDT, 2005).

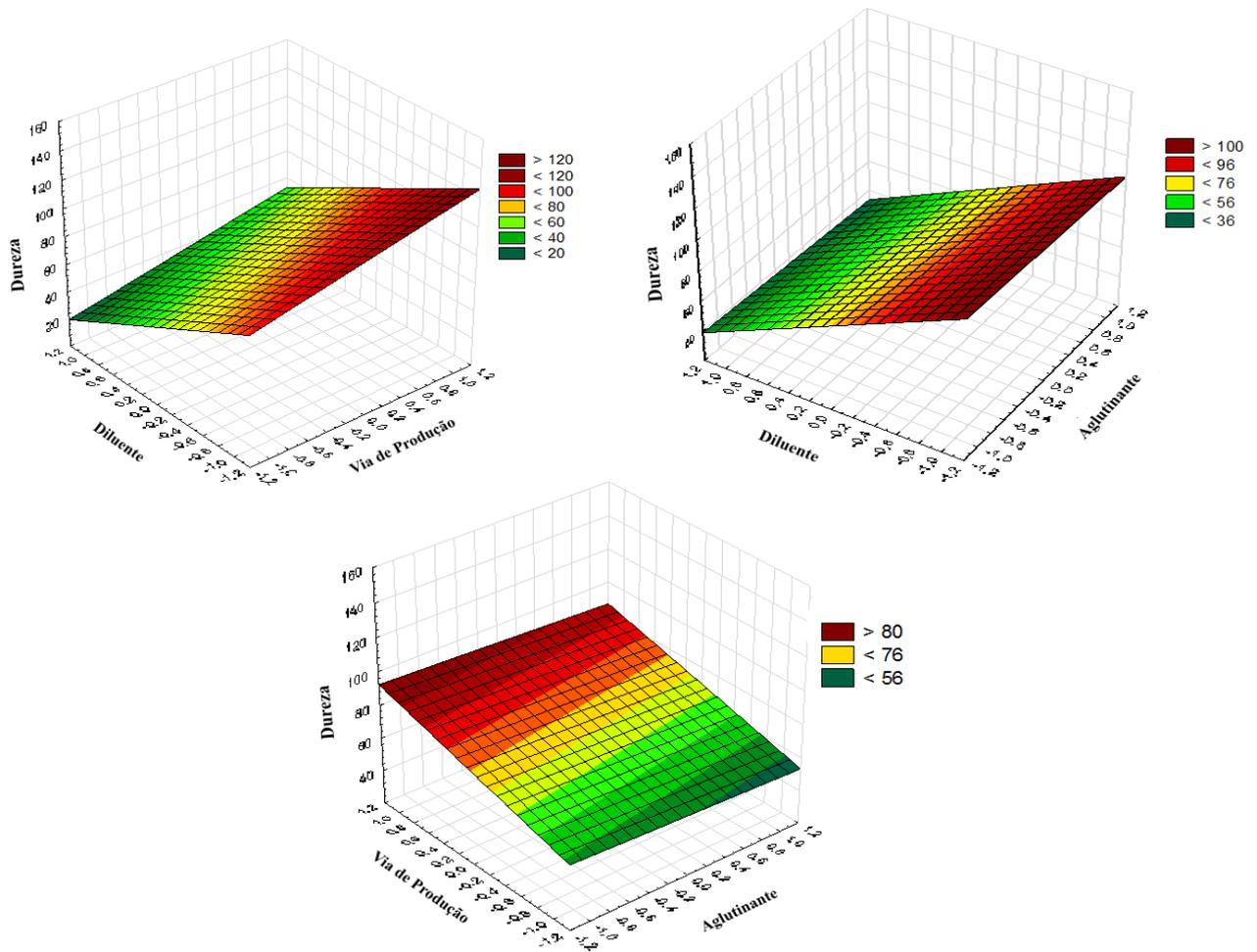
A granulação úmida é também um método de obtenção bastante empregado, pois os granulados formados apresentam boas características de fluxo e coesividade, resultando, assim, em comprimidos com características físicas (peso, resistência mecânica e desintegração) adequadas e constantes (CURY; SILVA; CASTRO, 2008). Entretanto, a granulação é sempre uma operação complexa e implica em inúmeros passos (umidificação, granulação, secagem), alguns deles muito delicados (SOARES; PETROVICK, 1999).

Ainda sobre a análise fatorial do ensaio de dureza (Figura 3), não foram encontradas interações entre os fatores, mostrando que cada fator estudado independe do nível dos demais fatores, no intervalo analisado.

A utilização de celulose para a produção de comprimidos utilizando-se compressão por via seca mostrou levar à produção de comprimidos mais duros, contudo as exigências legais exigem apenas um limite mínimo de 30 N para comprimidos, não sendo as durezas elevadas um pré-requisito para a obtenção de comprimidos tecnicamente satisfatórios, portanto todos os lotes estudados estiveram de acordo com as exigências da farmacopeia nesse quesito (ANVISA, 2008). Porém, cabe ressaltar que alguns problemas potenciais relacionados a comprimidos estão ligados à via de compressão, entre eles, a dureza elevada de comprimidos, o que podem dificultar os processos de desintegração e dissolução (SOARES; PETROVICK, 1999).

Através dos gráficos de superfícies, é possível observar a influência do fator diluente sobre a dureza dos comprimidos (Figura 4), que aumenta conforme este varia de amido 1500 (+) para celulose microcristalina (-) e quando a via de produção passa de granulação úmida (-) para compressão direta (+).

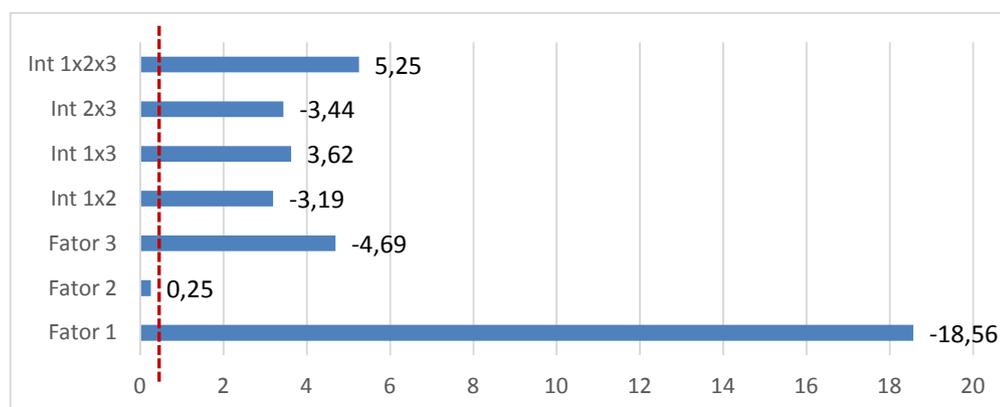
**Figura 4.** Superfícies de resposta do planejamento fatorial  $2^3$  produzida na Dureza dos comprimidos de *M. caesalpinifolia* pelos fatores diluente (amido +1; celulose -1), aglutinante (com PVP +1; sem PVP -1) e modo de produção (compressão direta +1; granulação úmida -1).



### 3.4 DESINTEGRAÇÃO

Conforme a análise estatística realizada para a dureza, foi calculado o valor limite para a significância com 95% de confiança para a desintegração e foram considerados significativos valores acima de 0,28 min (Figura 2). Observou-se que o fator 1 (diluente) foi o que mais influenciou no tempo de desintegração dos comprimidos obtidos, onde aqueles produzidos utilizando-se celulose apresentaram tempo de desintegração superior em aproximadamente 18 minutos. A rápida desintegração das formulações com amido relaciona-se ao fato deste, além de diluente, possuir caráter desintegrante, sendo o desintegrante de maior emprego em comprimidos convencionais (AULTON, 2005).

**Figura 5.** Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores testados e suas interações para a resposta tempo de desintegração (minutos) dos comprimidos de *Mimosa caesalpinifolia*.



**Legenda:** Fator 1 (tipo de diluente); Fator 2 (presença de aglutinante); Fator 3 (via de produção). A linha tracejada define o limite de significância 0,28 min., com intervalo de confiança de 95%. Interação dos parâmetros 1 e 2 (1/2); Interação dos parâmetros 1 e 3 (1/3); Interação dos parâmetros 2 e 3 (2/3); e Interação dos parâmetros 1, 2 e 3 (1/2/3).

A utilização ou não de aglutinante (fator 2) na composição dos comprimidos, também não trouxe influências estatisticamente significativas para o estudo do tempo de desintegração.

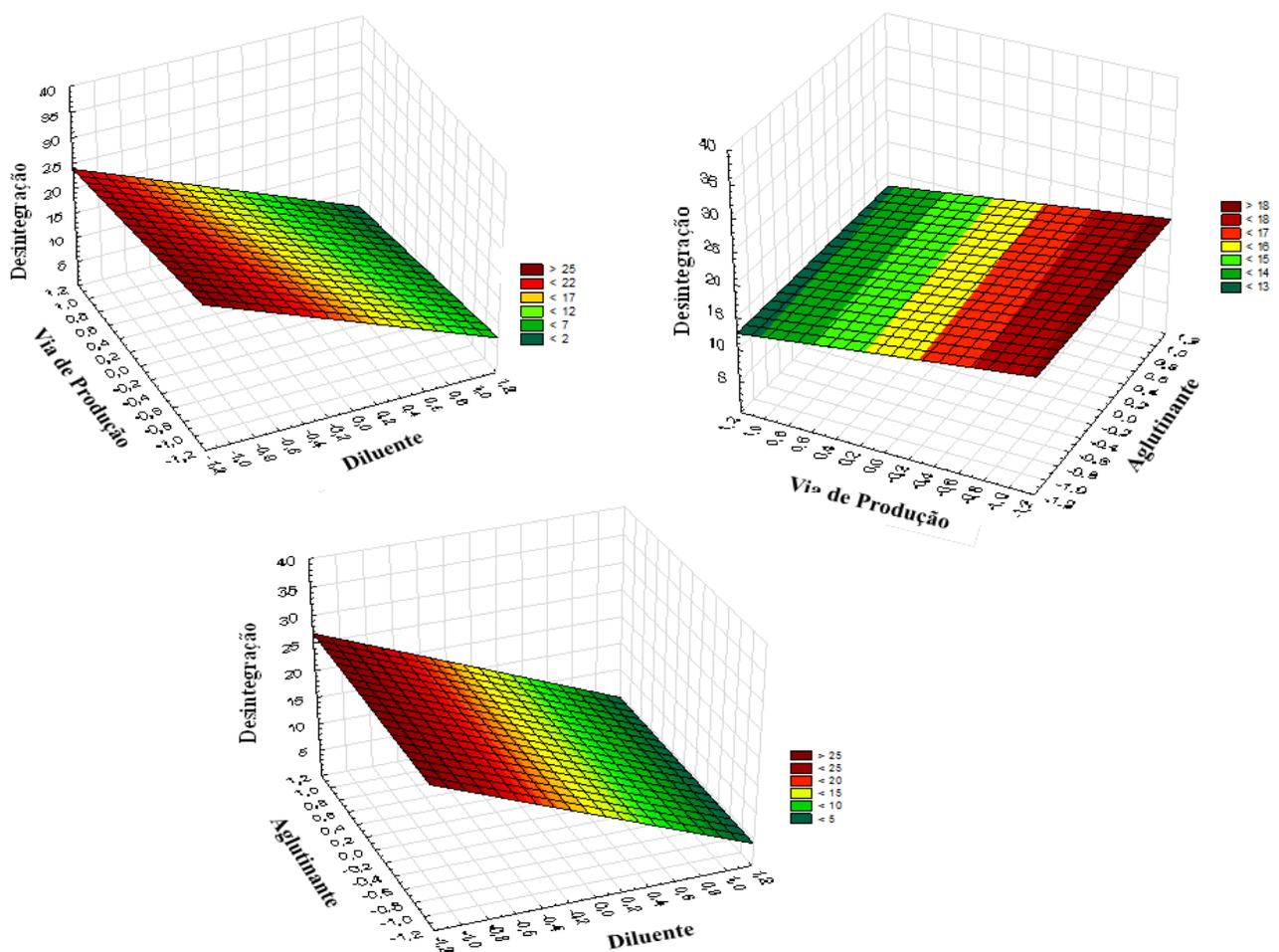
Quanto à via de produção (fator 3), no gráfico de Pareto (Figura 4) é possível observar um aumento discreto (aproximadamente 5 minutos), porém, significativo no tempo de desintegração atribuído a este fator quando se produziu através da granulação úmida, embora saiba-se que a produção por compressão direta seja a mais relacionada a maiores tempo de desintegração (SOARES; PETROVICK, 1999).

Foram encontradas interações duplas e triplas estatisticamente significativas entre os fatores, mostrando que o efeito de cada fator sobre o tempo de Desintegração pode ser modificado quando se modifica o nível dos demais fatores. A formulação F6, por exemplo, apresentou longo tempo de desintegração devido à influência das respostas do menor nível do fator 1 (celulose), do menor nível do fator 3 (via úmida), da interação dupla 1x3 e, ainda da interação tripla 1x2x3 (Figura 5).

Nesse ensaio, portanto, apenas F6 foi reprovada, ultrapassando o tempo máximo permitido de 30 minutos, enquanto as demais formulações apresentaram bons resultados nos ensaios. Os comprimidos produzidos com amido pré-gelatinizado desintegraram-se mais rapidamente do que aqueles com celulose. Contudo, as exigências legais da Farmacopeia Brasileira (2010) exigem apenas que os comprimidos desintegram-se em um limite máximo de até 30 minutos, não sendo os menores tempo de desintegração um pré-requisito para a obtenção de comprimidos tecnicamente satisfatórios (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Na Figura 6 é possível observar nas superfícies de resposta o significativo aumento do tempo de desintegração à medida que o diluente passa de amido 1500 (+) para celulose (-), enquanto os fatores via de produção e uso de aglutinante foram pouco expressivos.

**Figura 6.** Superfícies de resposta do planejamento fatorial  $2^3$  produzida no Tempo de Desintegração dos comprimidos de *M. caesalpinifolia* pelos fatores diluente (amido+; celulose-), aglutinante (com PVP+; sem PVP-) e modo de produção (compressão direta+; granulação úmida-).



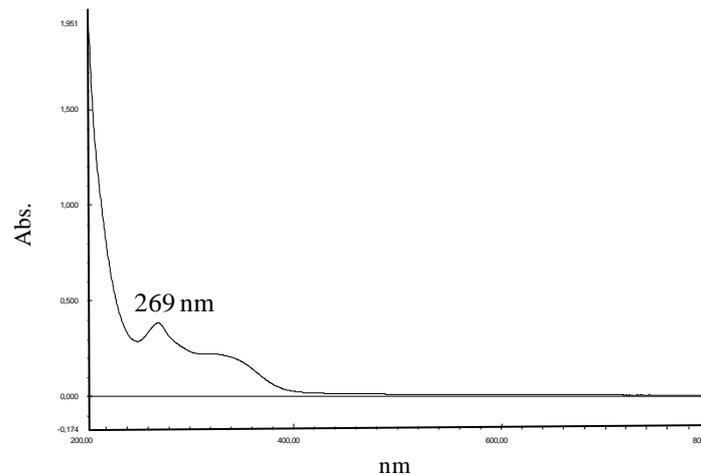
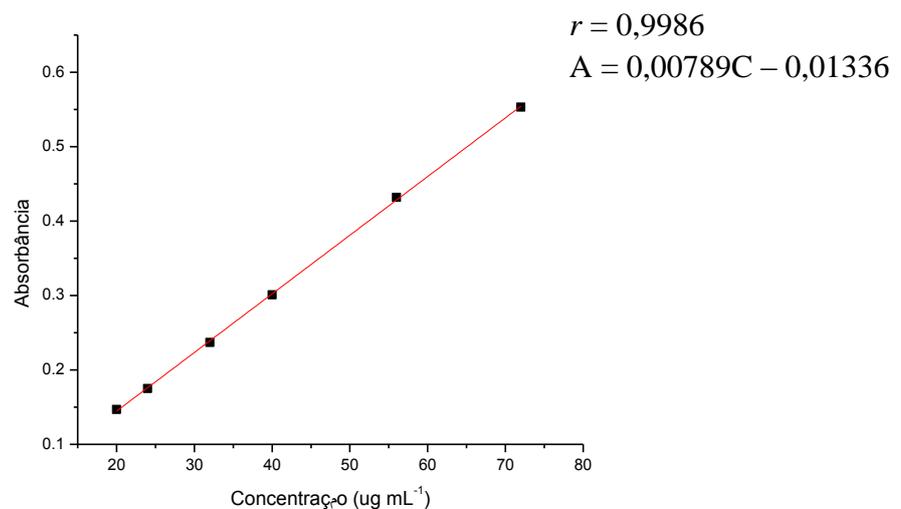
Considerando o objetivo prévio de se obter pelo menos uma formulação aprovada e, considerando os interesses da indústria farmacêutica, que visa maior eficiência na linha de produção, baixo custo, praticidade e fácil controle (SAUSEN; MAYORGA, 2013), infere-se que as formulações F3 (amido 1500, sem PVP, via seca) e F7 (celulose microcristalina, sem PVP, via seca) apresentam-se como as mais atrativas para a avaliação do teste de dissolução.

### 3.5 DISSOLUÇÃO

Para que haja efeito terapêutico, é necessário que ocorra a dissolução do comprimido. A partir daí seus princípios ativos podem ser absorvidos atingindo assim, a circulação e ligando-se aos sítios de ação. A avaliação do perfil de dissolução demonstra a porção da droga que estará disponível para ser absorvido no trato gastrointestinal (NGO, 2007).

Existem três categorias de ensaios de dissolução para medicamentos de liberação imediata, os quais permitem avaliar e comparar a cinética e eficiência de dissolução de um determinado produto: ensaio de dissolução de um único ponto; ensaio de dissolução de dois pontos e perfis de dissolução. Os perfis de dissolução, os quais são obtidos a partir da porcentagem dissolvida de fármaco em diferentes tempos de amostragem, permitem uma análise mais conclusiva (SERRA; STORPIRTIS, 2007).

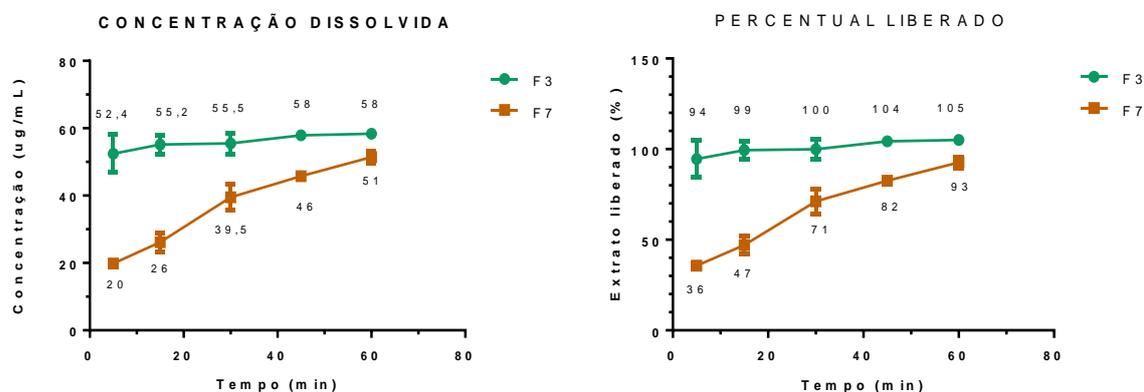
O teste de dissolução consiste na utilização de aparelho que simula as condições do trato gastrointestinal em termos de temperatura e agitação para medir a quantidade de fármaco dissolvido no meio em determinado espaço de tempo (LIRA, 2004). Para medicamentos contendo fármacos pouco solúveis em água, que se dissolvem lentamente, recomenda-se pelo menos o ensaio de dissolução de dois pontos, ou seja, um a 15 minutos e outro a 30, 45 ou 60 minutos, para assegurar 85% de dissolução (ANVISA, 2017). A Farmacopeia Americana especifica que após o intervalo de 30 minutos, os produtos devem liberar, no mínimo, 80% do valor declarado no rótulo (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005). No Brasil, a ANVISA preconiza que as formas farmacêuticas de liberação imediata devem apresentar dissolução média de no mínimo 75% da substância ativa em até 45 minutos (ANVISA, 2010). Para possibilitar a quantificação do extrato de *M. caesalpinifolia* contido nos comprimidos, das formulações F3 e F7, inicialmente foi feita uma varredura do extrato em UV-Visível, de onde se obteve o  $\lambda$  máximo 269 nm (Figura 7), através do qual foi possível desenvolver a curva de calibração  $A = 0,00789C - 0,01336$  (Figura 8), onde “A” corresponde à absorvância da amostra e “C” corresponde à sua concentração.

**Figura 7.** Espectro de absorção no UV-VIS do extrato hidroalcoólico de *M. Caesalpiniiifolia*.**Figura 8.** Curva de calibração do extrato hidroalcoólico de *Mimosa caesalpiniiifolia* em solução de HCl 0,1 M ( $\lambda$  máximo 269 nm).

A validação de metodologia analítica para fitoterápicos deve ser feita de acordo com o disposto na RE 899/03, porém, os resultados podem seguir os níveis de aceitação estipulados para métodos bioanalíticos, considerando-se a complexidade da matéria-prima vegetal. Para métodos bioanalíticos, o valor do coeficiente de correlação linear ( $r$ ) para aceitação da curva de calibração deve ser igual ou superior a 0,98 (ANVISA, 2007). A curva de calibração do extrato hidroalcoólico de *M. caesalpiniiifolia* está de acordo com as normas da legislação vigente para o controle de qualidade de extratos vegetais e fitoterápicos, uma vez que se obteve um  $r$  igual a 0,9986 (Figura 8).

Utilizando-se da equação da reta ( $A = 0,00789C - 0,01336$ ), as absorvâncias das alíquotas do ensaio de dissolução foram calculadas em concentração dissolvida e percentual liberado do extrato (Figura 9). Aos 45 minutos do ensaio, a formulação F3 apresentou-se 104% dissolvida; no mesmo tempo F7 apresentou 82% de dissolução. Portanto, as duas formulações estão em conformidade com os pré-requisitos da legislação brasileira que estabelece dissolução mínima de 75% da droga aos 45 minutos do ensaio de dissolução. A formulação desenvolvida com amido 1500, F3, apresentou melhor perfil de dissolução que F7, que tem como diluente a celulose microcristalina. Essa diferença de desempenho se deve à ação desintegrante do amido, enquanto a celulose microcristalina, se usada em altas concentrações pode causar diminuição da velocidade de dissolução de substâncias ativas que tenham baixa solubilidade (LIMA NETO; PETROVICK, 1997; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

**Figura 9.** Perfis de liberação de duas formulações de comprimidos desenvolvidas com extrato hidroalcoólico de *Mimosa caesalpinifolia* (F3 e F7).



Uma vez que os comprimidos delineados F3 e F7 foram aprovados nos ensaios farmacopeicos, objeto deste estudo, através de planejamento fatorial foi possível desenvolver duas formulações para comprimidos de extrato padronizado de *M. caesalpinifolia* produzidas por compressão direta, método que permite rápida produção e baixo custo, e que diferem entre si apenas no tipo de diluente. Os diluentes coprocessados demonstraram seu potencial de compressão direta, inclusive veiculando um extrato vegetal. O fator diluente foi responsável por diferenças significativas entre os resultados dos testes de cada lote, não sendo estas diferenças um critério de rejeição para as formulações.

#### 4 CONCLUSÃO

Diferentes formulações de comprimidos a base de extrato padronizado de *M. caesalpiniifolia* foram desenvolvidas e testadas. A secagem do extrato por aspersão com o uso de um adjuvante de secagem proporcionou melhoria no aspecto de fluxo do mesmo, o que favoreceu as operações farmacêuticas de preparo de comprimidos. Através da análise do planejamento fatorial foi possível eleger duas melhores formulações do extrato. Diferindo entre si apenas no tipo de diluente, as duas formulações apresentaram resultados de dureza, friabilidade, desintegração e dissolução favoráveis aos requisitos preconizados pela Farmacopeia Brasileira. Entretanto o uso do diluente amido pré-gelatinizado gerou comprimidos com mais rápida desintegração e dissolução. Ambas formulações foram produzidas por compressão direta, método que proporciona menos gastos e menor tempo de produção.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U. P. DE et al. Medicinal plants of the caatinga ( semi-arid ) vegetation of NE Brazil : A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 325–354, 2007.

ANVISA. **Orientações sobre “ Controle de qualidade de extratos vegetais e fitoterápicos ”**. Disponível em:

<[http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/Controle\\_qualidade\\_extratos.pdf](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/Controle_qualidade_extratos.pdf)>. Acesso em: 14 maio. 2017.

ANVISA. **Recomendações para realização de ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (FFSOLI)**. Disponível em:

<[http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/recomenda/recomenda\\_dissolucao2.pdf](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/recomenda/recomenda_dissolucao2.pdf)>. Acesso em: 14 maio. 2017.

ANVISA. **Consulta Pública nº 50, de 4 de setembro de 2008**. Disponível em:

<<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B23764-1-0%5D.PDF>>. Acesso em: 20 jul. 2005.

ANVISA. **Resolução-rdc nº 31, de 11 de agosto de 2010**. Disponível em:

<[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0031\\_11\\_08\\_2010.pdf/5e157d15-d3d5-4bb9-98db-5667e4d9e0c8](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0031_11_08_2010.pdf/5e157d15-d3d5-4bb9-98db-5667e4d9e0c8)>. Acesso em: 15 maio. 2017.

ANSEL, H. C. et al. **Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems**. 8.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2005.

AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. Porto Alegre: Artemed, 2ª ed. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira, volume 1 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

CITÓ, A. M. G.L; CARNEIRO, J. G. M. C. **Manual da qualidade – controle físico-químico de qualidade**. Núcleo de Tecnologia Farmacêutica: Teresina, 1999.

COUTO, R. O. et al. Drying Technology : An International Journal Development of a Phytopharmaceutical Intermediate Product via Spray Drying Development of a Phytopharmaceutical Intermediate Product via Spray Drying. **Drying Technology**, v. 29:6, p. 709–718, 2011.

CURY, B. S. F.; SILVA, N. P.; CASTRO, A. D. Influência das propriedades de granulados de celulose nas características físicas dos comprimidos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 1, p. 37–44, 2008.

GEOVANI, P. et al. Mimoso caesalpinifolia rhizobial isolates from different origins of the

- Brazilian Northeast. **Archives of Microbiology.**, v. 197, n. 3, p. 459–469, 2015.
- JIVRAJ, M. et al. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, v. 3, n. 2, 2000.
- LIMA NETO, S. A.; PETROVICK, P. R. A CELULOSE NA FARMÁCIA. **Caderno de Farmácia**, v. 13, n. 1, p. 19–23, 1997.
- NGO, S. N. T. When do differences in dissolution profiles predict clinical problems? **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 32, p. 111–112, 2007.
- OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Revisão Secagem por aspersão ( spray drying ) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. Abril 2009, p. 641–650, 2010.
- PESSANHA, A. F. V.; ROLIM, L. A.; PEIXOTO, M. S.; SILVA, R. M. F.; ROLIM NETO, P. J. Influência dos excipientes multifuncionais no desempenho dos fármacos em formas farmacêuticas. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 2, p. 136-45, 2012.
- PRISTA, L. N.; ALVES, C. A.; MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**. 5. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995. v. 5.
- RIBASKI, J. et al. Sabiá (Mimosa caesalpiniaefolia) Árvore de Múltiplo uso no Brasil. **Comunicado técnico Embrapa**, 2003.
- LIMA, H. R. S. et al. Development of a practical tool for analysis of data obtained by factorial design 2 2 e 2 3 using the software MICROSOFT OFFICE EXCEL ® 2007 (MICROSOFT CORPORATION , EUA). **Boletim Informativo Geum**, v. 7, n. 2, p. 39–47, 2016.
- LIRA, L. M. **Avaliação de sistemas nanoparticulados baseados em bentonita sódica purificada como incrementadores de dissolução em comprimidos preparados por granulação úmida e compressão direta**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Faculdade de Farmácia, Rio de Janeiro, RJ, 2004.
- ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6 ed. Washington: Pharmaceutical Press, e. ed. 2009.
- SANTOS, M. E. P. et al. Hypotensive and vasorelaxant effects induced by the ethanolic extract of the Mimosa caesalpinifolia Benth. (Mimosaceae) inflorescences in normotensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 120–128, 2015.
- SAUSEN, T. R.; MAYORGA, P. Excipiente para a produção de comprimidos por compressão direta. **Infarma ciências farmacêuticas**, v. 25, n. 4, p. 199–205, 2013.
- SERRA, C. H. DOS R.; STORPIRTIS, S. **Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução ( ED %)**.
- SOARES, L. A. .; PETROVICK, P. R. Física da compressão. **Caderno de Farmácia1**, v. 15, n. 2, p. 65–79, 1999.
- SOARES, L. ALBERTO L. et al. Efeito da Força e da Velocidade de Compressã o sobre as Propriedades de Comprimidos contendo alta Concentraçã o de Extrato Seco Vegetal. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 22, n. 2, p. 147–154, 2003.

THOORENS, G. et al. Microcrystalline cellulose , a direct compression binder in a quality by design environment — A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, n. 1–2, p. 64–72, 2014.

TOLEDO, A. C. O. et al. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, 2003.

TOLLER, A. B.; SCHMIDT, C. A. EXCIPIENTES À BASE DE CELULOSE E LACTOSE. **Disciplinarum Scientia**, v. 6, n. 1, p. 61–80, 2005.

VASCONCELOS, E.A.F., MEDEIROS, M.G.F., RAFFIN, F.N. MOURA, T. F. A. L. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil®200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 243–249, 2005.

VOIGT, R. **Pharmazeutisch Technology**. Auflage Suttgart: Wissenschaftliche, 2000.

## **7. PERSPECTIVAS**

- Desenvolvimento de estudo toxicológico agudo e subagudo da formulação desenvolvida;
- Avaliação da resposta hipotensora de ratos hipertensos após administração oral dos comprimidos formulados;
- Depósito de patente reivindicando direito de prioridade sobre a formulação farmacêutica desenvolvida.